



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 Des Êtres Vivants



MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option: Biotechnologies végétales

Thème:

Effet de l'huile essentielle d'une plante larvicide *Lippia citriodora* sur deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*.

Présenté par:

Melle. Djebri Samia

Melle. Touahria Linda

Devant le jury:

Dr. BOUABIDA Hayette	MCA	Université de Tébessa	Présidente
Mme. SEGHIER Hanene	MAA	Université de Tébessa	Rapporteuse
Dr. DEKAK Ahmed	MCB	Université de Tébessa	Examineur

Date de soutenance : 25 juin 2019

Note :..... Mention :.....

Résumé

Résumé

Cette étude vise à tester l'effet de l'huile essentielle extraite de *Lippia citriodora* à l'égard de deux espèces de moustique *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*, les plus répandues dans la région de Tébessa. Plusieurs paramètres ont été étudiés :

L'anatomie des feuilles de la plante (*Lippia citriodora*).

La durée de développement des deux espèces de moustiques de stade larvaire (larves de 3^{ème} stade nouvellement exuvies) jusqu'à l'émergence des adultes pour les séries témoins et traitées.

Le ratio sexe chez les séries traitées par rapport à la série témoin pour les deux espèces de moustiques.

Les anomalies morphologiques chez les séries traitées pour les deux espèces de moustiques.

Différentes parties ont été déterminées après l'observation microscopique des coupes anatomique.

Ainsi, les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de *Lippia citriodora* augmente la durée de développement de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens* et augmente le nombre des adultes males chez les deux espèces de moustiques.

Plusieurs aberrations morphologiques ont été observées chez *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*.

Mots clés: *Lippia citriodora*, huile essentielle, *Culex pipiens*, *Culiseta longiareolata*, durée développement, ratio sexe, anomalies morphologiques.

Abstract

Abstract

This study focused on the effect of the essential oil extracted from *Lippia citriodora* against two mosquito species *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens*, the most widespread in the region of Tébessa. Several parameters have been studied:

The anatomy of the leaves of the plant (*Lippia citriodora*).

The duration of development of the two larval stage mosquito species (newly exhaled 3rd instar larvae) until the emergence of adults for the control and treated series

The sex ratio in the series treated compared to the control series for the two mosquito species

Morphological abnormalities in the series treated for both mosquito species.

Different parts were determined after microscopic observation of anatomical sections.

Thus, the results obtained show that the essential oil of *Lippia citriodora* increases the duration of development of *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* and increases the number of male adults in both mosquito species.

Several morphological aberrations were observed in *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens*.

Key words: *Lippia citriodora*, essential oil, *Culex pipiens*, *Culiseta longiareolata*, duration of development, sex ratio, morphological abnormalities.

تهدف هذه الدراسة إلى اختبار تأثير الزيوت الأساسية المستخرجة من *Lippia citriodora* على نوعين من البعوض *Culex pipiens* و *Culiseta longiareolata* ، الأكثر انتشارًا في منطقة تبسة. تم دراسة العديد من المعلومات:

تشريح أوراق النبات (*Lippia citriodora*).
مدة تطور نوعين من البعوض في مرحلة اليرقات (الطور اليرقي الثالث) حتى ظهور البالغين من أجل السلاسل الشاهدة والمعالجة

نسبة الجنس في السلاسل المعالجة بالنسبة للسلاسل الشاهدة لكلا النوعين من البعوض.
التشوهات المورفولوجية في السلاسل المعالجة لكلا النوعين من البعوض.
تم تحديد أجزاء مختلفة بعد الملاحظة المجهرية للأقسام التشريحية.
وهكذا، فإن النتائج التي تم الحصول عليها تبين أن الزيوت الأساسية من *Lippia citriodora* تزيد من وقت تطور *Culex pipiens* و *Culiseta longiareolata* وتزيد من عدد الذكور البالغين في كلا النوعين من البعوض.
وقد لوحظت العديد من التشوهات المورفولوجية في *Culex pipiens* و *Culiseta longiareolata*.

الكلمات المفتاحية: *Lippia citriodora* ، الزيت العطري ، *Culex pipiens* ، *Culiseta longiareolata* ، وقت التطوير ، نسبة الجنس ، التشوهات المورفولوجية.

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Classification botanique de <i>Lippia citriodora</i> .	4
Tableau 02	Variétés de verveine.	7
Tableau 03	Principaux composés de l'huile essentielle de <i>Lippia citriodora</i> analysées par CG/MS.	7
Tableau 04	Principaux constituants des huiles essentielles de <i>L. citriodora</i> .	8
Tableau 05	Structures chimique des composés identifiés dans les huiles essentielles de la verveine.	8
Tableau 06	Les résultats des rendements les huiles essentielles de <i>Lippia citriodora</i>	25
Tableau 07	Caractéristiques organoleptiques de l'HE de <i>Lippia citriodora</i> .	25
Tableau 08	Effet de l'H.E extraite de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur la durée de développement (Nbr des jours) de <i>Culiseta longiareolata</i> à différents stades ($m \pm sd$, $n= 30$ répétitions comportant chacune 10 individus). Comparaison des moyennes entre les différentes séries (lettres minuscules).	26
Tableau 09	Effet de l'H.E extraite de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur la durée de développement (Nbr des jours) de <i>Culex pipiens</i> à différents stades ($m \pm sd$, $n= 30$ répétitions comportant chacune 10 individus). Comparaison des moyennes entre les différentes séries (lettres minuscules).	26
Tableau 10	Effet de l'H.E extraite de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur le ratio sexe chez les adultes de <i>Culiseta longiareolata</i> .	27
Tableau 11	Effet de l'H.E extraite de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur le ratio sexe chez les adultes de <i>Culex pipiens</i> .	27

Listes des figures

Listes des figures

Figures	Titre	Page
Figure 01	La verveine <i>Lippia citriodora</i> .	4
Figure 02	Les tiges de <i>Lippia citriodora</i> .	5
Figure 03	Les feuilles de <i>Lippia citriodora</i> .	5
Figure 04	Les fleurs de <i>Lippia citriodora</i>	5
Figure 05	Les fruits de <i>Lippia citriodora</i> .	6
Figure 06	Les rameaux de <i>Lippia citriodora</i> .	6
Figure 07	Structure des principaux polyphénols présents dans l'infusé de la verveine odorante (A) lutéoline 7-diglucuronide ; (B) verbascoside.	9
Figure 08	Quelques organes sécréteurs d'huiles essentielles.	11
Figure 09	(A): Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles, poil sécréteur (Khenaka, 2011). (B): illustration schématique du développement de la glande productrice d'huile essentielle.	11
Figure 10	Les feuilles sèches de <i>Lippia citriodora</i> .	13
Figure 11	Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger.	14
Figure 12	Rendement des huiles essentiel de <i>Lippia citriodora</i> .	15
Figure 13	Photo d'une femelle de <i>Cx. pipiens</i> lors d'un repas de sang.	16
Figure 14	Cycle de vie d'un moustique.	19
Figure15	Œufs de moustique : (A) <i>Culex pipiens</i> (Balenghien, 2007), (B) <i>Culiseta longiareolata</i> .	19
Figure 16	Larve de moustique : (A) <i>Culex pipiens</i> , (B) <i>Culiseta longiareolata</i> .	20
Figure 17	Aspect général d'une nymphe : (A) <i>Culex pipiens</i> , (B) <i>Culiseta longiareolata</i> .	20

Listes des figures

Figure 18	Adulte de moustique : (A) <i>Culex pipiens</i> , (B) <i>Culiseta longiareolata</i> .	21
Figure 19	Site d'élevage (Hammamet).	22
Figure 20	Coupe anatomique représentant la structure de la feuille de <i>Lippia citriodora</i> .	23
Figure 21	coupe anatomique représentant la structure de trichome glandulaire de <i>Lippia citriodora</i> .	24
Figure 22	Coupe anatomique représentant la structure de la feuille de <i>Lippia citriodora</i> .	24
Figure 23	Échec de la mue (larve- pupe) chez <i>Cx pipiens</i> .	27
Figure 24	Échec de la mue (pupe–adulte) chez <i>Cx pipiens</i> .	27
Figure 25	Malformation de la larve chez <i>Cx pipiens</i> .	28
Figure 26	Taille réduite d'une larve 4 chez <i>Cx pipiens</i> .	28
Figure 27	Malformation de la larve chez <i>Cx pipiens</i> .	28
Figure 28	Malformation touche le tube digestif chez <i>Cs longiareolata</i> .	28
Figure 29	Malformation en aile (absence d'une aile) chez <i>Cs longiareolata</i> .	28
Figure 30	Réduction de la taille de la larve chez <i>Cs longiareolata</i> .	28
Figure 31	Réduction de la taille de la pupe chez <i>Cs longiareolata</i> .	28
Figure 32	Réduction de la taille de la pupe chez <i>Cs longiareolata</i> .	28

Liste des abréviations

Liste des abréviations

abréviations	Titre
%	Pourcentage
<i>Cs. longiareolata</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>
G	Gramme
HE	Huile Essentielle
L4	Larve de stade 4
L3	Larve de stade 3
M	Moyenne
S	Ecart type
Mg	Milligramme
MI	Millilitre
Min	Minute
N	Nombre de repetitions
P	Coefficient de signification
±	Plus ou moins
CL50	Concentration létale 50
CL25	Concentration létale 25
H	Heure
<i>L. citriodora</i>	<i>Lippia citriodora</i>
m±sem	Moyenne ± écart moyen
Ppm	Partie par mille
CG/MS	Chromatographie en phase gazeuse- spectrométrie de masse.

Remerciement

*Avant toutes choses, nous avons remerciées Dieu, le tout puissant
pour ma avoir donné la force et la patience.*

*Nous remercions notre encadreuse : Mme Seghier Hanane, Pour ses
conseils et son soutien, tout au long de ce travail.*

*Je remercie tous les membres du jury Dr. Bouabida Hayette
Et Mr. Dekak Ahmed pour avoir bien voulu donner De leur temps
pour lire ce travail.*

*Merci pour tous les enseignants du notre département
« Département de Biologie »*

*Merci à tous ceux et toutes celles qui, d'une manière ou d'une
autre, nous ont aidé et soutenu à réaliser ce travail.*

Dédicace

Je dédie ce travail à :

À mes chers parents qui m'ont donné la possibilité de poursuivre mes études, pour l'espoir qu'ils me donnent, pour leurs conseils, leur guide affectueux dans la vie et leur soutien et encouragements durant mes années d'études, 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 ;

Ma chère sœur : Hadia

Mes chers frères : Oussama, Abd Allah, Mouhamed Ali

A Toute la famille Djebri

Ma binôme Linda et tous mes amis Chaima, Linda, Sara, Hafsa,

Ibtisseme pour me soutenir

A tous mes camarades de 2^{ème} année master LMD

Biotechnologie végétale Promotion 2018-2019

Et bien sûr à tous les enseignants et les techniciens de laboratoire

Dans l'université l'Arbi tébessi

Samia

Dédicace

A l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie à:

*Mon père et ma mère qui me donnent l'espoir pour continuer ma voie du
réussite, et qui sacrifient tout pour céder à mes demandes*

Mes chers frères : Bouzid, Abd Elmajid, Nour Eddine, Soufiane

Mes chères sœurs : Nawel, Souad, Zayneb

Et aux Descendants de ma famille Touahria Chahed, koutaiba, Mouhamed

Assil, Mouslim et Loujain

*Ma binôme Samia et mon amie Chaima pour tous les sentiments et les
moments qu'on a partagés*

Toutes les amies surtout les amies intimes

Tous la famille Touahria et Tebet petits et grandes et sans exception

Tous mes collègues de 2eme année Master : Biotechnologie végétale

2018 /2019

*La réalisation de cette mémoire n'aurait jamais été possible, sans la
contribution de toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont supporté,
encouragé et aidé d'une manière ou d'une autre, Merci à toutes et à tous
Et bien sûr à tous les agents qui m'aiment et ou qui les aime aussi de A
jusqu'à Z.*

Linda

Table de matière

Table de matière

Introduction	1
1. Matériels et méthodes	4
1.1. Présentation de <i>Lippia citriodora</i>	4
1.1.1. Généralités	4
1.1.2. Classification de <i>Lippia citriodora</i>	4
1.1.3. Description botanique de <i>Lippia citriodora</i>	5
1.1.4. Habitat et culture de <i>L. citriodora</i>	6
1.1.5. Récolte et séchage de <i>L. citriodora</i>	6
1.1.6. Variétés et espèces	7
1.1.7. Composition chimique de <i>lippia citriodora</i>	7
1.1.8. Composition en polyphénols de l'infusé de <i>L. citriodora</i>	8
1.1.9. Usage de la verveine	9
A. Phytothérapie	9
B. Alimentation	10
1.2. Huiles essentielles	10
1.2.1 Définition des huiles essentielle	10
1.2.2. Localisation	10
1.2.3. Propriétés et caractéristiques des huiles essentielles	11
1.2.4. Rôles physiologiques	12
1.2.5. Etude de l'anatomique de plante étudiée	12
1.2.5.1. Echantillonnage	12
1.2.5.2. Réalisation des coupes anatomiques et coloration	12
1.2.5.3. Visualisation et photographie	13
1.2.6. Extraction des huiles essentielles de <i>Lippia citriodora</i>	13
1.2.6.1. Matériel végétal	13
1.2.6.2. Extraction des HEs de <i>Lippia citriodora</i> par hydrodistillation	13
1.2.7. Rendement des huiles essentielles	14
1.3. Présentation de moustique	15
1.3.1. Généralités sur les <i>Culicidae</i>	15
1.3.2. Présentation de <i>Culex pipiens</i> et <i>Culiseta longiareolata</i>	16
1.3.2.1. Définition de <i>Culex pipiens</i>	16
1.3.2.2. Caractéristiques de <i>Culex pipiens</i>	16
1.3.2.3. Position systématique de <i>Culex pipiens</i>	17
1.3.2.4. Définition de <i>Culiseta longiareolata</i>	17

Table de matière

1.3.2.5. Caractéristiques de <i>Culiseta longiareolata</i>	17
1.3.2.6. Position systématique de <i>Culiseta longiareolata</i>	18
1.3.2.7. Cycle de développement	18
1.3.2.8. Techniques d'élevage	21
1.4. Traitement	22
1.5. Détermination de la durée de développement	22
1.6. Analyse statistique	22
2. Résultats	23
2.1. Anatomie des feuilles de <i>Lippia citriodora</i>	23
2.2. Rendement en huile essentielle de <i>Lippia citriodora</i>	24
2.3. Effet de l'H.E extraite de <i>Lippia citriodora</i> sur la durée de développement de <i>Culiseta longiareolata</i> et <i>Culex pipiens</i>	25
2.4. Effet de l'H.E extraite de <i>Lippia citriodora</i> sur le ratio sexe de <i>Culiseta longiareolata</i> et <i>Culex pipiens</i>	26
2.5. Anomalies morphologiques	27
3. Discussion	29
3.1. Etude de l'anatomie des feuilles de <i>Lippia citriodora</i>	29
3.2. Rendement en huile essentielle de <i>Lippiacitriodora</i>	29
3.3. Effet de l'H.E extraite de <i>Lippia citriodora</i> sur la durée de développement de <i>Culiseta longiareolata</i> et <i>Culex pipiens</i>	30
3.4. Effet de l'H.E extraite de <i>Lippia citriodora</i> sur le ratio sexe de <i>Culiseta longiareolata</i> et <i>Culex pipiens</i>	31
3.5. Anomalies morphologiques	31
Conclusion	33
Référence bibliographie	

Introduction

Introduction

Introduction

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

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

Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales algériennes, et compte tenu des vertus thérapeutiques que représentent les Verbénacées, nous sommes intéressés à l'extraction des huiles essentielles de *Lippia citriodora* provenant de la région de Hammamet (Tébessa). La verveine (*Lippia citriodora*), la verveine citronnelle herbe aromatique de la famille des Verbénacées (Lenoir, 2011) Notre choix est porté sur cette plante aromatique, car elle est très répandue en Algérie et largement utilisée en médecine traditionnelle.

Les huiles essentielles extraites à cette plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. L'aromathérapie, l'art de soigner par les huiles essentielles, est devenue une science méthodique depuis qu'elle repose sur une classification de ces huiles selon leur capacité à lutter contre les moustiques (Bouderhem, 2014). Appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydants, antimicrobiennes, antispasmodiques, antidépressive, sédative, largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle. Il nous semble donc, intéressant d'inscrire notre travail dans ce contexte de recherche (Lenoir, 2011).

Depuis 170 millions d'année les diptère (les mouches et les moustiques) forment un groupe d'insectes le plus écologiquement diversifié, la famille des *Culicidés* est la plus importante, les moustiques appartient à cette famille forment un groupe diversifié dans une

Introduction

grande partie des insectes sont hématophages (Boudemagh *et al.*, 2013 ; Poupardin, 2011). Selon le plus récent classement la famille des *Culicidés* comprend deux sous – familles, constituées de 11 tribus, 111 genres et 3528 espèces de la faune du monde (Bensafi *et al.*, 2013).

En Algérie, *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* sont considérées parmi les espèces les plus abondantes. Les *Culicidés* constituent les insectes piqueurs les plus nuisibles aux populations et continuent de transmettre des maladies infectieuses. Des campagnes de démoustication régulières sont menées contre ces insectes à la fois pour l'éradication de ces maladies et la réduction des nuisances au niveau du centre urbain et touristique. L'efficacité de telles luttes, qu'elles soient chimiques ou biologiques, est tributaire de la connaissance de la bioécologie de ces insectes. Les *Culicidés* présentent des caractères morphologiques généralement nets, permettant d'identifier facilement la famille et d'en donner une bonne description. En revanche, leur regroupement en sous- familles et en genres et en sous genres est beaucoup plus délicat (Bouabida, 2014).

Les *Culicidés* causent de graves préjudices tant à l'homme qu'aux animaux par le rôle vecteurs potentiels de maladies infectieuses, tel que le paludisme, la fièvre jaune, la dengue, filariose et la peste équine, la morphologie du moustique est aussi en rapport directe avec son mode de vie. Cet insecte comporte une écophase aquatique concernant les stades pré imaginaires (larves et nymphe) alors que les adultes ont une vie aérienne (Rioux, 1958). Pour lutter activement contre les *Culicidés* plusieurs méthodes ont été entreprises dans le monde. Comprenant la lutte chimique et la lutte biologique (Berliner, 1915).

La lutte anti-moustique par des insecticides est très efficace sur les moustiques culicidés, mais présente plusieurs inconvénients. En effet, ils peuvent être, en plus d'un effet néfaste sur la vie aquatique, à l'origine de divers problèmes environnementaux (Aouinty *et al.*, 2006). Les insecticides chimiques sont la principale stratégie du contrôle. Cependant, leur utilisation massive et continue a provoqué divers inconvénients, comme les risques de contamination ou accumulation dans le sol, l'eau et les denrées récoltées, le développement de résistances ou encore les risques pour la santé des travailleurs agricoles (Carlos, 2010). Ces dangers ont conduit l'OMS (Organisation mondiale de la Santé) à interdire l'usage de certains insecticides chimiques et pour assurer une meilleure intervention, tout en préservant au maximum le milieu naturel, de nouvelles méthodes préventives ainsi que de nouveaux produits sont constamment recherchés (Crosby *et al.*, 1966).

Introduction

Cette étude comporte deux parties essentielles. Une partie relative à l'étude bibliographique et une autre partie réservée à l'étude expérimentale, par conséquent dans la partie bibliographique, nous présenterons un bilan bibliographique des connaissances biologiques sur *Culex pipiens*, *Culiseta longiareolata* et *Lippia citriodora*. Ensuite une partie expérimentale qui présente les réponses des deux espèces de moustique *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* à l'impact des huiles essentielles de *Lippia citriodora*. Plusieurs paramètres ont été étudiés :

Etude Histologique des feuilles de la plante (*Lippia citriodora*).

Etude de l'effet de l'huiles essentielles extraite de *Lippia citriodora* sur la durée de développement des deux espèces de moustiques, l'apparition des anomalies morphologiques et sur la sex-ratio.

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

Matériels

Et

Méthodes

Matériels et méthodes

1. Matériels et Méthodes

1.1. Présentation de *Lippia citriodora*

1.1.1. Généralités

La verveine est un arbrisseau cultivé dans les jardins, communément appelé ‘‘*Louiza* ou *Tizana*’ (Fig.1). Elles contiennent une huile essentielle composée de citral, de terpènes, de géraniol. La verveine odorante est cultivée sous les climats tempérés comme plante aromatique et ornementale ainsi que pour les feuilles, utilisées en phytothérapie, récoltées à la fin de l'été; elle possède des propriétés similaires à celles de la mélisse (Slimani et Dahmane, 2013). Originaire d'Amérique du sud, introduit et cultivé sur le pourtour méditerranéen (Midi de la France et Afrique du Nord) (Perrot et Paris, 1974).

Le genre *Lippia* montre une grande diversité génétique, ce qui lui permet de synthétiser une variété de constituants de l'huile essentielle dans des plantes cultivées dans les différentes parties du monde (Slimani et Dahmane, 2013).



Figure 01. La verveine *Lippia citriodora* (photo personnel).

1.1.2. Classification de *Lippia citriodora*

La classification botanique de *Lippia citriodora* est donnée par le tableau 01

Tableau 01. Classification botanique de *Lippia citriodora* (Taleb-Toudert, 2002).

Règne	Plantae
Sous règne	Trachéobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Verbenaceae
Genre	<i>Lippia</i>
Espèce	<i>Lippia citriodora</i>

Matériels et méthodes

1.1.3. Description botanique de *Lippia citriodora*

La verveine odorante *Lippia citriodora* ou *Aloysia triphylla* est un sous-arbrisseau de la famille des Verbenaceae (Perrot et Paris, 1974). Elle peut atteindre 2m de haut (Slimani et Dahmane, 2013).

❖ **Les tiges** : anguleuses et cannelées, ramifiées (Fig.2) (Bruneton, 1993).



Figure 02. Les tiges de *Lippia citriodora* (photo personnel).

❖ **les feuilles** : sont opposées rudes, courtement pétiolées et lancéolées (Fig.3). La face supérieure de ces feuilles est lisse, tandis que leur face inférieure est recouverte de nodosités mouchetées, verticillées par trois (Bruneton, 1993).



Figure 03. Les feuilles de *Lippia citriodora* (photo personnel).

❖ **Les fleurs** : rose violacé, disposées en épis possèdent 4 pétales soudés à la base en un tube et étalés en 4 lobes bicolores, blancs sur la face externe et bleu violacé sur la face interne (Fig.4) (Bruneton, 1993).



Figure 04. Les fleurs de *Lippia citriodora* (web 1).

Matériels et méthodes

- ❖ **Le fruit** : petit, renferme deux graines (Fig.5) (Bruneton, 1993).



Figure 05. Les fruits de *Lippia citriodora* (web 1).

- ❖ **Les rameaux** : sont blanchâtres et récoltés peu avant la floraison, rassemblée en bouquets puis séchés (Fig.6) (Perrot et Paris, 1974).



Figure 06. Les rameaux de *Lippia citriodora* (web 1).

1.1.4. Habitat et culture de *L. citriodora*

La verveine odorante est cultivée sous les climats tempérés comme plante aromatique et ornementale. Elle s'accommode sur tous les types des sols et exige une quantité d'eau importante (Pascual et *al.*, 2007).

Cette plante s'acclimite d'un sol perméable, bien drainé et des endroits ensoleillés ou semi- ombragés, abrités des vents froids. Elle exige un sol frais en été, sans excès d'humidité qui entraîne la pourriture de ses racines. Elle doit être paillée en hiver pour la protéger du gel, car elle ne supporte pas les températures inférieures à 4 °C (Botrel, 2001).

1.1.5. Récolte et séchage de *L. citriodora*

La récolte est effectuée à la faucille et consiste à couper à 10-15 cm à partir du début des pousses de l'année. Il y a deux périodes de coupe :

- ❖ Mai-Juin : lorsque 50% des plantes ont fleuri.
- ❖ Fin Juillet-Aout.
- ❖ Une troisième récolte peut avoir lieu 1 à 2 mois après la 2ième récolte.

Matériels et méthodes

Le rendement varie de 1,5 à 3 t/ha en verveine sèche pour les deux coupes. Une fois la récolte est effectuée, on procède au séchage des feuilles et à leur séparation des tiges (Elattir et *al.*, 2003).

1.1.6. Variétés et espèces

Il existe deux espèces de verveines utilisées en herboristerie qui font aujourd'hui partie de deux genres différents :

- ❖ La verveine commune (*Verbena officinalis*), plante inodore à feuilles opposées par deux.
- ❖ La verveine odorante (*Verbena triphylla* ou *Lippia citriodora*) encore appelée verveine citronnelle (Vigneau, 1985).

Tableau 02. Variétés de verveine (Vigneau, 1985).

Nom français	Nom latin	Principes actifs	Activités Pharmacologiques	Partie Concernée	Toxicité
Verveine	<i>Verbena Officinalis</i>	Verbenalol	Eupeptique Antalgique Antispasmodique	Tiges + Feuilles	Antigonadotrophique
	<i>Verbena Triphylla</i>	Citral Z	Anti-inflammatoire Antinévralgique Antidépresse Sédative	Feuilles	/

1.1.7. Composition chimique de *lippia citriodora*

Selon Slimani (2014), les résultats obtenus dans l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* sont présentés dans le tableau 03.

Tableau 03. Principaux composés de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* analysée par CG/MS.

Composants	Aire (%)	Temps de rétention (min)
Citral	11.3	6.25
Limonène	10.6	7.46
4- Phényl undécane-4-ol	7.7	9.24
α -curcumène	6.5	10.15
α - Cédrol	4.5	12.68
Carvéol	3.7	14.00
Linalool	3.5	14.97
β caryophyllène	2.8	16.22
Acétate de géranyle	1.8	19.98

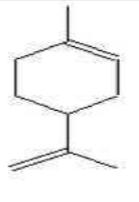
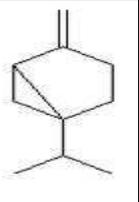
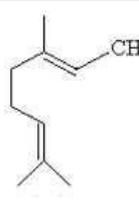
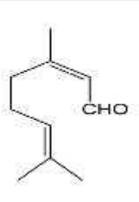
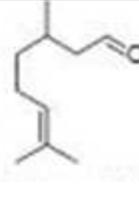
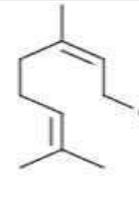
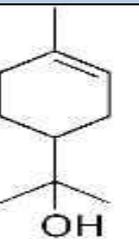
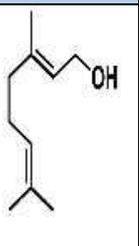
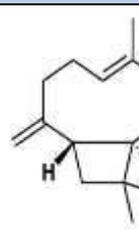
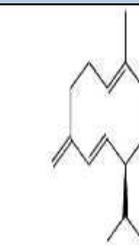
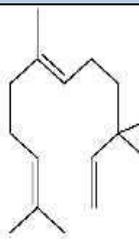
Matériels et méthodes

Tableau 04. Principaux constituants des huiles essentielles de *L.citriodora* (Eberhard, 1984 ; Botrel, 2001).

Monoterpènes	Limonène, Sabinène
Aldéhydes terpéniques	Géranial, néral, citronnellal
Alcools monoterpéniques	Nérol, α -terpinéol, géraniol
Sesquiterpènes	α -curcuméne, β -caryophyllène, bicyclogermacrène, β -curcuméne, germacrène
Sesquiterpénols	Spathuléol, Nérolidol
Esters terpéniques	acétate de géranyle
Oxydes terpéniques	1,8-cinéole, Caryophyllèneoxyde

Les structures chimiques des composés identifiés dans les huiles de *L.citriodora* sont représentées par le tableau 05

Tableau 05. Structures chimique des composés identifiés dans les huiles essentielles de la verveine (Eberhard, 1984 ; Botrel, 2001).

					
Limonène	sabinène	Géranial	Néral	Citronnellal	Nérol
					
α -terpeneol	géraniol	β -caryophyllène	Germacrène	Nérolidol	1,8- cinéole

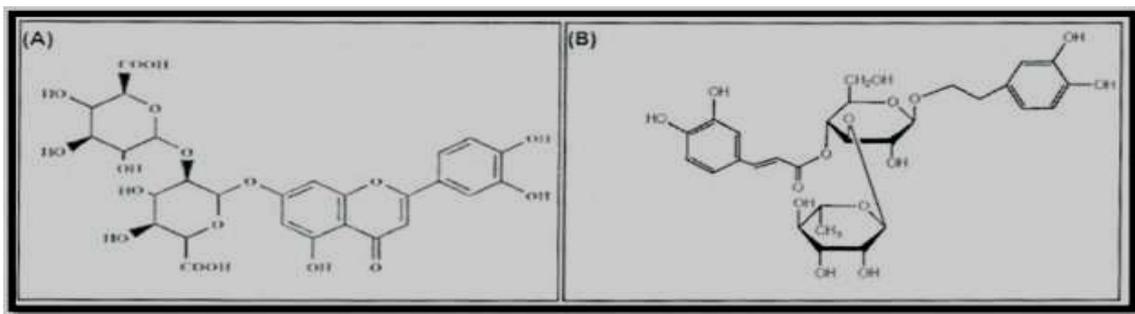
1.1.8. Composition en polyphénols de l'infusé de *L. citriodora*

Bien que l'infusé de feuilles de la verveine odorante soit largement consommé, sa composition qualitative et quantitative en polyphénols est encore mal connue. Une première analyse de sa composition avait été réalisée au laboratoire par Carnat et *al.* 1999 Cette étude rapportent la présence dans l'infusé de flavonoïdes, principalement la lutéoline 7- diglucuronide, et de dérivés hydroxycinnamiques dont le principal est le verbascoside.

Matériels et méthodes

Récemment, des études ont identifié dans l'infusion de verveine odorante, outre la lutéoline 7-diglucuronide et le verbascoside, des dérivés diglucuronidés d'apigénine et de chrysoériol ainsi qu'un isomère du verbascoside, l'isoverbascoside (Fig. 07).

Par ailleurs, l'instabilité du verbascoside et de son isomère à la chaleur a été soulignée. D'un point de vue quantitatif, la concentration en polyphénols de l'infusion de verveine odorante a été évaluée à 675 mg/L dont 24% de flavonoïdes et 76% d'acides phénoliques. La teneur des deux principaux constituants, lutéoline 7-diglucuronide et verbascoside, est respectivement de 100 mg/L et 500 mg/L (Carnat *et al.*, 1999).



Fi

gure 07. Structure des principaux polyphénols présents dans l'infusé de la verveine odorante (A) lutéoline 7-diglucuronide ; (B) verbascoside (Carnat *et al.*, 1999).

1.1.9. Usage de la verveine

A. Phytothérapie

Le genre *Lippia* comprend environ 200 espèces d'herbes, arbustes et arbrisseaux. La plupart des espèces sont traditionnellement utilisées comme remèdes gastro-intestinaux et respiratoires. Les parties utilisées de la plante sont les feuilles, les parties aériennes et les fleurs. L'infusé de feuilles de verveine odorante est consommé traditionnellement dans l'ensemble de l'Amérique centrale et de l'Amérique du sud, en Afrique tropicale et dans certains pays européens comme traitement gastro-intestinal et sont considérées comme particulièrement efficace pour le traitement des douleurs stomacales et l'indigestion. La verveine odorante peut également être consommée pour ses propriétés antispasmodiques ainsi que pour lutter contre la fièvre. Les feuilles peuvent également être utilisées comme assaisonnement dans certaines préparations culinaires (Pascual *et al.*, 2007).

Elle est agréable à boire et s'emploie surtout dans les digestions difficiles, les indigestions, les ballonnements, les brûlures d'estomac (Pascual *et al.*, 2007; Saidi, 2013). La verveine odorante est également utilisée contre les états nerveux, les palpitations, les migraines, les bourdonnements d'oreille et les vertiges (Saidi, 2013). L'huile essentielle est

Matériels et méthodes

également utilisée en compresses pour le soin de plaies difficiles à cicatriser (Eberhard et *al.*, 1984).

B. Alimentation

Les feuilles de verveine, fraîches et finement hachées, servent en petites quantités pour agrémenter des salades de fruits ou de légumes, les desserts, les sauces pour flans, les gâteaux, les crèmes aux œufs, les tartes aux fruits et les boissons rafraichissantes. Les feuilles séchées, ajoutées à une dose de sucre, lui confèrent un arôme agréable (Eberhard et *al.*, 1984).

1.2. Huiles essentielles

1.2.1 Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles, appelés aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal (Padrini et Lucheroni, 1996). Pour la 8ème édition de la pharmacopée française (1965), les huiles essentielles sont: «des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenu dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation» (Bruneton, 1993). Elles sont odorantes et très volatiles, c'est –à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air (Padrini et Lucheroni, 1996). Il est important de faire une différence entre les huiles essentielles et les huiles végétales. Les huiles essentielles sont obtenues par expression (réservée aux agrumes) ou par distillation à la vapeur d'eau, Une huile végétale est obtenue par pression, et est constituée majoritairement de corps gras (Binet et Brunel, 2000; Chaker, 2010).

1.2.2. Localisation

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes de la plante, par exemples: dans les sommités fleuries (menthe, lavande) les feuilles (eucalyptus, laurier) les rhizomes (gingembre) les fruits (agrumes, badiane, anis), les racines (vétiver), les graines (muscades), bien que cela soit moins habituel dans des écorces (cannelier) (Yahyaoui, 2005). Elles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante. Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules ou

Matériels et méthodes

seras semblent sous formes de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles (Bouamer et *al.*, 2004).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologique spécialisés, souvent localisée sur ou à proximité de la surface de la plante qui sont : cellules à huiles essentielles de Lauraceae, les poils sécréteurs des Laminaceae (Fig.09), poches sécrétrices des Myrtaceae, des Rutaceae, et les Laminaceae, et les canaux sécréteurs (Fig.08) qui existent dans de nombreuses familles. Il est intéressant de remarques que les organes d'une même espèce peuvent renfermer des huiles essentielles de composition différente selon la localisation dans la plante (Belkou et *al.*, 2005).

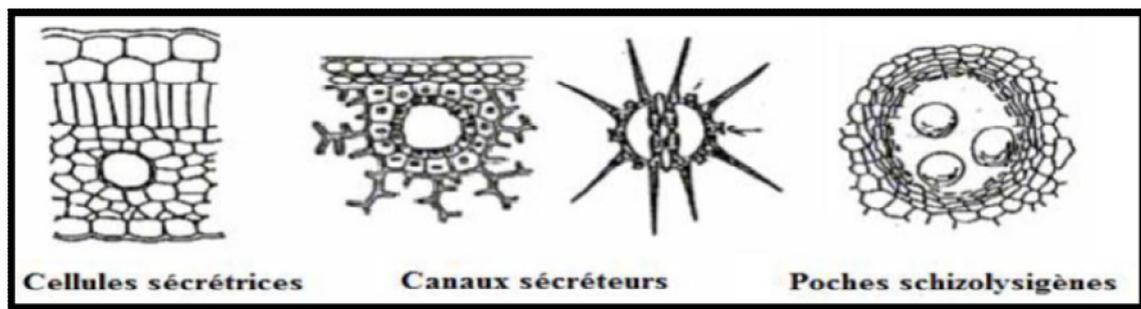


Figure 08. Quelques organes sécréteurs d'huiles essentielles (Tayoub et *al.*, 2006).

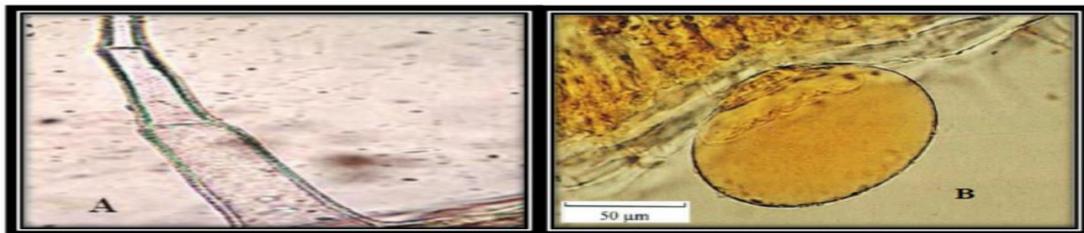


Figure 09. (A): Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles, poil sécréteur (Khenaka, 2011). **(B):** illustration schématique du développement de la glande productrice d'huile essentielle (Gaspar et Jeeke, 2004).

1.2.3. Propriétés et caractéristiques des huiles essentielles

Selon Bardeau, (1976), Legrand, (1978), Lemberg, (1982), et Bruneton, (1999), les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques:

- ❖ Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elles communiquent leur odeur.
- ❖ Leur point d'ébullition varie de 160°C à 240°C.

Matériels et méthodes

- ❖ Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99.
- ❖ Elles ont un indice de réfraction élevé.
- ❖ Elles ont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sur la lumière polarisée.
- ❖ Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et elles réduisent certains sels.
- ❖ Ce sont de parfums, et sont une conservation limitée.
- ❖ Sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas).
- ❖ Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, très odorantes et volatiles.
- ❖ A température ambiante, elles sont généralement limpides.
- ❖ Ce sont des produits stimulants, employés à l'intérieur, comme à l'extérieur du corps, quelquefois purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou un solvant adapté (Abdelouahid et Bekhechi, 2010).

1.2.4. Rôles physiologiques

Les plantes aromatiques produisent des huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante reste inconnu (Rai et *al.*, 2003). Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, conservent l'humidité des plantes dans les climats désertiques (Belaiche, 1979). Certaines huiles essentielles servent à la défense des plantes contre les herbivores, insectes et micro-organismes (Capo et *al.*, 1990).

1.2.5. Etude de l'anatomie de plante étudiée

1.2.5.1. Echantillonnage

Quant aux feuilles, nous avons prélevé des feuilles jeunes à proximité des bourgeons. Aussitôt prélevés, les échantillons ont été mis dans l'eau distillée et transférés au laboratoire, afin d'éviter leur dessèchement.

1.2.5.2. Réalisation des coupes anatomiques et coloration

Nous avons réalisé les coupes, au niveau de la structure primaire, selon la technique manuelle, dite, à main levée. Puis nous avons procédé à la coloration des sujets, selon la technique de la double coloration conformément aux étapes suivantes (Zaffran, 1998):

Matériels et méthodes

- A.** A l'aide d'une lame de rasoir, nous avons découpés les sections d'organes étudiés, en plusieurs tranches fines. Puis, nous avons choisi parmi elles, les plus fines et conformes.
- B.** Les tranches obtenues ont été mis dans un verre de montre, contenant de l'eau de javel (détruire le contenu cellulaire et préserve les parois pecto-cellulosiques).
- c.** En suites, elles sont transférées ver un 2ème verre de montre contenant de l'eau distillée (élimination de l'eau de javel en excès).
- D.** Puis, elles sont mises dans un 3ème verre de montre contenant de l'acide acétique (1%), pendant 2 minutes (élimination de toute trace de l'eau de javel).
- E.** On procède à la coloration des coupes dans un 4ème verre de montre contenant du rouge Congo et vert de méthyle.
- F.** Après coloration, les échantillons sont mis dans de l'alcool (70%) (Remplace l'eau contenue dans les cellules et conserve ainsi les coupe obtenues).

1.2.5.3. Visualisation et photographie

Après avoir mis les échantillons entre lame et lamelle, dans une goutte de glycérine, nous avons procédé à la visualisation sous microscopique optique. Ce dernier est équipé d'appareil photo couleur, avec laquelle, nous avons réalisé les prises de photos des coupes.

1.2.6. Extraction des huiles essentielles de *Lippia citriodora*

1.2.6.1. Matériel végétal



Figure 10. Les feuilles sèches de *Lippia citriodora* (photo personnel).

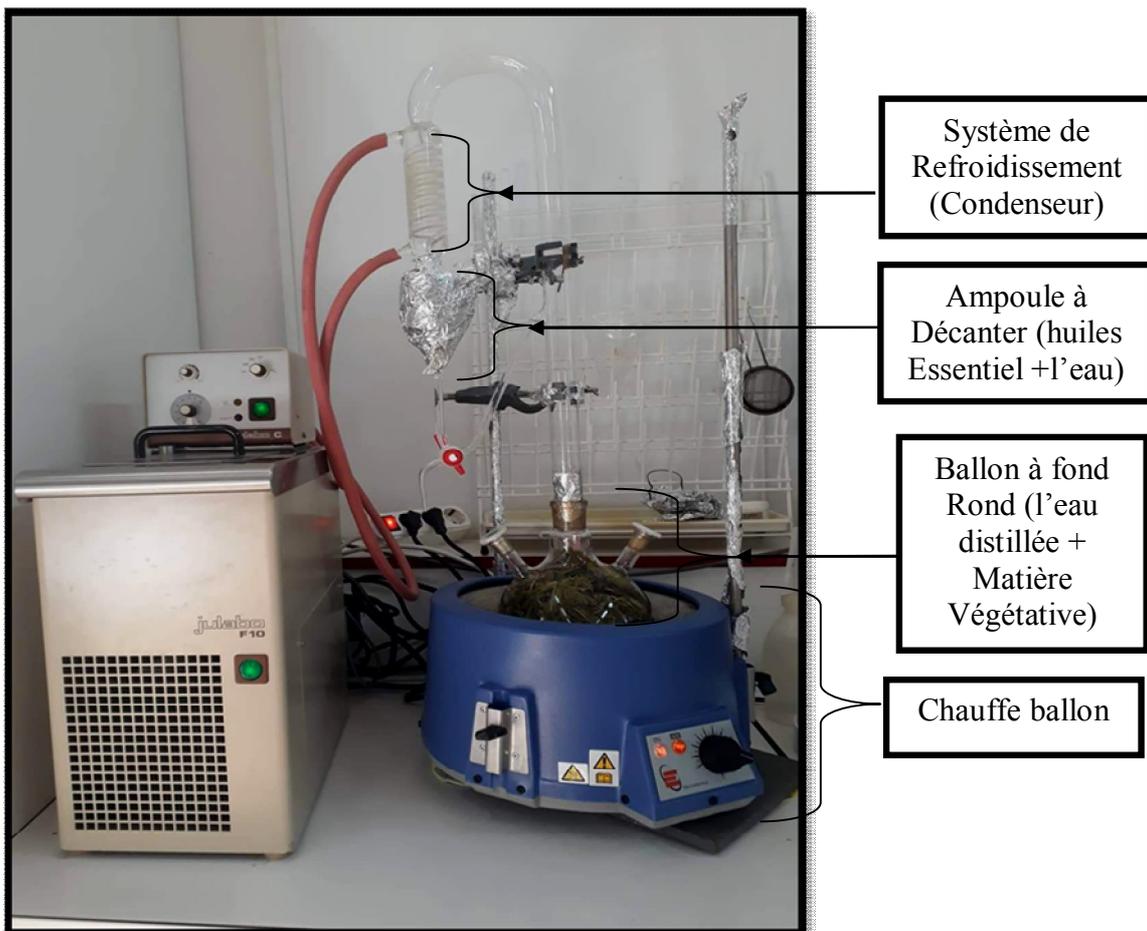
1.2.6.2. Extraction des HEs de *Lippia citriodora* par hydrodistillation

Le principe de l'hydrodistillation consiste à immerger la matière végétale (Fig.10) dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur (Fig.11). Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange qui est condensé dans un réfrigérant. Par conséquent les huiles essentielles se séparent de

Matériels et méthodes

l'eau par différence de densité. Les eaux aromatiques ainsi prélevées sont ensuite recyclées dans l'hydrodistillateur par le cohobage (Fellah et Mouaici, 2014).

❖ L'extraction dure 2 h après recouvrement de l'ampoule à décanter par une feuille d'aluminium, à la fin de l'extraction les huiles recueillies par décantation avec présence de sulfate de sodium pour éliminer les traces d'eau résiduelles, les huiles essentielles de verveine sont conservées dans des flacons hermétiques à l'abri de lumière et une température de 4°C pour éviter toute dégradation de l'essence.



1.2.7. Rendement des huiles essentielles

Lors de l'extraction des HEs plusieurs phénomènes sont à la base d'échanger de matière entre la phase solide, liquide et vapeur d'où l'influence d'un grand nombre de paramètres sur la qualité et le rendement de la production de ces essences végétales (Fig.12) (Naouel et al., 2015).

Le rendement des HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'essence obtenue et la masse de la matière végétale sèche utilisée (Belyagoubi-Larbi, 2006).

Matériels et méthodes

❖ Calcul du rendement

$$\Rightarrow \text{RHE (\%)} = (\text{MHE} / \text{MS}) \times 100$$

RHE : Rendement en HE (%).

MHE: masse d'HE récupérée exprimé en g.

MS: la quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

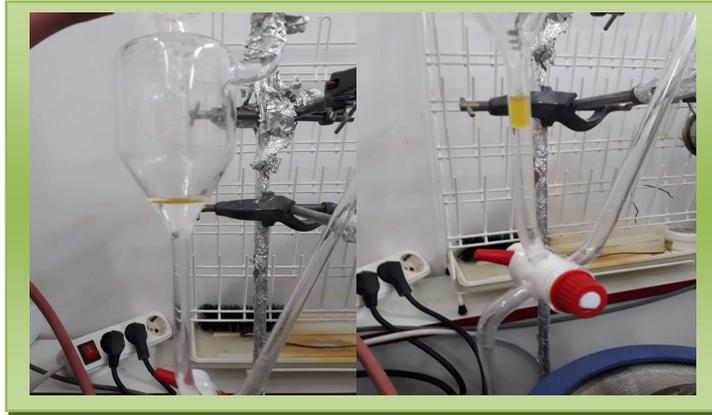


Figure 12. Rendement des huiles essentiel de *Lippia citriodora* (photo personnelle).

1.3. Présentation de moustique

1.3.1. Généralités sur les *Culicidae*

Les moustiques appartiennent au règne animal, au sous-règne des métazoaires ou animaux formés de plusieurs cellules, à l'embranchement des arthropodes et à la classe des insectes. Ces insectes ptérygotes (sous-classe) ou à métamorphose plus ou moins complète, et de l'ordre des diptères sont caractérisés par deux paires d'ailes dont la deuxième est transformé en haltère (Qutubuddin, 1960; Stoll et *al.*, 1961; Stone et *al.*, 1959). C'est au sous-ordre des nématocères (pièces buccales modifiées pour piquer ou sucer), à la famille des *culicidae* qu'appartiennent les moustiques. Ils se distinguent des autres nématocères piqueurs par leur trompe longue et la présence d'écailles sur les nervures des ailes. Leur développement comme celui de tout insecte à métamorphose complète (holométabole) se déroule en deux phases à savoir (Roth, 1980).

- ❖ La phase aquatique regroupant: l'œuf, les quatre stades larvaires et la nymphe.
- ❖ La phase aérienne qui concerne l'adulte ailé ou imago.

Matériels et méthodes

1.3.2. Présentation de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*

1.3.2.1. Définition de *Culex pipiens*

Culex pipiens est un moustique qui appartient à une variété dite commune de moustiques (*Culex*) européens. Il est également nommé maringouin, cousin ou moustique domestique. Il existe des sous-espèces de *Cx pipiens*. Tout comme chez les autres espèces de moustiques, c'est la femelle qui pique pour produire ses œufs. Le sang consommé est donc indispensable à la reproduction de cette espèce (Fig.13). Pour lutter contre ce moustique on utilise des insecticides ou la réintroduction de prédateurs naturels (Pierrick, 2014).



Figure 13. Photo d'une femelle de *Cx. pipiens* lors d'un repas de sang (Balenghien, 2006).

1.3.2.2. Caractéristiques de *Culex pipiens*

Culex possède les principales caractéristiques:

- ❖ palpes allongés chez le male (plus longs que la trompe) et légèrement recourbes vers le haut.
- ❖ palpes plus courts que la trompe chez la femelle (environ un quart de sa taille).
- ❖ au repos, l'abdomen des adultes est quasiment parallèle au support.
- ❖ larves avec antennes allongées, siphon respiratoire des larves long.
- ❖ Comprenant presque 800 espèces, on retrouve les *Culex* dans de nombreuses régions du globe, notamment dans les régions tropicales, en Australie et en Europe (Bussieras et Chermette, 1991).
- ❖ *Cx pipiens* est une espèce relativement commune en France, et surtout en région méditerranéenne.
- ❖ On la retrouve également dans toutes les régions tempérées de l'hémisphère nord (Wall et Shearer, 1992).

Matériels et méthodes

1.3.2.3. Position systématique de *Culex pipiens*

La position systématique de *Culex pipiens* et la suivante :

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

1.3.2.4. Définition de *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 à 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).

1.3.2.5. Caractéristiques de *Culiseta longiareolata*

- ❖ *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 (Brunhes *et al.*, 1999).
- ❖ Les œufs de *culiseta* groupés en nacelle sont cylindro-coniques, porte environ 50 à 400 œufs (Boulkenafete, 2006).
- ❖ Les femelles sont sténogrammes et autogènes. Elles piquent de préférence les vertébrés surtout les oiseaux, très rarement l'humain, l'espèce est considérée comme un vecteur de Plasmodium d'oiseau.
- ❖ La larve est caractérisée par un peigne siphonal dont ses dents sont implantées irrégulièrement.

Matériels et méthodes

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

1.3.2.6. Position systématique de *Culiseta longiareolata*

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

1.3.2.7. Cycle de développement

Les moustiques sont des insectes holométaboles, passent par plusieurs stades de développement. Les premiers stades du développement représentés par les œufs, les larves et les nymphes sont aquatiques, cependant le stade adulte à une vie aérienne (Fig.14). La femelle adulte est hématophage, après son émergence d'une durée estimée à 24-72h, pique les vertébrés pour sucer leur sang contenant des protéines nécessaires à la maturation des œufs (Klowden, 1990). Pendant la piqûre, la femelle injecte de la salive anticoagulante qui provoque, chez l'homme, une réaction inflammatoire plus ou moins importante selon les individus (Reinert, 2000).

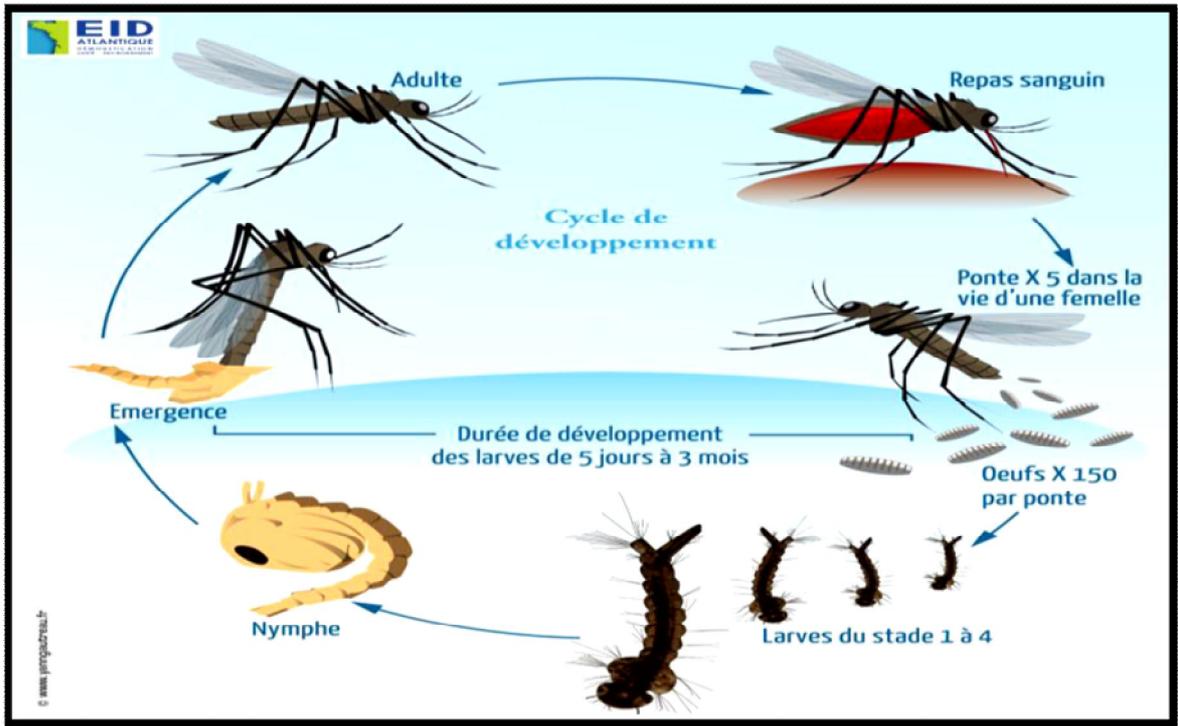


Figure 14 : Cycle de vie d'un moustique (EID Atlantique, 2014).

A. Œufs

Les femelles pondent de nombreux œufs de ce qu'on appelle des radeaux sur la surface des gîtes différents (bassins, mers, étangs, canaux, citernes, eau de pluie...), dont l'état de l'eau est toujours stagnant et riche en matières organiques (Paul, 2009). Les œufs sont fusiformes, ils ont une taille de 0.5 à 1mm (Peterson, 1980). Une Corolla est présent au niveau du pole inferieur de l'œuf (Fig.15), réunis par 200 à 400 en nacelle dont l'arrangement leur permet d'être insubmersibles (Anonyme). Normalement, les œufs sont blancs lors de la première déposée, puis foncés et noirs après un jour. Les œufs éclosent d'un à trois jours en fonction de la température (Rodain et Perez, 1985).



Figure 15. Œufs de moustique : (A) *Culex pipiens* (Balenghien, 2007), (B) *Culiseta longiareolata* (Berrak, 2009).

B. Larve

Le développement des larves à ce stade est exclusivement aquatique, et leur évolution comporte quatre stades (Boulkenafet, 2006). D'aspect vermiforme, son corps se divise en

Matériels et méthodes

trois segments: tête, thorax trapu et dépourvu d'appendices locomoteurs, abdomen souple. Sa taille varie de 2mm à 12mm en moyenne en fonction des stades (Fig. 16). Les larves vivent environ 10 jours (Peterson, 1980). Elle est dépourvue d'appareil locomoteur, ce qui ne signifie pas qu'elle soit immobile. Son extrémité caudale est munie d'un siphon, ou tube respiratoire, long et étroit affleurant à la surface de l'eau; ce tube est muni de 5 clapets qui s'ouvrent sur deux orifices par où l'air pénètre à l'intérieur quand la larve monte à la surface de l'eau, et se rabattent quand elle gagne les profondeurs (Kettle, 1995 et Andreo, 2003).

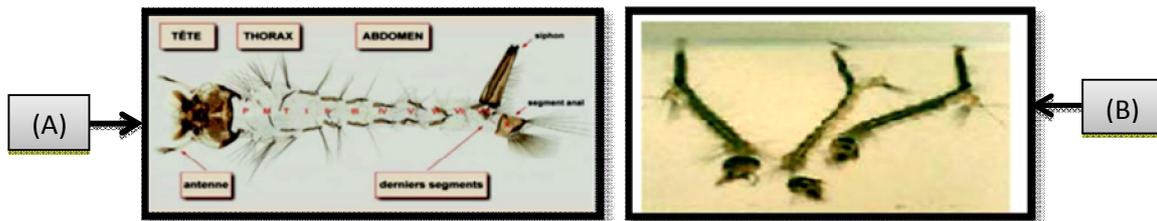


Figure 16. Larve de moustique : (A) *Culex pipiens* (Brunhes et al., 1999), (B) *Culiseta longiareolata* (Berrak, 2009).

C. Nymphe

La nymphe ou pupa est en forme de virgule, mobile, présente un céphalothorax fortement renflé avec deux trompettes respiratoires (Fig.17) (Boulkenafet, 2006). La nymphe, également aquatique, éphémère (de 1 à 5 jours), ne se nourrit pas. Il s'agit d'un stade de transition, au métabolisme extrêmement actif, au cours duquel l'insecte subit de profondes transformations morphologiques et physiologiques préparant le stade adulte (Peterson, 1980).

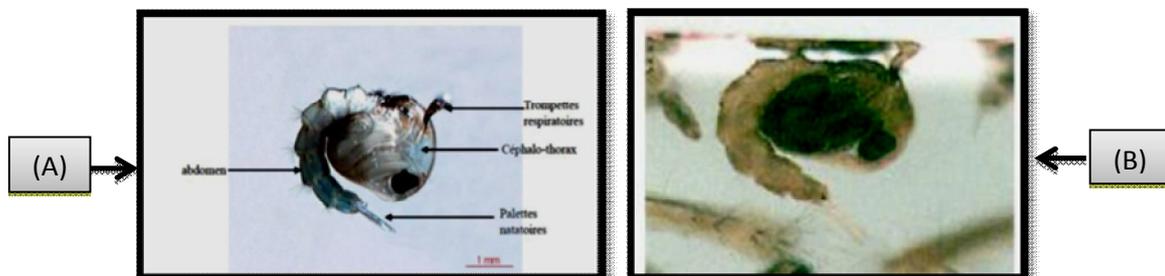


Figure 17. Aspect général d'une nymphe : (A) *Culex pipiens* (Berchi, 2000), (B) *Culiseta longiareolata* (Berrak, 2009).

D. Adulte

L'adulte, une fois métamorphosé, provoque une cassure au niveau de la tête nymphale et émerge à la surface de l'eau (Fig.18). Les mâles atteignent leur maturité sexuelle au bout d'un jour alors que les femelles l'atteignent au bout de 1 à 2 jours (Clements, 1999). Les moustiques, comme beaucoup d'insectes se nourrissent de nectar, source d'énergie. Seules les femelles sont hémaphages; elles n'ont pas besoin de sang pour leur propre survie mais en retirent les protéines nécessaires à la maturation de leurs œufs. La fécondation des œufs s'effectue lors de la ponte grâce au stockage du sperme des mâles par la femelle dans une spermathèque. En général, la durée de vie des moustiques adultes varie d'une semaine à plus d'une trentaine de jours. Deux éléments permettent de distinguer le mâle de la femelle à l'œil nu; les palpes maxillaires sont très courts et effilés chez la femelle, contrairement au mâle où ils sont plus longs que la trompe et ses antennes sont plus développées et très poilues (Urquhart *et al.*, 1996; Euzeby, 2008).

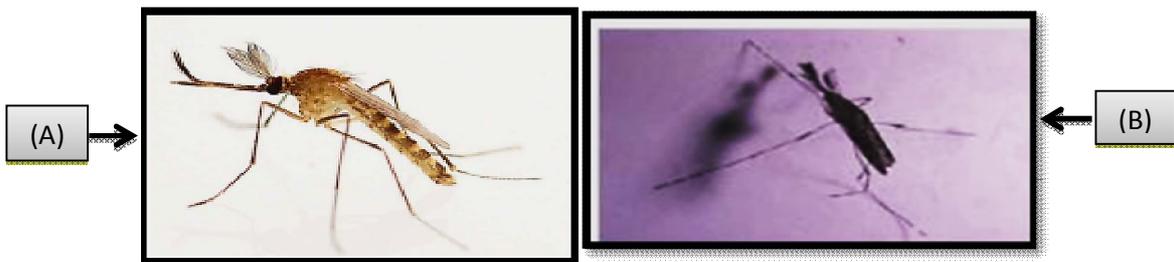


Figure 18. Adulte de moustique : (A) *culex pipiens* (Balenghien, 2007), (B) *Culiseta longiareolata* (Berrak, 2009).

1.3.2.8. Techniques d'élevage

La collecte des œufs et des larves de *culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* a été faite au niveau de la pépinière de la région d'El Hammamet (Fig.19). Les larves sont maintenues en élevage au laboratoire de la faculté dans des récipients en plastique contenant 150ml d'eau déchlorurée à une température ambiante et nourries avec du mélange préparé par 75% biscuit et de 25% levure, l'eau et renouvelée chaque deux jour (Rehimi *et al.*, 1999). Lorsque les larves, atteignent le stade nymphal, elles sont placées dans des récipients et déposées dans des cages où elle se transformeront en adulte qui se nourrit de raisin sec et de date.

Matériels et méthodes



Figure 19. Site d'élevage (Hammamet).

1.4. Traitement

Nous avons préparé une solution d'huile essentielle dans le méthanol, Deux doses correspondant à la (10,78 ppm) pour CL25 et (18,19 ppm) pour CL50 pour les L3 de *Culex pipiens* et (6,176 ppm) pour CL25 et (10,36 ppm) pour CL50 pour les L3 de *Culiseta longiareolata*, après l'agitation 1ml de chaque solution préparée ont été appliquées dans des récipients contenant 150 ml d'eau déchloruré et 10 larves du troisième stade nouvellement exuvies de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* selon la recommandation de l'organisation Mondiale de la Santé (Anonyme, 1983). Après 24 h de traitement, les larves sont rincées et placées dans de nouveaux récipients contenant de l'eau propre et de la nourriture.

1.5. Détermination de la durée de développement

L'effet de l'HE de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le développement des deux espèces de moustiques testées a été évalué. Ainsi, les durées de développement du troisième et quatrième stade larvaire et nymphale ont été calculées pour les insectes survivants. Les larves de troisième stades nouvellement exuviées témoins et traitées (n = 30 pour chaque concentration) ont été placés en groupes de 10 individus dans les mêmes conditions d'élevage en masse et la nourriture a été distribuée tous les jours (environ 0,09 mg). Le développement a été suivi chaque jour jusqu'à émergence des adultes.

Les larves et les nymphes mortes et les adultes morts sont conservés dans des flacons contenant de l'éthanol afin de déterminer les anomalies morphologiques.

1.6. Analyse statistique

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

Résultats

Résultats

2. Résultats

2.1. Anatomie des feuilles de *Lippia citriodora*

L'observation microscopique des coupes anatomiques transversales, faites au niveau des feuilles de *Lippia citriodora* (Fig. 20, 21 et 22).

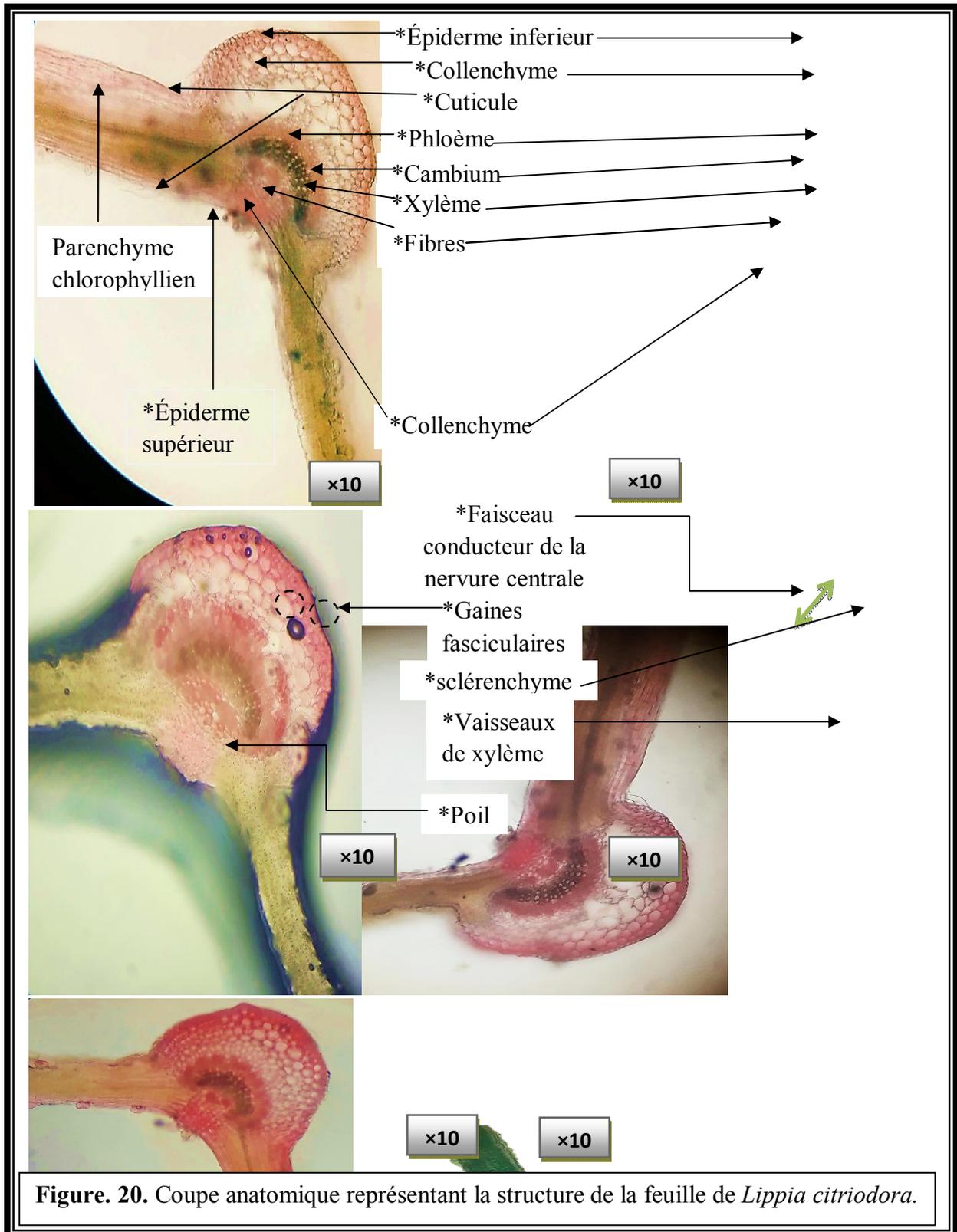
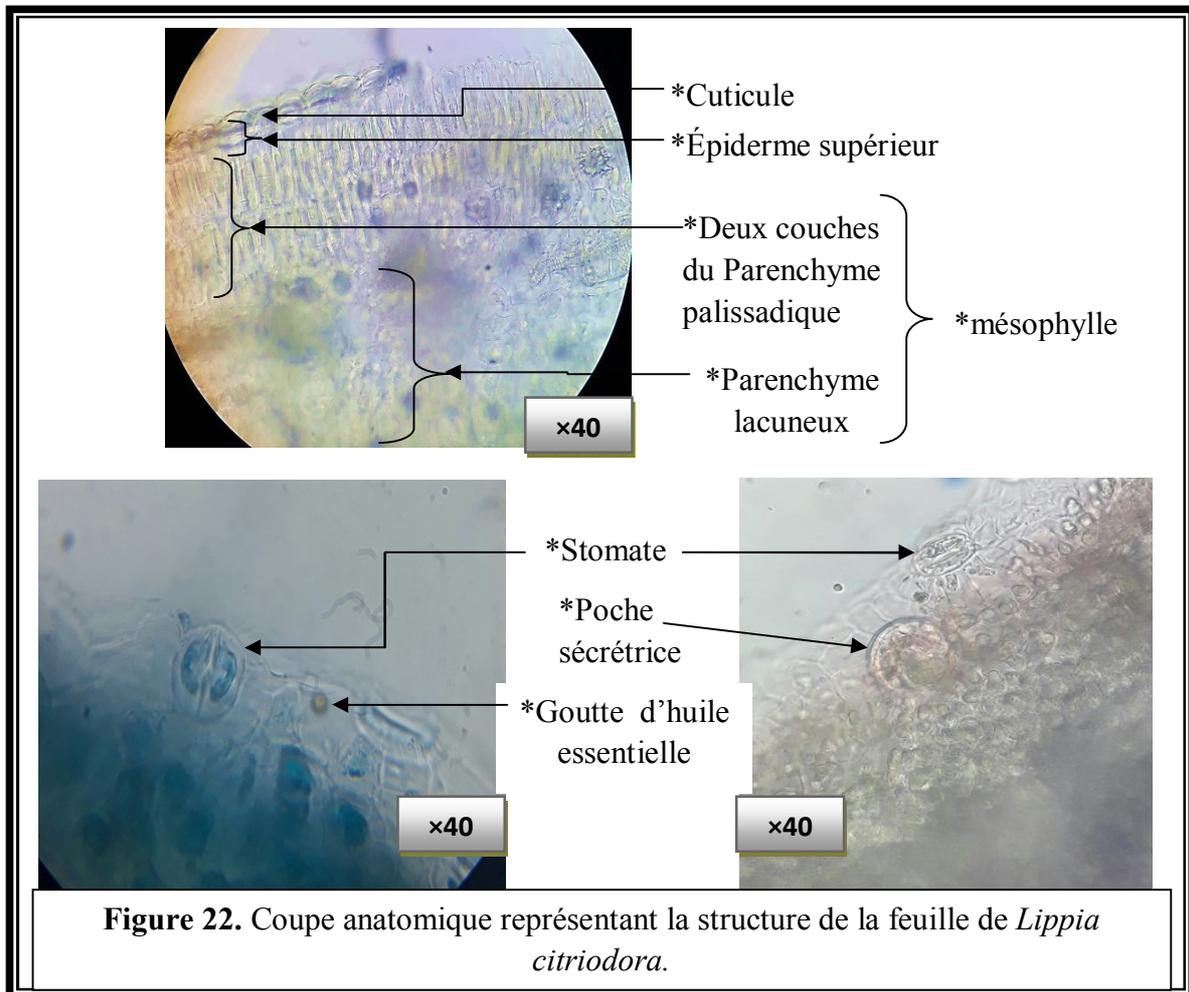
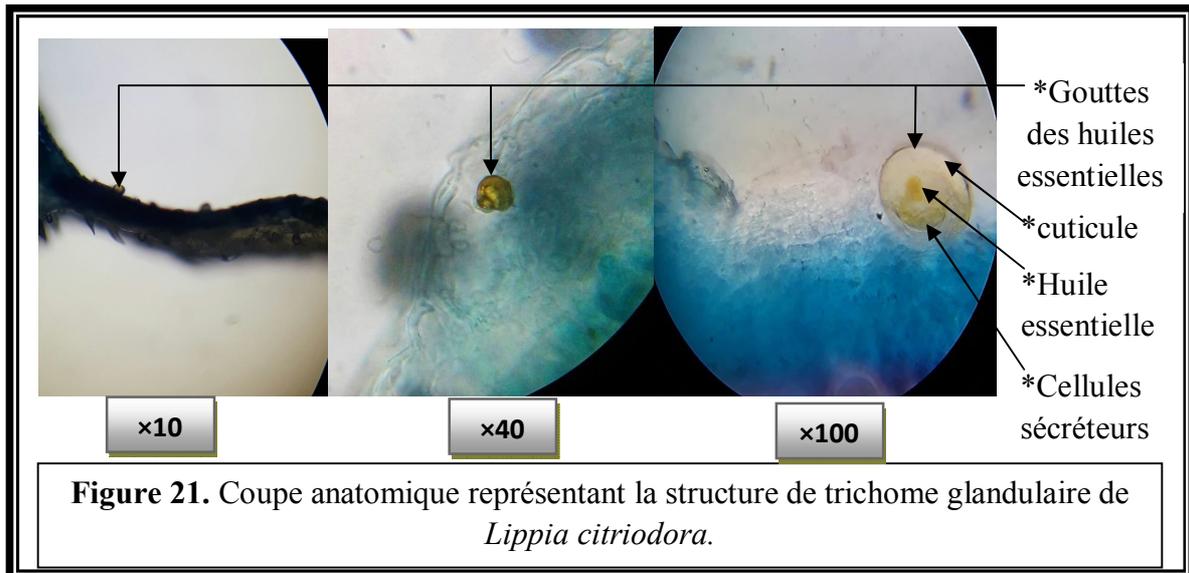


Figure. 20. Coupe anatomique représentant la structure de la feuille de *Lippia citriodora*.

Résultats



2.2. Rendement en huile essentielle de *Lippia citriodora*

L'huile essentielle de *Lippia citriodora* obtenue par un hydrodistillateur de type Clevenger est avec un rendement de $0,26 \pm 0,12$ de la matière sèche de la feuille de la plante.

Résultats

Tableau 06. Les résultats des rendements les huiles essentielles de *Lippia citriodora*.

Extrait	Rendement (%)
01	0.44
02	0.20
03	0.16
04	0.25
Moyenne	0.26
Écart-type	± 0.12

Cette huile essentielle est caractérisée par ces caractères organoleptiques tels que : l'odeur, l'aspect physique et la couleur.

Tableau 07. Caractéristiques organoleptiques de l'HE de *Lippia citriodora*.

HE de <i>Lippia citriodora</i>	Caractéristique organoleptique			
	Aspect	Couleur	Odeur	Saveur
	Liquide	Jaune	Agréable	
	Mobile		Citronnée	Douce

2.3. Effet de l'H.E extraite de *Lippia citriodora* sur la durée de développement de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*

* Sur la durée de développement de *Culiseta longiareolata*

Les résultats la durée de développement de *Culiseta longiareolata* sont mentionnés dans le tableau. Les valeurs affichent une différence non significative ($p = 0,0787$) entre la série témoin et les deux séries traitées chez les larves de troisième stade, et une augmentation de la durée de développement lorsqu'on compare entre les trois séries chez les larves de quatrième stade et les nymphes ($p = 0,0404$) et ($p = 0,0187$) respectivement du contenu en protéines aussi bien chez les séries témoins que chez les séries traitées de 24h et 48h.

Le test de dunnett révèle une augmentation significative de la durée de développement chez les séries traitées à la CL50 comparativement aux témoins et traitées à la CL25 pour le stade L4 et le stade nymphale.

Résultats

Tableau 08 : Effet de l'H.E extraite de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur la durée de développement (Nbr des jours) de *Culiseta longiareolata* à différents stades ($m \pm sd$, $n= 30$ répétitions comportant chacune 10 individus). Comparaison des moyennes entre les différentes séries (lettres minuscules).

Stades	Témoin	CL25	CL50
L3	4,00 ± 1,00 a	4,00 ± 1,00 a	6,00 ± 1,00 a
L4	5,50 ± 1,29 a	7,00 ± 1,58 a	8,50 ± 1,29 b
Nymphe	8,50 ± 1,29 a	8,50 ± 1,87 a	11,60 ± 2,07 b

* Sur la durée de développement de *Culex pipiens*

L'analyse de la variance de la durée de développement de *Culex pipiens* montre une différence non significative entre les trois séries pour le troisième et le quatrième stade larvaire ($p = 0,1202$) et ($p = 0,4907$) respectivement et une augmentation significative entre les entre les séries témoins et traitées pour le stade nymphale ($p = 0,0183$).

La comparaison multiple des moyennes révèle une augmentation significative de la durée de développement des nymphes de *Culex pipiens* pour la série traitée à la CL50.

Tableau 09 : Effet de l'H.E extraite de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur la durée de développement (Nbr des jours) de *Culex pipiens* à différents stades ($m \pm sd$, $n= 30$ répétitions comportant chacune 10 individus). Comparaison des moyennes entre les différentes séries (lettres minuscules).

Stades	Témoin	CL25	CL50
L3	3,50 ± 0,70 a	3,50 ± 0,70 a	5,50 ± 1,29 a
L4	4,00 ± 1,00 a	4,00 ± 1,00 a	5,00 ± 1,58 a
Nymphe	4,50 ± 1,29 a	6,00 ± 2,16 a	8,50 ± 2,44 b

2.4. Effet de l'H.E extraite de *Lippia citriodora* sur le ratio sexe de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*

* Sur le ratio sexe de *Culiseta longiareolata*

Le tableau ci-dessous présente l'effet de l'H.E extraite de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le ratio sexe chez les adultes de *Culiseta longiareolata*, on remarque une augmentation de nombre des adultes males par rapport au nombre des adultes femelles, lorsqu'on compare entre la série témoin et la série traitée à la CL25 et à la CL50.

Résultats

Tableau 10 : Effet de l'H.E extraite de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le ratio sexe chez les adultes de *Culiseta longiareolata*.

Séries	Ratio sexe (Male/Femelle)
Témoin	0,05/0,95
CL25	0,41/0,59
CL50	0,39/0,61

* Sur le ratio sexe de *Culex pipiens*

Les résultats obtenus montrent une augmentation de nombres des adultes males par rapport au nombre des adultes femelles, chez les séries traitées à la CL25 et à la CL50

Tableau 11 : Effet de l'H.E extraite de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le ratio sexe chez les adultes de *Culex pipiens*.

Séries	Ratio sexe (Male/Femelle)
Témoin	0,10/0,90
CL25	0,64/0,36
CL50	0,63/0,37

2.5. Anomalies morphologiques

L'examen des larves du troisième stade de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* après traitement aux H.E de *Lippia citriodora*, révèle des aberrations morphologiques telles que le blocage de l'exuviation nymphale, la diminution de la taille des larves et des pupes, de plus, autres malformation se manifestent, telles que la perte de l'un des deux ailes, et la déformation de la tube digestif (Fig. 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32).



Figure 23. Échec de la mue (larve-pupe) chez *Cx pipiens*.



Figure 24. Échec de la mue (pupe – adulte) chez *Cx pipiens*.

Résultats



Figure 25. Malformation de la larve chez *Cx pipiens*.



Figure 26. Taille réduite d'une larve 4 chez *Cx pipiens*.

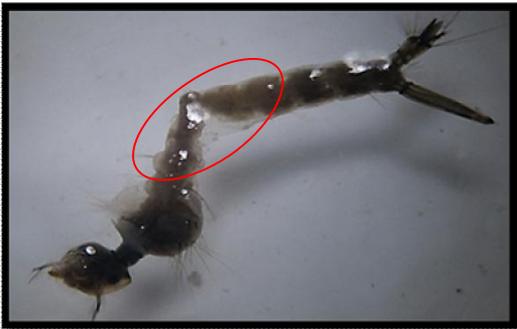


Figure 27. Malformation de la larve chez *Cx pipiens*.

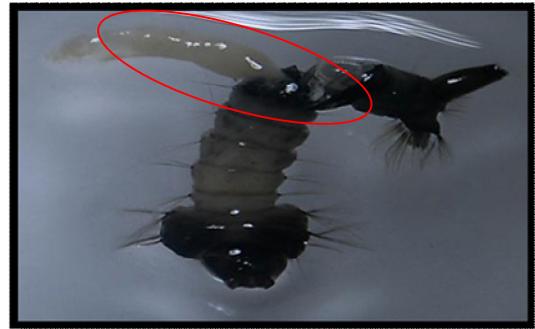


Figure 28. Malformation touchant le Tube digestif chez *Cs longiareolata*.

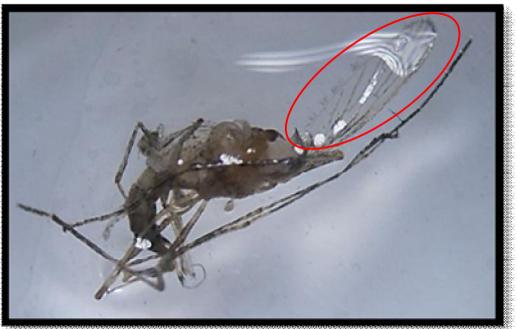


Figure 29. Malformation en aile (absence d'une aile) chez *Cs longiareolata*.



Figure 30. Réduction de la taille de la larve chez *Cs longiareolata*.



Figure 31. Réduction de la taille de la puppe chez *Cs longiareolata*.



Figure 32. Réduction de la taille de la puppe chez *Cs longiareolata*.

Discussion

Discussion

3. Discussion

3.1. Etude de l'anatomie des feuilles de *Lippia citriodora*

L'observation microscopique des coupes anatomiques transversales, faites au niveau des feuilles de *Lippia citriodora*, ces coupes montrent la présence de différentes parties de l'extérieur vers l'intérieur telle que l'épiderme inférieur, le collenchyme, le phloème, le cambium, le xylème et les fibres.

En effet, les feuilles de cette espèce sont opposées rudes, courtement pétiolées et lancéolées, rugueuses. De l'extérieur vers l'intérieur, deux épidermes, l'épiderme inférieur et supérieur recouverts de cuticule, substance cireuse qui est imperméable à l'eau et à l'air, nervature réticulée, stomates plus nombreux sur la face mésophylle hétérogène qui est formé de deux parenchymes chlorophylliens, le parenchyme palissadique (riche en chloroplastes) vers la face supérieure et le parenchyme lacuneux vers la face inférieure. Les tissus conducteurs c'est des faisceaux criblovasculaires qui correspondent aux nervures dont la taille est différente. Une nervure principale très importante qui fait saillie vers la face inférieure, elle est formée de tissus conducteurs phloème est tournée vers le bas, et le xylème vers le haut, cambium et des fibres. Les tissus de soutien du collenchyme et du sclérenchyme sont présents au contact des épidermes (Web 2).

Les HEs sont largement répandus dans le règne végétal, elles sont réparties dans une 60 de Familles, et stockées dans tous les organes végétales, on distingue, les essences préformées et non préformées (Web 3).

Les coupes histologiques obtenues confirment la présence de l'HE dans le trichome glandulaire de *Lippia citriodora*, la couleur jaune des glandes montre que ces cellules sont encore pleines d'essence et retenue sous la cuticule de la glande.

La synthèse et l'accumulation des HEs sont assurées par des structures histologiques spécialisées, les cellules à huile essentielle (Lauracées – Zingibéracées), Poches sécrétrices (schizogènes: Myrtacées et Schizolysigènes: Rutacées). poil sécréteur de *menthapulegium*, trichome glandulaire de *menthapulegium*, trichome glandulaire de *lippiascaberrima* et structure de trichome glandulaire de *thymus vulgaris* (combrink et al.,2007; karray-bouraoui et al.,2009).

3.2. Rendement en huile essentielle de *Lippiacitriodora*

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (Csek, 1999). Ces extraits contiennent

Discussion

en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexe. Leur mécanisme d'action est mal connu et relativement peu d'études ont été réalisées à ce sujet (Isman, 2000).

Les biopesticide à base d'huile essentielle peuvent être des outils de choix dans les programmes de gestion de résistance ces biopesticides peuvent être utilisés seuls et à répétition sans potentiellement inciter le développement de la résistance chez les insectes Plusieurs facteur détermine, le rendement des plantes en huiles essentielles à savoir l'espèce de la plantes, l'aire de répartition géographique, la période de récolte, les pratiques cultural, la technique d'extraction, la température et la durée de séchage (Csek et *al.*, 1999).

Nous rappelons que le rendement d'extraction en huiles essentielles de *Lippia citriodora* été de $(0,26 \pm 0.12 \%)$ de la matière sèche de la feuille de la plante. Ce rendement est également supérieure comparativement à celui obtenus par Saidi (2014) $(0,1950 \pm 0,0311\%)$. D'autre part ce rendement prouve que quantitativement *Lippia citriodora* renferme moins d'essence que certaines plantes, il est moins élevé que celui de la rose $(0,1 - 0,35\%)$, et plus faible que celui la menthe poivrée $(0,5-1\%)$, le néroli $(0,5-1\%)$, l'anise $(1-3\%)$ et le thym $(2-2,75\%)$ (Koba et *al.*, 2009 ; Bencheqroun et *al.*, 2012).

Cette variation en huile essentielle, tant au niveau de leur composition, que rendement, peut s'expliquer par différents facteurs : d'origine intrinsèque, lié au bagage génétique de la plante ou extrinsèque, liés aux conditions de la croissance et du développement de la plante (in Bouguerra, 2012).

3.3. Effet de l'H.E extraite de *Lippia citriodora* sur la durée de développement de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*

Nos résultats montre que l'application de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* sur les larves du troisième stade nouvellement exuviés augmente la durée du développement des stades larvaires et du stade nymphale de *Culiseta longiareolata* et la durée du développement du stade nymphale de *Culex pipiens*.

Djehader (2014) a montré que l'insecticide chimique novaluron augmenté significativement la durée de développement des stades larvaires L3 et L4 et le stade nymphale de *Culex pipiens* traitées à la CL50 et à la CL90 en L3 et augmente aussi la durée de développement du stade larvaire L4 et du stade nymphale après l'application des mêmes concentrations létales sur des larves L4 nouvellement exuvies de *Culex pipiens*.

Discussion

La même conclusion a été enregistrée durant application de cet insecticide chimique à l'égard des *Culiseta longiareolata* (Bouaziz *et al.*, 2011). Des effets similaires sont indiqués chez plusieurs espèces, après traitement avec certains inhibiteurs de la synthèse de la chitine comme le chlorfluazuron (Mervat *et al.*, 2010; Behroozi *et al.*, 2011).

Aussi, l'hexaflumuron (Zhu *et al.*, 2011), le lufenuron (Salokhe *et al.*, 2010), le flucycloxuron (Khan et Qamar, 2011), ainsi que le triflumuron (Belinato *et al.*, 2009; Arora *et al.*, 2012). D'autres molécules des I.G.Rs ont également présentés les mêmes effets à l'égard de certaines espèces de moustiques (El-Shazly et Refaie, 2002; Andrighetti *et al.*, 2008; Mbare *et al.*, 2013).

L'augmentation de la durée de développement des larves peut être expliquée par l'effet des insecticides sur la sécrétion cuticulaire en retardant le cycle de mue. La diminution du poids des larves traitées, peut aussi prolongé la durée de développement (Bouaziz *et al.*, 2011).

3.4. Effet de l'H.E extraite de *Lippia citriodora* sur le ratio sexe de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*

Chez les moustiques, Seules les femelles sont hématophages. Après la fécondation, elles partent à la recherche d'un hôte pour la prise du sang afin d'assurer la maturation de leurs œufs. Ce comportement hématophage durant la reproduction permet la transmission de nombreuses maladies au cours de l'alimentation. De ce fait, la recherche d'un moyen de lutte pour limiter les effets liés à ce phénomène est très importante (Djehader, 2014).

Dans cette partie, l'effet de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* a été testé sur le ratio sexe de moustique *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*. Les résultats obtenus montrent une augmentation du nombre des males par rapport aux femelles chez les séries traitées à la CL25 et à la CL50.

Des effets similaires ont été démontrés par l'application de l'huile essentielle de *Petroselinum crispum* sur les larves de troisième stade nouvellement exuvies de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*, dont une augmentation remarquable dans le nombre des males chez les séries traitées à la CL25 et à la CL50 par rapport au témoin.

3.5. Anomalies morphologiques

L'examen des larves du troisième stade de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* après traitement au H.E de *Lippia citriodora*, révèle des aberrations morphologiques telles que le blocage de l'exuviation nymphale, la diminution de la taille des larves et des pupes, de

Discussion

plus, autres malformation se manifestent, telles que la perte de l'un des deux ailes, et la déformation de la tube digestif.

Les mêmes observations ont été obtenues après l'application du spiromesifène sur les larves du quatrième stade de *Cx pipiens* où les auteurs ont signalé un blocage de l'exuviation nymphale et imaginale qui se manifeste par une incapacité totale ou partielle des nymphes et des adultes à se dégager correctement des exuvies, une perte de l'un des deux ailes, et une réduction de leur taille (Bouabida *et al.*, 2017). De plus différentes malformations ont été également enregistrées chez *D. melanogaster* après traité à l'azadirachtine, avec une hyperpigmentation des larves, formation d'intermédiaires larve-pupe et pupe-adulte ainsi qu'une déformation des adultes (Bezzar-Bendjazia, 2016). Des effets similaires ont été rapportés chez *S. litura*, *Spodoptera mauritia*, *Ephesiakuehniella Zell*, *Manduca sexta* et *Pericalliaricini* (Gujar et Mehrotra, 1983; Jagannadh et Nair, 1992; Martinez *et al.*, 2001; Gnanamani et Dhanasekaran, 2013) et *Papiliodemoleus* (Pandey *et al.*, 2011) après traitement des larves du dernier stade avec différentes formulations commerciales d'azadirachtine.

D'autre part, des effets presque similaire ont été obtenus après l'application de l'huile essentielle de *Citrus limonum* sur les larves du quatrième stade de *Culiseta longiareolata* où les auteurs ont signalé un blocage de l'exuviation nymphale et imaginale, la diminution de la taille des larves, la métamorphose incomplète et la déformation de la tête (Ben Khedim et Djedouani, 2017).

Conclusion

Et

Perspective

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Au cours de ces dernières années, et face une législation de plus en plus restrictive sur l'application des pesticides de synthèse, la recherche des bioinsecticides s'inscrit dans une stratégie adaptée aux exigences du consommateur tout en préservant l'environnement.

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail, l'expérimentation réalisé nous a permis d'évaluer l'effet de l'huile essentielle extraites *Lippia citriodora* sur deux espèces de moustiques *Culiseta longiareolata* et *Culex pipens*.

Plusieurs paramètres ont été étudiés :

Etude anatomique des feuilles de la plante (*Lippia citriodora*).

Etude de la durée de développement des deux espèces de moustiques de stade larvaire (larves 3^{ème} nouvellement exuvies) jusqu'à l'émergence des adultes pour les séries témoins et traitées avec une concentration sous létale (CL25) et une concentration létale (CL50)

Détermination du ratio sexe chez les séries traitées par rapport à la série témoin pour les deux espèces de moustiques

Détermination des anomalies morphologiques chez les séries traitées pour les deux espèces de moustiques.

L'étude histologique de la feuille de *Lippia citriodora* montre l'aspect général de structure anatomique transversale de la feuille de *Lippia citriodora*, et permet d'observer l'huile essentielle dans le trichome glandulaire.

L'huile essentielle de *Lippia citriodora* obtenue par hydrodistillation est de couleur jaune claire avec une odeur agréable et avec un rendement de $0,26 \pm 0,12$ de la matière sèche de la feuille de la plante.

L'application de l'HE de *Lippia citriodora* sur les larves troisième stade larvaire nouvellement exuvies avec la concentration létale CL25 et CL50, exercent une augmentation de la durée de développement des stades larvaires et du stade nymphale chez les deux espèces de moustiques comparativement au témoin, aussi une augmentation dans le nombre des adultes males de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipens* et l'apparition des anomalies morphologiques.

L'HE de *Lippia citriodora* montre donc des propriétés insecticides intéressantes. Ces résultats ouvrent des perspectives ensorcelantes pour son application au futur dans la production des biopesticides. Et il serait intéressant de compléter cette

Conclusion et perspectives

recherche en évaluant l'effet de l'HE de *Lippia citriodora* sur les mécanismes de résistance, essentiellement sur les biomarqueurs de neurotoxicité, l'acétylcholinestérase (AChE) et de détoxification, le glutathion S-transférase (GST) et son cofacteur, le glutathion réduit (GSH) les estérases, les monooxygénases à cytochrome P450 et le lactate déshydrogénase (LDH). Ainsi de faire une recherche de l'effet de l'HE de cette plante sur la reproduction et la stérilité des adultes.

Références

bibliographique

Références bibliographiques

-A-

Abdelouahid D., et Bekhechi C. (2010) - Les huiles essentielles. Ed. Off. Pub. Univ Paris, 3-14 et 83-98.

Aitken, T. H. G. (1954) - The culicidae of Sardinia and Corsica (Diptera). *Bull. Ent. Res.*, 45 (3): 437-494.

Anonyme . (1983) - Informal consultation on insect growth regulators. WHO/VBC/83.

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.*, 67 – 71.

-B-

Balenghien T. (2006) - De l'identification des vecteurs du virus West Nile à la modélisation du risque d'infection dans le sud de la France. Thèse de Doctorat, Grenoble, Université J. Fourier : 235 p,

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

Belaiche P. (1979) - Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie. Tome I. Ed. Maloine S.A. Paris.

Belkou H., Beyoud F., Taleb Bahmed Z. (2005) - Approche de la composition

Belyagoubi-Larbi.M ; « Effet de quelques essences végétale sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales » ; thèse de magister ; université d'Abou Berk Belkaid ; Tlemcen ; 2006.

Ben Khedim et Djedouani, 2017, Etude de l'effet larvicide, pupicide et adulticide d'une plante du genre *Citrus* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culiseta longiareolata*, thèse de master ; université de Tébessa.

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

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

Référence bibliographique

- Berliner E.** (1915). User die schaffsuchider Mehlmottenraupo and threen Erreger Bacillus thuringiensis n.sp. Zeitschfit fur Angewandte Entomologie, 2 :29-56
- Berrak, H. (2009)** -Inventaire des moustiques et des hydracariens dans le lac des oiseaux : lutte biologique, Magistère en écologie animale. Université Annaba)
- Bezzar-Bendjazia R., 2016.** Effet d'un biopesticide, l'azadirachtine, sur un modèle de référence, *Drosophila melanogaster* (Diptera) : Toxicité, Développement et Digestion. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba.
- Binet P. et, Brunel J. P. (2000)** - Physiologie Végétale. Tome II. Edit., Doin. p54.
- Botrel.A** ; « Encyclopédie des plantes médicinales » ; Edition Larousse ; France ; 2001 ; pp 228. Bouali-Chlef ; 2013 *basilicum* sur quelques bactéries pathogènes » ; thèse de master ; université de Hassiba Ben bouali.
- Bouabida H., Tine-Djebbar F., Tine S. & Soltani N., 2017.** Activity of spiromesifen on growth and development of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae): Toxicological, biometrical and biochemical aspects. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 5(1) : 572-577.
- Bouabida Hayette, 2014.** Inventaire des moustiques de la région de Tébessa et bioactivité du spiromésifene sur la reproduction de *Cs longiareolata* et *Cx pipiens* : aspects écologique et biochimique. Thèse doctorat en Biologie Animal, université Bedji Mokhtar, Annaba (Directeur de thèse Pr. N. SOLTANI).132p
- Bouamer A .Bellaghit M. et Mollay Amara. (2004)** -Etude comparative entre l'huile essentielle de la menthe vert et la menthe poivrée de la région de Ouargla ; Mémoire DES Unive. Ouargla, p 2-5 ; 10 ; 19 ; 21-22.
- Boudemagh, N., Bendali-Saoudi. F & Soltani. N. (2013).** Inventory of Culicidae (Diptera: Nematocera) in the région of Collo (North-East Alegria). *Annals of Biological Research*, 4 (2) : 94-99.
- Bouderhem .A (2014)** Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*). Mémoire de fin d'étude En vue de l'obtention du diplôme de Master.
- Boulkenafet F. (2006)** - Contribution à l'étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera : Culicidae) dans la région de Skikda. Présentation pour l'obtention du Diplôme de Magister en entomologie (option ; application agronomique et médicale). 191p.
- Bruneton.J , (1993)** - Pharmacognosie et phytochimie, plantes medicinales. 2eme Eddition: Tec & Doc. Lavoisier. Paris. 915p.de Skikda. *Présentation pour l'obtention du*

Référence bibliographique

Diplôme de Magister en entomologie (option ; application agronomique et médicale). 191 p. tpe llier (France).

Bussieras J., Chermette R. (1991) - Parasitologie Veterinaire, Entomologie, Service de Parasitologie, *ENVA*.58-61

-C-

Capo M., Courilleau V., et Valette C. (1990) - Chimie des couleurs et des odeurs. Culture et techniques, 204 p.

Carlos Espinel-Correal. (2010). Analyse de l'évolution des populations du granulovirus Phop GV en contact avec des hôtes alternatifs *Phthorimaea operculella* et *Tecia solanivora* (Lepidoptera : Gelechiidae). École Nationale Supérieure des Mines de Saint-Étienne.192p.

Carnat .A et Carnat A.P. et Fraisse.D, Lamaison J.L ; « The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea Fitoterapia »; 1999 ; vol70 ; pp 44-49.

Chaker et Kalamounni. (2010) - Thèse sur: Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, l'Institut National.

Clement A.N. (1999) - The Biology of Mosquitoes: Sensory Reception and Behaviour. *CAB International Publishing*, p 576.

Combrinck S., Du Plooy G.W., McCrindle R.I., Botha B.M. (2007) : Morphology and histochemistry of the glandular trichomes of *lippia scaberrima* (*Verbenaceae*).*Annals of botany*. 99(6) : 1111-1119.

Crosby DG. (1966). Natural pest control agents. In Gould, R.F. (Ed.). *Natural Pest Control Agents. Adv. Chem. Ser.* 53, p. 1-16

Cseke, L.J., Kaufman P.B., Warber S., Duke J.A., Brielmann H.L. 1999. Natural *Culicidae d'Afrique méditerranéenne*. Logiciel de l'Institut de Recherche pour le Développement (I.R.D.), Montpellier, ISBN 2-7099-1446-8.

D'inflammation colique chez le rat » ; université d'Auvergne, école de doctorale des sciencesde la vie et de la santé ; 2011.

-E-

Eberhard.T et Robert.A et Annelise.L ; « Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles »; Editions Tec & Doc; Lavoisier; Paris; 1984; pp488-489.

EID Atlantique (2014) Le cycle de vie du moustique.

Référence bibliographique

Elattir.H et Skiredj.A et Elfadi.A ; « Transfère de technologie en agriculture » ; Fiches-techniques VIII: La laitue, l'endive, le topinambour, la verveine, la tomate industrielle. N°1 03 ; 2003 ; pp 4.

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

-F-

Fellah .A et Mouaici.N (2014) Etude de l'extraction et de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de la verveine "*Lippia citriodora*".Mémoire du Projet de Fin d'Etudes Pour l'obtention de diplôme master, Universitédjilali bounaama-khemismiliana .

-G-

Gaspar F. And Jeeke G. (2004) - Essential oil from *Origanum vulgare* L. ssp. *Virens* (HOFFM. and LINK) IETSWAART: Content, Composition and Distribution within the Bracts, *J. Essent. Oil Res.*, 16, pp. 82-84.

Gnanamani R. & Dhanasekaran S., 2013. Growth inhibitory effects of azadirachtin Against *Pericallia ricini* (Lepidoptera: Arctiidae). *World. J. Zool.* 8 (2) : 185-191.

Gujar G.T. & Mehrotra K.N., 1983. Juvenilizing effect of azadirachtin on a noctuid moth *Spodoptera litura* Fabr. *India J Exp Biol.* 21: 292-293.

-I-

Isman M.B,2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.*, **19**: 603.

-J-

Jagannadh V. & Nair V., 1992. Azadirachtin-induced effects on larval-pupal transformation of *Spodoptera matura*. *Physiol. Entomol.* 17 : 56-61.

-K-

karray-bouraoui N., Rabhi M., Neffati M., Baldan B., Ranieri A., Marzouk B. (2009) : Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *mentha pulegium*. *Industrial crops and products.* 30 : 338-343.

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

Khenaka K. (2011) - Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Thèse Magister: Biotechnologies Microbiennes. Constantine: Université Mentouri, 81p.

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

Référence bibliographique

-L-

Lenoir. L ; « Effet protecteurs des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle
Linné C. (1758) - Systema naturae per regna fria naturae. Edition 10. Holmia, 1: 82

-M-

Martinez S. S. O. & Van Emden H. F., 2001. Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin. *Neotrop. Entomol.* 30 : 113-125.

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

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

-P-

Padrini F et Luchronim. T. (1996) - le grande livre des huiles essentielles .Ed de Vecchi. Page 115.

Pandey S., Pandey J. P. & Tiwari R. K., 2011. Effect of some neem based insecticides on wing shape and pigmentation in Lemon-Butterfly, *Papilio demoleus* L. *World applied sciences journal.* 13(6): 1356-1360.

Pascual ME. et Siowing.K et Carretero E.Sanchez Mata D.Villar ; « *Lippia* traditional uses, chemistry and pharmacology »; J. Ethnopharmacol ; 2007; vol 76; pp 201-214.

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

Perrot.E et Paris.R ; « Les plantes médicinales » ; Presses universitaires ; France ; 1974; pp 244.

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

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

Poupardin R. (2011) - Interactions gènes –environnements chez les moustiques et leur impact sur la résistance aux insecticides. Thèse pour obtenir le grade de Docteur de l'université de Grenoble, Spécialité : Biodiversité, Ecologie et Environnement. P : 275.professionnels de la santé et de la médecine sous la direction du docteur pierrick horde, p: 1.

Référence bibliographique

-Q-

Qutubuddin M. (1960) - Mosquito studies in the Indian subregion, Part I Taxonomy – A brief review. 133p.

-R-

Rai M. K., Acharya D. And Wadegaonkar P (2003) - Plant derived antimycotics: Potential of Asteraceous plants, in: Plant-derived antimycotics: Current Trends and Future prospects. Haworth press, N-York, London, Oxford, pp: 165-185.

Rehimi, N. & Soltani, N. (1999). Laboratory evolution of alsystine. A chitin synthesis

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

Rioux J.A., 1958 - Les Culicidés du Midi » méditerranéen. Etude systématique et écologique. Encyclopédie entomologique, XXXV. Editions P. Lechevalier, Paris, 303 p.

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

Roth M. (1980) - Initiation à la morphologie, la systématique et la biologie des insectes.

-S-

Slimani.N et Dahmane.M ; « Effet des huiles essentielles extraites a partir des feuilles de *Mentha Spicata*, *Mentha pulegium*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia citriodora*, *Ocimum basilicum* sur quelques bactéries pathogènes » ; thèse de master ; université de Hassiba Ben Bouali-Chlef ; 2013.

Stoll N.R., Dollfus R.P., Forest J., Riley N.D., Sabrosky C.W., Wright Stone A., Knight K.L. , Starcke H. (1959) - A synoptic catalogue of the mosquitoes of the world, The Thomas Say Foundation Ent. Soc. Ameri..pp 358.

-T-

Taleb-Toudert.K ; « Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de *Aloysia Triphylla*.Evaluation in vitro de son effet sur la croissance de certains agents pathogènes del'homme » ; thèse de master ; 2002.uses, chemistry and pharmacology » ; J. Ethnopharmacol ; 2007 ; vol 76 ; pp 201-214.

Tayoub G., Schowb I., Masotti V., Rabier J., Ruzzier M., Viano J. (2006) – Contribution de la microscopie électronique à balayage et photonique à la connaissance de l'anatomie et de la morphologie de *Styrax officinalis* L. C. R. Biologies, 329: p. 712-718.

-U-

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

Référence bibliographique

-V-

Vigneau.C (1985); « Plantes médicinales, thérapeutique- toxicité » ; Paris ; N°129 ; pp 257.

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

-W-

Wall R, Shearer D. (1992) – Veterinary Entomology, *Chapman & Hall*. 88-191.

-Y-

Yahyaoui N. (2005) - Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles

-Z-

Zaffran, J. 1998. Initiation à la biologie végétale. Ed. Ellipses, Paris. 160p.

Liste de web :

Web 1 : www.wikipédia.com

Web 2 : Fac.umc.edu.dz>SNC>faculté>cour

Web3 : Uni.encyeducation.com/uploads/1/3/1/0/13102001/pahrma3anpharmacognosie19-huiles_essentiel.pdf