



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique



Université Larbi Tébessi-Tébessa

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

Département : Biologie Appliquée

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de **Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.

Filière : Sciences Biologiques.

Option : Biochimie Appliquée.

Thème:
**Evaluation de l'effet larvicide de l'huile
essentielle d'*Artemisia herba-alba* à l'égard
de deux espèces de moustique, *Culiseta
longiareolata* et *Culex pipiens***

Présenté par :

BOUAOUNE Aya

LADOU LI Aicha

Devant le jury :

Dr. BELGUENDOZ Karima	MAA U. de Tébessa	Présidente
Dr. ZEGHIB Assia	MCA U. de Tébessa	Promotrice
Dr. GHERISSI Billel	MAA U. de Tébessa	Examineur

Date de soutenance : 15/06/2022

Note :

Mention



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique



Université Larbi Tébessi-Tébessa

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

Département : Biologie Appliquée

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de **Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.

Filière : Sciences Biologiques.

Option : Biochimie Appliquée.

Thème:
**Evaluation de l'effet larvicide de l'huile
essentielle d'*Artemisia herba-alba* à l'égard
de deux espèces de moustique, *Culiseta
longiareolata* et *Culex pipiens***

Présenté par :

BOUAOUNE Aya

LADOU LI Aicha

Devant le jury :

Dr. BELGUENDOZ Karima	MAA U. de Tébessa	Présidente
Dr. ZEGHIB Assia	MCA U. de Tébessa	Promotrice
Dr. GHERISSI Billel	MAA U. de Tébessa	Examineur

Date de soutenance : 15/06/2022

Note :

Mention

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير مبيد اليرقات لنبته *Artemisia herba-alba* على نوعين من أكثر أنواع البعوض المنتشرة في منطقة تبسة ، *Culiseta longiareolata* و *Culex pipiens*.

تم تطبيق اختبار سمية الزيت العطري ومذيبات مستخلص نبات *Artemisia herba-alba* على يرقات المرحلة الرابعة من *Culiseta longiareolata*. تم تطبيق اختبار سمية الزيت العطري *Artemisia herba-alba* على يرقات المرحلة 4 من *Culex pipiens* من أجل تقييم تأثير التركيز المميت (LC₅₀) 50 على المستقلبات. أظهرت النتائج تأثير مبيد لليرقات «يعتمد على الجرعة» لنبات *Artemisia herba-alba* ضد يرقات المرحلة 4 من *Culiseta longiareolata* و *Culex pipiens* لذلك يمكن استخدامه كمبيد حشري بيولوجي محتمل ضد هذين النوعين من البعوض.

الكلمات المفتاحية: *Artemisia herba-alba* ، *Culex pipiens* ، *Culiseta longiareolata*: الزيت العطري ، مذيبات المستخلصات ، السمية ، المستقلبات ، القدرة على إبادة اليرقات.

Abstract

The objective of this study is to evaluate the larvicidal effect of the plant *Artemisia herba-alba*, towards two species of the most widespread mosquitoes in the region of Tébessa, *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens*.

The toxicity test of the essential oil and the extracts-solvents of *Artemisia herba-alba* was applied to the fourth stage larvae of *Culiseta longiareolata*. The *Artemisia herba-alba* essential oil toxicity test was applied to the fourth stage larvae of *Culex pipiens* in order to evaluate the effect of lethal concentration 50 (LC₅₀) on metabolites.

The results show a « dose-dependent » larvicidal effect of the *Artemisia herba-alba* plant against the fourth stage larvae of *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens*. It could, therefore, be used as a potential bio-insecticide against these two species of mosquitoes.

Key words : *Culiseta longiareolata*, *Culex pipiens*, *Artemisia herba-alba*, essential oil, extracts-solvents, toxicity, metabolites, larvicidal potential.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet larvicide de la plante *Artemisia herba-alba*, à l'égard de deux espèces de moustiques les plus répandues dans la région de Tébessa, *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*.

Le test de toxicité de l'huile essentielle et les extraits-solvants d'*Artemisia herba-alba* a été appliqué sur les larves stade 4 de *Culiseta longiareolata*. Le test de toxicité de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* a été appliqué sur les larves stade 4 de *Culex pipiens* dans le but d'évaluer l'effet de la concentration létale 50 (CL₅₀) sur les métabolites.

Les résultats montrent un effet larvicide "dose-dépendant" de la plante *Artemisia herba-alba* vis-à-vis des larves stade 4 de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*. Elle pourrait, donc, être utilisée comme bio-insecticide potentiel contre ces deux espèces de moustiques.

Mots clés : *Culiseta longiareolata*, *Culex pipiens*, *Artemisia herba-alba*, huile essentielle, extraits-solvants, toxicité, métabolites, potentiel larvicide.



Dédicaces

*Je remercie Dieu le tout puissant qui m'a donné la santé,
la volonté et l'aide dans les moments difficiles afin de mener ce travail.
A toutes les personnes qui m'encouragent toujours : A mes très chers parents
la source de mes joies et secret de ma force.*

*Aucun mot, aucune dédicace ne peut exprimer mon respect, mon attachement,
mon amour éternel et ma considération pour tout le sacrifice que vous avez
consenti pour mon instruction.*

*Vous serez toujours le modèle : mon père(Hacene) dans ta détermination, ta
force et ton honnêteté, ma mère (Laila) dans ta bonté, ta patience et ton
dévouement pour nous.*

Merci pour vos sacrifices qui ont œuvré pour ma réussite.

À mon cher frère: Farid et son premier fils : Abed raouf

À mes chères sœurs : Imen, Rayen, Douàa, Rouia.

À mon fiancé (Aissa) qui m'a beaucoup encouragé tout au long de ce travail.

*Merci d'avoir montré beaucoup de patience avec moi durant les
moments les plus stressants, merci pour ta fidélité.*

*À mon binôme (Aicha,) j'ai partagé avec elle les joies et les difficultés lors de
notre travail*

*A mes amies(Nada, Lamis) et mes amies de la promotion de Master en Biochimie
Appliquée.*

À toute ma famille et mes amies.

Aya

Dédicaces

*Au nom de Dieu le Miséricordieux
et que les prières et la paix de Dieu soient sur le Maître de
l'intercession, notre Maître Muhammad le Noble Prophète,
sa famille et ses proches compagnons, et ceux qui les ont
suivis avec bonté jusqu'au Jour du Jugement et après.*

Je dédie ce travail :

***A mes parents :** "Djemai" et "Malika", pour leur sacrifice,
leur amour, leur soutien et encouragements tout au long de
mes études.*

***A mes frères :** qui m'ont toujours soutenu et encouragé à la
réussite, Jamel, Aimen, Abd errazak*

***A mes sœurs :** qui m'ont montré ce qu'il y a de plus beau que
la vie, Férial, Bouchra.*

***A mon binôme** Aye et tous les étudiants de Biochimie
Appliquée.*

Aicha

Remerciements

Un grand merci à **Dieu** pour nous avoir donné la patience pour pouvoir continuer malgré les obstacles et les embuches.

Nous remercions notre promotrice **Dr. ZEGHIB Assia** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. Sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordé et son suivi régulier à l'élaboration de ce travail, nous ont beaucoup marqués.

Nous remercions **Dr. BELGUENDOZ Karima**, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

Nous remercions également **Dr. GHERISSI Billel**, d'avoir accepté d'examiner notre travail.

A tous nos enseignants qui nous ont initiés aux valeurs authentiques, en signe d'un profond respect et d'un profond amour

Un grand merci particulier à nos collègues et nos amies pour les moments sympathiques que nous avons passé ensemble, nous les remercions pour leur confiance, leur disponibilité et leur fidélité.

Finalement, nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidé et soutenu de près ou de loin pour la réalisation de ce projet de fin d'études.

Liste des figures

N°	Titres des figures	Page
1	Aspect morphologique de l' <i>Artemisia herba-alba</i> .	03
2	Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> .	06
3	Cycle de vie <i>Culex pipiens</i> .	10
4	Œufs de <i>Culex pipiens</i> .	10
5	Aspect des nacelles de <i>Culex pipiens</i> .	10
6	Morphologie générale d'une larve du stade IV de <i>Culex pipiens</i> .	11
7	Larve de <i>Culex pipiens</i> au cours de respiration .	11
8	La Nymphe de <i>Culex pipiens</i> .	12
9	Morphologie de l'adulte de <i>Culex pipiens</i> .	13
10	Têtes de <i>Culex pipiens</i> .	13
11	Cycle de vie <i>Culiseta longiareolata</i>	15
12	Aspect des nacelles de <i>Culiseta longiareolata</i>	16
13	Larve de <i>Culiseta longiareolata</i>	17
14	nymphe de <i>Culiseta longiareolata</i>	17
15	Imago de <i>Culiseta longiareolata</i>	18
16	Montage d'hydrodistillateur type Çlevenger (photo personnelle).	21
17	Huile essentielle et extraits-solvants d' <i>A. herba-alba</i> (Photos personnelles).	22
18	Gite larvaire Gaàgaà (Photo personnelle).	22
19	Gite larvaire Hammamet (Photo personnelle).	23
20	Réalisation du test de toxicité des larves L4 nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> avec l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> (Photo personnelle)	24
21	Contact des larves L 4 nouvellement exuviées de <i>Culiseta</i>	25

longiareolata avec chaque extrait apolaire d'*Artemisia herba-alba* (**photo personnelle**).

- 22 Réalisation du test de toxicité des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* avec l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* (Photo personnelle). 26
- 23 Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*, traitées par différentes concentrations de l'huile essentielle d'A. herba-alba. Comparaison des moyennes à différents temps (24,48 et 72h) pour différentes concentration-test. 29
- 24 Diagramme en barre présentant les effets des extraits d'A herba-alba à l'égard des larves L4 nouvellement exuviées de *Culisetalongiareolata* à différentes périodes (24,48 et 72h). Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différents extraits. 30
- 25 Dosage des protéines totales chez les moustiques : courbe d'étalonnage exprimant l'absorbance en fonction de la quantité protéine (μg) (R^2 : coefficient de détermination). 31
- 26 Effet de l'huile essentielle de A .herba-alba de CL50) sur le contenu en protéines totales ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves 4 de *Cx. pipiens*, à différentes périodes ($m \pm \text{sem}, n=3$). Comparaison des moyennes : ns Différence significative, *Différence significative *Différence hautement significative. 32
- 27 Dosage des lipides totaux chez les moustiques : courbe d'étalonnage exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipide (μg) (R^2 : coefficient de détermination). 32

-
- 28 Effet de l'huile essentielle de A .herba-alba (CL50), sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade (L4) de Culex pipiens à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) ($m \pm \text{sem}$, $n=3$). 33
- Comparaison des moyennes : *Différence significative entre les séries témoins et traitées, **Différence non significative entre les séries témoins et traitées.
- 29 Dosage des glucides totaux chez les moustiques : courbe d'étalonnage exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de glucides (μg) (R^2 : coefficient de détermination). 34
- 30 Effet de l'huile essentielle de A.herba-alba (CL50) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade (L4) de Culex pipiens à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) ($m \pm \text{sem}$, $n=3$). Comparaison des moyennes : n s 34
- Différence non significative, *Différence significative entre les séries témoins et traitées, **Différence hautement significative entre les séries témoins et traitées, *** Différence non significative entre les séries témoins et traitées

Liste des tableaux

N°	Titres des tableaux	Page
1	Taxonomie de l' <i>Artemisia herba-alba</i>	04
2	Position systématique de <i>Cx. pipiens</i> .	08
3	Position systématique de <i>Cs. Longiareolata</i> .	14
4	Appareillages, verrerie et autres nécessaires pour le test de toxicité.	22

Abréviations et symboles

Abs : absorbance.

BBC : bleu brillant de commassie.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

D'A : D'*Artemisia*.

C : concentrations.

°C : Degré Celsius.

cm : centimètres.

CL₅₀ : Concentration létale 50.

Cs : *Culiseta longiareolata*.

Cx. pipiens: *Culex pipiens*.

g : gramme.

h : heures.

Ah-AE: *Artemisia herba* + acétate d'éthyle.

Ah-DM: *Artemisia herba* + dichlorométhane.

HE : l'huile essentielle.

HE-Ah : l'huile essentielle d'*A. herba-alba*.

L : litre.

L4 : larve de 4ème stade.

mg : milligramme.

mL : millilitre.

mn : minutes.

m ± SEM : moyenne ± écart type.

nm : nanomètre.

TCA : acide trichloracétique.

R : répétition.

ug : microgramme.

% : pourcentage.

Table des matières

	Page
Titre	
ملخص	
Abstract	
Résumé	
Dédicaces	
Remerciements	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Abréviations et symboles	
Table des matières	
Introduction	01
APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : <i>Artemisia herba-alba</i>	
I. Généralités	03
II. Etymologie de la plante	04
III. Description botanique et taxonomie	04
IV. Habitat et écologie	04
V. Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i>	05
Chapitre II : Biologie de <i>Culex pipiens</i>	
I. Généralités sur les <i>Culicidae</i> s	07
II. Présentation de <i>Culex pipiens</i>	07
III. Biotope	08
IV. Position systématique	08
V. Cycle de développement de moustiques	09
V.1. Œuf	10
V.2. Larve	11
V.3. Nymphe	12
V.4. Adulte	13

Chapitre III : Biologie de *Culiseta longiareolata*

I. Présentation de <i>Culiseta longiareolata</i>	14
II. Position systématique	14
III. Caractéristiques de <i>Culiseta longiareolata</i>	15
IV. Cycle de vie de <i>Culiseta longiareolata</i>	15
IV.1. Œuf	16
IV.2. Larve	16
IV.3. Nymphe	17
IV.4. Adulte ou l'imago	17

ETUDE EXPERIMENTALE

Matériels & Méthodes

I. Matériel d'origine végétale : huile essentielle et extraits apolaires d' <i>Artemisia herba-alba</i>	21
II. Matériels destinés à la réalisation du test de toxicité	21
II.1. Appareillages, verrerie et autres	21
II.2. Matériel d'origine animale : larves de <i>Culex pipiens</i> et <i>Culiseta longiareolata</i>	22
III. Test de toxicité d' <i>Artemisia herba-alba</i> vis-à-vis de <i>Culiseta longiareolata</i>	23
III.1. Test de toxicité de l'huile essentielle	23
III.2. Test de toxicité des extraits apolaires	24
IV. Test de toxicité de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> vis-à-vis de <i>Culex pipiens</i> : Effet de la concentration létale 50 (CL ₅₀) sur les métabolites	25
IV.1. Extraction et dosage des principaux constituants biochimiques	26
IV.1.1. Dosage des protéines totales	27
IV.1.2. Dosage des lipides totaux	27
IV.1.3. Dosage des glucides totaux	27

Résultats & Discussion

I. Résultats	29
I.1. Effet larvicide d' <i>Artemisia herba-alba</i> vis-à-vis de <i>Culiseta longiareolata</i>	29

I.1.1. Effet larvicide de l'huile essentielle	29
I.1.2. Effet larvicide des extraits apolaires	30
I.2. Effet larvicide de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> à l'égard des larves du 4 ^{ème} stade de l'espèce de moustique <i>Culex pipiens</i> : Effet de la concentration létale 50 (CL ₅₀) sur les métabolites	31
I.2.1. Effet sur le contenu en protéines totales	31
I.2.2. Effet sur le contenu en lipides totaux	32
I.2.3. Effet sur le contenu en glucides totaux	33
II. Discussion	35
II.1. Evaluation de l'effet larvicide de l'huile essentielle d' <i>A. herba-alba</i> à l'égard de <i>Culiseta longiareolata</i>	35
II.2. Evaluation de l'effet larvicide des extraits apolaires d' <i>A. herba-alba</i> à l'égard de <i>Culiseta longiareolata</i>	35
II.3. Effet de la concentration létale 50 (CL ₅₀) de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> sur les métabolites des larves du 4 ^{ème} stade de <i>Culex pipiens</i>	35
II.3.1. Effet sur le contenu en protéines	35
II.3.2. Effet sur le contenu en glucides	36
II.3.3. Effet sur le contenu en lipides	37
Conclusion	41
Références bibliographiques	42

Introduction

Introduction

De nos jours, la majorité de plantes aromatiques et médicinales possèdent des propriétés biologiques très importantes dans divers domaines, à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives (**Boudjouref, 2011**). De sa part, l'Algérie grâce à sa localisation géographique, possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent notre couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia*, le plus répandu dans les régions semi-arides. Ce genre contient plusieurs espèces telles que *l'Artemisia herba alba*.

Les moustiques sont généralement contrôlés par des insecticides conventionnels (les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoides de synthèse), mais l'accumulation de résidus dans la chaîne alimentaire, effets sur les organismes non visés, a limité leurs utilisations. Les produits chimiques utilisés sont devenus moins efficaces du fait de la résistance développée par certaines espèces de moustiques. L'apparition de la méthode biologique a fait l'objet d'une nouvelle lutte, plus sûre, plus sélective et biodégradable et induit des effets toxiques contre différentes espèces de moustiques (**Berrah et Ahcene, 2016**).

Certaines espèces ont une préférence marquée pour le sang Humain. Parmi lesquelles nous trouvons les espèces *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* qui transmettent les maladies parasitaires telles que la filariose et la fièvre jaune (**Alaoui et al., 1999**). Pour lutter contre les moustiques et éviter les effets néfastes des insecticides chimiques sur l'écosystème, plusieurs études ont été réalisées.

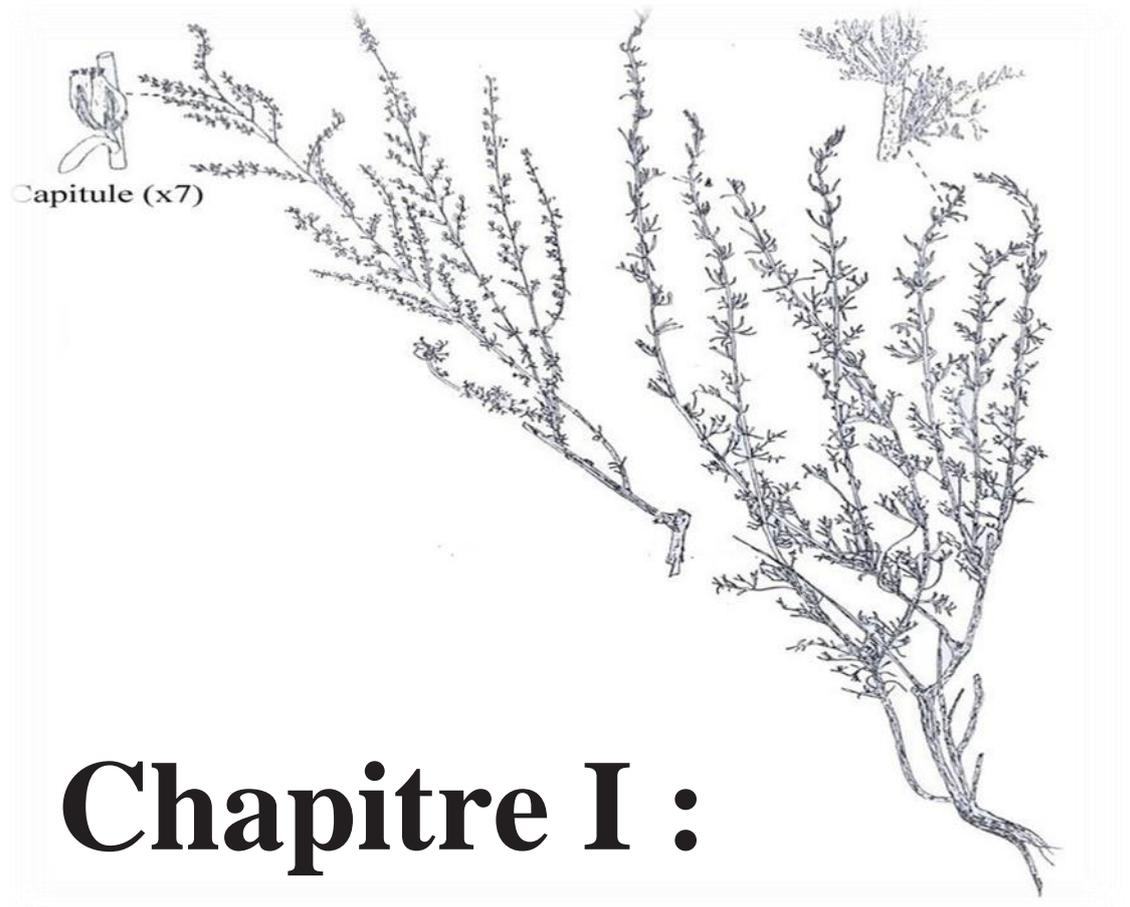
Le pouvoir insecticide des biopesticides, des huiles essentielles et des extraits végétaux, varie non seulement en fonction de l'espèce végétale, de l'espèce de moustiques, de la répartition géographique, mais aussi de la technique d'extraction adoptée et du solvant utilisé lors de l'extraction. De nombreuses études ont démontré l'effet répulsif, larvicide, adulticide, anti oviposition ou inhibiteur de croissance des huiles essentielles extraites de ces plantes (**Kouider et Attia, 2016**).

Ce travail propose d'étudier l'effet larvicide de la plante *Artemisia herba-alba*, à l'égard de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*. Cette étude comporte deux parties essentielles : aperçu bibliographique et étude expérimentale. Dans la première partie, nous présentons un bilan bibliographique des connaissances sur la plante *Artemisia herba-alba* et le

Introduction

moustique *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*. Dans la partie expérimentale, nous présentons les matériels d'étude ainsi que les méthodes utilisées. Par la suite, les résultats obtenus sont discutés et nous terminons par conclusion et perspectives.

APERÇU
BIBLIOGRAPHIQUE



Chapitre I :

Artemisia herba-alba

I. Généralités

La famille des Astéracées (*Asteraceae*) est la famille la plus large des plantes à fleurs qui comprend près de 13000 espèces réparties en 1500 genres formant, approximativement, 10% de la flore du monde (in Berkane et Boudiar, 2018).

L'*Artemisia* (Figure 01) est parmi les genres les plus répandus de la famille des Astéracées qui comporte plus de 500 espèces différentes (Messai, 2011). Elle est particulièrement diversifiée dans les régions sèches et les régions arides (Bechiriet al., 2018).

Spécialement, elle couvre environ six millions d'hectares en Algérie (Messai, 2011). Dont 11 espèces spontanées étaient inscrites. La plupart des plantes de cette famille sont aromatiques et vivaces (Bechiriet al., 2018).

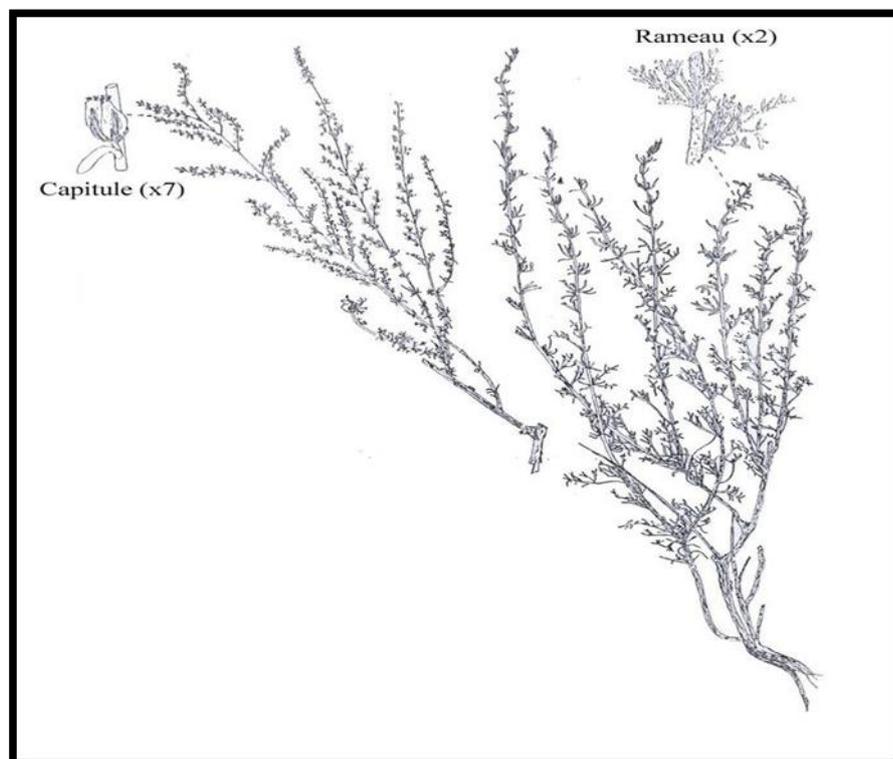


Figure 01 : Aspect morphologique de l'*Artemisia herba-alba*(Wikipédia).

II. Etymologie de la plante

Provient du nom de la déesse grecque de la chasse Artémis. Le nom du genre *Artemisia* signifie des armoises, dont l'espèce *herba-alba* interprété comme herbe blanche. *Artemisia herba-alba* est connu en arabe sous le nom de « Chih » (Bouzidi, 2016).

III. Description botanique et taxonomie

La floraison des plantes commence de septembre jusqu' au mois de Décembre. Elles sont longues et effilées à la base. L'*Artemisia herba-alba* est une plante herbacée de 20-60 cm de hauteur, à tiges nombreuses et tomenteuses et très feuillues (Abou El-Hamdet *al.*, 2010). Pousse généralement en touffes de taille réduite, se caractérisant par sa richesse en huile essentielle de composition différente, qui a conduit à la définition de plusieurs chémotypes (Bouzidi, 2016). La taxonomie de la plante est comme suit (Tableau 01) (in Maifi et Sakher, 2018).

Tableau 01 : Taxonomie de l'*Artemisia herba-alba*.

Règne	<i>Plantae</i>
Phylum	<i>Angiospermeae</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Ordre	<i>Gampanulatae</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Sous-famille	<i>Asterioideae</i>
Tribu	<i>Anthemideae</i>
Sous-tribu	<i>Artemisiinae</i>
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>herba-alba</i>

IV. Habitat et écologie

La plante s'étend d'îles Canaries et le sud-est de l'Espagne jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) et à travers l'Afrique du Nord et le Proche-Orient. En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares, mais serait, quasiment, absente des zones littorales nord et rare dans l'extrême sud (Messai, 2011).

Elle est rencontrée dans tout le pourtour méditerranéen et se développe fréquemment dans les steppes argileuses, les pâturages rocailloux et terreux des plateaux des basses montagnes des régions sèches et, généralement, dans les zones à bioclimats aride et semi-aride à variantes chaude, tempérée et fraîche (Ghanmiet *al.*, 2010).

L'*Artemisia herba-alba* est abondante dans les sols à texture fine, assez bien drainées (marnes, marno-calcaires en pente). Dans le sud, elle pousse sur des sols bruns steppiques de texture moyenne et en extrême sud sur des sols sableux (Abou El Hamdet *al.*, 2010).

V. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*

Les huiles essentielles sont des mélanges de composés lipophiles et volatiles synthétisées et stockées dans des structures spécialisées des plantes (cellule à l'huile essentielle, poils sécréteurs, canaux sécréteurs). Obtenues à partir d'une matière première végétale soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche soit par un procédé mécanique approprié ou autres (Bouzidi, 2016).

La composition d'une huile essentielle est en général très complexe vue la présence de nombre élevé de constituants et aussi la diversité considérable de leurs structures. Plusieurs études phytochimiques sur les plantes de la famille des *Astéracées*, auquel appartient l'*Artemisia herba-alba*, ont fait l'objet par intérêt économique, surtout pour leurs huiles qui sont caractérisées par une forte et aromatique odeur due principalement à la haute concentration de terpènes volatiles (Abou El-Hamdet *al.*, 2010).

Généralement, l'huile essentielle d'*A. herba-alba* a été largement rapporté à contenir des composés de monoterpénoïdes (78-89%), principalement oxygéné (72-80%), telle que le 1,8-cinéole, chrysanthenone, chrysanthenol, α et β -thujones, dominant toutes les huiles, le camphre comme principales composantes et des sesquiterpènes (2-11%) (Belhattabet *al.*, 2014).

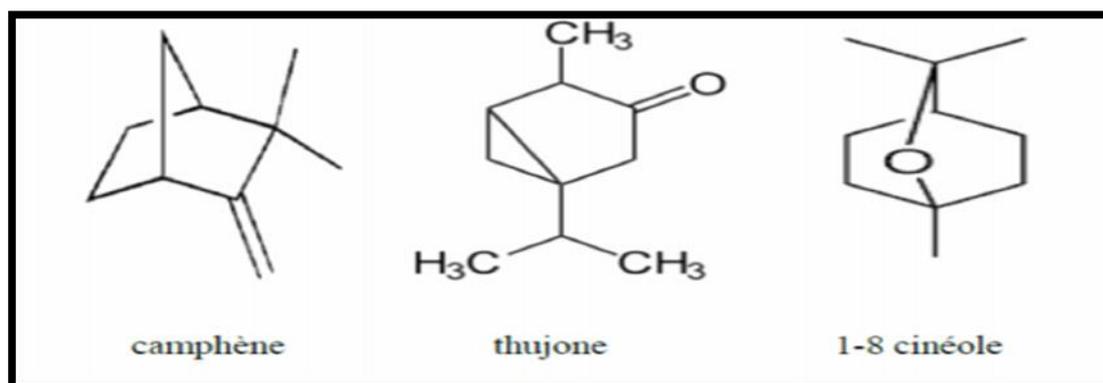
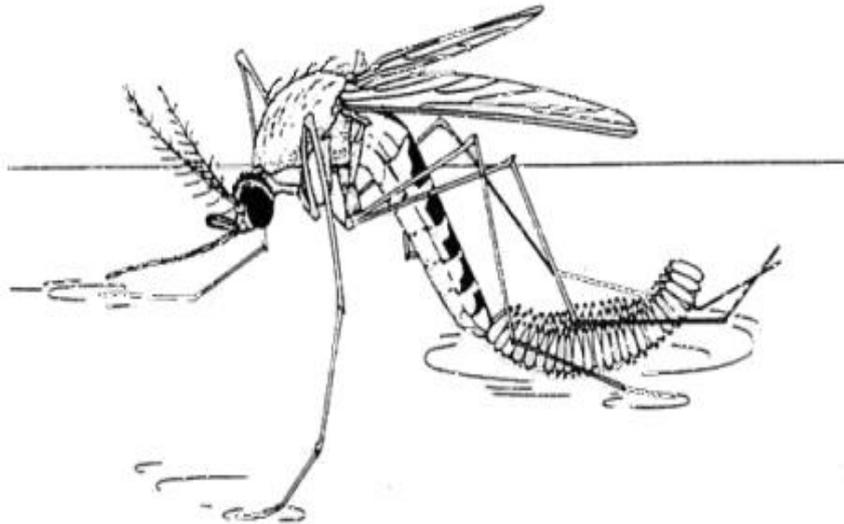


Figure 02: Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* (in Berkane et Boudiar 2018).

Chapitre II :

Biologie de *Culex pipiens*



I. Généralités sur les *Culicidae*s

Les *Culicidae*s, est la famille des insectes à laquelle appartient l'espèce de *Culex pipiens* (in Maifi et Sakher, 2018). Cette famille est divisée en trois sous-familles, les *Toxorhynchitinae*, les *Anophelinae* et les *Culicinae*, dont elle comprend plus de 3000 espèces réparties dans le monde entier (in Berkane et Boudiar, 2018).

En Algérie, il existe deux sous-familles, *Culicinae* et *Anophelinae* avec six genres, *Anopheles*, *Culex*, *Culiseta*, *Aedes*, *Orthopodomyia*, *Ochlerothatus* (in Maifi et Sakher, 2018). Ce sont des insectes à métamorphose complète (Holométaboles), de sorte que les trois stades de développement (larve, nymphe et adulte) ont des morphologies différentes, adaptées à leurs modes de vie : aquatique pour les stades pré-imaginaux (stades non adultes) et aérien pour le stade imaginal (Adulte) (Berrah et Ahcene, 2016).

Les *Culicidae*s sont caractérisées par des ailes recouvertes d'écailles. Les adultes sont pourvus d'une trompe, d'une taille égale à celle de la tête et du thorax combinés ; leurs antennes sont longues et fines. Les moustiques occupent une place importante dans la faune terrestre, d'une part, comme dans la faune aquatique, d'autre part (in Maifi et Sakher, 2018).

La lutte contre les maladies transmises par leurs piqûres, font de cette famille un matériel d'étude important pour les biologistes (in Maifi et Sakher, 2018).

La plupart des moustiques se déplacent peu (quelques centaines de mètres), alors que certains sont très mobiles (jusqu'à plusieurs dizaines de kilomètres). Enfin, certaines espèces ne produisent qu'une génération annuelle, alors que d'autres sont beaucoup plus prolifiques (plus de dix générations par an) (Muriel, 2005).

II. Présentation de *Culex pipiens*

Le genre *Culex* est le plus grand et important genre de moustiques, qui comprend 800 espèces (Resseguier, 2011). *Culex pipiens* nommé maringouin, moustique domestique aussi bien moustique commun, appartient à la classe des Insectes, de l'embranchement des *Arthropodes*. Il possède trois paires d'appendices locomoteurs. Il appartient à l'ordre des *Diptères*, qui comme leur nom l'indique regroupe des insectes qui ne possèdent qu'une paire d'ailes. Leur corps est élancé et ils possèdent de longues antennes à plus de six articles et leurs pattes sont fines et longues (Aouati, 2016).

Ces moustiques sont dulçaquicoles, c'est-à-dire que les gîtes pré-imaginaux (œufs, larves et nymphes) sont en eaux douces et saumâtres : ce sont de petits gîtes naturels (fossés,

mares, flaques d'eau) ou artificiels (bassins, réservoirs, récipients, vieux pneus remplis d'eau de pluie, situés en général à proximité des habitations). Les adultes sont dits casaniers, c'est-à-dire qu'ils s'éloignent peu des gîtes larvaires. En moyenne, ils peuvent parcourir de 500 à 1000 mètres, avec une vitesse de vol de 500 à 800 mètres à l'heure. On ne trouve, en règle générale, qu'une seule espèce de *Culex* par biotope, mais il peut arriver que plusieurs espèces cohabitent : *Culex pipiens* est fréquemment rencontré avec *Culisetaannulata* et *Culisetalongeareolata* (Resseguier, 2011).

III. Biotope

Culex pipiens est présente dans toutes les régions zoo-géographiques et est capable de se développer dans toutes les régions du globe, excepté celles où il règne un froid trop important comme l'Antarctique. Il va des tropiques aux régions tempérées fraîches (Hatem *et al.*, 2018).

La capacité de *Culex pipiens* à s'adapter à tous les biotopes lui permet d'être vecteur de plusieurs agents pathogènes responsables de maladies infectieuses (Aouati, 2016). Leur développement sera favorisé lors de fortes températures, associées à des taux d'humidité élevés ; la période de l'année correspondante est l'été, mais aussi l'automne dans une plus faible mesure (Resseguier, 2011).

IV. Position systématique

La première position systématique de moustiques *Culex pipiens* a été proposée par Linné (1758) et elle s'est modifiée au cours du temps (Tableau 02).

Tableau 02 : Position systématique de *Cx. pipiens* (Benserradj, 2014) (modifié).

Classification	Dénomination
Règne	<i>Animalia</i>
Sous règne	<i>Metazoa</i>
Embranchement	<i>Arthropoda</i>
Sous-embranch	<i>Hexapoda</i>
Classe	<i>Insecta</i>
Ordre	<i>Diptera</i>

Famille	<i>Culicidae</i>
Sous famille	<i>Culicinae</i>
Genre	<i>Culex</i>
Espèce	<i>Culex pipiens</i>

V. Cycle de développement de moustiques

Les moustiques sont des insectes à métamorphose complète, c'est-à-dire que les larves sont très différentes des adultes. Contrairement à la femelle, le mâle ne prend pas de repas sanguin, qui est indispensable pour porter les œufs à maturité. Cela lui est possible grâce à des pièces buccales adaptées (**Muriel, 2005**). Pendant la piqûre, la femelle injecte de la salive anticoagulante qui provoque, chez l'Homme, une réaction inflammatoire plus ou moins importante selon les individus (**Bouderhem, 2015**).

Les œufs sont pondus dans l'eau, claire en général, mais on en trouve également dans les eaux polluées avec des matières organiques, qui permettront aux larves de se nourrir. Ils sont déposés en paquets formant une nacelle, qui flotte sur l'eau. L'éclosion se produit au bout de 48h après la ponte, en donnant des larves. Ces dernières ont un mode de vie exclusivement aquatique et elles subiront 3 mues. Au cours de ces mues, la tête de la larve va grossir de façon spectaculaire (+ 50% à chaque mue) (**Muriel, 2005**). Au bout de 8 à 12 jours, selon la température de l'eau et la disponibilité en nourriture, la quatrième mue donne naissance à une nymphe: c'est la nymphose. A la fin de ce stade, la nymphe s'étire, se tégument, se fend dorsalement et très lentement, le moustique adulte (imago) s'extirpe de l'exuvie : c'est l'émergence, qui dure environ quinze (15) minutes, au cours desquelles l'insecte se trouve exposé sans défense face à de nombreux prédateurs (**Muriel, 2005**).

Les premiers stades du développement représentés par les œufs, les larves et les nymphes sont aquatiques, cependant le stade adulte a une vie aérienne (**Figure 03**). Ils effectuent cette métamorphose complète entre 5 jours et 90 jours en fonction des conditions environnementales (**Aouati, 2016**).

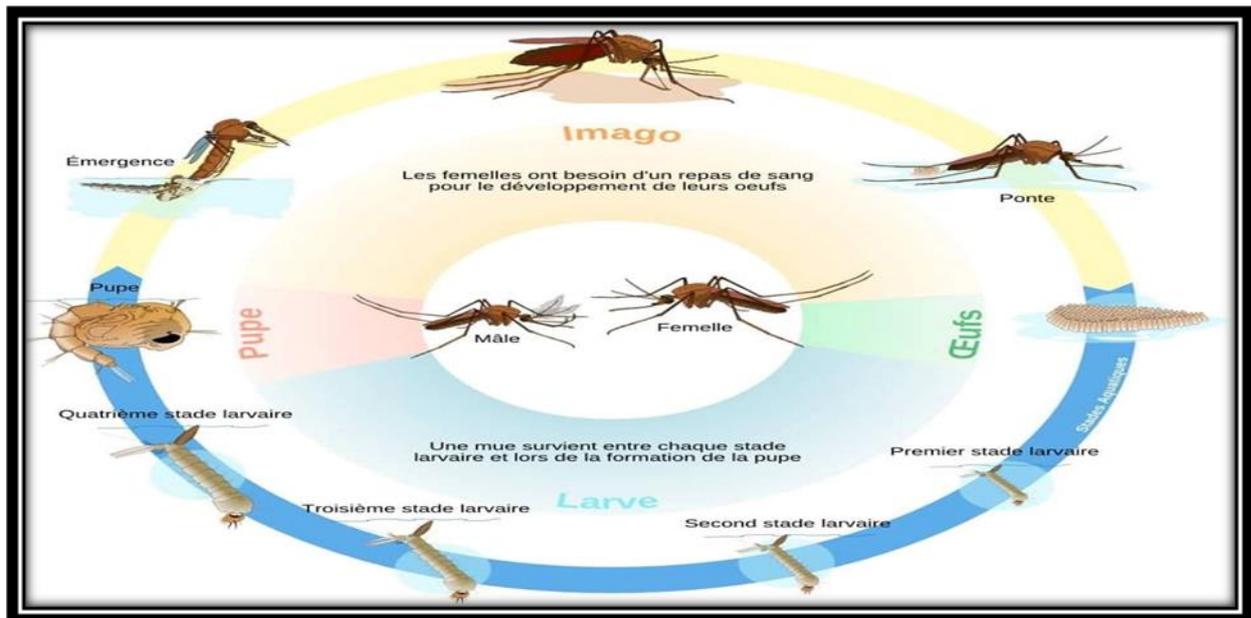


Figure 03 : Cycle de vie *Culex pipiens*(Jolivet, 1980)Modifiépar (Boutaba, Hadj Said et Gherieb, 2019).

V.1. Œuf

Les œufs sont pondus habituellement à la surface de l'eau (**Figure 04**), regroupés dans des masses ayant la forme de nacelle (**Figure 05**) (**Aouati, 2016**). Cette nacelle mesure 3-4 mm de long et 2-3 mm de large (**Muriel, 2005**). C'est avec les pattes postérieures croisées, que la femelle du moustique guide ses œufs pour obtenir cette formation (**Berrah et Ahcene, 2016**). Les œufs sont blanchâtres au moment de la ponte, ils s'assombrissent dans les heures qui suivent et sont facilement visibles à l'œil nu (**Muriel, 2005**).

Une femelle peut pondre généralement de 100 à 400 œufs qui éclosent en 24 à 48 heures lorsque la température de l'eau est suffisante (**Resseguier, 2011**).

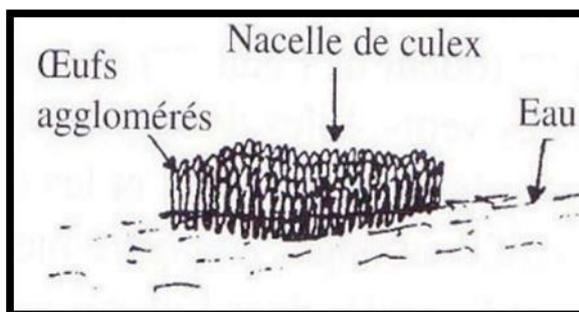


Figure 04: Œufs de *Culex pipiens* (**Resseguier, 2011**).



Figure 05: Aspect des nacelles de *Culex pipiens* (in **Benkhedim et Brik, 2018**).

V.2. Larve

Le développement larvaire des *Culicidae* comporte quatre stades de morphologie comparable (Aouati, 2016). Avec un aspect vermiforme, le corps des larves se divise en trois segments: tête, thorax trapu et dépourvu d'appendices locomoteurs et un abdomen souple. Leur taille varie de 2 à 12 mm en moyenne en fonction des stades (Bouderhem, 2015).

La tête porte des brosses buccales et ces pièces buccales sont de type broyeur. Latéralement, on distingue deux tâches oculaires ainsi que les deux antennes. Représenté par une masse indivise de forme légèrement globuleuse, large aplatie dorso-ventralement, le thorax est formé de trois segments soudés (Prothorax, mésothorax et métathorax) (Figure 06) (Aouati, 2016).

L'abdomen de la larve de moustique possède 10 segments : huit segments bien apparents, le neuvième pas évident, soudé au huitième et un dixième segment qui forme le segment anal (Figure 06)(Aouati, 2016).

L'extrémité caudale de la larve est munie d'un siphon, ou tube respiratoire (dans le prolongement de l'abdomen), long et étroit affleurant à la surface de l'eau. Ce tube est muni de 5 clapets qui s'ouvrent sur deux orifices où l'air pénètre à l'intérieur quand la larve monte à la surface de l'eau et se rabattent quand elle gagne les profondeurs. La rapidité du développement des larves dépend de la quantité de nourriture contenue dans l'eau du gîte (Figure 07) (Bouderhem, 2015).

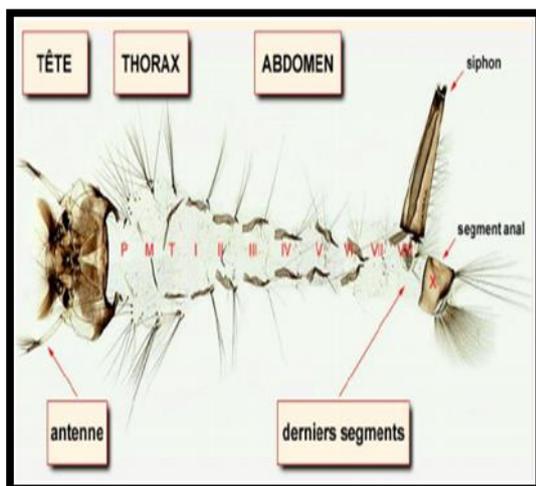


Figure 06 : Morphologie générale d'une larve du stade IV de *Culex pipiens*(Aouati, 2016).

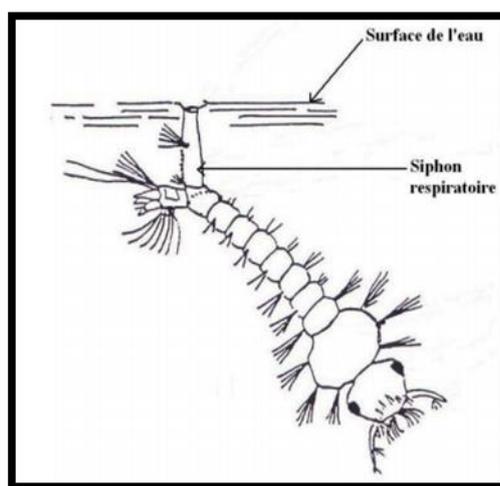


Figure 07: Larve de *Culex pipiens* au cours de respiration (Resseguier, 2011).

V.3. Nymphe

A la fin du développement du quatrième stade, la larve devient une nymphe. La tête et le thorax chez la nymphe du moustique forment un volumineux céphalothorax, qui fait suite à un abdomen étroit recourbé de forme générale en virgule ou en point d'interrogation (**Figure 08**)(Muriel, 2005).C'est à ce stade que les moustiques subissent leurs dernières transformations (**Sadallah et Belkhaoui, 2016**).

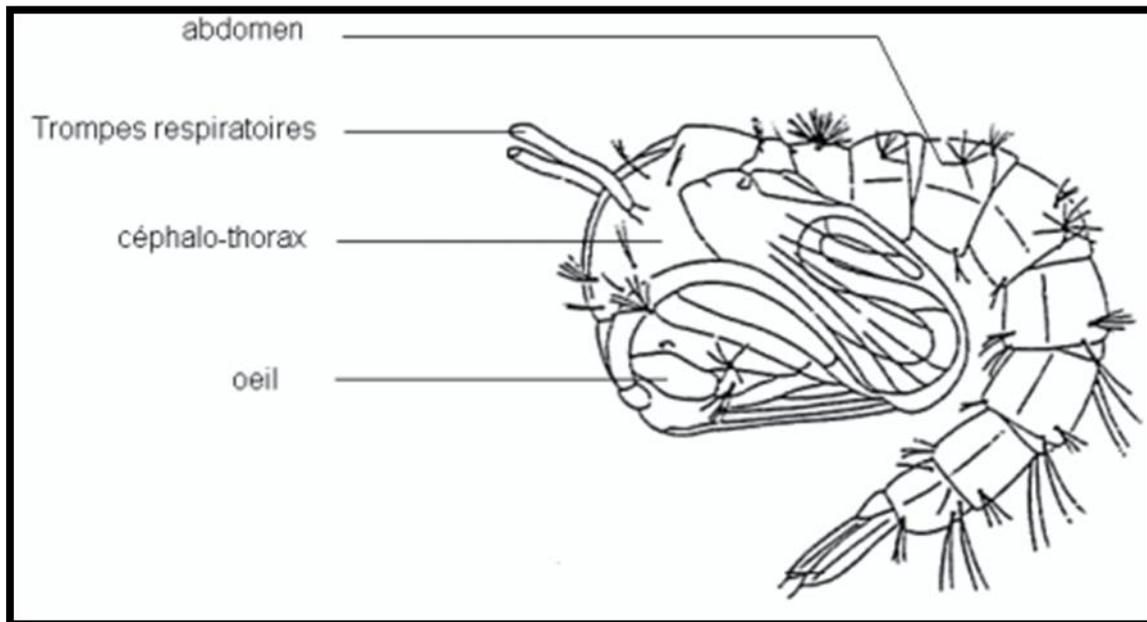


Figure08 : Nymphe de *Culex pipiens*(Muriel, 2005).

V.4. Adulte

L'adulte, une fois métamorphosé, provoque une cassure au niveau de la tête nymphale et émerge à la surface de l'eau. Les mâles atteignent leur maturité sexuelle au bout d'un jour, alors que les femelles l'atteignent au bout de 1 à 2 jours et elles sont plus grandes que les mâles issus d'une même émergence (**Figure 09**) (**Bouderhem, 2015**).Trois parties bien distinctes composent l'adulte : la tête, le thorax et l'abdomen.

Tête : 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. Les antennes sont de calibre uniforme, très spumeuses et à 15 articles chez le mâle, peu spumeuses et à 14 articles chez la femelle ; les mâles ont à la base de l'antenne un deuxième article dilaté comprenant des organes sensoriels disposés radicalement (**Figure 10**) (**Muriel, 2005**).

Thorax : Composé des trois segments soudés aussi comme chez la larve (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 côtés. 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 servant au contrôle du vol (Muriel, 2005).

Abdomen : Grêle et allongé, il est composé de 9 segments, 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. 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 (Muriel, 2005).

Chez *Culex pipiens*, les adultes ne vivent pas plus de deux à trois semaines pour les mâles, et jusqu'à trois mois pour les femelles selon la température et la qualité du gîte. Les femelles nées à l'automne peuvent survivre durant l'hiver (in Maifi et Sakher, 2018).

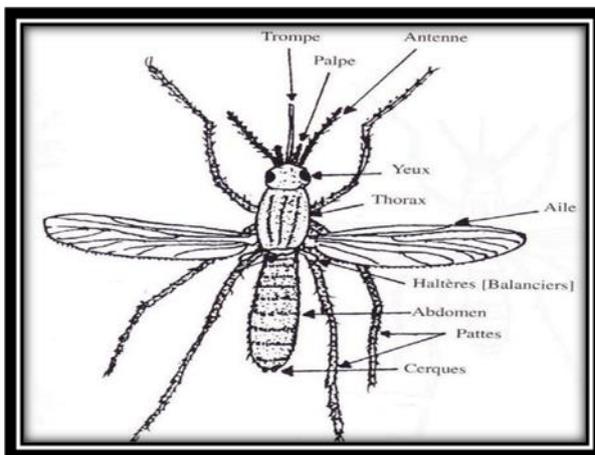


Figure 09 : Morphologie de l'adulte de *Culex pipiens*(Resseguier, 2011).

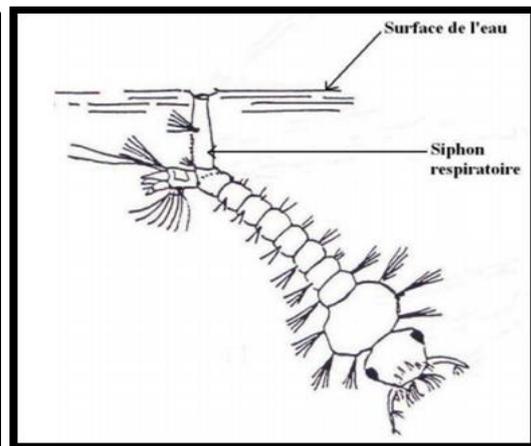
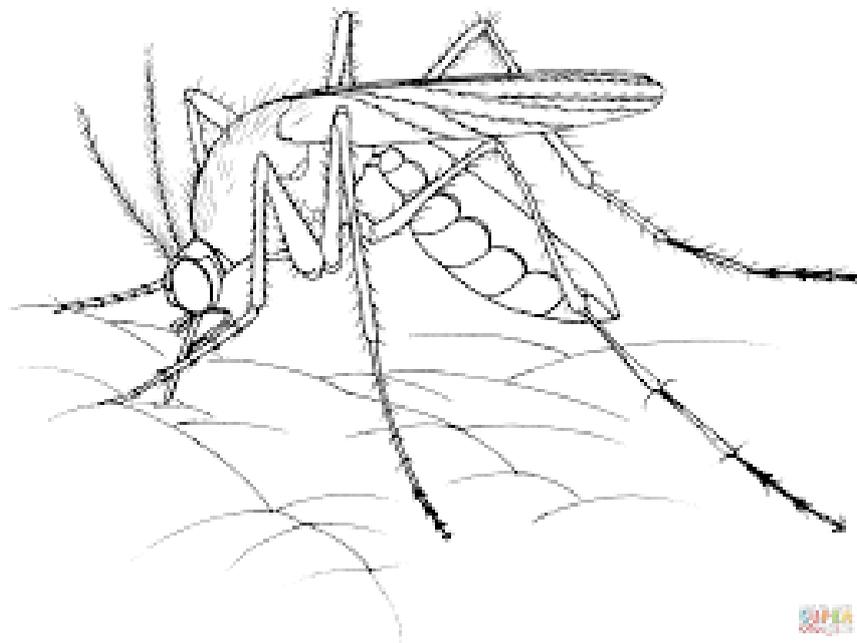


Figure 10 : Tête de *Culex pipiens* (Muriel, 2005).

Chapitre III :
Biologie de
Culiseta longiareolata



I. Présentation de *Culiseta longiareolata*

C'est une espèce de la famille des *Culicidae*, de la sous-famille des *Culicinae* (Khaligh et al., 2020). C'est une espèce commune et abondante dans de nombreux pays d'Europe, d'Afrique et aussi d'Asie (Hazratian et al., 2019). Elle est largement distribuée en Algérie, et en particulier dans le sud du pays. C'est un vecteur de la brucellose, de la grippe aviaire et de l'encéphalite du Nil occidental (Hazratian et al., 2019). C'est un insecte nuisible à métamorphose complète. Ce moustique a une taille qui varie de 3 à 5mm. Il possède un corps mince et des pattes longues et fines avec des ailes membraneuses, longues et étroites (Azzouz&Halib, 2017). Ces espèces de moustiques se distinguent facilement des autres espèces de *Culiseta*, et ses caractères morphologiques comprennent des rayures blanches et des points sur les jambes, la tête et le thorax (Khaligh et al., 2020). Les larves de cette espèce se trouvent principalement dans tout type de gîtes artificiels, par ex. barils de pluie et les puits, mais se rencontrent rarement dans les plans d'eau naturels. En général, les femelles de cette espèce évitent de pondre dans des récipients d'eau avec des prédateurs présents (Zittra et al., 2014). Les sites de reproduction de cette espèce sont de types très différents; ils peuvent être permanents ou temporaires, ombragés ou ensoleillés, remplis d'eau douce ou saumâtre, propres ou pollués (Merabti et al., 2020). Il est trouvé commun dans les habitations humaines (Hazratian et al., 2019), bien qu'il attaque rarement les humains (Cetin et al., 2012). Cependant, les femelles préfèrent se nourrir de sang d'oiseau (Nabti& Bounechada,2019).

I .I Position systématique

La position systématique de *Cs. Longiareolata* est présentée dans le tableau suivant.

Tableau 03 :Position systématique de *Cs. longiareolata*(Aitken, 1954).

Règne	<i>Animalia</i>
Sous-règne	<i>Metazoa</i>
Embranchement	<i>Arthropoda</i>
Classe	<i>Insecta</i>
Sous-classe	<i>Pterygota</i>
Ordre	<i>Diptera</i>

Famille	<i>Culicidae</i>
Sous-famille	<i>Culicinae</i>
Genre	<i>Culiseta</i>
Espèce	<i>Culisetalongiareolata</i>

III. Caractéristiques de *Culisetalongiareolata*

Cette espèce est multivoltine avec un développement continu dans les pays chauds à large distribution (Merabti et al., 2020). *Cs. longiareolata* a des fonctionnalités adaptatives et de survie uniques (Nabti&Bounechada, 2019). Les premier et deuxième stades de *Cs. longiareolata* sont concentrés dans des zones peu profondes des mares, tandis que les stades tardifs (larves de troisième et quatrième stades, chrysalides) se trouvent au-dessus des zones plus profondes des mares (Cetin et al., 2012).

IV. Cycle de vie de *Culisetalongiareolata*

Les Culicidae, ou moustiques comme communément connus, sont une famille d'insectes Diptères qui se reproduisent rapidement et abondamment (Nabti&Bounechada, 2019). Ces 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).



Figure11 : Cycle de vie *Culisetalongiareolata*.

IV.1. Œufs

La prise d'un repas de sang par une femelle induit la vitellogénèse et la maturation des œufs, qui seront pondus dans un intervalle de 48 h à 72 h après la prise du repas de sang (**Pagès, 2017**). Les œufs de *Culiseta* groupés en nacelle sont cylindro-coniques, porte environ 50 à 400 œufs. Au moment de la ponte, ils sont blanchâtres et prennent rapidement, par oxydation de certains composants chimiques de la thèque, une couleur noire (**Bouderhem, 2015**). Les œufs pondus à la surface de l'eau sont insubmersible grâce à leur arrangement en nacelle. Les œufs peuvent éclore en moins de 2 à 3 jours après leur ponte, période nécessaire au développement embryonnaire (**Dahchar, 2017**).

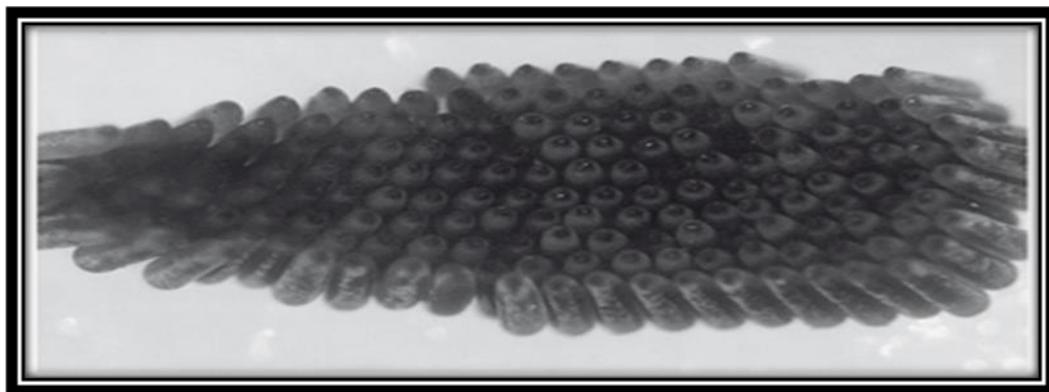


Figure 12 : Aspect des nacelles de *Culisetalongiareolata*

IV.2. Larves

Les larves de moustiques sont toujours aquatiques, colonisent les eaux temporaires ou permanentes. Leur évolution s'accomplit en quatre stades (**Dahchar, 2017**). Leur déplacement est assuré par des mouvements frétilants caractéristiques, de taille variant de 2mm à 12mm (**Bouderhem, 2015**). Les larves vivent environ 10 jours. La rapidité du développement des larves dépend de la quantité de nourriture contenue dans l'eau du gîte (**Azzouz&Halib, 2017**).



Figure 13 : Larve de *Culiseta longiareolata*

IV.3. Nymphe

La nymphe ou pupa est en forme de virgule, mobile, présente un céphalothorax fortement renflé avec deux trompettes respiratoires (Bouderhem, 2015). La nymphe, également aquatique, est éphémère (de 1 à 5 jours) (Azzouz&Halib, 2017). La nymphe est mobile mais qui ne se nourrit pas (Pagès, 2017), mais durant ce stade le moustique subit de profondes transformations morphologiques et physiologiques. A la fin de cette période, la nymphe donne un adulte, mâle ou femelle (Dahchar, 2017).



Figure 14 : Nymphe de *Culiseta longiareolata*

IV.4. Adultes (ou l'imago)

La métamorphose se produit dans la nymphe qui va donner l'adulte ailé, mâle ou femelle, les adultes mâles émergent avant les adultes femelles car il leur faut d'avantage de temps pour développer leurs glandes sexuelles. L'antenne du mâle est velue, chez la femelle est glabre (Dahchar, 2017). 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 (**Bouderhem, 2015**). Il est composé de trois parties la tête, le thorax et l'abdomen bien différencié (**Azzouz&Halib, 2017**).



Figure 15 : Imago de *Culisetalongiারেolata*

**ETUDE
EXPERIMENTALE**



Matériels et méthodes



Le présent travail a pour objectif d'évaluer le potentiel larvicide de l'huile essentielle de la plante aromatique *Artemisia herba-alba*, à l'égard de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*.

I. Matériel d'origine végétale : huile essentielle et extraits apolaires d'*Artemisia herba-alba*

L'huile essentielle et les extraits apolaires (DM, AE) d'*Artemisia herba-alba* nous ont été fournis, prêts à l'emploi, par notre promotrice Mme ZEGHIB Assia. L'huile essentielle a été obtenue par hydrodistillation, à l'aide d'un appareil type Clevenger (**Figure 16**), des parties aériennes d'*A. herba-alba* récoltées dans la région de Tébessa. Les extraits apolaires (DM, AE) ont été obtenus par macération de la plante d'étude par des solvants de polarité croissante (**Figure 17**).



Figure 16 : Montage d'hydrodistillateur type Clevenger (photo personnelle).

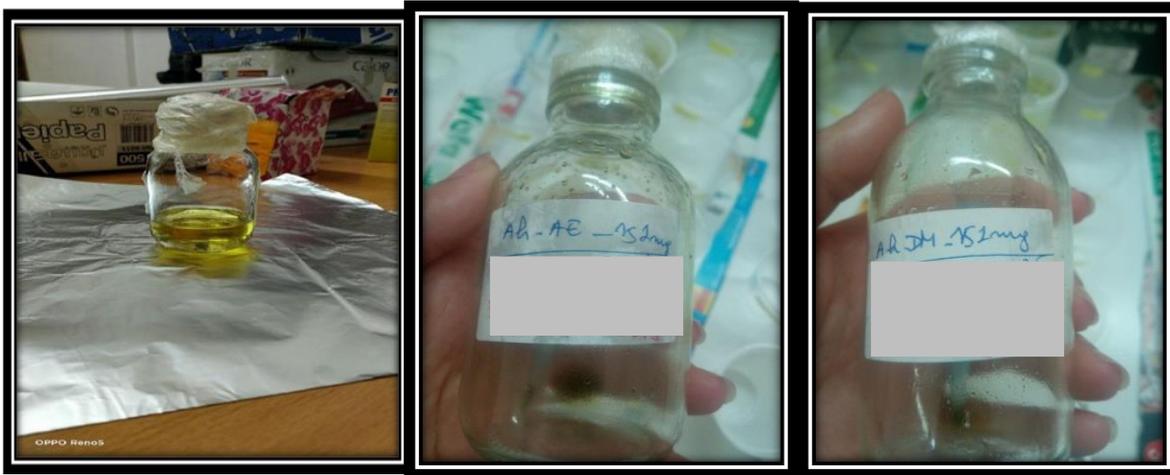


Figure 17 : Huile essentielle et extraits-solvants d'*A. herba-alba* (Photo personnelle).

II. Matériels destinés à la réalisation du test de toxicité

II.1. Appareillages, verrerie et autres

Tableau 04 : Appareillages, verrerie et autres nécessaires pour le test de toxicité.

- Balance de précision	-Gobelets en plastique
- Binoculaire	-Cage pour l'adulte
- Congélateur	- TCA 20 %
- Micropipette avec embouts correspondants	- Ethanol absolu
- Pipette plastique de 3mL	- DMSO
- Cristalliseur	- Eau déchlorurée
- Epprouvettes graduées	- Eau minérale
- Flacons en verre	-Papier aluminium
- Récipients	- Papier absorbant
	- Papier film
	- Eppendorf
	- Boite des eppendorf

II.2. Matériel d'origine animale : larves de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*

Les larves et les nacelles de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* ont été recherchées dans plusieurs régions de la wilaya de Tébessa : ville de Tébessa, Hammamet, Boukhadhra, Gaàgaà et la serre (Figures 17, 18).

La collecte est faite dans des récipients. Les larves sont ensuite transvasées dans des bidons de 5 litres et transportées au laboratoire. Les larves sont déplacées dans des cristallisoirs, pour être triées selon leurs stades de développement.



Figure 18 : Gîte larvaire Gaàgaà (Photo personnelle).



Figure 19 : Gîte larvaire Hammamet (Photo personnelle).

Les larves sont élevées au laboratoire dans des gobelets en plastique, contenant chacun 150 mL d'eau déchlorurée et nourries avec du mélange biscuit 75%-levure 25% (Rehimi et Soltani, 1999). L'eau est renouvelée chaque deux jours.

Selon leurs stades de développement, les larves sont triées en 4 catégories (stade 1, 2, 3 et 4). Elles sont différenciées de l'espèce *Culiseta longiareolata* majoritairement trouvée dans la région de Tébessa par leurs tailles, couleurs et la forme du siphon qui est plus fin et long chez les *Cx. pipiens*. Les nœuds ainsi que les larves du stade 1, 2, 3 et 4 sont triés.

Lorsque les larves atteignent le stade nymphal, elles sont placées dans des récipients et déposées dans des cages où elles s'y transformeront en adulte qui se nourrit de dattes. L'adulte femelle a besoin de repas sanguin nécessaire pour la ponte.

III. Test de toxicité d'*Artemisia herba-alba* vis-à-vis de *Culiseta longiareolata*

III.1. Test de toxicité de l'huile essentielle

Nous avons préparé une gamme de 4 concentrations décroissantes (mg/mL) de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* (C1, C2, C3 et C4). 1 mL de chaque solution

Matériels et méthodes

préparée est mis dans des gobelets contenant 150 mL d'eau déchlorurée en contact avec 20 larves du stade 4 de *Culiseta longiareolata*.

Deux témoins ont été utilisés :

Témoins positif : c'est l'éthanol absolu ;

Témoins négatif : L4 seules.

Nous avons dénombré les larves mortes et vivantes après 24 h de contact avec l'HE d'*Artemisia herba-alba*. Les larves vivantes sont rincées avec de l'eau déchlorurée puis déplacées dans de nouveaux gobelets contenant 150 mL de l'eau déchlorurée avec l'ajout d'une petite quantité de nourriture. La lecture se poursuit après 48 et 72 h (Figure 19).



Figure 20 : Réalisation du test de toxicité des larves L4 nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* traitées avec l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* (Photo personnelle)

III.2. Test de toxicité des extraits apolaires

Nous avons préparé une solution d'extraits apolaires d'*Artemisia herba-alba* (DM, AE) à une même concentration-test. 1 mL de chaque solution préparée est mis dans des gobelets contenant 150 mL d'eau déchlorurée en contact avec 20 larves du stade 4 de *Culiseta longiareolata*.

Deux témoins ont été utilisés :

Témoins positif : c'est le DMSO ;

Témoins négatif : L4 seules.

Nous avons dénombré les larves mortes et vivantes après 24 h de contact avec l'extrait apolaire d'*Artemisia herba-alba*. Les larves vivantes sont rincées avec de l'eau déchlorurée puis déplacées dans nouveaux gobelet contenant 150 mL d'eau déchlorurée avec l'ajout d'une petite quantité de nourriture. La lecture se poursuit après 48 et 72 h (**Figure 21**).

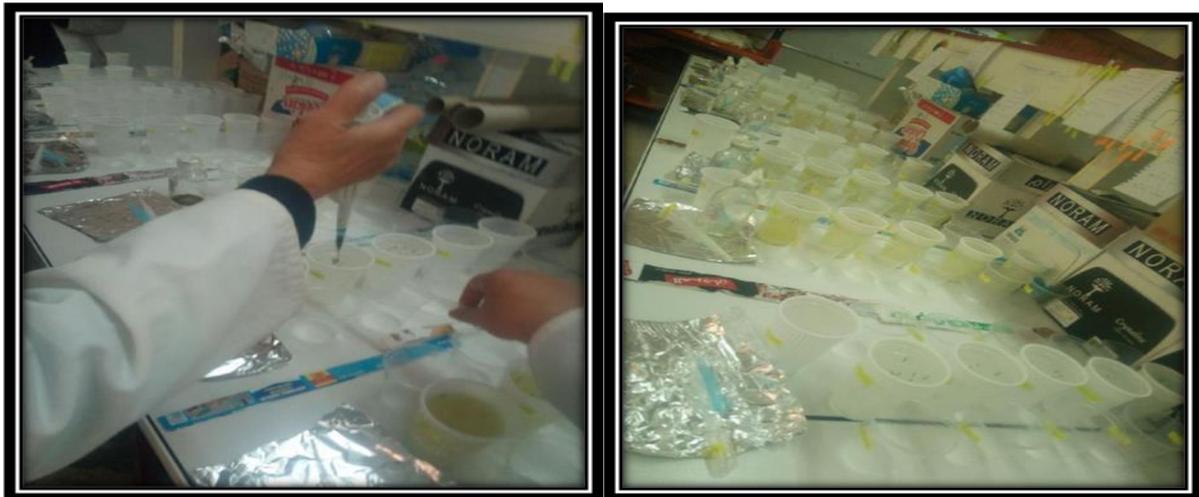


Figure 21 : Contact des larves L 4 nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* avec chaque extrait apolaire d'*Artemisia herba-alba* (photo personnelle).

IV. Test de toxicité de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* vis-à-vis de *Culex pipiens* : Effet de la concentration létale 50 (CL₅₀) sur les métabolites

Matériels et méthodes

Nous avons préparé une solution de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* à la concentration létale 50(CL_{50}). 1 mL de la solution préparée est mis dans des gobelets contenant 150 mL d'eau déchlorurée en contact avec 20 larves du stade 4 de *Culex pipiens*. Le test est réalisé en parallèle avec une série de témoins négatifs.

Nous avons dénombré les larves mortes et vivantes après 24h de contact avec l'HE d'*Artemisia herba-alba*. Les larves vivantes sont rincées avec l'eau déchlorurée, puis déplacées dans de nouveaux gobelets contenant 150mL de l'eau déchlorurée avec l'ajout d'une petite quantité de nourriture. La lecture se poursuit après 48 et 72h.

Les larves vivantes de 24, 48 et 72h sont réparties par pool d'un certain nombre et sont conservés au congélateur à $-20^{\circ}C$ jusqu'au jour du dosage des métabolites.



Figure 22: Réalisation du test de toxicité des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* avec l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* (Photo personnelle).

IV.1. Extraction et dosage des principaux constituants biochimiques

L'extraction des différents métabolites a été réalisée selon Shibko et al.(1966). Les échantillons sont placés dans des tubes eppendorf contenant 1 mL d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et broyés à l'aide d'un homogénéiseur à ultrasons. Après une première centrifugation (5000 trs / min à $4^{\circ}C$, 10 mn), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de Duchateau&Florkin(1959). Au culot I, on ajoute 1 mL de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min,

10 mn), on obtient le surnageant II et le culot II. Le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides et le culot II, dissout dans la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines selon Bradford (1976).

IV.1.1. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976) dans une fraction aliquote de 100 mL à laquelle on ajoute 4 mL de réactif du bleu brillant de commassie (BBC) G 250 (Merck). La solution de BBC, se prépare comme suit : On homogénéise 100 mg de BBC, dans 50 mL d'éthanol 95°, on y ajoute ensuite 100 mL d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 1000 mL avec l'eau distillée. La durée de la conservation du réactif est de 2 à 3 semaines à 4 °C. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorant en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Sigma) titrant 1 mg/mL

IV.1.2. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al.*, (1972) utilisant le réactif sulfophosphanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100 mL des extraits lipidiques ou de gamme étalon auxquelles on évapore totalement le solvant, puis on ajoute 1 mL d'acide sulfurique concentré. Les tubes sont agités, et mis pendant 10 mn dans un bain de sable à 100 °C. Après refroidissement, on prend 200 mL de ce mélange au quel on ajoute 2,5 mL de réactif sulfophosphanillinique. Après 30 mn à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide orthophosphorique, des complexes roses. Le réactif est préparé comme suit : Dissoudre 0,38 g de vanilline dans 55 mL d'eau distillée et ajouter 195 mL d'acide orthophosphorique à 85%. Ce réactif se conserve pendant 3 semaines à 4 °C et à l'obscurité. La solution mère des lipides est préparée comme suit : on prend 2,5 mg d'huile de table (tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf on ajoute 1 mL d'éther chloroforme (1V/1V).

IV.1.3. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon Duchateau & Florkin (1959). Il consiste à additionner 100 mL du surnageant contenu dans un tube à essai, 4 mL du réactif d'anthrone et

Matériels et méthodes

de chauffer le mélange à 80 °C pendant 10 min. Une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucide présente dans l'échantillon. La lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620 nm. La préparation du réactif d'anthrone se fait comme suit : peser 150 mg d'anthrone, ajouter 75 mL d'acide sulfurique concentré et 25 mL d'eau distillée. On obtient une solution limpide de couleur verte qui est stockée à l'obscurité.

Résultats et discussion



I. Résultats

Dans le but de connaître l'effet larvicide de la plante *A. herba-alba*, des essais toxicologiques sur les larves du 4ème stade de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens* nouvellement exuviées ont été réalisés.

I.1. Effet larvicide d'*Artemisia herba-alba* vis-à-vis de *Culiseta longiareolata*

I.1.1. Effet larvicide de l'huile essentielle

Les études toxicologiques ont permis de déterminer l'efficacité de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles à différentes périodes 24, 48 et 72 heures après traitement.

Les tests de toxicité sont appliqués sur des larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* avec 4 concentrations (mg/mL) décroissantes C1, C2, C3 et C4. Les mortalités corrigées sont présentées dans **la figure 23** montrant des taux variant avec une relation dose-réponse et qui sont de :

- 12 % (C4) à 100 % (C1) (période de 24h).
- 15% (C4) à 100 % (C1) (période de 48h).
- 17 % (C4) à 100 % (C1) (période de 72h).

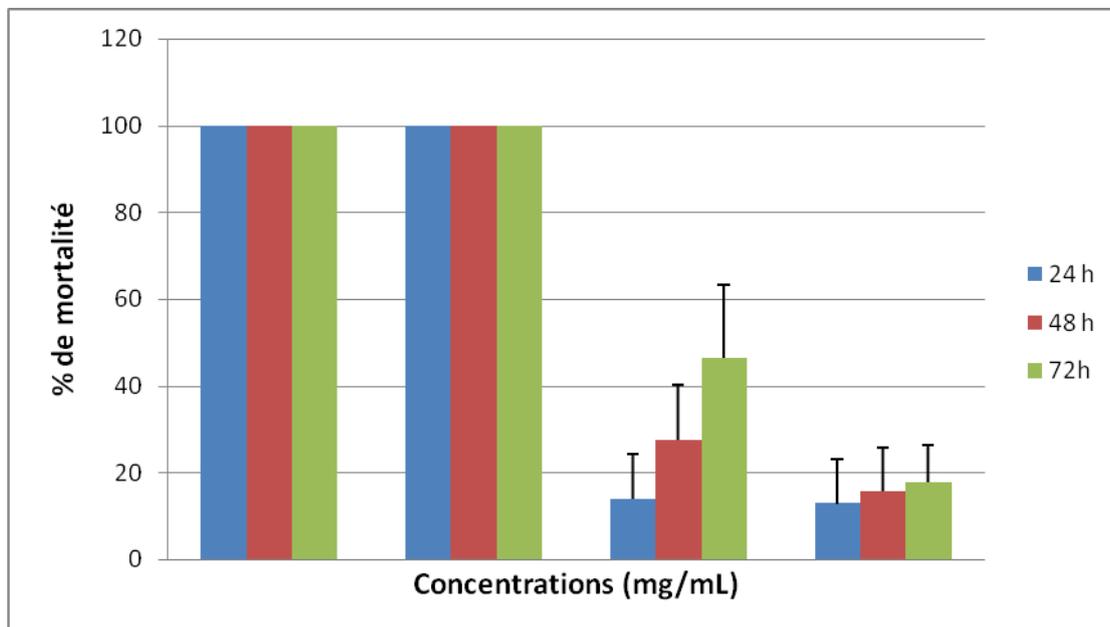


Figure 23 : Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*, traitées par différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. herba-alba*. Comparaison des moyennes à différents temps (24,48 et 72h) pour différentes concentration-test décroissantes.

I.1.2. Effet larvicide des extraits apolaires

L'obtention des extraits à partir de la partie aérienne d'*A herba-alba* a été effectuée par des solvants de polarité croissante : Dichlorométhane (DM) et Acétate d'éthyle (AE). Cette méthode d'extraction est basée sur la macération, filtration et évaporation à l'air libre puis au rotavapeur et à l'étuve. Finalement ont été obtenus deux extraits différents : Ah-DM et Ah-AE.

Nous avons étudié l'efficacité des extraits apolaires d'*A. herba-alba*, sur le taux de mortalité de la population cible à différentes périodes de temps (24,48 et 72 h).La toxicité est appliquée sur les larves de *Culisetalongiareolata* du quatrième stade nouvellement exuviées, avec une même concentration-test pour les extraits apolaires d'*A. herba-alba*(**Figure 24**).

Nos résultats montrent que l'effet larvicide de l'extrait Ah-DM est meilleur à celui de l'extrait Ah-AE et ce dans les trois périodes d'exposition (24, 48 et 72h). L'effet larvicide augmente au cours du temps d'exposition mais ne dépassant pas 15% de mortalité à 72h.

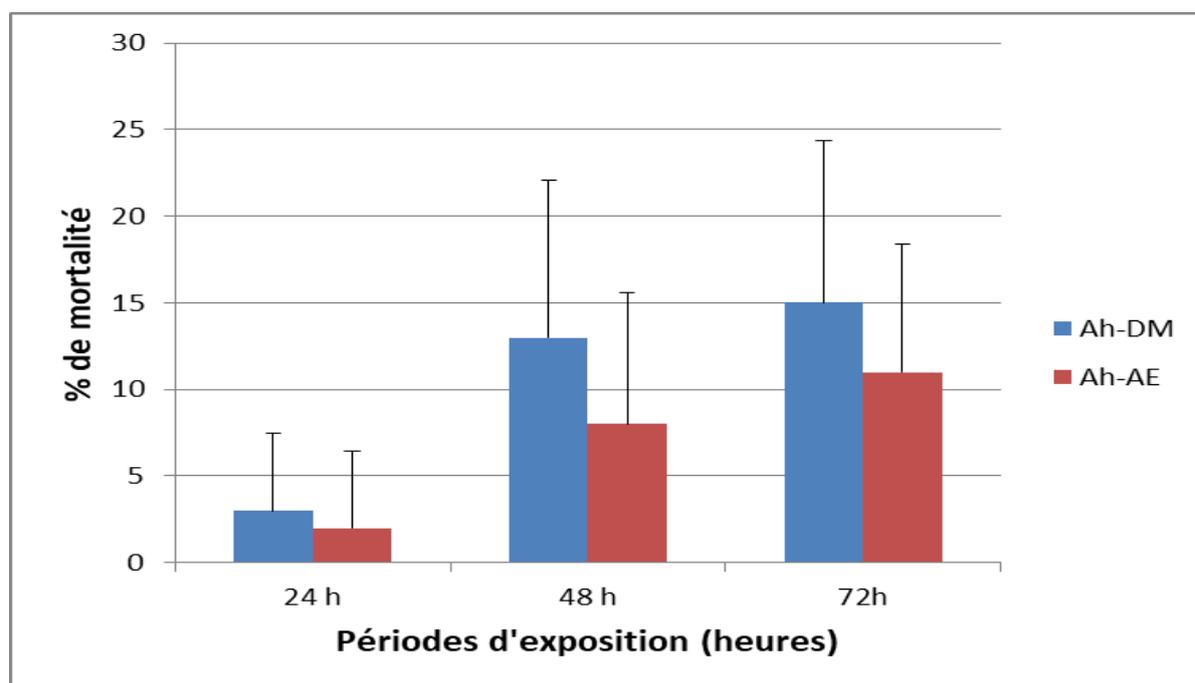


Figure24 : Diagramme en barre présentant les effets des extraits d'*A herba-alba* à l'égard des larves L4 nouvellement exuviées de *Culisetalongiareolata* à différentes périodes (24,48 et 72h). Comparaison des moyennes pour un même temps entre les deux extraits.

I.2. Effet larvicide de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* à l'égard des larves du 4ème stade de l'espèce de moustique *Culex pipiens* : Effet de la concentration létale 50 (CL₅₀) sur les métabolites

I.2.1. Effet sur le contenu en protéines totales

Le taux des protéines totales a été estimé chez les séries témoins et traitées par l'huile essentielle d'*A. herba-alba* (CL₅₀), chez *Culex pipiens*, d'après la méthode de **Bradford (1976)**. Les résultats relatifs au taux des protéines totales sont exprimés en microgramme par milligramme de poids frais ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de poids frais), d'après une courbe de référence (**Figure 25**). Les résultats du dosage sont présentés dans la **Figure 26**. Chez les séries témoins et traitées par la CL₅₀, nous remarquons une augmentation du taux des protéines par rapport aux temps testés (24, 48 et 72h).

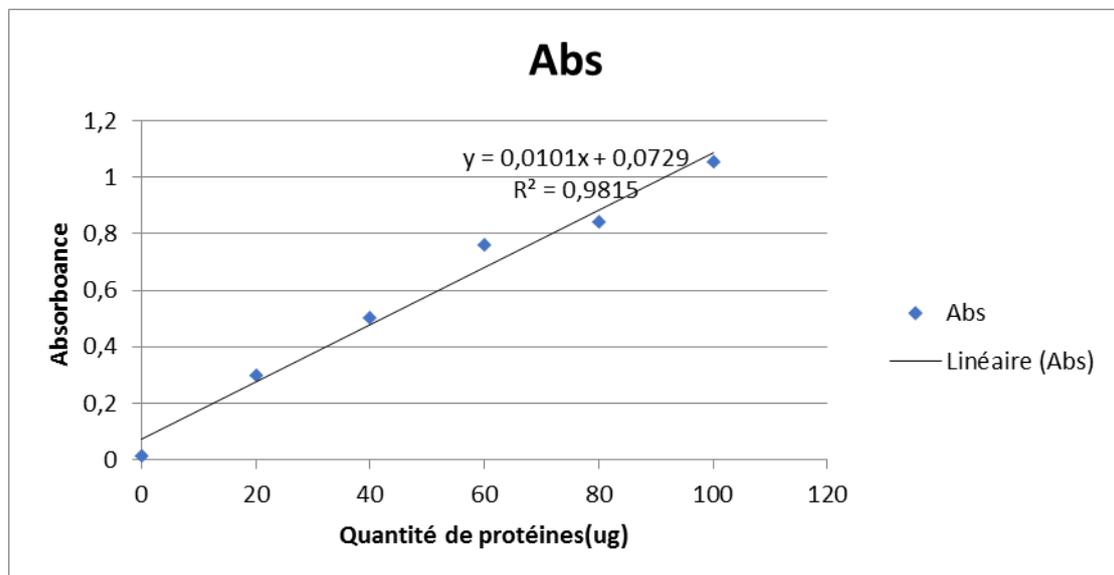


Figure 25 : Dosage des protéines totales chez les moustiques : Courbe d'étalonnage exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de protéines (μg) (R^2 : coefficient de détermination).

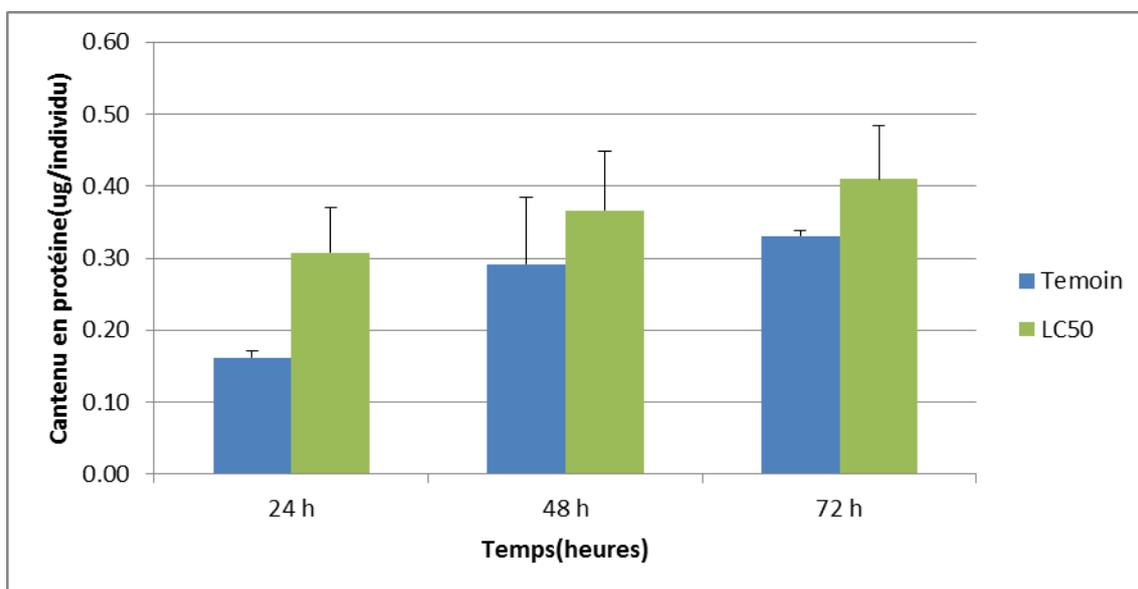


Figure 26: Effet de l'huile essentielle d'*A. herba-alba* (CL₅₀) sur le contenu en protéines totales (µg/individu) chez les larves 4 de *Cx. pipiens*, à différentes périodes (m ± sem, n=3), comparaison des moyennes.

I.2.2. Effet sur le contenu en lipides totaux

La teneur totale en matières grasses des larves de quatrième stade a été déterminée selon la courbe d'étalonnage (**Figure 27**). Les résultats de l'examen sont consignés dans la **Figure 28**. Dans la série témoin, les résultats obtenus ont montré une différence du taux de lipides mesuré après 24, 48 et 72 heures. Dans la série traitée avec CL₅₀ il y a une diminution des taux des lipides mesurés après 24, 48 et 72 heures.

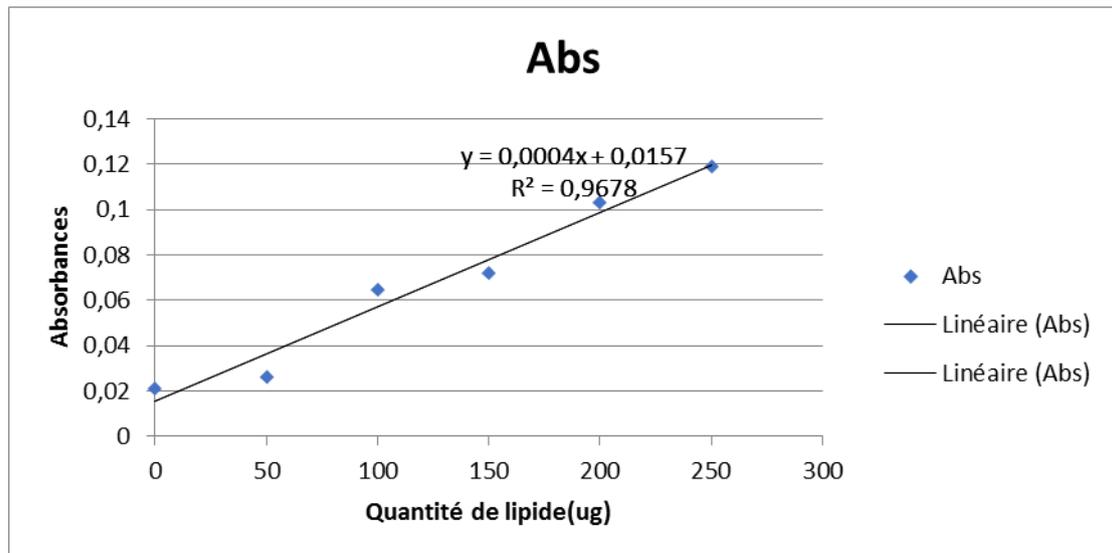


Figure 27: Dosage des lipides totaux chez les moustiques : Courbe d'étalonnage exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipides (μg) (R^2 : coefficient de détermination)

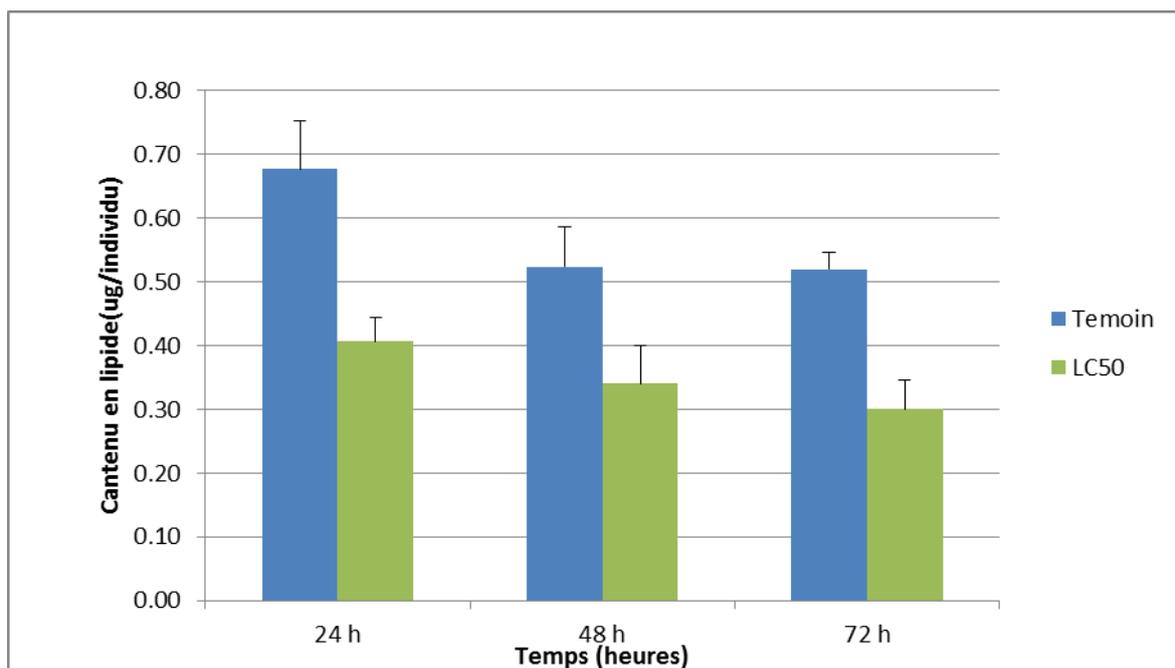


Figure 28 : Effet de l'huile essentielle d'*A. herba-alba* (CL_{50}), sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade (L4) de *Culex pipiens* à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) ($m \pm \text{sem}$, $n=3$), comparaison des moyennes.

I.2.3. Effet sur le contenu en glucides totaux

Le taux des glucides totaux a été estimé chez les séries témoins et traitées par l'huile essentielle d'*A. herba-alba* (CL₅₀), chez *Culex pipiens*, d'après la méthode de Duchateau&Florkin (1959).

Les résultats relatifs au taux des glucides totaux sont exprimés en milligramme de poids frais. D'après une courbe de référence (Figure 29), les résultats du dosage sont donnés dans la Figure 30.

Chez les séries témoins, les résultats obtenus montrent une différence du taux des glucides mesurés après 24,48 et 72h. Cependant, pour les séries traitées par la CL₅₀, les glucides totaux présentent une diminution par rapport aux temps testés 24, 48 et 72h.

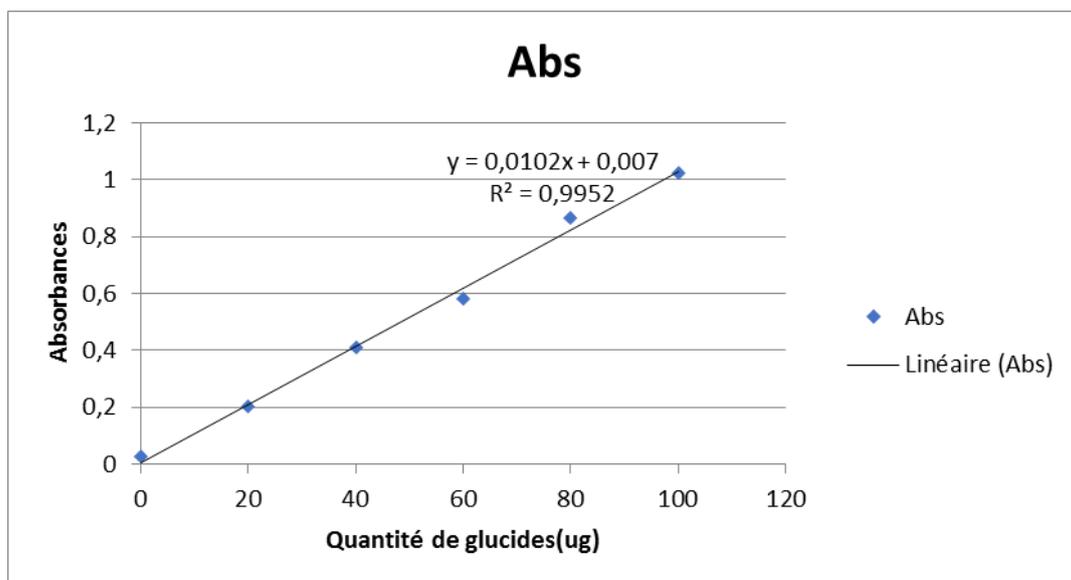


Figure 29: Dosage des glucides totaux chez les moustiques : Courbe d'étalonnage exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de glucides (µg) (R² : coefficient de détermination).

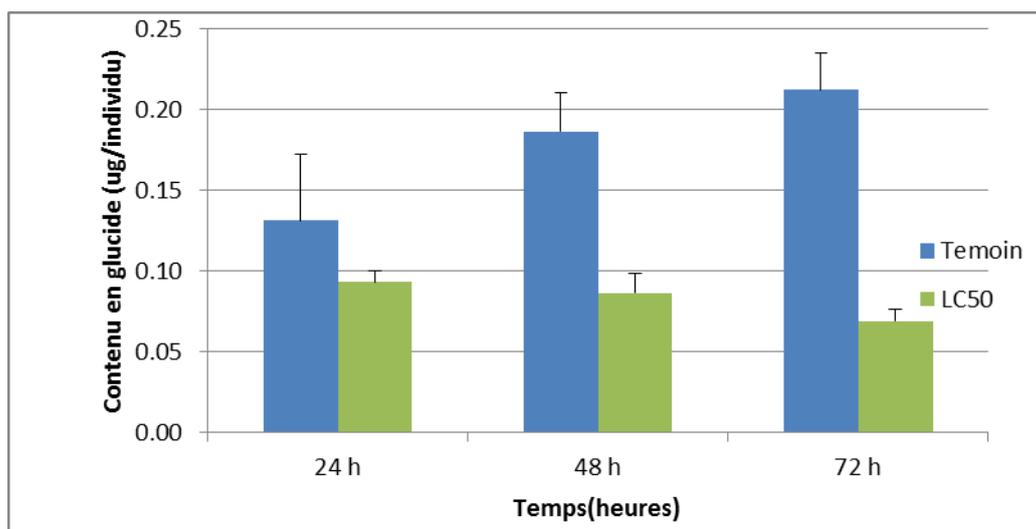


Figure 30 : Effet de l'huile essentielle d'*A.herba-alba*(CL_{50}) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade (L4) de *Culex pipiens* à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) ($m \pm \text{sem}$, $n=3$), comparaison des moyennes.

II. Discussion

II.1. Evaluation de l'effet larvicide de l'huile essentielle d'*A.herba-alba* à l'égard de *Culiseta longiareolata*

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense (Csek & Kaufman, 1999). Notre étude a pour but de tester la toxicité de l'huile essentielle extraite d'*A.herba-alba* à l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* à 24, 48 et 72 heures. Les résultats montrent une activité larvicide avec une relation dose-réponse (les doses les plus fortes donnent un effet larvicide élevé).

Donc l'huile essentielle d'*A.herba-alba* a montré des effets larvicides intéressants à l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*. Dans une étude sur les troubles comportementaux et physiologiques que présentent les criquets traités par l'huile essentielle d'*A.herba-alba*, ne peuvent être expliqués que par l'effet de certains composés toxiques de cette essence végétale. Ainsi, il a été démontré que le monoterpène β -pinène a une activité insecticide (Lee et al. 2001), le pipéritone a montré une activité insecticide contre *Callosobruchus maculatus* (Ketoh et al 2006).

II.2. Evaluation de l'effet larvicide des extraits apolaires d'*A. herba-alba* à l'égard de *Culiseta longiareolata*

Les résultats de notre étude montrent que l'extrait apolaire Ah-DM de la plante sélectionnée (*A. herba-alba*) a une activité larvicide plus meilleure que celui de Ah-AE, contre les larves de *Culiseta longiareolata*. Néanmoins, le pourcentage de mortalité est faible pour les trois périodes d'exposition (24, 48 et 72 h).

Une autre étude montre que l'extrait d'*A. herba-alba* qui a donné le meilleur effet larvicide, à l'égard des L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* est représenté par Ah-DM et ceci durant toute la période de traitement (Akriche et Messai, 2017). La différence de cet effet peut être due aux conditions du travail ainsi que l'espèce de moustique étudiée et la source d'élevage.

II.3. Effet de la concentration létale 50 (CL₅₀) de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* sur les métabolites des larves du 4^{ème} stade de *Culex pipiens*

II.3.1. Effet sur le contenu en protéines

Chez les insectes, les protéines et les acides aminés jouent un rôle majeur durant les différentes phases de leur vie. Ce sont des composants biochimiques majeurs nécessaires au développement, à la croissance et à l'accomplissement de leurs activités vitales (yazdani et al., 2014). La teneur de l'insecte en protéines dépend de sa synthèse, sa dégradation, du mouvement de l'eau entre les tissus et de l'hémolymphe (Gnanamani et Dhanasekaran, 2017). Cependant, elles peuvent être inductibles à la suite d'une exposition à des plantes médicinales (Haubruge et Amichot, 1998).

Les résultats obtenus au cours de notre expérimentation, montrent que l'application de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* (CL₅₀) sur les larves de *Cx. pipiens*, augmente le contenu en protéines. Des résultats similaires ont été enregistrés chez la même espèce suite à un traitement par les HEs d'*O. Basilicum* (Dris et al. 2017b) et chez *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* traités à la lavande et à la menthe (Dris, 2018). Cela a été observé aussi par Madaciet al. (2008) qui ont montré que les extraits hydroalcooliques des feuilles de *Nerium oleander* (*Apocynaceae*) provoquent une augmentation des taux de protéines chez les larves blanches de *Rhizotrogini* (*Coleoptera: scarabaeidae*)

Contrairement à nos résultats, l'étude de Sharma et al. (2011) a montré que les teneurs en protéines ont été réduites à 63,13% et 92,62% chez les Anophelinés et à 32,39% et 48,12% chez les larves de Culiciné après traitement d'*Azadirachta Indica*, respectivement. De même, il a été rapporté que le contenu en protéines est réduit chez les larves d'*Anopheles stephensi*

traitées avec végétaux (Senthilkumaret al. 2009; Rouibi, 2002; Kapelnikov et al. 2008; Khosravi&Sendi, 2010; Ebadollahi et al. 2013; Yazdani et al. 2013; MojarabMahboubkar et al. 2015; Askar et al. 2016; Borzoui et al. 2016).

II.3.2.Effet sur le contenu en glucides

Les glucides forment un groupe de composés très importants. Certains représentent une source d'énergie pour les organismes vivants, soit immédiatement utilisable (**tréhalose**), soit sous forme de réserves (glycogène) ; d'autres ont un rôle structural (cellulose, chitine, acide hyaluronique)(Nation, 2008).

Chez les larves traitées par la CL₅₀ nos résultats montrent, d'une part, une similarité de la teneur en glucides à 24 et 48 h et, d'autre part, une diminution marquée du taux de ce métabolite à 72 heures. Des résultats similaires ont été observés par **Driset al.(2017b)**, qui ont observé un déséquilibre glucidique total chez les larves et les pupes *Cx. pipiens* traités avec des huiles d'*Ocimum basilicum* et de **Khosravi et al.(2011)** chez les larves *Glyphodes pyloali* traitées par *A. annua*. **Abdul Razzaq et Sivasubramanian(2007)** ont constaté que les glucides chez une femelle adulte *Chrysoperla carnea* sont affectés par l'huile de manduca. Ce composé a également été réduit dans les larves de *Glyphodes*.

Dans des conditions stressantes, les glucides peuvent être métabolisés pour répondre à la dépense énergétique (**Yazdani et al. 2014**). Cela peut être la raison de l'épuisement des glucides chez les insectes traités.

II.3.3. Effet sur le contenu en lipides

Les lipides sont également des composants importants formés des acides gras, des phospholipides et des stérols qui font partie intégrante des parois cellulaires des insectes et contribuent également à d'autres fonctions (**Chapman, 1998**). Ils représentent la principale source d'énergie chez les insectes (**Beenakker et al. 1985**), transportés du corps gras, site de leur synthèse et stockage(**Keely, 1986 ; Van Hensdan & Law, 1989**) vers les organes utilisateurs. Les réserves lipidiques semblent être la résultante d'un équilibre entre la prise de nourriture et les dépenses énergétiques indispensables pour certains processus tel que la croissance (**Beenakker et al. 1985**).

Dans la présente étude, les résultats obtenus montrent que le traitement des larves de *Cx. pipiens* par l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*(CL₅₀) perturbe le contenu en lipides .

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Depuis toujours, l'être humain cherche à lutter contre les moustiques qui sont vecteurs de diverses maladies. Plusieurs moyens de lutte sont exploités, entre autres, l'utilisation des insecticides chimiques. Néanmoins, ces derniers ont un impact nocif sur la santé et l'environnement. Ainsi, le recours à des alternatives naturelles jouant le même rôle que les insecticides synthétiques et présentant des avantages écologiques et économiques, au vu de nombreux chercheurs, s'avère nécessaire.

L'armoise blanche « *Artemisia herba-alba* » est une plante médicinale et aromatique, utilisée depuis longtemps. Elle n'est pas exploitée à l'échelle qui se doit, malgré ses effets biologiques potentiels. Notre étude est axée sur l'évaluation du potentiel larvicide de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*, sur les larves de stade L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*.

Les résultats obtenus, montrent que l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* présente un effet larvicide "Concentration-dépendant" intéressant, sur les larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*.

La présente étude montre l'importance d'utilisation de plantes aromatiques en général et, spécialement, *Artemisia herba-alba* dans la lutte contre les moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* à cause de ses propriétés larvicides. Elle pourrait, donc, constituer une alternative moins coûteuse pour son application dans la production des bio-insecticides.

Il serait intéressant et nécessaire de poursuivre cette recherche, d'une part, en évaluant d'autres concentrations de l'huile essentielle de la plante *Artemisia herba-alba*, afin de déterminer les concentrations létales à l'égard de l'espèce *Culiseta longiareolata* et, d'autre part, en déterminant sa composition chimique afin de cibler le(s) composé(s) responsable(s) de l'effet larvicide.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

-A-

Abou El-Hamd, H.M., Magdi, A.E., Hegazy, M.E., Soleiman, E.H., Abeer, M.E., et Naglaa, S.M. (2010): Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba alba*. Rec. Nat. Prod. 4:1,1-25.

Aouati A. (2016). Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). Thèse de doctorat, Université des frères Mentouri, Constantine.

Aouati A. (2016) Morphologie générale d'une larve du stade IV de *Culex pipiens* .. [En ligne]. 27 <http://docplayer.fr/amp/169161340-Ljmhwy>.

Afnor, (1986). Huiles essentielles. Recueil de normes françaises. Edition Tec & Doc Lavoisier. 2^{ème} édition.

Azzouz, S. & Halib, S. (2017). Inventaire de la faune culcidiennne dans les palmeraies de la région de Bou Saâda, des essais de lutte [En ligne]. Mémoire du diplôme de Master Académique, Option de Ecologie des écosystèmes aquatique. Université Mohamed Boudiaf - M'Sila. 26-28p

-B-

Bouderhem A. (2015). 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 Master, Université Echahid Hamma Lakhdar, El-Oued.

Berrah F et Ahcene H. (2016). Etude préliminaire de l'effet larvicide d'une plante du genre *Rosmarinus* à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire de Master, Université Larbi Tébessi, Tébessa

Berkane Z et Boudiar N. (2018). Evaluation de l'effet larvicide des extraits apolaires et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire de Master, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.

Bouzi N. (2016). Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba* Asso ». Thèse de Doctorat, Université Mustapha Stamboulide, Mascara.

Boutaba ,Hadj Said et Gherieb. 2019 Cycle de vie *Culex pipiens* [En ligne]. <http://dspace.univ-tebessa.p> 45

Bechiri S et Tahar Mezedek S. (2018). Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* de la région d'El Kantara (wilaya de Biskra) et de

Menthapulegium du foret de Mesra (wilaya de Mostaganem). Mémoire de Master, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.

Bouzi N. (2016). Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba Asso* ». Thèse de Doctorat, Université Mustapha Stamboulide, Mascara

Beenakers, A.M.T.H., Vander Host, D.G. & Van Marrewijk, W.J.A. (1985). Insect lipids and lipoproteins

-C-

Cetin, H., Tufan-Cetin, O., Turk, A.O., Tay, T., Candan, M., Yanikoglu, A. & Sumbul, H. (2012). Larvicidal activity of some secondary lichen metabolites against the mosquito *Culiseta longiareolata* Macquart (Diptera: Culicidae), *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters* [En ligne]. 26:4, 350-355. <http://dx.doi.org/10.1080/14786411003774296>

-D -

Dahchar, Z. (2017). Inventaire des Culicidae de la région Ouest de la ville d'Annaba. Etude bio-écologique, systématique des espèces les plus abondantes. Lutte biologique anti larvaire par les extraits aqueux de quelques plantes (Médicinales et toxiques) et le *Bacillus thuringiensis israelensis* H14 [En ligne]. Thèse de Doctorat en Biologie, Option de Ecologie Animale. Université Badji Mokhtar Annaba. 1-24p.

Duchateau G. and Florkin M. 1959. Sur la trehalosemie des insectes et sa signification. *Arch. Insect Physiol. Biochem.*, 67: 306-314p.

Dris, D. (2018). Etude de l'activité larvicide des extraits de trois plantes *Mentha piperita*, *Lavandula dentata* et *Ocimum basilicum* sur les larves de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* (Linné) et *Culiseta longiareolata* (Aitken). Thèse de Doctorat en sciences. Spécialité Biologie Animale. Université Badji Mokhtar, Annaba. 140

Dajoz R, 2007. Dictionnaire d'entomologie (ANATOMIE SYSTEMATIQUE BIOLOGIE) Éditions TEC&DOC. Paris. PP348

-G-

Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Isamili, M.R., Houti, H., El Monfalouti, H., Benchakroun, K.H., Aberchane, M., Harki, L., Boukir, A., Chaouch, A., et Charrouf, Z. (2010): Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guerçif (Maroc oriental). *Phytothérapie* 8: 295-301.

Goldsworthy A.C., Mordue W. and Guthkelch J. 1972. Studies on insect adipokinetic

hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 18: 306-314 p.

Gnanamani, R. & Dhanasekaran, S. (2017). Efficacy of azadirachtaindica leaf extract on the biochemical estimation of a lepidopteran pest *Pericalliaricini* (Lepidoptera: Arctiidae). *World Applied Sciences Journal*. 35 (2): 177– 181.

-H-

Hazratian, T., Paksa, A., Sedaghat, M. M., Vatandoost, H., Moosa-Kazemi, S. H., Sanei-Dehkordi, A., Salim-Abadi, Y., Pirmohammadi, M., Yousefi, S., Amin, M. & Oshaghi, M. A. (2019). Baseline Susceptibility of *Culiseta longiareolata* (Diptera: Culicidae) to Different Imagicides, in Eastern Azerbaijan, Iran. *J Arthropod-Borne Dis* [En ligne]. 13(4): 407–415. <http://jad.tums.ac.ir>

Haubruge, É. & Amichot, M. (1998). Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. *Biotechnology Agronomy Society and Environment*. 2(3): 161– 174

-K-

Khaligh, F. G., Naghian, A., Soltanbeiglou, S. & Gholizadeh, S. (2020). Autogeny in *Culiseta longiareolata* (Culicidae: Diptera) mosquitoes in laboratory conditions in Iran. *BMC Research Notes* [En ligne]. 5(1).

Keely, L.L. (1986). Physiology and biochemistry of fat body, pp. 211 – 248. In GA Kerkut & L.I. Gilbert (eds): *Comprehensive Insect Biochemistry, physiology and pharmacology*, vol. 3, Pergamon Press, oxford

.-M-

Maifi A et Sakher S. (2018). Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait hydro-alcoolique et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire de Master, Université de Larbi Tébessi, Tébessa.

Messai L. (2011). Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est Algérien (*Artemisia herba alba*). Thèse de doctorat, Université Mentouri, Constantine.

Merabti, B., Boumaaza, M., Lebbouz, I., Ouakid, M. I. (2020). First record of the avian malaria vector *Cs. longiareolata* (Diptera: Culicidae) for the Southeast of Algeria. *J. Appl. Biosci* [En ligne]. 154: 15842 - 15861. <https://doi.org/10.35759/JABs.154.2>

Muriel, G. (2005). Évaluation in vitro de l'efficacité du fipronil sur *Culex pipiens pipiens*. Thèse de doctorat, Ecole national de vétérinaire, Toulouse.

Muriel, G. (2005). La Nymphe de *Culex pipiens* [En ligne]. 154: 15842 - 15861. <https://di.univ-blida.dz/jspui/bitstream/123456789/870/1/1> p 34

-N-

Nabti, I. & Bounechada, M. (2019). Larvicidal Activities of Essential Oils Extracted from Five Algerian Medicinal Plants against *Culiseta longiareolata* Macquart. Larvae (Diptera: Culicidae). *Eur J Biol* [En ligne]. 78(2). DOI: 10.26650/EurJBiol.2019.0015.

-R

Resseguier P. (2011). Contribution à l'étude du repas sanguins du *Culex pipiens*. Thèse de doctorat, Université Paul-Sabatier, Toulouse.

Resseguier P. (2011). Evaluation du potentiel larvicide des extraits organiques .dspace.univ tebessa p 23.

Resseguier P. (2011). OEufs de culex pipiens [En ligne]. <https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/biblio/mmf/2015/121-2015.pdf>

Resseguier P. (2011). Morphologie de l'adulte de *Culex pipiens* <https://www.ummt0.dz/dspace/bitstream/handle/ummt0.dz/19963/hadjaz> p 66

-S-

Senthilkumar, N., Varma, P. & Gurusubramaniam, G. (2009). Larvicidal and adulticidal activities of some medicinal plants against the malaria vector, *Anopheles stephensi* (Liston). *Journal of Parasitology Research*. 104: 237 – 244.

-V-

Vijayaraghavan, C., Sivakumar, C., Zadda Kavitha, M. & Sivasubramanian, P. (2010). Effect of plant extracts on biochemical components of cabbage leaf webber, *Crociodolomiabiotalis* Zeller. *Journal of Biopesticides*. 3 (1): 275–277.

-Y-

Yazdani, E., Jalal Jalali, S. & Hajizadeh, J. (2014). Effect of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. essential oils on toxicity, food consumption, and biochemical properties of lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*. 54 (1):53–61