

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie



MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie et Physiologie Animale

Option : Santé et Environnement

Thème :

Etude de la toxicité d'une plante *Lippia citriodora* à l'égard d'une espèce de moustique *Cs. longiareolata*

Présenté par :

Abid Abla

Laifaoui Hania

Devant le jury :

Mme. Edrisse Djemaa	MCB	Université de Tébessa	Président
Mme. Bouabida Hayette	MCA	Université de Tébessa	Rapporteur
Mme. Seghier Hanene	MAA	Université de Tébessa	Examineur

Date de soutenance : Le 25 Mai 2017

Abstract

Abstract

This study aims to test the effect of essential oils extracted from *Lippia citriodora* for mosquito species (*Culiseta longiareolata*), the most abundant in the arid and semi-arid, an aspects have been determined. Toxicological aspects: established with the probit analysis, the lethal dose, the LC50 (10.92 mg/l) and the CL 90 (20.43 mg/l), *Lippia citriodora* essential oils, are toxic to larvae (4th stage), the LC50 (7, 62 mg/l) and the CL90 (17,14 mg/) of larvae (3rd stage) respectively at *Culiseta longiareolata* with a concentration-response relationship.

Keywords: essential oils, *Lippia citriodora*, *Culiseta longiareolata*

تهدف هذه الدراسة الى تجريب مفعول الزيوت الاساسية المستخلصة من نبات التيزرانة *Lippia citriodora* ضد نوع من البعوض واسع الانتشار *Culiseta loniareolata* في المناطق الجافة والشبه جافة قد تم تقييم جانب منه:

الجانب السمي : سمح تحليل Probits بتحديد الجرعات المميثة CL50 للزيوت الاساسية من نبات التيزرانة *Lippia citriodora* (10.92mg/l), CL50 (7.92mg/l) والجرعة المميثة, CL90(17.14mg/l), CL90(20.43mg/l) للطور اليرقي الثالث والرابع لنوع من الباعوض *Cs.longiareolata* والتي تؤثر على اليرقات بتناسب طردي للجرعة مع الاستجابة.

الكلمات المفتاحية : الزيوت النباتية *Lippia citriodora*, *Cs.longiareolata*,

Résumé

Résumé

Cette étude vise à tester l'effet des huiles essentielles extraites de *Lippia citriodora* à l'égard de espèce de moustique (*Culiseta longiarealata*), la plus abondantes dans la région aride et semi-aride, un aspect ont été déterminé.

Aspects toxicologique: a permis d'établir grâce à l'analyse des probits, la dose létale, la CL50 (10.92 mg/l) et la CL 90 (20.43 mg/l), les huiles essentielles de *Lippia citriodora*, manifestent une toxicité à l'égard des larves de (4 ème stade), la CL50 (7,62 mg/l)et la CL90 (17,14 mg/l) des larves (3ème stade) respectivement chez *Culiseta longiarealata* avec une relation concentration-réponse.

Mots clés: huiles essentielles, *Lippia citriodora*, *Culiseta longiarealata*

Table de matière

Table de matière

Introduction	1
1. Matériel et méthode	3
1.1. Présentation de l'espèce animale	3
1.1.2. Présentation de <i>Culiseta longiareolata</i>	3
1.2. Position systématique	4
1.3 Cycle de développement	5
a-Œufs	5
b-Larves	5
c-Nymphes	5
d-Adultes	6
2. Présentation de l'espèce végétale	6
2.1. Généralité	7
2.2. Histoire et traditions	7
2.3. Classification de <i>lippia citriodora</i>	7
2.4. Description de <i>Lippia citriodora</i>	8
2.5. Habitat et culture de <i>L. citriodora</i>	8
3. Les huiles essentielles	8
3.1. Définition des huiles essentielles	8
3.2.1.Étude des propriétés organoleptiques	8
3.3. Composition chimique du <i>L.citriodora</i>	9

Table de matière

3.4. Toxicité des huiles essentielles sur <i>Culiseta longiareolata</i>	10
3.5. Extraction des huiles essentielles de <i>Lippia citriodora</i>	11
Matériel végétal	11
3.6. Extraction par hydrodistillation	11
❖ Rendement	12
3.7. Technique d'élevage	12
3.8. Traitement	
3.9. Test de toxicité	13
2. Résultat	
1. Rendement en huile essentielle de <i>Lippia citriodora</i>	15
2. Toxicologie des huiles essentielles de <i>Lippia citriodora</i> du quatrième stade larvaire	15
3. Toxicologie des huiles essentielles de <i>Lippia citriodora</i> du troisième stade	17
Discussion	21
2.1. Extraction des huiles essentielles du <i>Lippia citriodora</i>	21
2.2. Tests de toxicité	22
Conclusion	
Référence bibliographie	

Table de matière

Listes des figures

Listes des figures

Figures	Titre	Page
Figure.01	Larve du <i>Culiseta longiareolata</i> .	04
Figure.02	Cycle de développement de <i>Cs.longiareolata</i> .	06
Figure.03	<i>Lippia citriodora</i>	07
Figure.04	Les feuilles de verbena	11
Figure.05	Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger..	12
Figure.06	Techniques d'élevage.	13
Figure.07	Courbe de référence expriment les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2=0,986$).	17
Figure.08	Courbe de référence expriment les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2=0,986$).	20

Liste des symboles

Liste des symboles

SYMBOLES	Titre
%	Pourcentage
<	Inférieur
>	Supérieur
µg	Microgramme
Cm	Centimètre
V	Volume
<i>Cs. longiareolata</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>
g	Gramme
HE	Huile Essentielle/Huiles essentielles
L4	Larve de stade 4
L3	Larve de stade 3
m	moyenne
S	Ecart type
mg	Milligramme
ml	Millilitre
min	Minute
n	Nombre de répétitions
nm	Nanomètre
p	Coefficient de signification

Liste des symboles

R²	Coefficient de détermination
±	Plus ou moins
CL50	Concentration létale 50
CL90	Concentration létale 90
h	Heure
IC	Intervalle de confiance
L	Litre
M	Molaire
<i>L .citriodora</i>	<i>Lippia citriodora</i>
m±sem	Moyenne ± écart moyen
ppm	Partie par million
T(-)	Témoin négatif
T(+)	Témoin positif
µM /min/mg	Micromoles par minutes et par milligramme
I C	Intervalle de confiance
Eth	Ethanol

Liste des symboles

Liste des symboles

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau01.	position systématique de <i>Cs. Longiareolata</i> .	4
Tableau 02.	Classification botanique de l'espèce <i>Lippia citriodora</i> .	7
Tableau 03.	Caractéristiques organoleptiques de l'HE de <i>Lippia citriodora</i> .	9
Tableau 04.	Propriétés physico-chimiques d'huile essentielle de <i>Lippia citriodora</i> .	9
Tableau05.	Principaux constituants des huiles essentielles de <i>L.citriodora</i> .	10
Tableau06.	Effet des huiles essentielles extraites de <i>Lippia citriodora</i> (ppm) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuvies de <i>Cs</i> ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	15
Tableau07.	Effet des huiles essentielles extraites de <i>Lippia citriodora</i> (ppm), appliquées sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de <i>Cs.longiareolata</i> sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations (ppm) en logarithmes décimaux.	16
Tableau08	Efficacité des HE extraites de <i>Lippia citriodora</i> sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de <i>Cs.longiareolata</i> , analyse des probits.	16
Tableau09	Effet des huiles essentielles extraites de (ppm) sur <i>Lippia citriodora</i> le taux (%) de mortalité observée chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de <i>Cs.longiareolata</i> ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	16

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau10	Effet des HE extraites de <i>Lippia citriodora</i> (ppm) appliquées sur des larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de <i>Cs.longiareolata</i> . Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	17
Tableau11	Effet des huiles essentielles extraites de <i>Lippia citriodora</i> (ppm) chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de <i>Cs.longiareolata</i> Analyse de la variance des données.	17
Tableau12	Effet des HE extraites de <i>Lippia citriodora</i> (ppm) sur le taux (%) de mortalité chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de <i>Cs.longiareolata</i> : transformation en probits des mortalités ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	18
Tableau13	Effet des huiles essentielles extraites de <i>Lippia citriodora</i> (ppm), appliquées sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de <i>Cs.longiareolata</i> , sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations (ppm) en logarithmes décimaux.	18
Tableau14	Efficacité des HE extraites de <i>Lippia citriodora</i> sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de <i>Cs.longiareolata</i> , analyse des probits.	19
Tableau 15	Effet des HE extraites de <i>Lippia citriodora</i> (ppm) sur le taux (%) de mortalité chez les larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de <i>Cs. longiareolata</i> : transformation en probits des mortalités ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	19
Tableau16	Effet des huiles essentielles extraites de <i>Lippia citriodora</i> (ppm), appliquées sur les larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de <i>Cs.longiareolata</i> , sur le taux de mortalité corrigée: transformation des concentrations (ppm) en logarithmes décimaux.	19

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau17	Efficacité des HE extraites de <i>Lippia citriodora</i> sur des larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de <i>Cs. longiareolata</i> , analyse des probits.	20
------------------	---	----

Remerciement

Remercíment

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

Je tiens à adresser mes remerciements à,

Madame Bouabida Hayette, mon encadreur qui m'a permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions. Je lui dis merci de m'avoir fait partager votre expérience et votre culture scientifique et de m'avoir fait confiance, travaillé sous votre direction a été un plaisir et un honneur pour moi.

Un grand remerciement au président de jury Mme Edrisse Djemaa, pour son aide, son soutien et pour avoir exprimé son entière disponibilité.

Madame Seghier Hanene je la remercie beaucoup pour avoir bien voulu juger ce travail et surtout pour son aide pendant toute les étapes de mon travail.

Enfin mes remerciements s'adressent également à l'ensemble des enseignants qui ont contribué à ma formation au cours de mes années universitaires, sans oublier les responsables de laboratoire ; Manel

Dédicace

Dédicace

*Je dédie ce travail à mes chers parents
jamais je ne saurais m'exprimer quant aux
sacrifices et aux dévouements que vous
consacrés à mon éducation et mes études
.les mots expressifs soient
-ils restent faibles pour énoncer ma gratitude
hautement profonde.*

Que dieu vous protège et vous garde pour nous.

A mes sœurs et mes frères


A mon mari

A mes amies surtout l'intime

A tous mes collègues de promotion

2016

Dédicace



*Je dédie ce travail à mes chers parents
jamais je ne saurais m'exprimé quant
aux
sacrifices et aux dévouements que vous
consacrés à mon éducation et mes
études
.les mots expressifs soient
-ils restent faibles pour énoncer ma
hautement profonde.
Que dieu vous protège et vous garde
pour nous.
A mes sœurs et mes frères
Ames Amon marin amies surtout
l'intime
A tous mes collègues de promotion2016*

Introduction

Matériel
et Méthodes

Résultats

Discussion

Résultats

Conclusion

et

perspective

Références

Bibliographiques

Résumés

Introduction

Introduction

Depuis 170 millions d'année les diptère (les mouches et les moustiques) forment un groupe d'insectes le plus écologiquement diversifié, la famille des *Culicidae* est la plus importante, les moustiques appartient à cette famille forment un groupe diversifié dans une grande partie des insectes sont hématophages (Boudemagh *et al.*, 2013, Poupardin,2011).Selon le plus récent classement la famille des *Culicidae* comprend 2 sous – familles,11tribus, 111 genres et 3528 espèces de la faune du monde (Bensafi *et al.*, 2013).

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

Les *Culicidae* 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 leur avec son mode de vie. Cet insecte comporte une écophase aquatique concernant les stades pré imaginaux (larves et nymphe) alors que les adultes ont une vie aérienne (Rioux, 1958).Pour lutter activement contre les *Culicidae* 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

Introduction

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).

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 (Bouderhem, 2014).

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 (Mohammedi, 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, antioxydantes 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 les composés phénoliques, les saponosides et les huiles essentielles (Mohammedi, 2006).

Les huiles essentielles extraites des 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).

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 des Verbénacées, en particulier *Lippia citriodora*. Ensuite, la partie expérimentale les réponse des populations de l'espèce de moustique (*Culiseta longiorelata*) à l'impact des huiles essentielles d'une espèce de verveine (*Lippia citriodora*) sur l'aspect toxicologique pour les larves du troisième stade et quatrième stade. Enfin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Matériel et Méthode

1. Présentation de l'espèce animale

1.1. Présentation de *Culiseta longiareolata*

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*s 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) L'identification de cette espèce, ne présente pas de difficultés ; ses antennes non spéculées et son siphon très court presque conique et a une selle du segment anal interrompue sont des caractères très originaux (Abdel-Malek, 1960).

Cs.longiareolata est multivoltine, peut présenter une diapause hivernale chez Les adultes sont présents toute l'année avec un maximum de densité au printemps et un autre en automne (Bruhnes *et al.*, 1999).

Les œufs de *Culiseta* groupés en nacelle sont cylindro-coniques, porte environ 50 à400 œufs (Boulkenafet, 2006). Les femelles sont sténogames et autogènes. Elles piquent de préférence les vertébrés surtout les oiseaux, très rarement l'humain, l'espèce est considérée comme un vecteur de Plasmodium d'oiseau. La larve est caractérisée par un peigne siphonal dont ses dents sont implantées irrégulièrement. Chez l'adulte, on remarque la présence au moins d'une tache d'écailles sombres sur l'aile, le thorax avec trois bandes blanches longitudinales et l'absence des soies longues et fortes au niveau du lobe basal du gonocoxite (Bruhnes *et al.*, 1999).



Figure 01 : larve *Culiseta longiareolata* (Wikipédia)

Matériel et Méthode

1.2. Position systématique

Tableau 01 : position systématique de *Cs.longiareolata* (Aitken, 1954).

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

1.3 Cycle de développement : Les moustiques sont des insectes holométaboles. Leur développement passe par une phase larvaire aquatique avant le stade adulte aérien entrecoupé d'une courte phase nymphale (Poupardin, 2011)

a-Œufs : les femelles pondent les œufs sur la surface des gîtes différents (bassins, puits abandonnés, trous des rocher, mers, étangs, canaux, citernes, eau de pluie...), dont l'état de l'eau est toujours stagnant et riche en matières organiques. Ces gîtes sont permanents ou

Matériel et Méthode

temporaires, ombragés ou ensoleillés, remplis d'eau douce ou saumâtre, propre ou polluée (Paul, 2009). Les œufs sont fusiformes, ils ont une taille de 0.5 à 1mm. Au moment de la ponte ils sont blanchâtres et prennent rapidement, par oxydation de certains composants Chimiques de la thèque ; une couleur noire (Peterson, 1980).

b-Larves: le développement des larves à ce stade est exclusivement aquatique, leur déplacement est assuré par des mouvements frétilants caractéristiques, et leur évolution comporte quatre stades, de taille variant de 2mm à 12mm (Boulkenafet, 2006). Les larves vivent environ 10 jours. La rapidité du développement des larves dépend de la quantité de nourriture contenue dans l'eau du gîte (Peterson, 1980).

c-Nymphes : la nymphe ou pupa est en forme de virgule, mobile, présente un céphalothorax fortement renflé avec deux trompettes respiratoires (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).

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

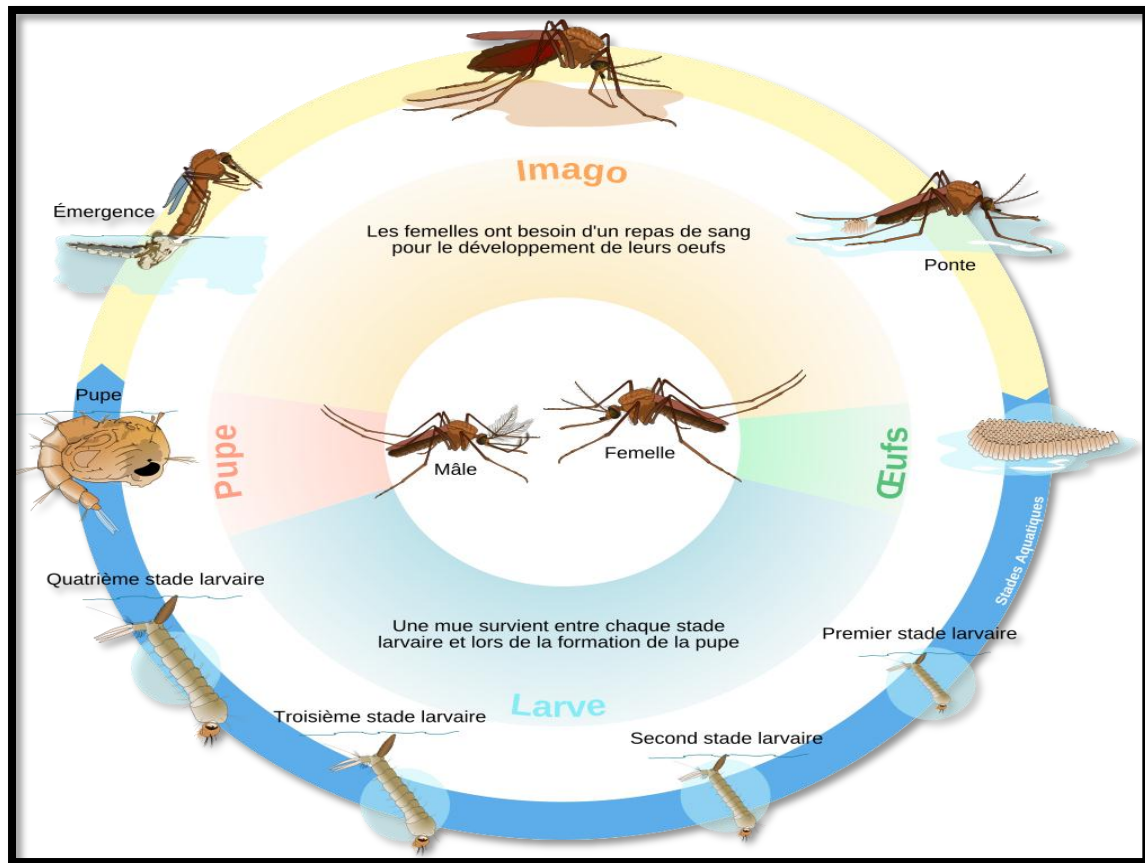


Figure 02: Cycle de développement de *Cs. longiaeriolata*

2. Présentation de l'espèce végétale

2.1. Généralité

La verveine est un arbrisseau cultivé dans les jardins, communément appelé "Louiza ou Tizana". c'est dire combien la popularité de la verveine odorante est grande en Algérie. Cette plante ramifiée est caractérisée par un parfum très agréable rappelant l'odeur du citron, que ces feuilles et ses fleurs exhale. La verveine peut atteindre 2m de haut, ses rameaux sont blanchâtres et ses feuilles lancéolées et rugueuses sont disposées en rosette par trois le long des tiges, au sommet des quelles apparaissent des gerbes de minuscules fleurs blanches disposées également par groupe de trois. Les feuilles récoltées avant la floraison et froissées dégagent une odeur citronnée agréable. Elles contiennent une huile essentielle composée de citral, de terpènes, de géraniol. Originaires d'Amérique du sud, 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. 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. N et Dahmane. M ,2013).

Matériel et Méthode

2.2. Histoire et traditions

Cette plante fut introduite en Europe en 1784 .en infusion ; elle constitua une boisson populaire en France et dans plusieurs pays d'Europe (Slimani, 2013).



Figure 03:*Lippia citriodora*

2.3. Classification de *Lippia citriodora*

La classification botanique de l'espèce *Lippia citriodora* est donnée par le (tab.2) suivant.

Tableau 02 : Classification botanique de l'espèce *Lippia citriodora* (Taleb-Toudert.K ,2002)

Règne	Plante
Division	Magnoliophyta
Sous règne	Trachéobionta
Sous classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Verbénacées
Genre	<i>Lippia</i>
Espèce	<i>Lippia citriodora</i>

2.4. Description de *Lippia citriodora*

La verveine odorante *Lippia citriodora* ou Aloysiatriphylla.est un sous arbrisseau de la famille des Verbénacée, originaire d'Amérique du Sud, introduit et cultivé sur le pourtour méditerranéen (Midi de la France et Afrique du Nord). Il s'agit d'un arbrisseau ramifié dont les tiges anguleuses et cannelées portant des feuilles rudes, courtement pétiolées, verticillées par3.Les fleurs 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 (Brueton .J,

Matériel et Méthode

1993). La verveine odorante est utilisée en herboristerie et en industrie de la parfumerie à cause de l'odeur de citron que dégagent les feuilles broyées. Les rameaux sont récoltés peu avant la floraison, rassemblés en bouquets puis séchés. Les feuilles séchées sont consommées en infusion (Perrot. E et Paris. R, 1974)

2.5. Habitat et culture de *Lippia 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, 2007). La verveine odorante s'acclimate d'un sol perméable, bien drainé et des endroits sans soleillés 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).

3. Les huiles essentielles

3.1. 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 petites quantités par rapport à la masse du végétal (Padrini et Lucheroni, 1996). Pour la 8^{ème} 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). 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).

3.2. Caractéristiques des huiles essentielles

3.2.1. Étude des propriétés organoleptiques

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

Matériel et Méthode

Tableau 03 : Caractéristiques organoleptiques de l'HE de *Lippia citriodora* (Taleb-Toudert.K, 2002).

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

3.2.2. Propriétés physico-chimiques d'huile essentielle de *Lippia citriodora*

Selon Slimani.N (2014) les propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* sont résumées dans le (tab.4) (Slimani.N et Dahmane.M, 2014)

Tableau 4 : Propriétés physico-chimiques d'huile essentielle de *Lippia citriodora*. (Slimani. N et Dahmane. M, 2013)

HE de <i>Lippia citriodora</i>	Propriétés physicochimiques				
	La densité	L'indice de réfraction	Pouvoir rotatoire en (°)	L'indice d'acide (mg de KOH/g d'huile)	L'indice de peroxyde (mg/kg)
	0.902	1.479	-21.6	5.46	2.6
Norme AFNOR	0.890-0920	1.475-1.495	-22 à 12	/	/

3.3. Composition chimique du *Lippia citriodora*

L'huile essentielle est constituée de plusieurs molécules chimiques de synthèse naturelle. Ces molécules sont différentes selon la nature de la plante, le sol, le temps de récolte, la partie de la plante, la préparation de l'échantillon, ainsi que la méthode d'extraction. Les composés sont formés à partir de divers atomes puisés par la plante via le sol et via sa synthèse organique.

L'ensemble constitue des réactions chimiques donnant naissance aux molécules aromatiques, constituant l'huile essentielle. La composition chimique des extraits dépend largement de l'influence des conditions du mode d'extraction sur l'essence contenue dans la plante. Les

Matériel et Méthode

extraits ainsi que de nombreux dérivés porteurs de fonctions diverses sont constitués principalement de composés terpéniques. Les terpènes sont très répandus dans la nature et surtout dans les plantes comme constituants des huiles essentielles. Ils sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique (tab.5) (Noun, 2013).

Tableau 5 : Principaux constituants des huiles essentielles de *Lippia citriodora* (Eberhard.T et Botrel. A, 1984)

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

3.4. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque, comme tous les produits naturels : "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation, de plus en plus populaire, tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles Pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie (Smith et *al.* 2000).

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde (Smith et *al.* 2000). Ou phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines (Naganuma et *al.*1985).

Matériel et Méthode

3.5. Extraction des huiles essentielles de *Lippia citriodora*

✚ Matériel végétal



Figure 04 : les feuilles de verveine

3.6. Extraction par hydrodistillation

❖ Principe

Le principe de l'hydrodistillation consiste à immerger la matière végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. 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 l'eau par différence de densité. Les eaux aromatiques ainsi prélevées sont ensuite recyclées dans l'hydrodistillateur par le cohobage. La durée de l'hydrodistillation pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter (Fellah .A et Mouaici.N , 2014).



Figure 05: Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger.

❖ Rendement

Calcul du rendement

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.M ,2006).

$$R_{HE} (\%) = (M_{HE} / M_s) \times 100$$

R_{HE} : Rendement en HE (%).

M_{HE} : masse d'HE récupérée exprimé en g.

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

3.7 Techniques d'élevage

Les œufs et les larves de moustiques sont récoltés Dans des citernes (2mx 1mx1m) située au niveau de différentes régions de Tébessa. Les larves sont élevées au laboratoire dans des récipients en plastique contenant d'eau déchlorurée et nourries avec du mélange biscuit 75%, levure 25% (Rehimi et Soltani, 1999). L'eau est renouvelée chaque deux jour (Wigglesworth, 1972).

Matériel et Méthode

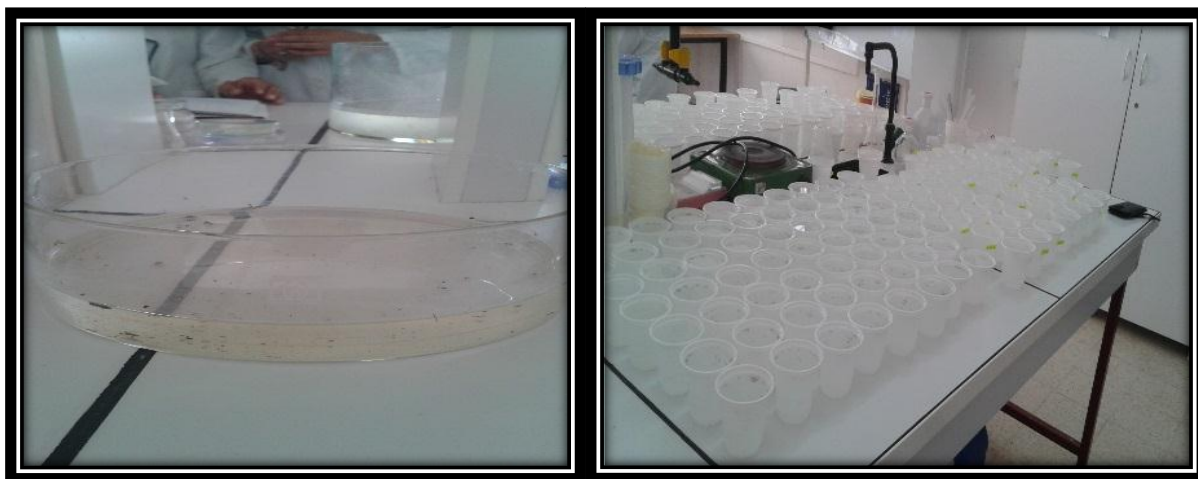


Figure 06 : Techniques d'élevage.

3.8. Traitement

Différentes doses d'huiles essentielles de *Lippia citriodora* (2,5, 5, 10, 20, 25,30 et 35 ppm) ont été appliquées dans des gobelets de 50 cm de diamètre contenant chacun 150 ml d'eau et 25 larves des troisièmes et quatrièmes stades nouvellement exuvies. Des expériences préliminaires ont permis de sélectionner cette gamme de concentration. Pour ce faire, des solutions mères d'huiles ont été préparées dans l'éthanol absolu.

Trois répétitions ont été réalisées pour dilution. Trois gobelets témoins négatif et positif ont été également constitués dans les conductions identiques aux gobelets tests. Le témoin négatif ne contenait que de l'eau tandis que le témoin positif renfermait un millilitre de l'éthanol sans traces d'huiles essentielles. (Boyer, 2006).

3.9. Tests de toxicité

Afin de caractériser l'effet toxicologique des huiles essentielles du *Lippia citriodora* l'égard des larves L3 et L4 de *Cs. longiareolata* nouvellement exuvies, il est nécessaire d'estimer les concentrations létales (CL50). Les pourcentages de mortalités observées sont corrigés par la formule d'ABBOTT, (1925) lorsque le taux de mortalité des témoins est compris entre 5 et 20%.

Pourcentage de mortalité corrigée = (%)

$$\frac{\% \text{ mortalité des larves traitées} - \% \text{ mortalité des larves témoins} \times 100}{100 - \% \text{ mortalité des larves témoins}}$$

Lorsque ce même taux dépasse 20% le test doit être renouvelé. La formule permet d'éliminer la mortalité naturelle et de connaître la toxicité réelle du pesticide par l'analyse des probits (Finney, 1971). La méthode de (Swaroop et al., 1966) précise l'intervalle de confiance avec

Matériel et Méthode

une probabilité de 95%. Deux paramètres sont nécessaires : Le 1^{er} paramètre est des probits, noté par (S) est donné par la formule suivante :

$$\frac{DL84/DL50 + DL50/DL16}{2}$$

2

$$Fdl50 = S2, 77/\sqrt{N}$$

$\text{Log FDI50} = \text{Log} S2, 77/\sqrt{N} = (2, 77/\sqrt{N}) S.$

Fdl50 = anti log A.

N : effectif total pour les mortalités entre 16 et 84 %.

Limite supérieure est égale DL50 Fdl50.

Limite inférieure est égale DL50 / Fdl50.

Résultats

Résultats

1. Rendement en huile essentielle de *Lippia citriodora*

L'huile essentielle de *Lippia citriodora* obtenue par un hydrodistillateur de type Clevenger est de couleur jaune, claire avec une odeur agréable et avec un rendement de (0.56, 0.34 et 0.84%) de la matière sèche de la partie aérienne de la plante.

2. Toxicologie des huiles essentielles de *Lippia citriodora* du quatrième stade larvaire

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité des huiles essentielles de *Lippia citriodora* qui est évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles après 24 h.

Les tests de toxicité sont appliqués sur des larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* avec des différentes concentrations des huiles essentielles de *Lippia citriodora* : 2,5, 5, 7, 10 et 15 ppm pendant 24 h. La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle. Elle est mentionnée dans le (Tab 6) avec des taux variant de 8 % (2,5ppm) à 100 % (15 ppm) avec une relation concentrations – réponse. Après une transformation angulaire des pourcentages de mortalités (Tab7), Les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (Tab8) qui révèle un effet-concentrations très hautement significatif ($p < 0,001$).

Tableau 06 : Effet des huiles essentielles extraites de *Lippia citriodora* (ppm) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuvies de *Cs* (m \pm sem, n = 3 répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations Répétitions	Témoins -	Témoins +	5 ppm	10 ppm	20 ppm	30 ppm	35 ppm
1	0	0	12	36	64	84	100
2	0	0	8	48	76	92	100
3	0	0	12	36	64	88	100
m \pm sem	0,00 \pm 0,0	0,00 \pm 0,0	10,67 \pm 1,78	40 \pm 5,33	68 \pm 5,33	88 \pm 2,67	100 \pm 0,0

Résultats

Tableau07. Effet des HE extraites de *Lippia citriodora* (ppm) appliquées sur des larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Cs.longiareolata*. Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations Répétitions	5 ppm	10 ppm	20 ppm	30 ppm	35 ppm
1	20,27	36,87	53,13	66,42	84,26
2	16,43	43,85	60,67	73,57	84,26
3	20,27	36,87	53,13	69,73	84,26

Tableau 08 : Effet des huiles essentielles extraites de *Lippia citriodora* (ppm) chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Cs.longiareolata* Analyse de la variance des données.

Source de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	4	15818,7	3954,7	168,52	0,000***
Résiduelle	10	234,7	23,5		
Totale	14	16053,3			

Les concentrations létales, la CL50 (où l'insecticide induit la mortalité de 50 % de la population ciblée), et la CL 90 (qui provoque la mortalité de 90 % de la population) sont déterminées à partir de l'équation de la droite de régression (Figure 07) qui exprime le probit du pourcentage de mortalité en fonction du logarithme décimal des concentrations des HE (Tableau 9 et 10). Les concentrations CL50 et CL90, déterminées sont respectivement de 10,92 mg/l (intervalle de confiance : 10,25 – 11,62) et 20,43 mg/l (intervalle de confiance : 17,41 – 23,96), avec un Slope de 1,62 (Tab11).

Tableau 09 : Effet des HE extraites de *Lippia citriodora* (ppm) sur le taux (%) de mortalité chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Cs.longiareolta* : transformation en probits des mortalités ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations (mg/l)	5 ppm	10 ppm	20 ppm	30 ppm	35 ppm
Probits	3,75±0,1	4,74±0,14	5,47±0,15	6,19±0,14	8,72±0,00

Résultats

Tableau 10. Effet des huiles essentielles extraites de *Lippia citriodora* (ppm), appliquées sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations (ppm) en logarithmes décimaux.

Concentrations (mg/l)	5 ppm	10 ppm	20 ppm	30 ppm	35 ppm
Log concentrations (x)	0,69	1	1,3	1,47	1,54

Tableau 11 : Efficacité des HE extraites de *Lippia citriodora* sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata*, analyse des probits.

	Equation	R ²	Slope	CL50 (mg/l) IC (95%)	CL 90 (mg/l) IC (95%)
HE de <i>Lippia citriodora</i>	$y = 4,709x + 0,114$	0,769	1,62	10,92 (10,25 – 11,62)	20,43 (17,41 – 23,96)

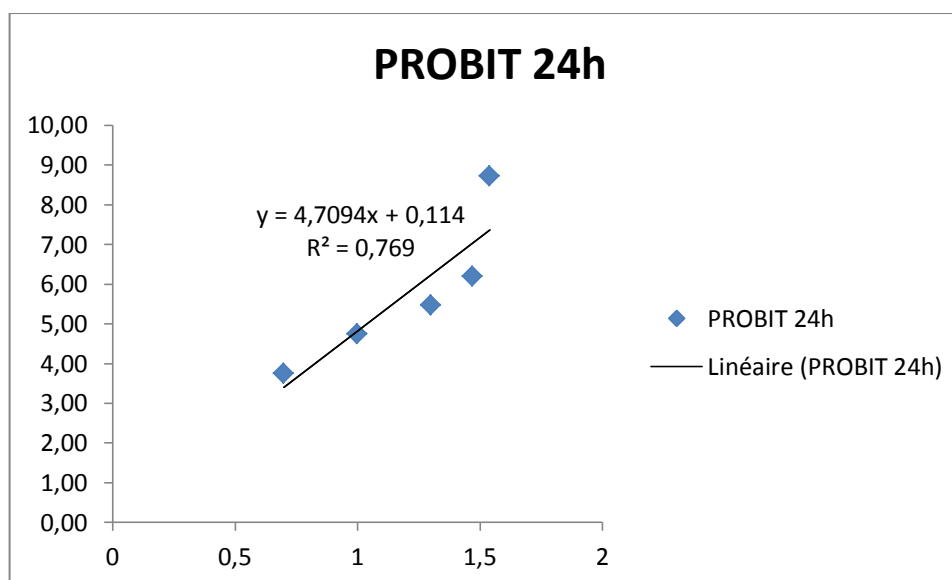


Figure 7 : Courbe de référence exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2=0,986$).

3. Toxicologie des huiles essentielles de *Lippia citriodora* du troisième stade

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité des huiles essentielles de *Lippia citriodora* qui est évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles après 24 h.

Résultats

Les tests de toxicité sont appliqués sur des larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de *Cs.longiareolata* avec des différentes concentrations des huiles essentielles de *Lippia citriodora*: 2,5, 5, 10, 20, 25 et 30 ppm pendant 24 h. La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle. Elle est mentionnée dans le (tableau13) avec des taux variant de 10,67 % (2,5ppm) à 100 % (30 ppm) avec une relation concentrations – réponse. Après une transformation angulaire des pourcentages de mortalités (Tableau 14), Les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (Tableau 15) qui révèle un effet- concentrations très hautement significatif ($p < 0,001$).

Tableau 12 : Effet des huiles essentielles extraites de *Lippia citriodora* (ppm) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du troisième stade (L3) nouvellement exuvies de *Cs* ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations Répétitions	Témoins -	Témoins +	2,5 ppm	5 ppm	12 ppm	20 ppm	25 ppm	30 ppm
1	0	0	12	16	56	76	96	100
2	0	0	8	24	48	76	92	100
3	0	0	12	24	56	76	88	100
m \pm sem	0,00 \pm 0,0	0,00 \pm 0,0	10,67 \pm 1,78	21,33 \pm 3,56	53,33 \pm 3,56	76 \pm 0,0	92 \pm 2,67	100 \pm 0,0

Tableau13 : Effet des HE extraites de *Lippia citriodora* (ppm) appliquées sur des larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de *Cs.longiareolata*. Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations Répétitions	2,5 ppm	5 ppm	12 ppm	20 ppm	25 ppm	30 ppm
1	20,27	23,58	48,15	60,67	78,46	84,26
2	16,43	29,33	43,85	60,67	73,57	84,26
3	20,27	29,33	48,15	60,67	69,73	84,26

Résultats

Tableau 14 : Effet des huiles essentielles extraites de *Lippia citriodora* (ppm) chez les larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de *Cs.longiareolata* Analyse de la variance des données.

Source de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	5	20537,8	4107,6	385,08	0,000***
Résiduelle	12	128,0	10,7		
Totale	17	20665,8			

Les concentrations létales, la CL50 (où l'insecticide induit la mortalité de 50 % de la population ciblée), et la CL 90 (qui provoque la mortalité de 90 % de la population) sont déterminées à partir de l'équation de la droite de régression (figure 08) qui exprime le probit du pourcentage de mortalité en fonction du logarithme décimal des concentrations des HE (Tableau 15 et 16). Les concentrations CL50 et CL90, déterminées sont respectivement de 7,62 mg/l (intervalle de confiance : 7,02 – 8,26) et 17,14 mg/l (intervalle de confiance : 14,14 – 20,76), avec un Slope de 1,87 (Tableau 17).

Tableau 15 : Effet des HE extraites de *Lippia citriodora* (ppm) sur le taux (%) de mortalité chez les larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* : transformation en probits des mortalités (m ± sem, n = 3 répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations (mg/l)	2,5 ppm	5 ppm	12 ppm	20 ppm	25 ppm	30 ppm
Probits	3,75±0,1	4,2±0,13	5,08±0,09	5,71±0,0	6,44±0,2	8,72±0,00

Tableau 16. Effet des huiles essentielles extraites de *Lippia citriodora* (ppm), appliquées sur les larves du troisième stade(L3) nouvellement exuviées de *Cs.longiareolata*, sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations (ppm) en logarithmes décimaux.

Concentrations (mg/l)	2,5 ppm	5 ppm	12 ppm	20 ppm	25 ppm	30 ppm
Log concentrations (x)	0,397	0,698	1,0791	1,301	1,397	1,477

Résultats

Tableau 17 : Efficacité des HE extraites de *Lippia citriodora* sur des larves du e troisième stade (L3) nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata*, analyse des probits.

	Equation	R ²	Slope	CL50 (mg/l) IC (95%)	CL 90 (mg/l) IC (95%)
HE de <i>Lippia citriodora</i>	$y = 3,64x + 1,79$	0,754	1,87	7,62 (7,02 – 8,26)	17,14 (14,14 – 20,76)

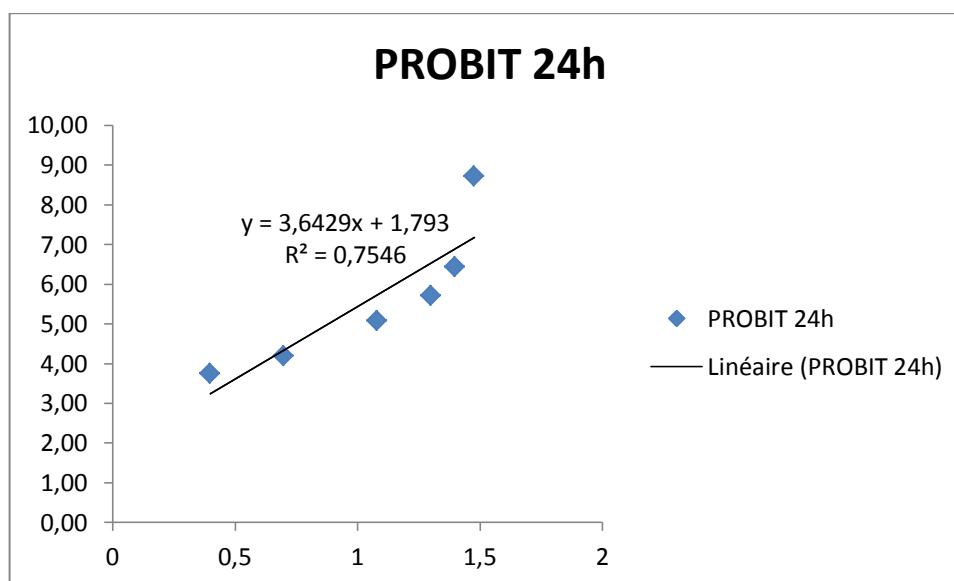


Figure 8 : Courbe de référence expriment les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2=0,986$).

Discussion

2. Discussion

2.1. Extraction des huiles essentielles du *Lippia citriodora*

Nous rappelons que le rendement d'extraction en huiles essentielles de *Lippia citriodora* été de (0.56%, 0.34% et 0.84 %) de la matière sèche de la plante. ce rendements 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%), la menthe poivrée (0,5-1%), le néroli (0,5-1%) et plus faible que celui de l'anise (1-3%) et le thym (2-2,75%) (Koba et *al.*, 2009 ; Bencheqroun et *al.*, 2012).

Nous avons suivi la cinétique d'extraction en fonction du temps. Théoriquement la durée d'extraction est le temps nécessaire à la récupération de la totalité de l'huile contenue dans la matière végétale. Or en pratique, il est difficile de récupérer toute l'huile. Ce temps correspond alors au moment pour lequel nous n'observons plus d'huile dans le distillat. Il détermine la fin du processus. Un suivi cinétique a été réalisé sur l'extraction de l'HE de *Lippia citriodora* en fonction de la durée d'extraction et de la période de récolte, selon la nature de la plante et du mode d'extraction.

2.2. Tests de toxicité

La toxicologie s'intéresse à la composition chimique et aux effets de toutes les substances toxiques connues, ainsi qu'à leurs effets post mortem. Les tests toxicologiques sont pour intérêt de caractériser le pouvoir insecticide d'une matière active à l'égard d'un insecte donné, ils sont nécessaires pour évaluer les doses létales (DL50 et DL90).

On considère que ces mécanismes sont uniques et que les bioinsecticides à base d'huiles essentielles peuvent être des outils de choix dans les programmes de gestion de la résistance des ravageurs aux pesticides. Avec ces mécanismes d'action particuliers, ces les bioinsecticides peuvent être utilisés seuls et à répétition sans potentiellement incite le développement de la résistance chez les ravageurs. Ils peuvent également être utilisés en alternance avec les pesticides de synthèse afin de prolonger la durée de vie de ces derniers (chettat, 2013).

Nos expériences menées sur des larves du troisième et du quatrième stade nouvellement exuviés de *Cs.longiareolata* montrent que les huiles essentielles de *Lippia citriodora* appliquée à différentes concentrations pendant 24h présente un effet toxique varie selon la concentration avec une mortalité importante observée directe de 100% comparativement au témoin avec la concentration la plus élevée 100 ppm. Cette étude toxicologique a mis en évidence l'activité larvicide de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* avec une relation

Discussion

concentration-réponse. En effet, si on peut mettre en évidence une relation entre la quantité d'un produit et des changements conséquents sur une fonction, on caractérise déjà mieux l'efficacité du produit. (Benayad, 2008).

La toxicité est évaluée à partir du taux de mortalité enregistré après traitement et qui dépend des doses administrées.

Notre étude a pour but de tester la toxicité des huiles essentielles extraites de *Lippia citriodora* à l'égard des larves du troisième et du quatrième stade nouvellement exuvies de *Culiseta longiareolata*, dont les résultats montrent une activité larvicide avec une relation concentration – réponse.

Dans des travaux encore plus récents, les propriétés insecticides de certaines plantes ont été testées sur les larves d'insectes. Nous citons à cet effet, les travaux de (Jang *et al.* 2002 a) sur *Cs. longiareolata* et *C. pipien* en testant l'activité larvicide de certaines légumineuses et les travaux (d'Alaoui-Slimani 2002) dans lesquels la toxicité de *Mentha pulegium* (Labiée) a été confirmée sur des larves de culicidés. L'activité larvicide des extraits de plantes médicinales aromatiques a aussi été confirmée dans les travaux de (Jang *et al.* 2002 b). Par ailleurs, la protection des cultures contre les ravageurs par des extraits végétaux a été étudiée aussi bien sur des larves de lépidoptères (Lee *et al.*, 2002) que sur des larves d'acridiens (Barbouche *et al.*, 2001).

Cependant, les résultats obtenus au cours de notre travail révèlent les doses létales des huiles essentielles extraites de *Lippia citriodora* (10.92 mg/l), (20.43 mg/l) et la CL50 ((7.92mg/l), la CL90 (17.14mg/l) des larves de quatrième et de troisième stade de *Culiseta longiareolata*, correspondant à la CL50 et la CL90 respectivement. Par rapport d'autre travail (chettat, 2013) sur la *Mentha piperita* les doses létales des huiles essentielles extraites est égale 12.02ppm (CL50).

Conclusion

Conclusion

Le but de la présente étude était d'évaluer l'effet des huiles essentielles de la plante *Lippia citriodora* sur l'aspect toxique des larves de moustiques (*Culiseta longiareolata*), le traitement par les HEs de la plante chez les larves de stades L3 et L4 nouvellement exuvées de *Culiseta longiareolata*, a permis d'établir les concentrations létales la CL50 (10.92 mg/l), la CL 90 (20.43 mg/l) et la CL50 (7,62 mg/l), la CL90 (17,14 mg/l). HE montrent une activité insecticide avec une relation concentration- réponse.

Les huiles essentielles présentent donc des propriétés intéressantes. Ce résultat ouvre des perspectives intéressantes pour son application dans la production des biopesticide. Nous envisageons de poursuivre cette étude afin de préciser la nature du (ou des composé (s) responsable (s) de cette activité par fractionnement mené en parallèle avec les tests biologique. La voie donc reste ouverte vers la découverte de nouvelles plantes et par la suite de nouvelles molécules à effet phytosanitaire. Il serait très important d'étendre les investigations à d'autre espèce des plantes pour voir l'effet de ces biopesticides sur d'autres insectes nuisibles.

A l'avenir il serait intéressant de compléter cette recherche en évaluant des huiles essentielles de *Lippia citriodora* sur d'autres mécanismes de résistance.

Référence bibliographie

Référence bibliographie

A

Alaoui Slimani N. (2002). Faune culicidienne d'une zone marécageuse de Rabat-Salé : Biotypologie et contribution à la lutte par des substances naturelles. *Thèse Doct. esSci. Biol., Fac. Sci. Univ. Mohammed V., Rabat, Maroc*, 192 p.

Abdel-Malek, A. (1960). The culicine mosquitoes of the northern region of the United Arab Republic. *Bulletin de la Société Entomologique d'Egypte*, **44** : 11-128 .; pp 244.

Abbott, W. B. (1925). A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* , **18**: 265 -267

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

Aouinty, B., Oufara, S., Mellouki, F. & Mahari, S. (2006). Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **10 (2)** : 67 – 71.

B

Barbouche, N., Hajjem, B., Lognay, G., Ammar, M. (2001). Contribution à l'étude de l'activité biologique d'extraits de feuilles de *Cestrum parqui* L'Hérit. (Solanaceae) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 5 (2) :

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

Benayad, N. (2008). Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V – Agdal. Rabat, 63 p.

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.

Bentchicou.A ; « Extraction, caractérisation et analyse de l'huile essentielle de thym d'Algérie par chromatographie en phase gazeuse (CPG) » ; thèse d'ingénieur ; université de Médéa ; 1999.

Berliner E. (1915). User die schalffsuchider Mehlmottenraupo and threen Erreger Bacillus thuringiensis n.sp. *Zeitschfit fur Angewandte Entomologie* , 2 :29-56

Référence bibliographique

Bonjean.A ; « *Aloysia triphylla*-Verveine odorante (Verbenaceae), systématique et répartition géographique, combinaison spécifique, morphologie, histoire, culture et récolte,

Botrel.A ; « Encyclopédie des plantes médicinales » ; Edition Larousse ; France ; 2001 ; *basilicum* sur quelques bactéries pathogènes » ; thèse de master ; université de Hassiba Ben

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

Bouabida Hayette, 2014. Inventaire des moustiques de la région de Tébessa et bioactivité du spiro-mésifène 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

Boudemagh, N., Bendali-Saoudi. F & Soltani. N. (2013). Inventory of Culicidae (Diptera: Nematocera) in the region of Collo (North-East Algeria). *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 Académique, Université Echahid Hamma Lakhdar d'El-Oued.

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). 191 p. Montpellier (France).

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). 191 p. Montpellier (France).

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). 191 p. Montpellier (France).

Boyer, S. (2006). Résistance Métabolique des Larves de Moustiques aux Insecticides : Conséquences Environnementales. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Laboratoire d'Ecologie Alpine. 78 p

Référence bibliographie

- Bruhnes, J., Rhaim, A., Geoffroy, B., Angel, G. & Hervy, J. P.** (1999). Les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne. Logiciel de l'institut de recherche et de développement de Mon
- Bruhnes, J., Rhaim, A., Geoffroy, B., Angel, G. & Hervy, J. P.** (1999). Les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne. Logiciel de l'institut de recherche et de développement de Mon
- Bruneton .J** ; « Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales » ; 2eme Eddition. Tec ;
- Bruneton.J** , (1993) - Pharmacognosie et phytochimie, plantes medicinales. Ed : Tec & Doc. Lavoisier. Paris. 915p.de Skikda. *Présentation pour l'obtention du Diplôme de Magister en entomologie* (option ; application agronomique et médicale). 191 p.tpellier (France).
- Burfield, A. P. & Reekie, S. L.** (2005). Mosquitoes, malaria and essential oils. International J. of Aromatherapy., 15 (1) : 30-41.

C

- Chettat Hibat-Allah**, 2013, Etude insecticide des huiles essentielles de *Mentha pepirita* à l'égard d'une espèce de moustique *Culisita longiorelata*, Mémoire de Master, Univéersité Chikh L'Arbi Tebessi-Tebessa (Algérie), 21.
- Carlos Espinel-Correal.** (2010). Analyse de l'évolution des populations du granulovirus PhopGV en contact avec des hôtes alternatifs Phthorimaea operculella et Tecia solanivora (Lepidoptera : Gelechiidae). École Nationale Supérieure des Mines de Saint-Étienne.192p.
- Crosby DG.** (1966). Natural pest control agents. In Gould, R.F. (Ed.). *NaturalPest Control Agents. Adv. Chem. Ser.* 53, p. 1-16
- Chu, J. & Kemper, J.** (2001). MPH Lavender Longwood Herbal Task Force: <http://www.mcp.edu/herbal/>

D

- Delille A.L. (2010)** - les plantes medicinales d'Algerie. 2eme edition .Berti edition.p239 Doc., Paris, p 488, 489, 490, 491, 510, 533, 536, 537, 538.Doc ; Lavoisier ; Paris ; France ; 1993.

E

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

F

- Fanny B.** (2008). Effet larvicide des huiles essentielles sur stomoxys calcitrans a la reunion. Thèse de doctorat, Université Paul-Sabatier, Toulouse. 78 p
- 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 .

Référence bibliographie

H

Hameurlaine.S ; « Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plante pituranthos scoparius et rhantherium adpressum de la région de Ghardaia » ; mémoire de magister ; université de Kasdi Merbah-Ouargla ; 2009.

J

Jang, Y. S., Baek, B. R., Yang, Y. C., Kim, M. K. & Lee, H. S. (2002 a). Larvicidal activity of leguminous seeds and grains against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens*. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.*, 18 (3): 210–213.

Jang, Y. S., Kim, M. K., Ahn, Y. J. & Lee, H. S. (2002 b). Larvicidal activity of Brazilian plants against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens* (Diptera : Culicidae). *Agric. Chem. Biotechnol.*, 45 (3): 131–134.

K

Koba K, Poutouli PW, Raynaud C, Chaumont J-P, Sanda K. (2009). Chemical composition and antimicrobial prperties of different basil essential oils chemotypes from Togo. *Bangladesh.In : J. Pharmacol.*, 4: 1-8

L

Lee, H. K., Park, C. & Ahn, Y. J. (2002). Insecticidal activities of asarones identifi ed in *Acorus gramineus* rhizome against *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) and *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutoidea). *Jap. Soc. Appl. Entomol. Zool.*, 37 (3) : 459–464.

M

Mohammedi Z. (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse magistère, Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen, 155 p.

Mohammedi Z., Atik F. (2011). Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Nature & Technologie* : 34 -39.

Naganuma M.,hirose S.,nakayama, Y.,Nakajima, K., Someya T. (1985)-A study of the phototoxicity of lemon oil. *Arch. Dermatol. Res.* 278, 31-36.

N

Noun.A ; « Etude de l'extraction et de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *rosmarinus officinalis* L. de la region d'ain defla » ; mémoire de master ; universite de Khemis-Miliana ; 2013.

Référence bibliographie

Q

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

P

Padrini f ET Lucheroni M.T. (1996) - le grande livre des huiles essentielles .Ed de Vecchi. Page 115.

Padrini f et Lucheroni M.T. (1996) - le grande livre des huiles essentielles .Ed de Vecchi. Page 115.

Pascual ME. et Siowing.K et Carretero E.Sanchez Mata D.Villar ; « *Lippia* traditional

Paul R. (2009) - Généralités sur les moustiques du littoral méditerranéen français .EIDméditerranée .p: (1-11).

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

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

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

Pierre.M et Lis.M ; « Secrets des plantes pour se soigner naturellement 250 plantes et 230 recettes » ; Edition Artémis ; 2002 ; pp 124-125.

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-

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 pp 228.Propriétés médicinales, autre usages » ; Saisie Tamara Le Bourg -Art.n°1220 ; 2001.

Q

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

R

Référence bibliographie

Rehimi, n. & soltani, N. (1999) - Laboratory evolution of alsystine. A chitin synthesis inhibitor agonist *Culex pipieus* L. (Diptera: Culicidae). Effects on development and cuticule

Roth M. (1980) - Initiation à la morphologie, la systématique et la biologie des insectes, ORSTOM, Paris. 259p.secretion. *J. Appl. Ent.*, **123**: 437 - 441.

S

Slimani.N et Dahmane.M ; « Effet des huiles essentielles extraites à partir des feuilles de *Mentha Spicata*, *Mentha pulegium*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia citriodora*, *Ocimum*

Slimani.N et Dahmane.M ; « Effet des huiles essentielles extraites à partir des feuilles de *Mentha Spicata*, *Mentha pulegium*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia citriodora*, *Ocimum*

Smith J.L., Fonseca DM. (2004). Rapid assays for identification of members of the *Culex* (*Culex*) pipiens complex, their hybrids, and other sibling species (Diptera: Culicidae). *Am J Trop Med Hyg* 70(4): 339-345

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.

Swaroop, S. (1957). Statistical methodology in malaria work. Mimeographed document. Wld Hlth Org.WHO/Mal/174. Rev.

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 de l'homme » ; thèse de master ; 2002.

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.

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.

V

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

Villeneuve, F. & Désiré, C. H. (1965). *Zoologie*. Bordas, 1ère édition, 323 p.

Référence bibliographie

W

Wigglesworth. (1972). the principal of Insectphysiology. Seventh Edition. Chapman and Hall, 827 p