



République Algérienne Démocratique et Populaire  
de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-  
des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Appliquée

**MEMOIRE DE MASTER**

**Domaine :** Sciences de la nature et de la vie

**Filière :** Sciences Biologiques

**Option :** Biologie moléculaire et cellulaire

**Thème :**

**Impact d'huile essentielle de *Lippia citriodora* sur la morphométrie  
chez une espèce de moustique *Culex pipiens***

**Présenté par :**

**Belfar Chafia**

**Devant le jury :**

<b>Dr. Bouabida Hayette</b>	<b>MCB</b>	<b>Université de Tébessa</b>	<b>Présidente</b>
<b>M<sup>me</sup>. Seghier Hanane</b>	<b>MAA</b>	<b>Université de Tébessa</b>	<b>Rapporteuse</b>
<b>M<sup>me</sup>. Driss Djemaa</b>	<b>MAA</b>	<b>Université de Tébessa</b>	<b>Examinatrice</b>

**Date de soutenance : Le 19 juin 2018**

اللَّهُ  
الرَّحْمَنُ  
الرَّحِيمُ

### ملخص

بسبب تأثير المبيدات الحشرية الكيميائية على البيئة ، وظاهرة الصحة والمقاومة للبعوض إليهم ،

فإن مساهمتنا تستخدم لاستخدام الزيوت الأساسية *Lippia citriodora* كمبيد بيولوجي للحشرات

لتحديد تأثير تركيزها شبه القاتلة (CL25 و CL50) على تطوُّر اليرقات L3 و L4 ومرحلة البالغين

من أنواع البعوض *Culex pipiens*.

تم استخراج الزيوت الاساسية من قبل جهاز التقطير نوع Clevenger. من النتائج التي تم الحصول

عليها من الملاحظ أن عائد HE هو من أجل  $(0,05 \pm 0,24)$  %.

فيما يتعلق بالجانب التنموي ، تظهر نتائجنا أن المعالجة مع (CL25 و LC50) *Lippia citriodora*

، تسبب تغيرات في مختلف المقاييس الحيوية: عرض الصدر ، الوزن وحجم الجسم في مراحل

البعوض المدروسة خلال مدة الدراسة.

الكلمات المفتاحية: *Culex pipiens* ، الزيوت العطرية ، *Lippia citriodora* ، المورفوقياسية ،

### Abstract

Due to the impact of chemical insecticides on the environment, health and the phenomenon of resistance of mosquitoes to these, our contribution opts for the use of *Lippia citriodora* essential oils as a bio-insecticide to control the insecticide- The effect of their lethal concentration (LC25 and LC50) on the larval development L3 and L4 and adult stadiums of the mosquito species *Culex pipiens*

The extraction of the essences was carried out by a hydrodistiller of the Clevenger type. From the results obtained, it can be seen that the yield of HE is of the order of  $(0,24 \pm 0,05)\%$ .

As for the developmental aspect, our results show that treatment with *Lippia citriodora* (LC25 and LC50) causes a change in the various biometric parameters: width of the thorax, body weight and volume in the mosquito stages studied during Duration of study.

Key words: *Culex pipiens*, essential oils, *Lippia citriodora*, morphometry

## Résumé

---

### Résumé

En raison de l'impact des insecticides chimiques sur l'environnement, la santé et le phénomène de résistance des moustiques à ceux-ci, notre contribution opte pour l'usage des huiles essentielles de *Lippia citriodora* comme bio insecticide de lutte pour déterminer l'effet de leur concentration semi létale (CL25 et CL50) sur le développement des larves L3 et L4 et stade adultes de l'espèce de moustique *Culex pipiens*.

L'extraction des essences a été réalisée par un hydrodistillateur de type Clevenger. D'après les résultats obtenus on remarque que le rendement en HE est de l'ordre de  $(0,24 \pm 0.05) \%$ .

Concernant l'aspect de développement, notre résultats montre que le traitement par *Lippia citriodora* (CL25 et CL50), provoque des changement des divers paramètres biométriques : la largeur du thorax, le poids et le volume corporel chez les stades étudiés de moustique pendant la durée d'étude.

**Mots clés :** *Culex pipiens*, huiles essentielles, *Lippia citriodora*, morphométrie,

# *Remerciements*

*Avant toute chose je tiens à remercier Allah qui m'a donnée la chance, la volonté et la force pour arriver à ce stade d'études*

*Je remerciais également Mme la présidente **DR Bouabida Hayete** pour leur soutien, pour avoir exprimé leur entière disponibilité, et pour leurs qualités humaines et professionnelles, Je saisisais cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.*

*Je tenais à remercier examinateur **Mme Dris Djemaa** d'avoir accepté de faire partie des membres du jury de notre travail.*

*je remerciais de tout cœur **Mme Seghir Hanene** de nous avoir donné la chance de participer à un tel travail aussi pour gentillesse, pour ton écoute et tendresse, merci pour toute ton expertise scientifique et toutes tes qualités humaines, Mme on vous exprime ici le témoignage de mon sincère reconnaissance, de mon profond respect et aussi le remerciement d'avoir accepté de consacrer votre temps et votre effort pour parvenus à réaliser ce travail, merci infiniment.*

*Enfin mes remerciements s'adressent également à l'ensemble des enseignants qui ont contribué à nos formations au cours de nos années universitaires.*

*Je remerciais s'adressent également à ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail.*

*Enfin, je ne saurais remercier assez mon père pour lui soutien constant au cours de ce travail, et plus généralement, dans mes études. je lui devais tant et je suis immensément reconnaissant de tout ce qu'ils ont fait pour moi.*

*Merci infiniment.....*

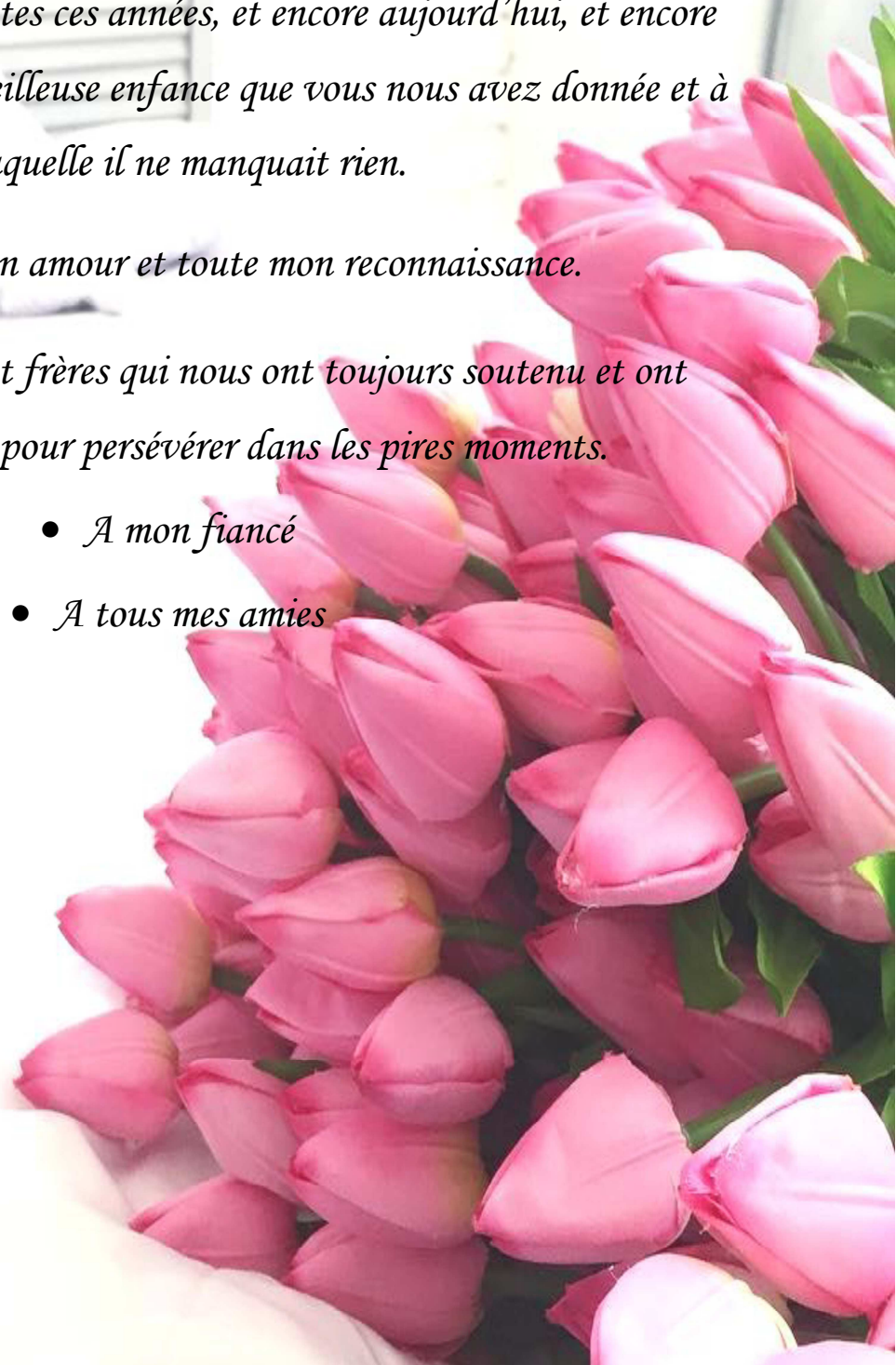
## *Dédicaces*

*Comme symbole d'une profonde gratitude et de dévouement nous dédions ce modeste travail en premier lieu :*

- *A tout ma chère famille et particulièrement mes chers parents(maman allah yarhamha,qu'elle ne complete pas avec moi a ce moment), Parce que sans vous je ne serais pas là, merci pour tout votre amour et votre soutien, pendant toutes ces années, et encore aujourd'hui, et encore demain. Pour la merveilleuse enfance que vous nous avez donnée et à laquelle il ne manquait rien.*

*Avec tout mon amour et toute mon reconnaissance.*

- *A mes chers sœurs et frères qui nous ont toujours soutenu et ont donné la force pour persévérer dans les pires moments.*
  - *A mon fiancé*
  - *A tous mes amies*



## Listes de tableaux

Tableau	Titre	page
01	résultats des tests de recherche des composés chimiques	21
02	Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des larves du troisième stade de <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes ( $m \pm sd$ , $n= 3$ répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).	22
03	Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des larves du quatrième stade de <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes ( $m \pm sd$ , $n= 3$ répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).	24
04	Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des adultes mâles et femelles de <i>Culex pipiens</i> ( $m \pm sd$ , $n= 3$ répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).	25
05	Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur la largeur du thorax (mm) des larves du troisième stade de <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes ( $m \pm sd$ , $n= 3$ répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).	27
06	Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur la largeur du thorax (mm) des larves du quatrième stade de <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes ( $m \pm sd$ , $n= 3$ répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).	28
07	Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur la longueur des ailes (mm) des adultes mâles et femelles de <i>Culex pipiens</i> ( $m \pm sd$ , $n= 3$ répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).	29
08	Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur le	



## Listes de tableaux

	volume corporel (mm <sup>3</sup> ) des larves du troisième stade de <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes (m ± sd, n= 3 répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).	30
09	Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur le volume corporel (mm <sup>3</sup> ) des larves du quatrième stade de <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes (m ± sd, n= 3 répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).	32
10	Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur le volume corporel (mm <sup>3</sup> ) des adultes mâles et femelles de <i>Culex pipiens</i> (m ± sd, n= 3 répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).	33

## Listes des figures

Figure	Titre	Page
01	Cycle de développement de moustique <i>Cx pipiens</i>	03
02	OEufs en nacelle de <i>Cx pipiens</i>	04
03	Larve de <i>Cx. pipien</i>	05
04	Aspect général d'une nymphe de <i>Culex pipiens</i>	05
05	Morphologie générale d'un <i>Culex</i> adulte	06
06	<i>Culex pipiens</i> male	07
07	Abdomens et ailes d'un <i>Culex</i>	08
08	Femelle de <i>Culex pipiens</i> prenant son repas sanguin	10
09	Site d'élevage du moustique	10
10	photographie des fleurs et feuille d' <i>Aloysia citriodora</i>	11
11	Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	18
12	des larves traitées	19
13	Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des larves L <sub>3</sub> chez <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes (m±sd, n=3). (NS: Différence non significative (p>0,05) ; *: Différence significative (p<0,05) ; **: Différence hautement significative (p<0,01) ; ***: Différence très hautement significative (p<0,001).	23
14	: Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des larves L <sub>4</sub> chez <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes (m±sd, n=3). (NS: Différence non significative (p>0,05) *: Différence significative (p<0,05) ; **: Différence hautement significative (p<0,01) ; ***: Différence très hautement significative (p<0,001).	24
15	Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des adultes mâles et femelles chez <i>Culex pipiens</i> (m±sd, n=3). (NS: Différence non significative (p>0,05); **: Différence hautement significative (p<0,01).	26
16	: Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur la	27

## Listes des figures

	largeur du thorax (mm) des larves L <sub>3</sub> chez <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes (m±sd, n=3). (NS: Différence non significative (p>0,05) ; **: Différence hautement significative (p<0,01) ; ***: Différence très hautement significative (p<0,001).	
17	: Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur la largeur du thorax (mm) des larves L <sub>4</sub> chez <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes (m±sd, n=3). (NS: Différence non significative (p>0,05)	28
18	: Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur la longueur des ailes (mm) des adultes mâles et femelles chez <i>Culex pipiens</i> (m±sd, n=3). (NS: Différence non significative (p>0,05)	29
19	Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur le volume corporel (mm <sup>3</sup> ) des larves L <sub>3</sub> chez <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes (m±sd, n=3). (NS: Différence non significative (p>0,05) ; **: Différence hautement significative (p<0,01) ; ***: Différence très hautement significative (p<0,001).	31
20	: Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur le volume corporel (mm <sup>3</sup> ) des larves L <sub>4</sub> chez <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes (m±sd, n=3). (NS: Différence non significative (p>0,05)	32
21	Effet des H.E extraites de <i>Lippia citriodora</i> (CL25 et CL50) sur le volume corporel (mm <sup>3</sup> ) des adultes mâles et femelles chez <i>Culex pipiens</i> (m±sd, n=3). (NS: Différence non significative (p>0,05)	33

## Liste des abréviations

---

**CL50** : Concentration létale de 50% de la population

**CL25** : Concentration létale de 25% de la population

**Cs** : *Culiseta*

**Cx** : *Culex*

**h** : Heure

**H.E** : Huile essentielle

**L** : *Lippia*

**L3** : Larve de troisième stade

**L4** : Larve de quatrième stade

**m** : Moyenne

**n** : Nombre de répétition

**OMS** : Organisation mondiale de la Santé

**Pb** : Masse en gramme d'huile essentielle

**Pa** : Masse en gramme de la matière végétale sèche

**Ppm**: partie par mille

**R** : rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage

**SD** : Ecart type

**%** : Pourcentage

**$\alpha$**  : Le seuil de signification du test statistique

# Table de matiere

---

ملخص

ABSTRACT

RESUME

REMERCIEMENTS

DEDICACE

LISTE DES TABLEAUX

LISTES DE FIGURE

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION

2. Matériel et méthodes.....	02
2.1. Présentation de l'insecte .....	02
2.1.1. Caractéristique de l'insecte .....	02
2.1.2. Position systématique.....	02
2.1.3. Cycle de développement .....	03
2.1.4. Alimentation .....	08
2.1.5. Technique d'élevage .....	10
2.2. Présentation de plante .....	11
2.2.1. Origine .....	11
2.2.2. Classification de la verveine .....	11
2.2.3. Habitat et culture de <i>L.citriodora</i> .....	12
2.2.4. Composition chimique de la verveine odorante .....	12
2.2.5. Utilisation de plantes .....	12
2.2.6. Alimentation .....	13
2.3. Screening phytochimique.....	13
2.3.1. Recherche des flavonoïdes et des leucoanthocyanes.....	13
2.3.2. Recherches des quinones .....	14
2.3.3. Recherche de saponines .....	14
2.3.4. Recherche des tanins .....	14
2.3.5. Recherche des terpenoïdes et des stéroïdes .....	14
2.3.6. Recherche des alcaloïdes.....	15
2.4 Les huiles essentielles .....	15

# Table de matiere

---

2.4.1. Définition des huiles essentielles.....	15
2.4.2. Composition chimique.....	15
2.4.3. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation .....	17
2.4.4. Rendement des huiles essentielles.....	18
2.5 Traitement .....	18
2.6. Etude morphométrique .....	19
2.7. Analyse statistique.....	20
3. Résultats .....	21
4. Discussions .....	34
Conclusion	
Références bibliographiques	

# Introduction

## Introduction

---

Les insectes sont les premiers Arthropodes à avoir peuplé la terre (lecointre, 2001). Parmi ces insectes on peut trouver les Culicidae qui sont des Mécoptéroïdes Nématocères remarquables par l'évolution progressive qui affecte parallèlement l'imago et la larve. Ils occupent la première place, soit par le rôle de vecteur d'organismes pathogènes de certains de ses représentants, soit par la nuisance d'autres. Au cours des dernières années, le moustique est devenu très répandu dans la région présaharienne et peut menacer de propager des maladies graves (Merabeti, 2011).

Les moustiques font partie de la classe des hexapodes, de l'ordre des Diptères, et de la famille des Culicidés (Lacey et Orr, 1994). Ils sont des vecteurs de plusieurs agents pathogènes puisque leurs caractères hématophages leur confèrent l'état d'ectoparasites temporaires, transmettant à l'homme et aux animaux diverses maladies. La malaria avec 300-500 millions de cas infectés et 1,5-2,7 million de morts par année, la filariose lymphatique avec 120 cas, la dengue avec 50 millions de cas et la fièvre jaune (Nuttall, 1997 ; Govindarajan, 2010).

Pour lutter activement contre les Culicidae plusieurs méthodes ont été entreprises dans le monde, comprenant la lutte chimique et la lutte biologique (Berliner, 1915). Les insecticides chimiques sont la principale stratégie de 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). Cette recherche s'est orientée vers la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles actives, non polluantes et s'utilisant dans une lutte moins nocive et plus raisonnée. La lutte biologique prend diverses formes, par l'utilisation rationnelle de leurs ennemis naturels (Lacey et Orr, 1994) des bactéries : *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* et *Bacillus sphaericus*, du poisson larvicide *Gambusia affinis* (Coykondall, 1980 ; Bendali *et al.*, 2001), mais celle qui retient l'attention des chercheurs à l'heure actuelle est la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles d'origines végétales qui sont les métabolites secondaires (huiles essentielles, flavonoïdes, tanins...).

Dans ce contexte, notre travail s'intéresse à évaluer les réponses des populations d'une espèce de moustique, *Culex pipiens* à l'impact d'un nouvel insecticide à base d'huiles essentielles d'une espèce de *lippia citriodora*.



**MATÉRIELS**  
**ET**  
**MÉTHODES**

### 2.1. Présentation de l'insecte

*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. (Pierrick, 2014).

#### 2.1.1. Caractéristique de l'insecte

*Culex* possède les principales caractéristiques:

- *Culex pipiens* est le moustique le plus fréquent dans le monde (Faraj et al, 2006).
- palpes allongées 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). *Cx pipiens* est actif pendant toute l'année et atteint son maximum de développement pendant les saisons chaudes les mois d'été et d'automne (Faraj et al, 2006). Leur développement est lié à la présence d'eau (Bussieras et Chermette, 1991 ; Kettle, 1995).

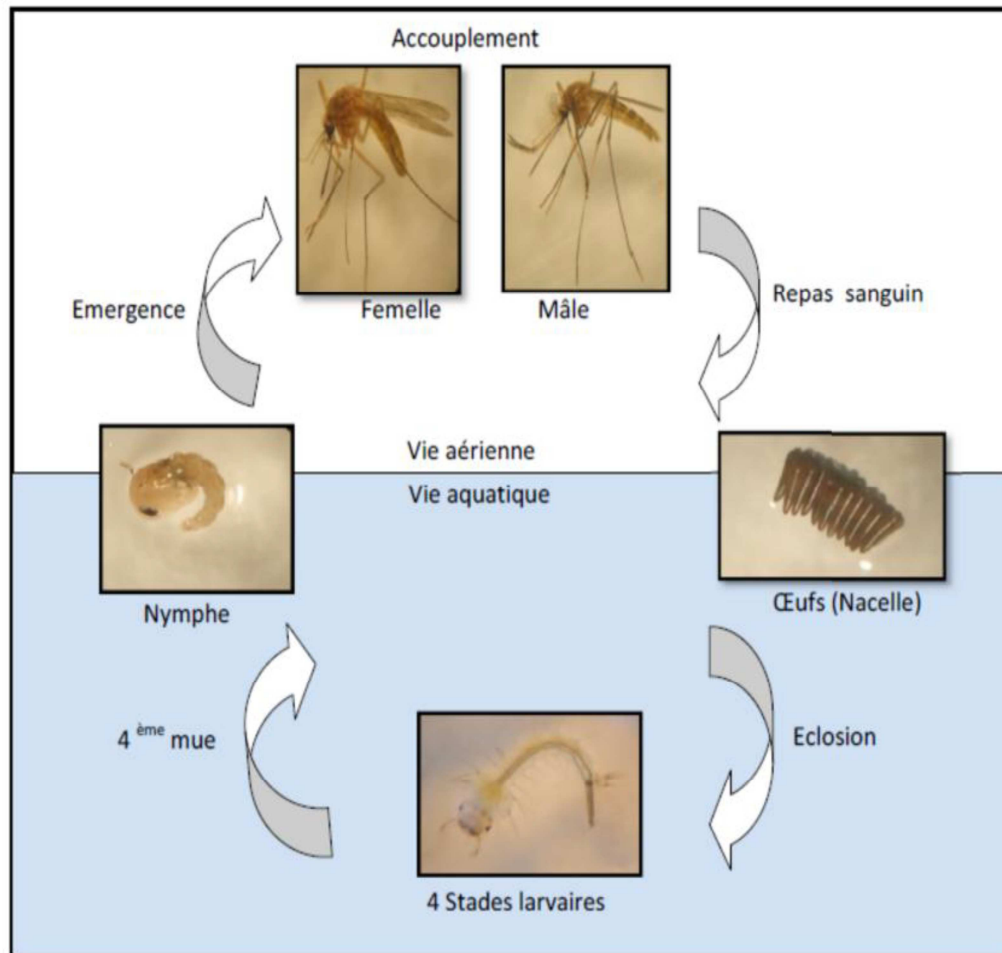
#### 2.1.2. Position systématique

- Règne : Animalia
- Embranchement : Arthropoda
- Sous Embranchement: Antennata
- Classe : Insecta
- Sous Classe: Pterygota
- Ordre : Diptera
- Sous Ordre: Nematocera
- Famille : Culicidae
- Sous Famille: Culicinae
- Genre : *Culex*

- Espèce : *Culex pipiens* (Linné, 1758)

### 2.1.3. Cycle de développement

La vie de *Cx pipiens* passe par plusieurs stades : œufs, larves et nymphes qui sont aquatique et l'adulte qui a une vie aérienne (Figure1) (Jolivet, 1980).

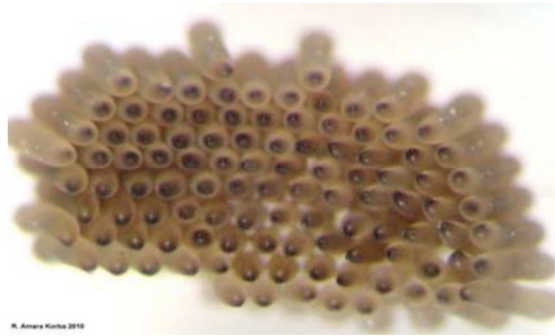


**Figure 1:** Cycle de développement de moustique *Cx pipiens* (Klowden, 1990).

#### A. Les œufs

Suite à l'accouplement qu'a eu lieu de temps après l'émergence des adultes, chaque femelle étant fécondée une seule fois pour toute sa vie (Schaffiner *et al.* 2001). Les femelles fécondées déposent leurs œufs (Bendali, 1989), Fusiformes, ils mesurent environ 1mm de long. Blanchâtres au moment de la ponte, ils s'assombrissent dans les heures qui suivent (Figure 2). Une Corolla est présente au niveau du pôle inférieur de l'œuf. Ils sont pondus dans l'eau, réunis par 200 à 400 en nacelle dont l'arrangement leur permet d'être insubmersibles (Anonyme, 1983) L'œuf est pourvu d'un opercule qui s'ouvre vers le bas

au moment de l'éclosion et la larve dégage ce dernier grâce à une épine chitineuse qui se situe au niveau de la tête (Rhodain et Perez, 1985).



**Figure 2:** Oeufs en nacelle de *Cx pipiens* (Anonyme, 1983)

### **B. Larve**

Celle de *Culex pipiens* se développe indifféremment dans les eaux claires ou polluées. D'aspect vermiforme, son corps se divise en 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 (Figure 3). (Kettle, 1995 et Andreo, 2003). Ont un mode de vie d'une durée de 5 à 6 jours. Dans certaines conditions, la densité larvaire est telle que les larves peuvent occuper la totalité de la surface d'un plan d'eau. Elles subiront 3 mues avant de se transformer en nymphe. Au cours de ces mues, la tête de la larve va grossir de façon spectaculaire (+ 50% à chaque mue). La fin du développement larvaire se caractérise par la lyse des muscles, première étape permettant le passage de la vie en milieu aquatique à la vie en milieu terrestre. (Bussieras et Chermette ,1991 et Cachereul ,1997)

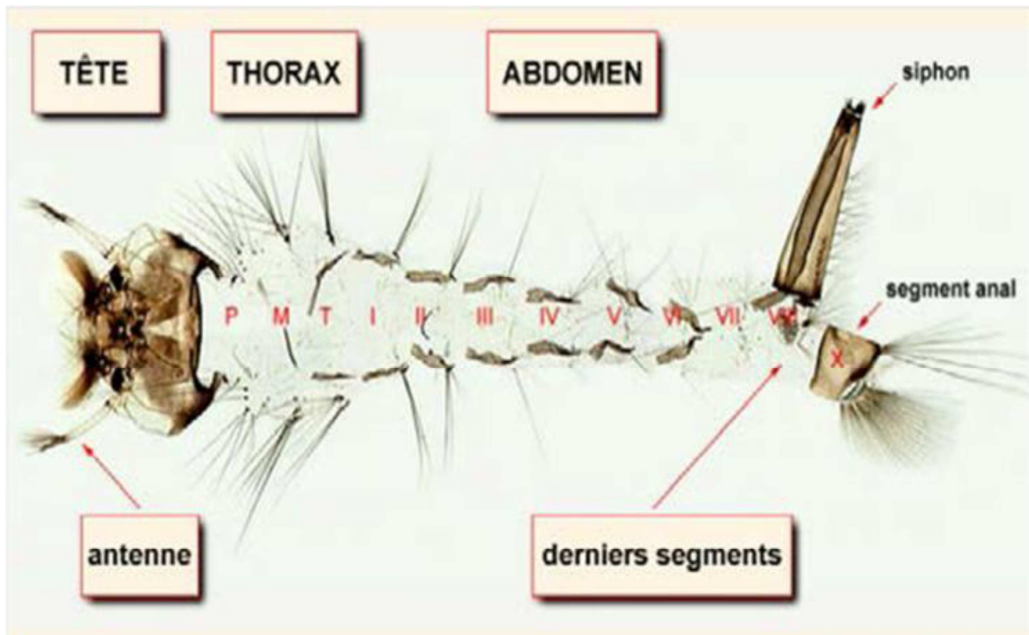


Figure 3 : Larve de *Cx. pipiens* (Brunhes et al, 1999).

### C. La nymphe

La tête et le thorax fusionnent pour donner un céphalothorax sur lequel on trouve deux trompes qui permettent à la nymphe de respirer (Figure 4). Sa forme globale rappelle celle d'un point d'interrogation. Les orifices anal et buccal étant bouchés, la nymphe ne se nourrit pas. Ses palettes natatoires, situées sur l'abdomen, lui permettent de se déplacer (Cachereul, 1997). vit 2-3 jours dans l'eau, le temps que s'opèrent de profondes modifications anatomiques ; puis elle entame sa mutation en s'immobilisant à la surface de l'eau. D'abord relativement mobile, elle finit par s'immobiliser à la surface de l'eau. (Wall, Shearer, 1992)

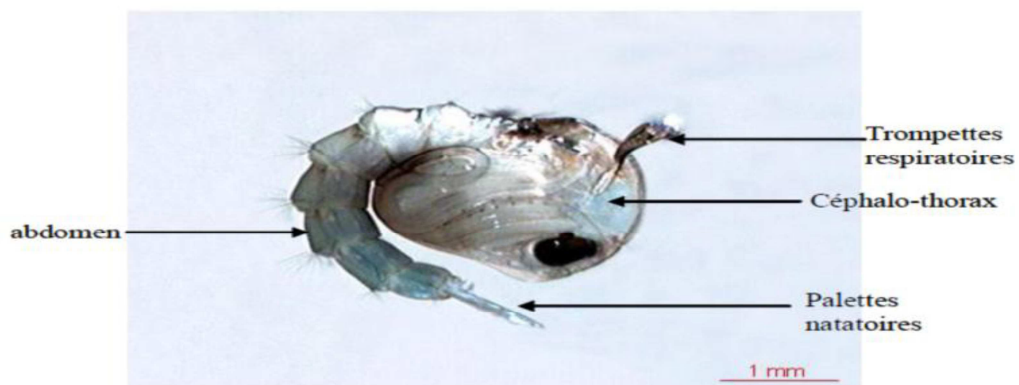
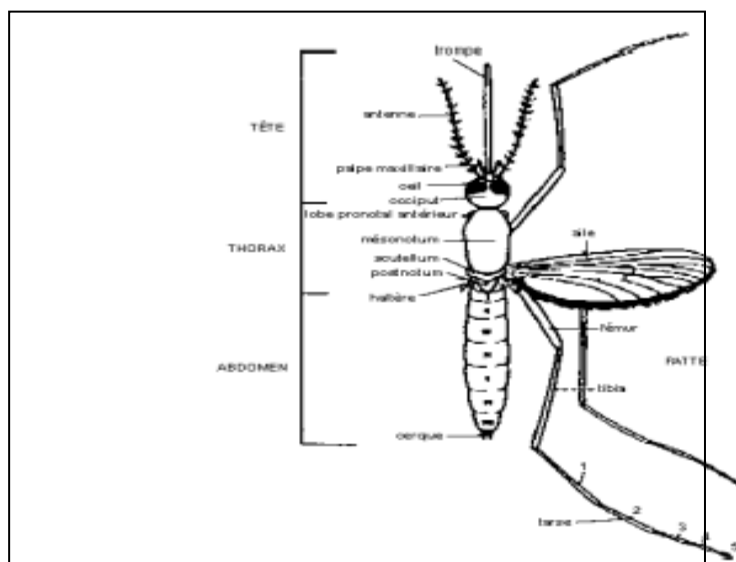


Figure 4: Aspect général d'une nymphe de *Culex pipiens* (Berchi, 2000).

### D. Les adultes

Une fois métamorphosé, provoque une cassure au niveau de la tête nymphale et émerge à la surface de l'eau. Les mâles atteignent leur maturité sexuelle au bout d'un jour alors que les femelles l'atteignent au bout de 1 à 2 jours, et elles sont plus grandes que les mâles issus d'une même émergence (Cléments, 1999). Ils possèdent un corps mince se divise en trois parties : la tête, le thorax, l'abdomen, de taille moyenne environ 9 mm, globalement brun clair et des pattes longues et fines (figure 5) (Wolfgang et Werner, 1988 ; Balenghien, 2007). Ils se reconnaissent facilement par la présence d'écailles sur la majeure partie de leur corps. Au niveau de la tête, l'imago se différencie des autres familles de diptères par des antennes longues, fines et articulées. Les femelles se distinguent facilement des mâles par la présence des antennes plumeuses. Elles possèdent de longues pièces buccales caractéristique de type piqueur-suceur (Harbach, 2007).



**Figure 5:** Morphologie générale d'un *Culex* adulte (OMS, 1973)

#### ➤ Tête

Tête est sombre, couverte d'écailles fourchues dressées et sombres entre lesquelles sont situées des écailles blanches et des poils bruns. Sur les joues se trouvent des écailles plus courtes formant une tache blanche (Andreo, 2003 ; Kettle, 1995).

Les antennes sont de calibre uniforme, très spumeuses et a 15 articles chez le male, peu spumeuses et a 14 articles chez la femelle, dont les soies sont plus courtes. Les males ont a la base de l'antenne un deuxième article dilaté comprenant des organes sensoriels

## Matériels et méthodes

---

disposes radialement : organe de Johnston, siège de l'audition (Figure 6) ([http://aramel.free.fr/INSECTES 15-3.shtml](http://aramel.free.fr/INSECTES%2015-3.shtml) (page consultée le 08/04).

Les femelles possèdent des pièces buccales de type piqueur-suceur qui font saillie devant la tête, et sont composées de 7 articles : acérée en biseau, la trompe comprend, entre autres, les six pièces vulnérantes (labium-epipharynx, hypopharynx, 2 mandibules, 2 mâchoires). Le tout est protégé par une enveloppe souple : le labium. Les mandibules et les maxilles, en forme de piquet, sont bien adaptées à la fonction de piqueur. Le labre pointu et l'hypopharynx pénètrent également dans la plaie. Le labre est creusé en gouttière, et avec l'hypopharynx, forme le canal alimentaire par lequel le sang est aspiré. Chez le mâle, les maxilles et mandibules sont réduits.

Enfin, à la base de chaque mâchoire se trouve un palpe maxillaire à 4-5 articles, plus long que la trompe chez les mâles (Chadwick, 1997 ; Hugnet *et al.*, 1999)



**Figure 6** : *Culex pipiens* male (Legros, 2012)

### ➤ Thorax

Composé de trois segments soudés (le prothorax, le mésothorax et le métathorax), il porte les ailes et les pattes. Le thorax est brun recouvert d'écailles fauves foncées avec quelques écailles claires sur les côtes. Les pattes grêles sont brunes et non annelées, le fémur est noir au dessus et blanc au dessous, et on peut distinguer une tache blanche au niveau du genou. Elles sont formées de 5 pièces en tout, et le tarse, à 5 articles, porte 2 griffes. Les ailes sont non tachées. Comme le corps et les pattes, les ailes sont recouvertes d'écailles fixées sur les nervures et sur le bord postérieur. Au repos, elles sont repliées sur l'abdomen. En arrière des ailes se trouvent les balanciers, qui sont de petits organes sensoriels oscillatoires servant au contrôle du vol (Bussieras et Chermette, 1991 ; Cachereul, 1997).

### ➤ Abdomen

Grêle et allongé, il est composé de 9 segments terminés par 2 cerques, appendices courts protégeant l'anus et l'orifice génital. Il est recouvert d'écailles claires, brunes et blanches avec de longs poils sur la face dorsale. Une ligne longitudinale sombre ainsi que quelques taches sombres sur les côtes ornent la face ventrale. Chez les mâles, l'abdomen se termine en une armature génitale servant à maintenir la femelle durant l'accouplement. Chez les femelles, on trouve un oviscapte qui intervient lors de la ponte (Figure 7) (Bussieras et Chermette, 1991 ; Cachereul, 1997 ; Neveu-lemaire, 1952).



**Figure 7** : Abdomens et ailes d'un *Culex* (Cheviaux, 2010).

#### 2.1.4. Alimentation

*Cx.pipiens* est cosmopolite, il est surtout abondant dans les chauds, ou il est actif toute l'année. Dans les pays tempérés, il abonde surtout en été et en automne. Très hygrophiles, il a une activité principalement nocturne et son développement est lié à la présence d'eau (Bussieras et Chermette, 1991). Durant les premiers jours de leur existence, les adultes mâles et femelles sont en repos dans des lieux abrités. Leur premier repas, pris au crépuscule, est composé de nectar. Il permet, entre autres la maturation des organes génitaux ainsi que la constitution de réserves énergétiques pour le vol.

Le mâle va se nourrir après exclusivement de suc et de nectar extrait de plantes et meurt après la copulation. Les mâles sont attirés, entre autres, olfactivement grâce à l'odeur qui émane de la plante grâce aux nombreux récepteurs olfactifs localisés sur leurs palpes maxillaires et surtout leurs antennes (Visser, 1986). En cas de réponse positive à un stimulus olfactif, celle-ci provoque un mouvement orienté vers la source odorante qui peut se définir par sa vitesse et sa direction (Habbaci, 2013). En effet, l'efficacité d'un attractant est déterminée par la concentration initiale de la molécule au niveau de la source, la



manière dont elle diffuse sur son support (air,sol,liquide) et les mécanismes internes d'orientation de l'insecte(Visser,1986).

Après l'accouplement, les mâles ne tardent pas à mourir. Il n'y a généralement qu'un seul accouplement au début de la vie de l'adulte, le sperme étant stocké dans les spermathèques de la femelle où il est conservé tout au long de la vie de celle-ci. La fécondation des œufs a lieu au fur et à mesure de la ponte (Andreo, 2003 ; Bussieras et Chermette, 1991 ; Cachereul 1997).

La femelle peut vivre de 3 semaines à 3 mois selon la température et la qualité du gîte (Bourassa, 2000). Elle est hématophage, ce qui est indispensable à la formation des œufs et se nourrit en plus de suc des plantes. Cependant, elles peuvent produire une première ponte sans repas : elles sont dites autogènes. Elles utilisent les réserves accumulées par la larve (Kettle, 1995). Pour réaliser son repas de sang, la femelle injecte un peu de salive contenant des anticoagulants ainsi que des anesthésiques (Ribeiro et Francischetti, 2003). Si le moustique est porteur d'un pathogène, il pourra alors contaminer les hôtes qu'il piquera par la suite lors de l'injection de sa salive (Dohm et al., 2002 ; Faraj et al., 2006 ; Kilpatrick et al., 2008 ; Tetreau, 2012).

La digestion du sang et la production d'œufs viables peuvent prendre, selon la température, de trois à une dizaine de jours. Lorsqu'elles sont prêtes, les femelles pondent à la surface de l'eau de l'habitat sélectionné. La piqûre se fait par introduction des six stylets ; le labium, non perforant, se replie à la surface de la peau. Les stylets pénètrent directement dans un capillaire (solénophagie), dans lequel la salive est injectée à plusieurs reprises au cours du repas. Cette salive contient une substance inhibant l'hémostase ainsi que l'agrégation plaquettaire. La salive est également composée de substances immunogènes responsables des réactions cutanées caractéristiques secondaires à la pique. Elle constitue également, le support à la transmission vectorielle (protozoaires, virus). Au bout d'un temps moyen de 2 à 5 minutes (jusqu'à 20 minutes), la femelle peut ingérer de 2 à 4 fois son poids en sang par le canal alimentaire (Figure 8), ce qui représente jusqu'à 10,2 mm (Andreo, 2003 ; Kettle, 1995 ; Moulinier, 2003). L'aspiration est permise par un système de pressions-dépressions déclenché par les muscles céphaliques, thoraciques et le pharynx. Une fois le repas terminé, la femelle utilise son labium comme levier pour retirer ses stylets du tégument (Toral et Caro, 2005).



**Figure 8:** Femelle de *Culex pipiens* prenant son repas sanguin (Northern House Mosquito : <http://bugguide.net/node/view/35524/bgref>)

### 2.1.5. Technique d'élevage

Les œufs et les larves de moustiques sont récoltés dans des sites situés au niveau de régions de la ville de Tébessa exactement Hammamet (Figure 9). Les larves sont élevées dans des récipients contenant 150 ml d'eau déchlorurée et nourries avec 0,04 g du mélange biscuit 75% - levure 25% (Rehimi et Soltani, 1999). L'eau est renouvelée chaque deux jour. Le régime alimentaire joue un grand rôle dans la fécondité car les protéines permettent à la femelle de pondre plus d'œufs par rapport aux femelles nourries de sucre seulement (Wiggles, 1972)



**Figure 9 :** Site d'élevage du moustique (photo personnelle)

### 2.2. Présentation de la plante

La verveine odorante, *Aloysia Citriodora* ou *Lippia citriodora* (Kunth), est un sous arbrisseau vivace de la famille des Verbenaceae (Lenoir, 2011) mesurant 1.50 à 3.00 m de hauteur (Figueiredo et al., 2002) les tiges sont anguleuses, cannelées à branches droites et ramifiées (Cheurfa et Allem, 2016), portant des feuilles vertes pales, allongées, celle-ci ont une longueur de 3 à 7 centimètres et une largeur de 1 à 2 centimètre, verticillées par trois ou quatre sur les tiges, à pétioles très courts rudes au toucher (Figure 10).



**Figure 10 :** photographie des fleurs et feuille d'*Aloysia citriodora* (photo personnelle)

#### 2.2.1. Origine

La littérature botanique révèle une variété de noms, y compris *Aloysia triphylla*. En Amérique du sud, les botanistes lui donnèrent le nom du genre *Lippia*, en mémoire d'un naturaliste Italien d'origine Française, Augustin Lippia et puis un autre botaniste d'origine Espagnol en 1785, la nomma *Aloysia* en l'honneur de Maria Luisa, princesse de Parme et épouse de Charles IV d'Espagne propriétaire du jardin Real Jardin de Madrid ou la plante a été importée (EL Hmamouchi, 2006).

Les pays producteurs sont le Mexique, le Chili, le Brésil, le pourtour Méditerranéen (Maroc, Algérie, Turquie et France), l'Afrique du sud et l'Inde. Le marché est réservé principalement pour la consommation en herboristerie mais aussi pour la production de l'huile essentielle (EL Hmamouchi, 2006).

#### 2.2.2. Classification de la verveine

Règne : Plantae  
Super-division : Embryophyta  
Division : Tracheophyta  
Classe : Magnoliopsida  
Superordre : Asteranae

Ordre : Lamiales

Famille : Verbenaceae

Genre : *Lippia*

Espèce : *lippia citriodora* (Ghédira et Goetz, 2017)

### 2.2.3. Habitat et culture de *L.citriodora*

La verveine odorante est cultivée sous les climats tempérés comme plante aromatique et ornementale, ainsi que pour ses feuilles, utilisées en phytothérapie. Celles-ci sont récoltées à la fin de l'été. Elle s'accommode sur tous les types des sols et exige une quantité d'eau importante (Pascual et al. 2007). La verveine odorante s'acclimate 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).

### 2.2.4. Composition chimique de la verveine odorante

Les parties utilisées de la plante sont les feuilles, fraîches ou séchées. Bien que L'infusé de feuilles de verveine odorante soit largement consommé, sa composition qualitative et quantitative en polyphénols est encore mal connue. Les feuilles contiennent des composés phénoliques à une concentration de 675 mg/l: dérivés hydroxycinnamique avec verbacoside (5,3%), flavonoïdes tel que luteoline 7- glucoside et luteolin 7- diglucuronide (0,8%) et du potassium 440 mg/ml (Carnat et al. 1999). 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 (Lenoir, 2011). Les feuilles de la verveine contiennent aussi des huiles essentielles (0, 2- 1%): les principaux composés (10-40%) sont : citral, géraniol et limonène (Carnat et al. 1999) .

### 2.2.5. Utilisation de plantes

#### 2.2.5.1. Phytothérapie

Le genre *Lippia* (Verbenaceae) 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 aérienne set 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 et 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).

### **A. Voie externe**

L'huile essentielle est également utilisée en compresses pour le soin de plaies difficiles à cicatriser (Eberhard et al..1984).

### **B. Voie interne**

En qualité de plante médicinale, elle est traditionnellement utilisée par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles digestifs (ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructations, flatulence) ainsi que dans le traitement symptomatique des états neurotoniques des adultes et des enfants (états de nervosité, troubles mineurs du sommeil). L'infusion de 5 à 20 g de feuilles dans un litre d'eau est absorbée à raison de 2 à 5 tasses/jour, ce qui est équivalent de 3-6 gouttes d'huile essentielle, en 2 à 3 prises/j (Eberhard. et al., 1984).

### **2.2.6. 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).

## **2.3. Screening phytochimique**

### **2.3.1. Recherche des flavonoïdes et des leucoanthocyanes**

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. (Vigor et *al*, 2011)

### 2.3.2. Recherches des quinones

Broyer 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. (Vigor et *al*, 2011)

### 2.3.3. Recherche de saponines

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 de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N et K<sub>2</sub>CrO<sub>3</sub> à 10 % (chrome de potassium) (Vigor et *al*, 2011)

### 2.3.4. Recherche des tanins

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 catéchiques.

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 FeCl<sub>3</sub>. La formation d'un précipité indique la présence des tanins galliques. (Vigor et *al*, 2011)

### 2.3.5. Recherche des terpenoïdes et des stéroïdes

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. (Vigor et *al*, 2011)

### 2.3.6. Recherche des alcaloïdes

Prendre 200m g de poudre de matière végétale et ajouter 10ml de l'acide sulfurique a 10%.ajiter pendant 2 minutes apres filtration dans 3 tubes , ajouter quelques gouttes de reactif de mayer,le reactif de bouchardat et le reactif de dragendorff (Vigor et *al*, 2011)

## 2.4. Les huiles essentielles

### 2.4.1. 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 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 (Padriniet, 1996). Généralement se sont des antiseptiques antibactériens vermifuges ou stomachiques. On dénombre environ 600 essences utilisées de nos jours en aromathérapie dont l'essor s'étend dans le domaine médical et touristique (Delille, 2010).

### 2.4.2. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés organiques possédant des structures et des fonctions chimiques très diverses (Lahlou, 2004). Plus de 60 molécules différentes peuvent entrer dans la composition chimique d'une huile essentielle. Les composés majoritaires peuvent représenter, à eux seuls, plus de 85% de l'huile alors que d'autres composés ne sont présents qu'à l'état de traces (Senatore, 1996). L'ensemble de ces constituants appartient, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part (Bruneton, 1999 ; Baser et Buchbauer, 2010). Les huiles essentielles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (Bruneton, 1999).

### A. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à cinq atomes de carbone (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) (Hernandez-Ochoa, 2005 ; Fillatre, 2011). Les terpènes sont subdivisés selon le nombre d'unités isopréniques en : hémiterpènes (1 unité : C<sub>5</sub>), monoterpènes (2 unités : C<sub>10</sub>), sesquiterpènes (3 unités : C<sub>15</sub>), diterpènes (4 unités : C<sub>20</sub>), sesterpènes (5 unités : C<sub>25</sub>), triterpènes (6 unités : C<sub>30</sub>), carotènes (8 unités : C<sub>40</sub>) et les polyisoprènes (n unités : C<sub>5n</sub>) (Hernandez-Ochoa, 2005 ; Fillatre, 2011). Un terpène qui possède un oxygène est un terpénoïde. A noter que le terme terpène, anciennement employé pour caractériser l'ensemble de la classe des terpénoïdes, a une définition aujourd'hui plus restreinte et ne s'adresse qu'aux (mono)-terpénoïdes hydrocarbonés (Baser et Buchbauer, 2010). Dans le cas des huiles essentielles, seuls sont rencontrés les terpénoïdes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, principalement les mono- et sesquiterpénoïdes et, beaucoup plus rarement, les diterpénoïdes. Les monoterpénoïdes représentent à eux seuls environ 90% des huiles essentielles (Richter, 1993 ; Bruneton, 1999 ; Bakkali *et al.*, 2008).

Les terpénoïdes se caractérisent par une grande variété de structures dont certaines sont regroupées dans la figure suivante) (Fillatre, 2011).

Si les composés terpéniques sont les constituants majoritaires des huiles essentielles, les molécules aromatiques n'en demeurent pas moins des composés importants, à l'exemple du cinnamaldéhyde qui représente environ 75% de l'huile essentielle de cannelle (Garnéro, 1996).

### B. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques des huiles essentielles sont principalement des dérivés du phénylpropane C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, parmi lesquels se trouvent des aldéhydes (cinnamaldéhyde des alcools (alcool cinnamique), des phénols (chavicol, eugénol), des dérivés méthoxy (anéthol, estragol) ou méthylène dioxy (myristicine, safrol) (Bruneton, 1999). Il est cependant possible de rencontrer des composés C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>, comme la vanilline (assez fréquente) et l'antranilate de méthyl ainsi que des lactones dérivées des acides cinnamiques (les coumarines, par exemple) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînaient par la vapeur d'eau (Bruneton, 1999).



### C. Les composés d'origines diverses

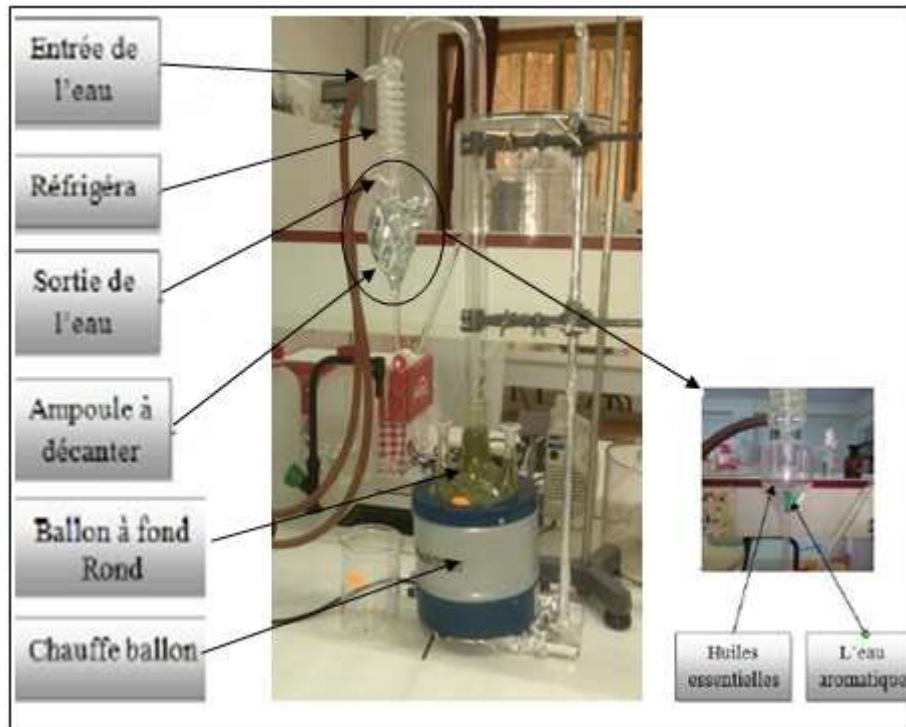
Il existe un nombre non négligeable de composés volatils issus de la dégradation de terpènes non volatils (c'est le cas par exemple des ionones qui proviennent de l'auto-oxydation des carotènes) et d'acides gras (les petites odorantes, comme par exemple le (3Z)-hexen-1-ol ou le décanal, qui sont obtenues à partir des acides linoléique et  $\alpha$ -linoléique) (Bruneton, 1999). Si la concentration de ces composés est généralement très faible, ils peuvent cependant avoir une influence considérable à l'exemple de la  $\beta$ -damascenone. Cette molécule, issue de la dégradation des terpènes, (Leffingwell, 2011).

#### 2.4.3. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

L'hydrodistillation reste la technique d'extraction la plus utilisée et la plus rapide pour l'obtention des meilleurs rendements, sans altération des huiles essentielles fragiles. Leur principe correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux lois physiques (El haib, 2011 ; El kalamouni, 2010). L'extraction se fait au niveau de laboratoire de Tébessa par l'utilisation de système de type Clevenger.

50g de matière sèche de *lippia citriodora* est introduit dans le ballon à fond rond et à 3 cols ou fiole d'un litre surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur avec 500 ml d'eau distillée. Le ballon et son contenu sera mis sur une chauffe ballon à une température voisine de 100 C° et raccordé avec le reste de l'appareil d'extraction (Figure 8). Adopter ensuite le ballon à l'appareil de condensation. Laisser le mélange en ébullition pendant 3 heures. Pendant ce temps, le vapeur se dirige vers le col du cygne puis dans le réfrigèrent ou elle se condense rapidement et tombe, dans l'ampoule de décantation, sous forme d'huile. (Figure 11).

Les huiles essentielles recueillent par décantation à la fin de la distillation a été filtrée en présence de sulfate de sodium Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour éliminer les traces d'eau résiduelles et l'huiles essentielles de *lippia citriodora* sera par suite récupérer et stockée à 4°C à l'obscurité dans un flacon en verre approprié, hermétique fermé et couvert d'une feuille d'aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière. La quantité d'essence obtenue est pesée pour le calcul du rendement (Bouguerra, 2012 ; Mawussi ; 2008 ; Tchoumboungang et al., 2009



**Figure 11** : Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (photo personnelle)

### 2.4.4. Rendement des huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante (AFNOR, 1987), évalué à partir de 3 échantillons (nombre d'extraction). Il est exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R = P_B / P_A \times 100$$

ou

$$R = [\Sigma P_B / \Sigma P_A] \times 100$$

R : Rendement en huile en %

PB: Poids de l'huile en g

PA: Poids de la matière sèche de la plante en g

### 2.5. Traitement

Nous avons préparé une solution d'huile essentielle dans le méthanol. Deux doses correspondant à la (10.19) pour CL25 et (18.37) pour CL 50 pour L3, Deux doses correspondant à la (28.71) pour CL25 et (36.2) pour CL 50 pour L4, puis l'agitation de 1mL de chaque solution préparé ont été appliquée dans des récipients contenant 150 mL d'eau et 25 larves du troisième, quatrième stade nouvellement exuvies de *Culex pipiens*

selon la recommandation de l'organisation Mondiale de la sante (Anonyme 1983) après 24 h de traitement ,les larves sont rincées et placées dans nouveaux récipient contenant de l'eau propre et de la nourriture.



**Figure 12** : des larves traitées (photo personnelle)

### 2.6. Etude morphométrique

Plusieurs paramètres morphométriques ont été pris en considération pour les larves du troisième ,quatrième stade et adultes témoins et traitées (CL25, CL 50) pendant 24, 48 h et 72 h. (Nombre de répétition 3 et nombre des individus 10)

- Poids des individus.
- Largeur du thorax.
- Longueur des ailes
- Volume corporel des larves et des adultes .

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

### 2.7. 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 II, test de Tukey).

# Résultats

## Résultats

### 3.1. Rendement

Les huiles essentielles de *Lippia citriodora* obtenus par hydrodistillation sont de couleur jaune claire ayant une odeur citronnée.

Le rendement enregistré des huiles essentielles extraites est déterminé par rapport à la matière sèche des feuilles de *Lippia citriodora* après trois répétitions. Il est de l'ordre de  $(0,24 \pm 0,05) \%$ .

### 3.2. Screening phytochimique

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires au niveau de tissu végétale des feuilles de *Lippia citriodora*. la détection de ces composés chimique est basée sur des réactions de précipitation et un changement de couleur.

Tous les résultats des tests phytochimiques effectués sur les différents extraits sont présentés dans le tableau suivant.

**Tableau 1** : résultats des tests de recherche des composés chimiques

Les composés chimiques	Présence (+) / absence(-)
Flavonoïdes	+
Leucoanthocyanes	-
Quinones	-
Saponines	+
Tanin galinique	-
Terpenoïdes	+
Stéroïdes	+
Alcaloïdes	-
Tanin catechique	+

### 3.3. Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* sur la croissance pondérale de *Culex pipiens*

#### \* Stade larvaire (L<sub>3</sub>)

Les résultats de l'évolution du poids corporel des larves du troisième stade de *Culex pipiens* sont mentionnés dans le tableau 2 et la figure 13. Pour les séries témoins et traitées à la CL25 et à la CL50, on note une variation très hautement significative ( $p < 0,0001$  et

## Résultats

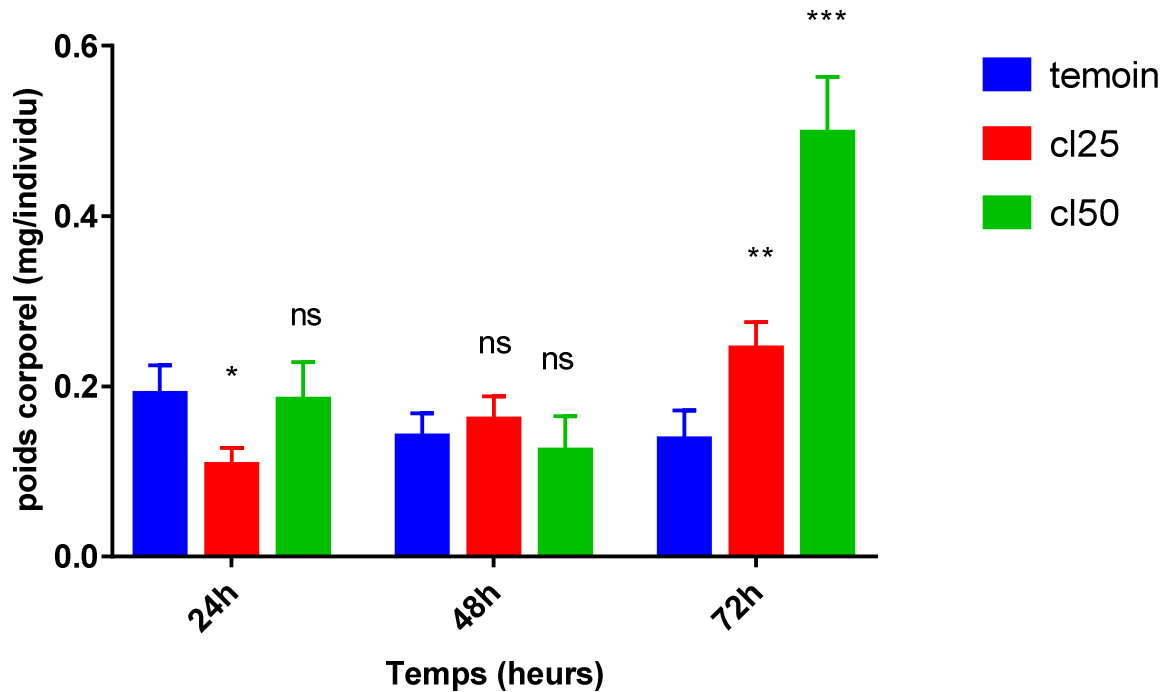
p<0,0001 respectivement) du poids corporel des larves au cours de la période testée (24, 48 et 72h)

La comparaison des moyennes entre les séries témoins et traitées par le test tukey, révèle une augmentation très hautement significative du poids corporel des larves 3 à 72h entre les séries témoins et les séries traitées à la CL25 et à la CL50. et une augmentation très hautement significative pour les séries traitées à la CL25 et à la CL50 durant les trois temps

**Tableau 2** : Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des larves du troisième stade de *Culex pipiens* à différentes périodes ( $m \pm sd$ , n= 3 répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

<b>Temps (heurs)</b>	<b>Temoin</b>	<b>CL25</b>	<b>CL50</b>
<b>24h</b>	<b>0,19 ± 0,03 a</b> <b>A</b>	<b>0,10 ± 0,02 a</b> <b>A</b>	<b>0,18 ± 0,04 a</b> <b>A</b>
<b>48h</b>	<b>0,14 ± 0,02 a</b> <b>A</b>	<b>0,16 ± 0,02 a</b> <b>AB</b>	<b>0,12 ± 0,04 a</b> <b>A</b>
<b>72h</b>	<b>0,13 ± 0,03 a</b> <b>A</b>	<b>0,24 ± 0,03 b</b> <b>B</b>	<b>0,49 ± 0,06 c</b> <b>B</b>

## Résultats



**Figure 13 :** Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des larves L<sub>3</sub> chez *Culex pipiens* à différentes périodes (m±sd, n=3). (NS: Différence non significative (p>0,05) ; \*: Différence significative (p<0,05) ; \*\*: Différence hautement significative (p<0,01) ; \*\*\*: Différence très hautement significative (p<0,001).

### \* Stade larvaire (L<sub>4</sub>)

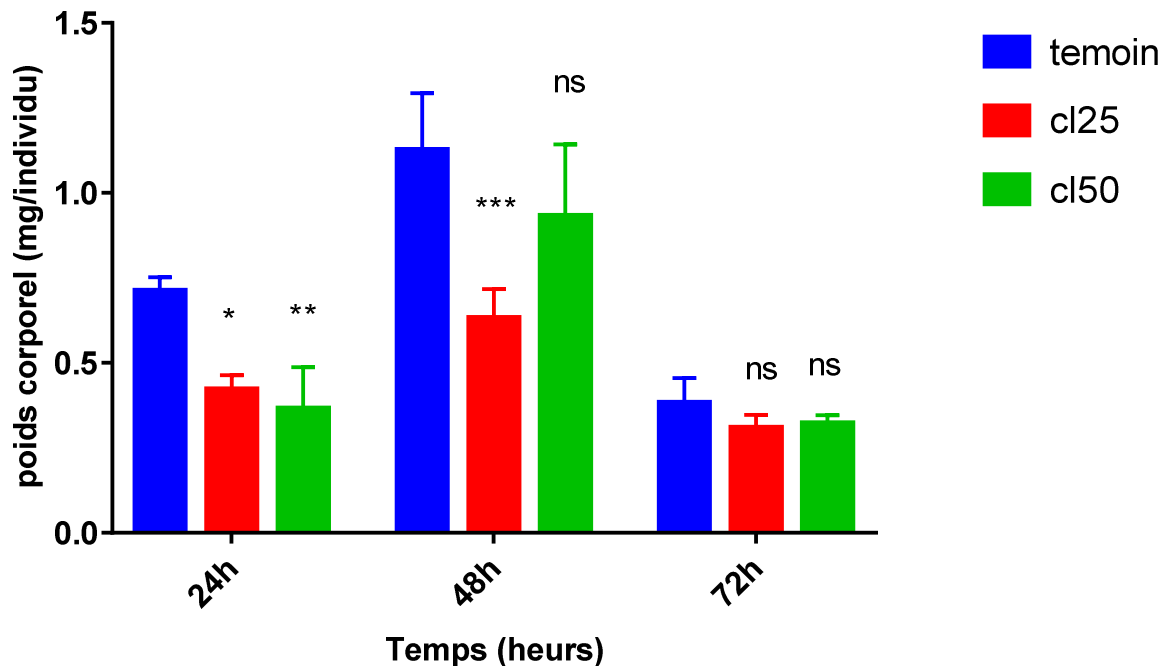
Les résultats de l'évolution du poids corporel des larves du quatrième stade de *Culex pipiens* sont mentionnés dans le tableau 3 et la figure 15. Ces résultats présentent une différence très hautement significative entre les trois temps (p<0,0001) et entre les séries témoin et traitées (p=0,0003)

La comparaison des moyennes entre les séries témoins et traitées par le test tukey, révèle une variation très hautement significative du poids corporel des larves 4 à 24, 48 et 72h pour les séries témoins et les séries traitées à la CL25 et à la CL50. Pendant que, une diminution très hautement significative du poids corporel chez les séries traitées à la CL25 et à la CL50 par rapport au séries témoins à 24 et 48h.

## Résultats

**Tableau 3 :** Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des larves du quatrième stade de *Culex pipiens* à différentes périodes ( $m \pm sd$ ,  $n= 3$  répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heurs)	Temoin	CL25	CL50
24h	0,71 ± 0,04 a A	0,42 ± 0,04 b AB	0,36 ± 0,12 b A
48h	1,12 ± 0,17 a B	0,63 ± 0,08 b A	0,93 ± 0,21 a B
72h	0,38 ± 0,07 a C	0,30 ± 0,04 a B	0,32 ± 0,02 a A



**Figure 14 :** Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des larves L<sub>4</sub> chez *Culex pipiens* à différentes périodes ( $m \pm sd$ ,  $n=3$ ). (NS: Différence non significative ( $p > 0,05$ ); \*: Différence significative ( $p < 0,05$ ); \*\*: Différence hautement significative ( $p < 0,01$ ); \*\*\*: Différence très hautement significative ( $p < 0,001$ )).



## Résultats

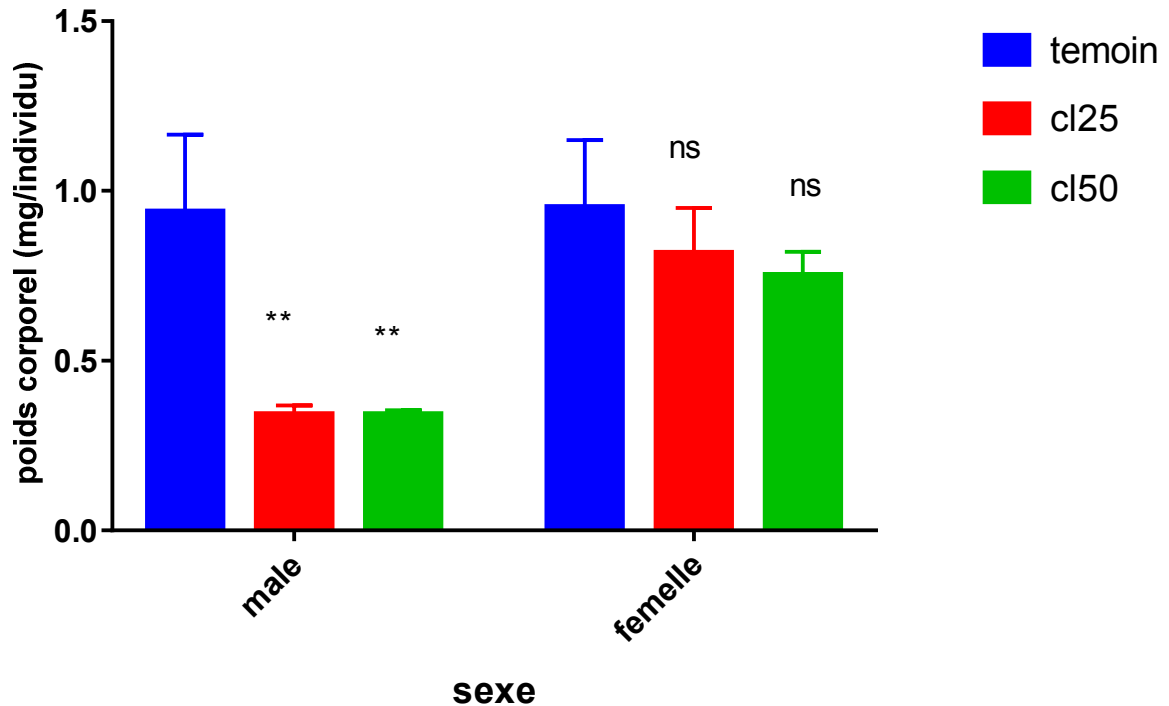
### \* Adulte

L'analyse de la variance du poids corporel des adultes mâles et femelles montre des différences hautement significatives entre les trois séries et entre les deux sexes ( $p=0,0075$  et  $p=0,0093$  respectivement).

La comparaison multiple des moyennes révèle une diminution hautement significative du poids corporel chez les séries traitées à la CL25 et à la CL50 pour les adultes mâles alors que aucun effet dose a été signalé chez les adultes femelles.

**Tableau 4** : Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des adultes mâles et femelles de *Culex pipiens* ( $m \pm sd$ ,  $n= 3$  répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Sexe	Témoin	CL25	CL50
Adulte mâle	$0,93 \pm 0,22$ a A	$0,34 \pm 0,02$ b A	$0,34 \pm 0,01$ b A
Adulte femelle	$0,95 \pm 0,20$ a A	$0,81 \pm 0,13$ a B	$0,75 \pm 0,07$ a B



**Figure 15 :** Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des adultes mâles et femelles chez *Culex pipiens* ( $m \pm sd$ ,  $n=3$ ). (NS: Différence non significative ( $p > 0,05$ ); \*\*: Différence hautement significative ( $p < 0,01$ )).

**3.4. Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* sur la croissance linéaire de *Culex pipiens*** L'effet de cet insecticide a été évalué sur certains paramètres morphométriques : la largeur du thorax des larves L3 et L4, la longueur des ailes des adultes mâles et femelles et le volume corporel des individus témoins et traités.

### 3.4.1. Largeur du thorax

#### \* Stade larvaire (L<sub>3</sub>)

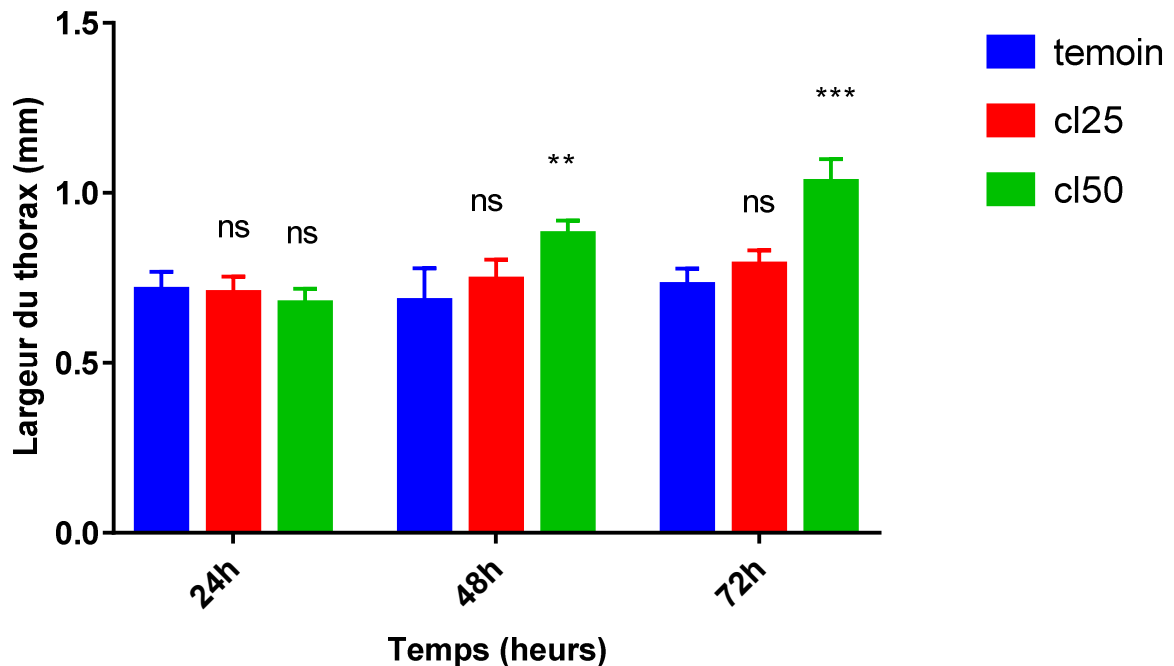
La largeur du thorax marque des différences très hautement significatives entre les séries témoins et les séries traitées à la CL25 et à la CL50 et au cours des trois temps ( $p=0,0001$  et  $p=0,0002$  respectivement).

La comparaison des valeurs moyennes montre une augmentation hautement significative chez les séries traitées à la CL50 avec le temps. Aussi la concentration CL50 provoque une augmentation très hautement significative de la largeur du thorax durant 48 et 72h.

## Résultats

**Tableau 5 :** Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur la largeur du thorax (mm) des larves du troisième stade de *Culex pipiens* à différentes périodes ( $m \pm sd$ ,  $n= 3$  répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heurs)	Temoin	CL25	CL50
24h	0,71 $\pm$ 0,05 a A	0,70 $\pm$ 0,05 a A	0,67 $\pm$ 0,04 a A
48h	0,68 $\pm$ 0,09 a A	0,74 $\pm$ 0,06 a A	0,87 $\pm$ 0,04 b B
72h	0,72 $\pm$ 0,05 a A	0,78 $\pm$ 0,04 a A	1,03 $\pm$ 0,06 b C



**Figure 16 :** Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur la largeur du thorax (mm) des larves L<sub>3</sub> chez *Culex pipiens* à différentes périodes ( $m \pm sd$ ,  $n=3$ ). (NS: Différence non significative ( $p > 0,05$ ) ; \*\*: Différence hautement significative ( $p < 0,01$ ) ; \*\*\*: Différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ).

## Résultats

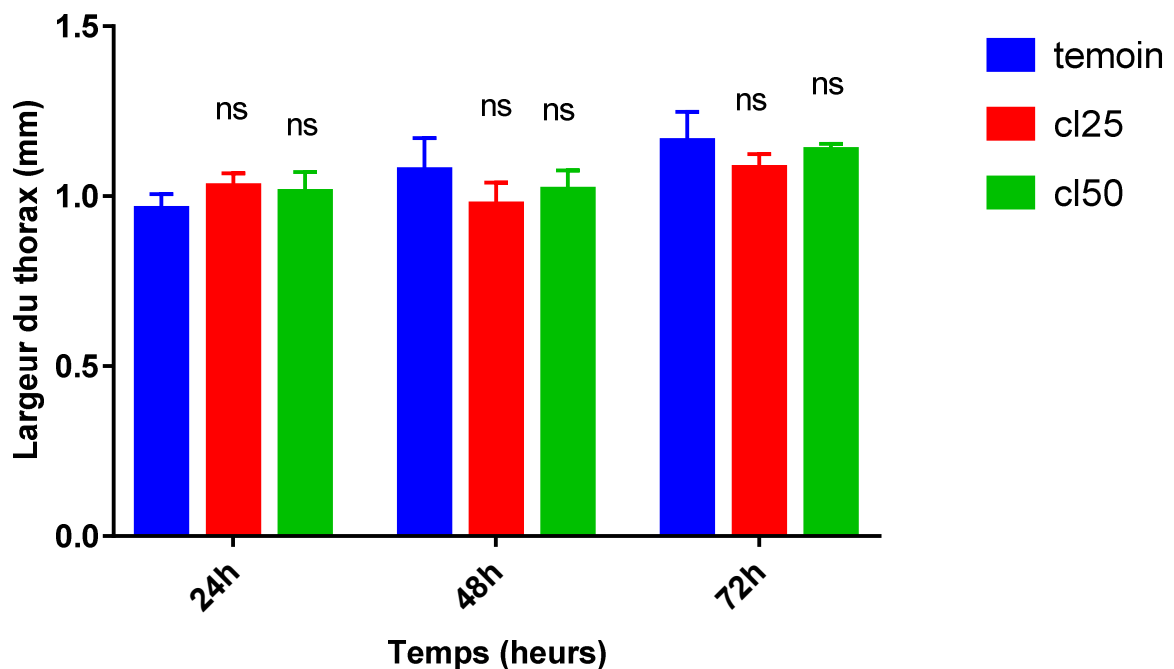
### \* Stade larvaire (L<sub>4</sub>)

Ces résultats montrent des différences non significatives entre les séries témoins et les séries traitées à la CL25 et à la CL50 et une augmentation hautement significative au cours des trois temps ( $p=0,4375$  et  $p=0,0010$  respectivement).

La comparaison des moyennes montre qu'il y a une augmentation hautement significative chez les séries témoins avec le temps

**Tableau 6 :** Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur la largeur du thorax (mm) des larves du quatrième stade de *Culex pipiens* à différentes périodes ( $m \pm sd$ ,  $n=3$  répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heurs)	Temoin	CL25	CL50
24h	0,96 ± 0,04 a A	1,02 ± 0,04 a A	1,01 ± 0,06 a A
48h	1,07 ± 0,09 a AB	0,97 ± 0,06 a A	1,01 ± 0,05 a A
72h	1,16 ± 0,08 a B	1,08 ± 0,04 a A	1,13 ± 0,02 a A



**Figure 17 :** Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur la largeur du thorax (mm) des larves L<sub>4</sub> chez *Culex pipiens* à différentes périodes ( $m \pm sd$ ,  $n=3$ ). (NS: Différence non significative ( $p>0,05$ ))

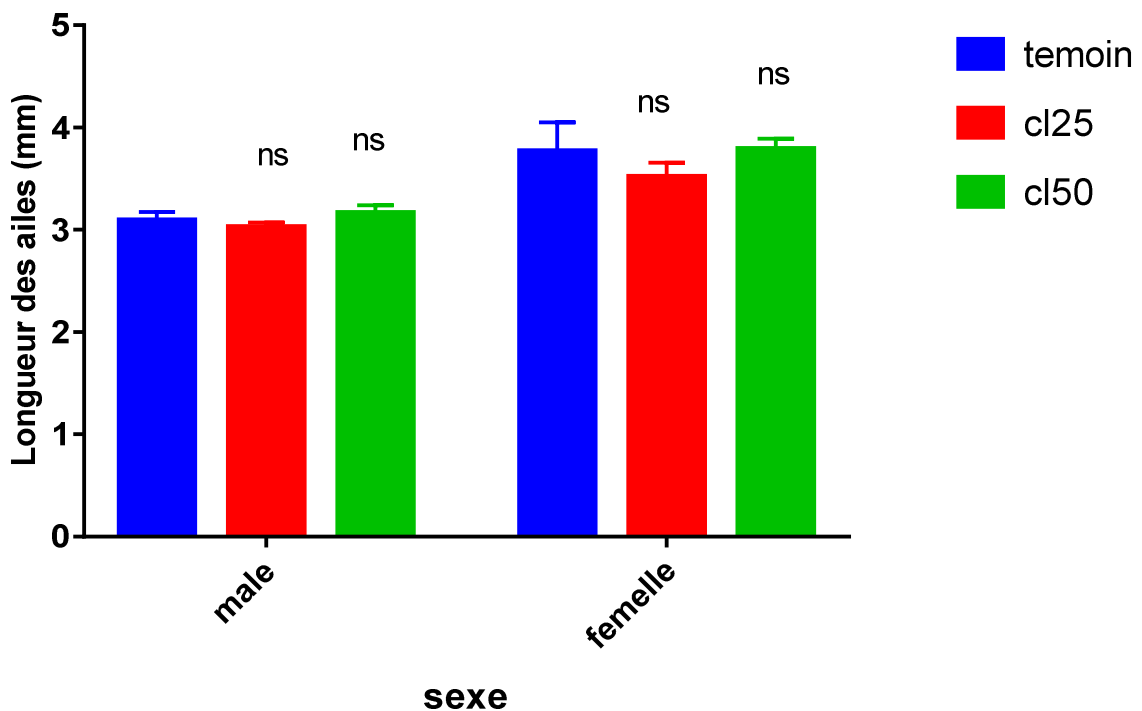
## Résultats

### 3.4.2. Longueur des ailes

Concernant la longueur des ailes, l'analyse de la variance révèle une variation non significative entre les séries témoins et les séries traitées à la CL25 et à la CL50 ( $p=0,0878$ ). et une différence très hautement significative entre les deux sexes ( $p<0,0001$ ).

**Tableau 7** : Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur la longueur des ailes (mm) des adultes mâles et femelles de *Culex pipiens* ( $m \pm sd$ ,  $n=3$  répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Sexe	Témoin	CL25	CL50
Adulte mâle	$3,08 \pm 0,09$ a A	$3,01 \pm 0,05$ a A	$3,15 \pm 0,08$ a A
Adulte femelle	$3,75 \pm 0,29$ a B	$3,50 \pm 0,14$ a B	$3,78 \pm 0,10$ a B



**Figure 18** : Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur la longueur des ailes (mm) des adultes mâles et femelles chez *Culex pipiens* ( $m \pm sd$ ,  $n=3$ ). (NS: Différence non significative ( $p>0,05$ ))

## Résultats

### 3.4.3. Volume corporel des individus

#### \* Stade larvaire (L<sub>3</sub>)

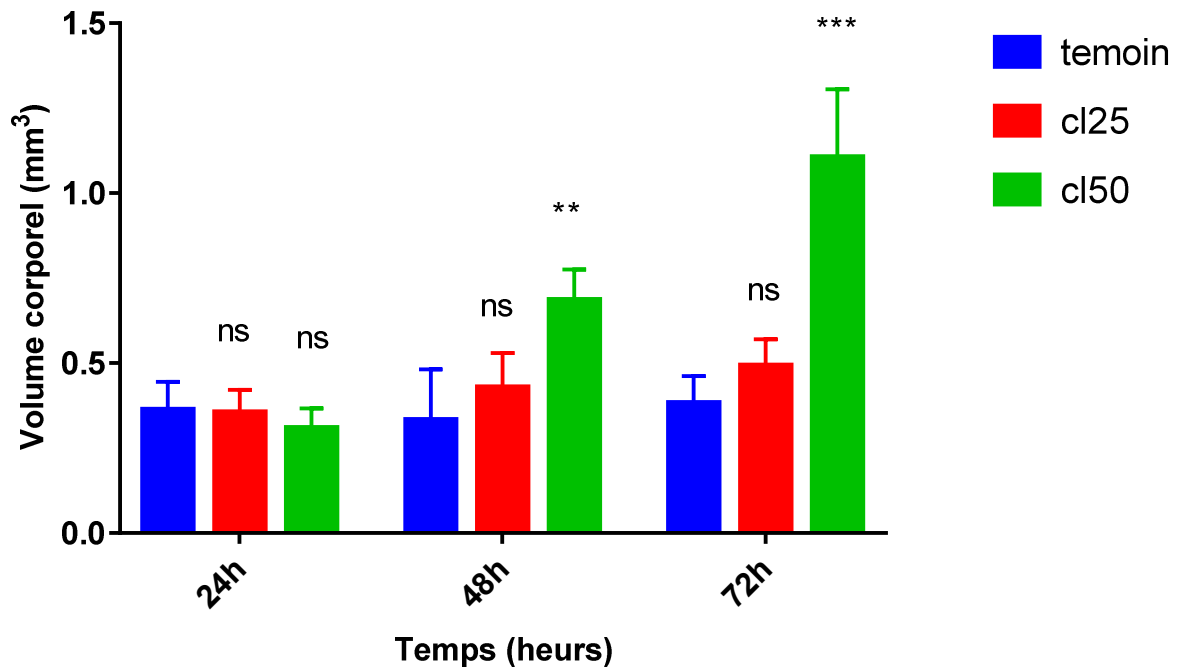
Les résultats obtenues montrent que le volume corporel des individus témoins et traités à la CL25 et à la CL50 présentent des différences très hautement significatives avec ( $p < 0,0001$ ) durant les trois stades ( $p < 0,0001$ ).

La comparaison des moyennes par le test de tukey montre que le traitement avec la concentration CL50 provoque une augmentation très hautement significative avec le temps et une augmentation très hautement significative chez les séries traitées à la CL50 par rapport aux séries témoins et aux séries traitées à la CL25 à 48 et 72h.

**Tableau 8 :** Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le volume corporel ( $\text{mm}^3$ ) des larves du troisième stade de *Culex pipiens* à différentes périodes ( $m \pm \text{sd}$ ,  $n = 3$  répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heurs)	Temoin	CL25	CL50
24h	0,36 ± 0,08 a A	0,35 ± 0,06 a A	0,30 ± 0,06 a A
48h	0,33 ± 0,15 a A	0,42 ± 0,10 a A	0,68 ± 0,09 b B
72h	0,38 ± 0,08 a A	0,49 ± 0,08 a A	1,10 ± 0,20 b C

## Résultats



**Figure 19 :** Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le volume corporel ( $\text{mm}^3$ ) des larves  $L_3$  chez *Culex pipiens* à différentes périodes ( $m \pm \text{sd}$ ,  $n=3$ ). (NS: Différence non significative ( $p > 0,05$ ) ; \*\*: Différence hautement significative ( $p < 0,01$ ) ; \*\*\*: Différence très hautement significative ( $p < 0,001$ )).

### \* Stade larvaire ( $L_4$ )

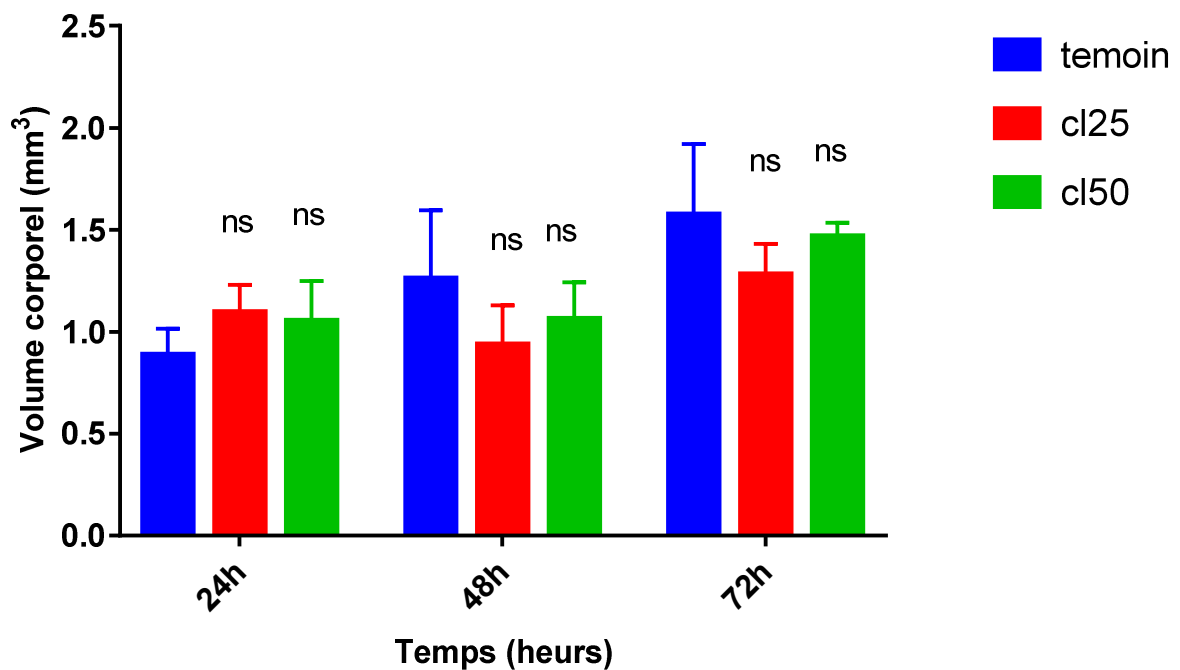
Pour le stade ( $L_4$ ), les résultats obtenus montrent que le volume corporel augmente d'une façon hautement significative ( $p=0,0011$ ) lorsqu'on compare entre les trois temps et aucun effet dose a été signalé durant 24, 48 et 72h après traitement (Tableaux 9 et Figure 20)

La comparaison des moyennes par le test de tukey montre une augmentation hautement significative chez les séries témoins après 72h.

## Résultats

**Tableau 9** : Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le volume corporel ( $\text{mm}^3$ ) des larves du quatrième stade de *Culex pipiens* à différentes périodes ( $m \pm \text{sd}$ ,  $n= 3$  répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heurs)	Temoin	CL25	CL50
24h	$0,88 \pm 0,13$ a A	$1,09 \pm 0,13$ a A	$1,05 \pm 0,20$ a A
48h	$1,25 \pm 0,33$ a AB	$0,93 \pm 0,19$ a A	$1,06 \pm 0,18$ a A
72h	$1,57 \pm 0,35$ a B	$1,27 \pm 0,15$ a A	$1,46 \pm 0,07$ a A



**Figure 20** : Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le volume corporel ( $\text{mm}^3$ ) des larves  $L_4$  chez *Culex pipiens* à différentes périodes ( $m \pm \text{sd}$ ,  $n=3$ ). (NS: Différence non significative ( $p > 0,05$ ))



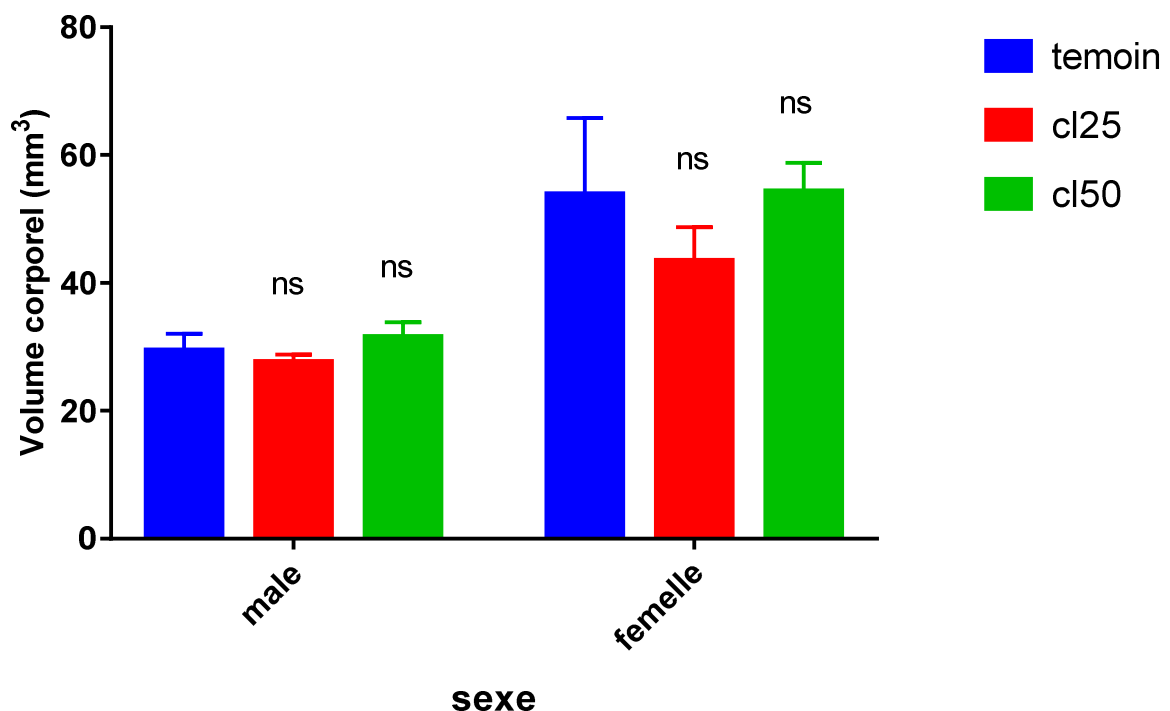
## Résultats

### \* Adulte

L'analyse de la variance de volume corporel des adultes montre des différences non significative entre les entre les séries témoins et les séries traitées à la CL25 et à la CL50 ( $p=0,4137$ ). et une différence très hautement significative entre les deux sexes ( $p=0,0011$ ).

**Tableau 10 :** Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le volume corporel ( $\text{mm}^3$ ) des adultes mâles et femelles de *Culex pipiens* ( $m \pm sd$ ,  $n= 3$  répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Sexe	Témoin	CL25	CL50
Adulte mâle	29,31 $\pm$ 2,72 a A	27,48 $\pm$ 1,30 a A	31,42 $\pm$ 2,42 a A
Adulte femelle	53,71 $\pm$ 12,09 a B	43,35 $\pm$ 5,35 a B	54,16 $\pm$ 4,60 a B



**Figure 21 :** Effet des H.E extraites de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) sur le volume corporel ( $\text{mm}^3$ ) des adultes mâles et femelles chez *Culex pipiens* ( $m \pm sd$ ,  $n=3$ ). (NS: Différence non significative ( $p>0,05$ ))



# Discussion

## Discussions

---

Nous avons procédé à l'extraction des huiles essentielles de la plante *Lippia citriodora* et à l'évaluation de l'effet de la dose CL25, CL50, trouvées préalablement par nos collègues sur le développement des larves L3 et L4 et adultes de la moustique *Culex pipiens*,

### 4.1.Extraction et rendement en huile essentielle

Les huiles essentielles de *Lippia citriodora* récoltées ont été extraites par la technique d'hydrodistillation sur un appareil de type Clevenger. La partie aérienne de la plante étudiée a donné un rendement de l'ordre de  $(0,24 \pm 0.05)\%$ .

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes (monoterpènes, sesquiterpènes,...). Il est admis que l'effet de ces composés purs peut être différent de celui obtenu par des extraits de plantes.

Les huiles essentielles contiennent un nombre considérable de familles biochimiques (chénotypes) incluant les alcools, les phénols, les esters, les oxydes, les coumarines, les 26 sesquiterpènes, les terpénols, les cétones, les aldéhydes, etc. On voit qu'elles ne sont pas constituées d'acides gras, ni d'aucun autre corps gras (Messeguem, 2011).

En comparant les rendements des huiles essentielles obtenus au cours de notre étude avec ceux rapportés dans la littérature, nous avons fait les constats suivants : nos résultats sont inférieure de l'ordre de grandeur que les études rapportées par ( Taleb-Toudert et al., 2002) ,(Saidi, 2014) et inférieurs à ceux obtenus par (Taleb-Toudert, 2015) . Ces auteurs ont montré que les teneurs en huile essentielle de la partie aérienne de *Lippia citriodora* sont respectivement : 0,29, 0,195 et 0,85%.

Ce rendement varie d'une plante à une autre, il est de 0,5% chez *Artemisia mesticana*, de (0,1-0,35%) chez la rose, de (0,5-1%) chez la menthe poivrée et le néroli, de (1-3%) chez l'anis, de (0,8-2,8%) chez la lavande, de (1-2,5%) chez le romarin, de (2-2,75%) chez le thym (Edward et al., 1987) et de (1,3-1,6)% chez le basilic (Badani, 2014). Une autre espèce, *Lavandula stoechas* a enregistré un rendement de 0,77 à 1,2% (Mohammedi & Atik, 2011)

Les différences de rendement en huiles essentielles d'un organe à un autre ou d'une espèce à une autre ont été rapportées. Selon plusieurs auteurs, l'origine de récolte de l'espèce, la période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage et la méthode

d'extraction sont des facteurs parmi d'autres qui peuvent aussi avoir un impact direct sur les rendements en huile essentielle (Daouda , 2015).

### 4.2. Screening phytochimique

A partir de résultat de tableau 1 *Lippia citriodora* riche de composés chimique (Flavonoides,Saponines,Terpenoides,Steroides,Tanin catechique) au contraire de resultat de(Abdoul 2002)il resulte que Les compositions chimiques contiennent toutes une proportion importante de sesquiterpènes appartenant au groupe des caryophyllanes et à celui des germacrane et de leurs dérivés cyclisés élémanes et eudesmanes. L'espèce *L. rugosa* se distingue pourtant par une teneur élevée en eudesmol, alors que les deux autres espèces *L.chevalerie* et *L.savoryi* sont caractérisées par des taux relativement plus importants de monoterpènes parmi lesquels le 1,8 cinéole est le plus abondant en Borkina Faso.

### 4.3. Effet des huiles essentielles sur la morphométrie

La processus de la croissance larvaire et le contrôle endocrine et de la métamorphose chez les Lépidoptères essentiellement *Manduca sexta* (Nijhout,1994) .Nijhout(1975) est le premier auteur qui a décrit des paramètres morphométriques de *Manduca sexta* et leur seuil critique pour contrôler la libération des hormones indispensables à certaines activités physiologiques .Le volume du repas sanguin consommé, le degré de son utilisation dans les voies métaboliques et le nombre des œufs qui arrive à la maturation (Hosoi,1954 ; Heuvel,1963) .( Burker *et al.*,1960) ont démontré la relation entre la fécondité d'*Aedes aegypti* et la quantité de sang ingéré qui sont tous deux sous le contrôle du volume corporel , déterminant d'une part l'oogénèse et d'autre part ,le nombre d'œufs.

Le poids corporel chez les insectes dépend généralement de la présence de la nourriture dans leurs habitats, des conditions environnementales et surtout des caractères héréditaires de chaque espèce (Braquenier, 2009).

Les résultats obtenus au cours de notre expérimentation montrent que les H.E de *Lippia citriodora* (CL50) et (CL25) appliquées sur les larves du troisième, quatrième stades et adulte de *C.pipiens* provoque un changement de différents paramètres :la largeur du thorax, le poids et le volume corporel, parfois les paramètres augmente ,et parfois diminuait . Des résultats similaires sur des larves L4 et nymphe de *Culex pepiens* après traitement par l'*Eucaliptus globulus* sont obtenus par (Khaled et Dib ,2015) ,alors que les résultats obtenus par (Kouider et Attia,2016) montrent que les H.E de *Laurus nobilis* (CL25 et CL50) appliquées sur les larves du quatrième stade de *Culex pipiens*

## Discussions

---

n'affectent pas les paramètres biométriques étudiés. A leur propos (Hamaidia, 2014) avait été publiée des résultats montre que le kinoprène (CL50 et CL90) a diminué le volume corporel de tous les stades considérés (L4, pupes et adultes), quoiqu'il n'ait pas affecté leurs poids. Les deux agonistes RH-2485 et RH-0345 utilisés contre le dernier stade larvaire de *Harmonia axyridis* (Coleoptera : Coccinellidae), provoquent, une chute de poids des larves, des mues larvaires prématurées et des nymphoses incomplètes des larves affectées (Carton *et al.*, 2003). Le diflubenzuron (DFB), inhibiteur de la synthèse de la chitine, affecte aussi les paramètres morphométriques chez les femelles de *Phyllonorycter blancardella* (Marssalet *et al.*, 1988), *Cydiapomonella* (Lepidoptères) (Soltani & Soltani-Mazouni, 1992), *Oxyajaponica* (Orthoptères) (Lim & Lee, 1982) et *T. molitor* (Coleoptères) (Soltani-Mazouni, Khebbeb., Soltani N., 1999; Soltani).

Les huiles essentielles ont des effets antiappétants, affectant ainsi la croissance, la mue, la fécondité et le développement des insectes et acariens. (Regnault-Roger et Hamraoui, 1995) ont observé l'effet du linalool, du thymol et du carvacrol sur la fécondité et le nombre d'œufs pondus du bruché du haricot. Il y a eu également inhibition complète de la pénétration des larves dans les grains traités de linalool et de thymol. De plus, ce dernier produit s'est avéré inhibiteur de l'émergence des adultes. (Karr et Coats, 1990) ont démontré que l'application des d-limonène, linalool,  $\beta$ -myrcène et  $\alpha$ -terpinéol a un effet sur la croissance et le développement de la blatte germanique, *Blattella germanica*. Ces monoterpènes ont influencé significativement le temps requis par les nymphes pour atteindre le stade adulte. L'application de doses élevées de d-limonène et de linalool a diminué l'émergence des nymphes quoique la mortalité des femelles n'a pas été affectée (Chiasson et Beloin, 2007).

# Conclusion

## Conclusion

---

L'utilisation des insecticides, de plus en plus réglementée pour la protection de l'environnement, est à l'origine de nombreux cas de résistance chez les insectes

Dans cette étude, nous avons procédé à l'extraction des huiles essentielles de la plante *Lippia citriodora*, et à l'évaluation de l'effet de la concentration létale CL25(10.19) et CL50 (18.37) pour les larves L3 et CL25(28.76) et CL50 (36.2) pour les larves L4, trouvée préalablement dans laboratoire sur le développement des larves de moustique L3 et L4 et des adultes de l'espèce *C.pipiens*, après traitement et pendant la durée d'étude.

L'extraction des essences a été réalisée par hydrodistillation de type Clevenger. D'après les résultats obtenus on remarque que le rendement en HE est de l'ordre de  $(0,24 \pm 0.05) \%$ .

Pour l'aspect de développement ; les résultats obtenues pour les larves témoins et traitées L3 et L4 par une concentration CL25 et CL50 après 24, 48 et 72 heures - les huiles essentielles de *Lippia citriodora* affecte les différents paramètres : la largeur du thorax, la largeurs des ailles, le poids et le volume corporel au cours de la période testée.

Au terme de cette étude, nous espérons poursuivre :

- L'application des huiles essentielles de *Lippia citriodora* dans la production des biocides ;
- Poursuivre cette étude afin de préciser la nature des composés responsables de cette activité ;
- Comme nous envisageons également de travailler pour évaluer l'activité larvicide des autres espèces végétales récoltées ;
- L'étude des synergies entre les constituants de chacune des huiles végétales.
- L'identification des mécanismes et des sites d'action des huiles de cette plante.

A l'avenir il serait intéressant de compléter cette recherche en évaluant des huiles essentielles de *L.citriodora* sur d'autres mécanismes de résistance, essentiellement les enzymes de détoxification tels que les estérases



**Références**

**bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

- AFNOR.** (1987). Huiles essentielles, recueil dans des normes française. 5 ème editions.1. échantillonnage et méthodes d'annalyses, 2. Spécifications, AFNOR, Paris.
- Andreo,S.**(2003). L'effet anti-gorgement sur chien d'un shampoing à 0,07% d'Itamethrine sur un moustique du complexe *Culex pipiens*. Th. : Med. Vet : Toulouse, 128. 63 pp.
- Anonyme.** (1983). Informal consultation on insect growth regulators. WHO/VBC/83.
- Badani , S.**( 2014). Etude de l'activité des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* sur une espèce de moustique *Culiseta logiareolata*. Mémoire du diplôme de Master. Fac des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie, Tébessa. 24p.
- Balenghien, T.** (2007). Les moustiques vecteurs de la Fièvre du Nil Occidental en Camargue. Insectes., 146 :13-17
- Bendali, F.** (1989). Etude de *Culex pipiens pipiens* anautogène, Systématique et lutte bactériologique (*Bacillus thuringiensis israelensis* serotype H14. *B. sphaericus* 1953) et deux espèces d'hydracariens. Thèse de magister en Arthropodologie. Université d'Annaba. Algérie.
- Bendali, F., Djebbar, F. & Soltani, N.** (2001). Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire. Parasitica., 57(4) : 255 - 265
- Berchi, S.** (2000). Resistance de certaines populations de *Culex pipiens pipiens* (L.) au malathion a Constantine (Algérie) (Diptera : Culicidae). Bull. Soc. Entomol. Fr., 105(2): 125-129.
- Berliner, E.** (1915). User die schalffsuchider Mehlmottenraupo and threen Erreger *Bacillus thuringiensis* n.sp. *Zeitschfit fur Angewandte Entomologie* , 2 : 29-56
- Botrel.A** ; « Encyclopédie des plantes médicinales » ; Edition Larousse ; France ; 2001; pp 228.
- BOUGUERRA ALI M.**(2102 ) Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill .en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Thèse Magister: biotechnologies alimentaire. Constantine: Université Mentouri (I.N.A.T.A.A.), 111p.
- Bourassa, J. P.** 2000- Le Moustique : par solidarité écologique. Les Éditions du Boréal, Québec. 240p.
- Braquinier.**2009. Etude de la toxicité développementale d'insecticides organophosphorés. Analyse comportementale de la souris CDI. Thèse de Doctorat .Université de Liege.217p

## Références bibliographiques

---

- Bruneton J.** ; « Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales »; 2eme Eddition. Tec; Doc ; Lavoisier ; Paris ; France ; 1993.
- Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie. Phytochimie Plantes medicinales, París, Ed Tec-Doc.
- BRUNHES J., RHAIM A., GEOFFROY B., ANGEL G. ET HERVY J.P.(1999)-** *Les Culicidae d'Afrique méditerranéenne*. Logiciel de l'Institut de Recherche pour le Développement (I.R.D.), Montpellier, ISBN 2-7099-1446-8.
- Burker., Barrera R., Lews M., Kluchinsky T., Claborn D.** 2010. Septic tanks as larval habitats for the mosquitoes *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* in Playa-Playita, Puerto Rico. Medical and Veterinary Entomology. 24: 117-123
- Bussieras, J. et Chermette, R.** (1991). Parasitologie Vétérinaire, Entomologie, Service de Parasitologie, ENVA, 58-61.
- Cachareul, A.-I.** (1997). Les moustiques : cycle de développement, aspects anatomo-physiologiques et régulation du cycle ovarien. Th. : Med.Vet. : Nantes, 024. 131 pp.
- Carnat .A & Carnat A.P. & Fraisse.D, Lamaison J.L** ; « The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea Fitoterapia »; 1999 ; vol70 ; pp 44-49.
- Carton,B.,Marfin A.A. ,D.** 2003.Toxicity to two ecdysone agoniste .agonist the multicolourd Asian labybeette *Harmonica axyridis* .Entomol .,127.p240.
- CHADWICK A. J.:** Use of a 0, 25% fipronil pump spray formulation to treat canine cheyletiellosis, Journal of Small Animal Practice, 1997, 38, 261-262.
- CHAKER EL KALAMOUNNI .**( 2010) - Thèse sur: Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, l'Institut National.
- Cheurfa M, Allem R. 2016.** Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla*. Phytothérapie 14(3):181-187.
- Chevriaux, M. 2010-** <http://aramel.free.fr/INSECTES15-2.shtml>
- CLEMENT A.N.** (1999) - The Biology of Mosquitoes: Sensory Reception and Behaviour. CAB International Publishing, p 576.
- Daouda Toure .**2015. Études chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Cote d'ivoire .Thèse de doctorat .616p
- Dohm, D., O'Guinn, M., Turell, M.** 2002- Effect of environmental temperature on the ability of *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) to transmit West Nile virus. J. Med. Entomol. 39 : 221-225. 3
- Eberhard.T et Robert.A et Annelise.L** ; « Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles »; Editions Tec & Doc; Lavoisier; Paris; 1984; pp488-489

## Références bibliographiques

---

- . **Edwards M., Stuber C., Wendell J.** 1987. Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative-trait loci in maize. I. Numbers, genomic distribution, and type of gene action. *Genetics.*, 116:113-125.
- El-haib.A** ; « Valorisation de terpènes naturels issus de plante marocaines par transformation catalytiques »; thèse doctorat ; université de Toulouse ; février 2011.
- EL Hmamouchi.M** ; 2006 « Partenariats Agricoles pour la productivité et la prospérité. ÀP.Numéro spécial»; L'Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques(INPMA); Taounate .
- Faraj. C ; Elkohli. M ;et Lyagoubi.M** ;2006. Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. *Bull Soc Pathol Exot*, 99(2):119-121
- Ghédira.K, Goetz.P** ;2017. Verveine odorante *Aloysia citriodora* Paláu (*Lippia citriodora*). *Phytothérapie* 15(1):33-37.
- Habbachi.W** ;2013- Etude des Blattellidae (Dictyoptera) : Essais Toxicologiques, Synergie et Résistance aux Insecticides et aux Biopesticides. Thèse Doctorat en Biologie Animale.Université d'Annaba. 170p.
- Harbach**;2007. The Culicidae (Diptera) : a review of taxonomy, classification and phylogeny. *Zootaxa.*, 1668: 591-638.
- Hosoi.T** ;1954.Egg production in *Culex pipiens pallens* coquillet.IV.Influence of breeding conditions on wing length,body weight and follicule production.*J.Med.Sci.Biol.*7 :129-134.
- HUGNET.C ; CADORE.J.L ; BOURDOISEAU G** ;1999: Interet du fipronil a 0,25% en spray dans le traitement de la phtiriose a *Damalinia equi* (pou mallophage), *Pratique veterinaire equine*, , 31 (121), 65-68.
- Jolivet, P.** (1980). Les insectes et l'homme. Insecte d'importance médicale. Masson eds. *Pestic.Sc.*, 55 : 909-918.
- Karr. L.L. et J.r. coats** ;1992. Effects of four monoterpenoids on growth and reproduction of the german cockroach (Blattodea : Blattellidae). *J. Econ. Entomol.* 85 : 424-429.
- Khaled Imen et Dib Dounia** ;2015.Evaluation de l'activité des huiles essentielles de l'Eucalyptus globules à l'égard d'une espèce de moustique *Culex pipiens* : toxicologie,développement,morphométrie et biochimie .Thèse de Master. Université de Tébessa.46p.
- Kettle D. S.** (1995). *Medical and Veterinary Entomology*, 2° edition, Wallingford: CAB

## Références bibliographiques

---

international.725 p.

**Kilpatrick, A.M., Meola, M.A., Moudy, R.M. & Kramer, L.D.** 2008- Temperature, viral genetics, and the transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* mosquitoes. PLoS Pathog journal. ppat : 254-312.

**KLOWDEN M.J** ;1990 - The endogenous regulation of mosquito reproductive behavior

**Kouider Sofia et Attia Laila.**2016. Etude de l'effet des huiles essentielles d'une plante larvicide, *Laurus nobilis* sur une espèce de moustique, *Culex pipiens*: Toxicité, morphométrie, biochimie et biomarqueurs.Thèse de Master. Université de Tébessa. 4 85p.

**Legros.P.** 2012- <http://aramel.free.fr/INSECTES15-3.shtml>.

**Lenoir.L** ; 2011 « Effet protecteurs des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat » ; université d'Auvergne , école de doctorale des sciences de la vie et de la santé ;

**Linné. C** ;1758. Systema naturae per regna tria naturae. Edition10. 1. Holmiae: 824p.

**Messeguem Salah Eddine.**2011.Etude de pouvoir antioxydant des huiles essentielles de de *Rosmarinus officinalis labiatieae*.Thèse de Master .Université de Kasdi Merbah Ouargla. 65p

**Mohammedi. Z and Atik. F** ;2012. HPLC-UV Analysis and Antioxidant Potential of Phenolic Compounds from Endemic Shrub of Arid Environment *Tamarix pauciovulata* J. Gay. Natural Products Laboratory, Department of molecular and cellular biology, faculty of sciences, university of Abou Bakr Belkaid, BP 119 Tlemcen

**Moulinier. C** ;2003. Parasitologie et mycologie médicales, éléments de morphologie et de biologie. Cachan : EM inter. 796.

**NEVEU-LEMAIRE.(1952)** - Précis de Parasitologie vétérinaire, Maladies Parasitaires des animaux domestiques, 3<sup>o</sup> Edition, *Vigot frères*.

**Nijhout.H .F** ;1994.Insect Hormones.In :Princeton university Press,New Jersey,USA

**Nijhout ;H ;F** ;1975.A threshold size for metamorphosis in the tobacco hornworm *Manduca sexta* (L).Biol.Bull.,149 :214-255.

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

**PIERRICK. H** ;2014 - *Culex pipiens* - Définition. Réalisé en collaboration avec des Polytechnique de Toulouse, 22-38.

## Références bibliographiques

---

- Rehimi.N, Soltani.N** ; 1999. Laboratory evolution of alsystine. A chitin synthesis inhibitor agonist *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). Effects on development and cuticule secretion. J. Appl. Ent., 123: 437 - 441.
- Regnault-roger. C et Hamraoui.** 1995. Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Stored Prod. Res. 31 : 291-299.
- Rhodain. F et Perez.C** ;1985. Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Maloine .SA Editeur 27, Rue de l'école médecine 75006, Paris .443.
- Ribeiro. J.M. et Francischetti. I.M.B.** 2003- Role of arthropod saliva in blood feeding : Sialome and post-sialome perspectives. Annual Review of Entomology. 48 : 73-88.
- Saidi.S** ; 2013 « Etude de l'effet antioxydant des huiles essentielles de *Lippia citriodora* de la région de Tlemcen » ; mémoire de master ; université de Tlemcen.
- Saidi .S** ;2014.Etude de l'effet antioxydant des huiles essentielles de *Lippia ciiriodora* de la région de Tlemcen. Thèse de Master .Université – Tlemcen.37 p.
- Schaffner. F ;Angel. G ; Geoffro. B ;Hevry. J.P ; Rhaiem. A et Brunhes.J** ;2001. Moustiques d'Europe. Institut de recherche pour le développement IRD. Logiciel d'identification.
- Soltani-Mazouni. N et Soltani. N**,1995. Effets du Diflubenzuron en traitement *in vivo* et *in vitro* sur la morphométrie de l'ovaire de *Tenebrio molitor*. *Med. Fac. Landbow. Univ. Gent.*, 60 (35): 961-967.
- Soltani.N ;Rehimi.N** ;2002.Laboratory evaluation of Andalin, a new insecticide interfering with cuticle deposition, against *Culex pipiens*. Algerian J. of Med. 4(1): 28-33.
- Soltani . N ; Soltani-Mazouni . N** ; 1992. Diflubenzuron and oogenesis in the codling moth, *Cydia pomonella* (L.). *Pestic. Sci.* 34: 257-261.
- Soltani-Mazouni N., Khebbab M.E.H., Soltani N.** 1999. Production d'ecdystéroïdes ovariens durant la maturation des oocytes chez *Tenebrio molitor*. *Ann. Soc. Entomol. France.* 35: 82-86.
- Tetreau,G.** 2012- Devenir du bioinsecticide Bti dans l'environnement et impact sur le développement de résistances chez le moustique. Thèse Doctorat. Université Grenoble. Biodiversité, Écologie, Environnement. 350p.
- Toral** ; 2005- Evaluation *in vitro* de l'efficacité du fipronil sur *Culex pipiens pipiens*. Thèse Doctorat. Ecole Nationale Vétérinaire. Toulouse. 55p.

## Références bibliographiques

---

**Vigor.C ;Vercautern.J et Montels.J** ;2011 travaux pratique de pharmacognosie les substance naturelles dans la chaine des medicaments cours 3eme annee universite montpellier

**WALL. R ;SHEARER .D** ;1992 - Veterinary Entomology, *Chapman & Hall*. 88-191.

**Wiggles.W.** (1972). The principal of Insect physiology. Seventh Edition. Chapman and Hall, 827 p.

**Wolfgang. D et Werner R** ;1988. Guide des insectes. Traduction et adaptation Michel Cusin. Paris : 180-208.

- [http:// aramel.free.fr/INSECTES 15-3.shtml](http://aramel.free.fr/INSECTES%2015-3.shtml) (page consultee le 08/04).