

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليدجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
En vue de l'obtention du diplôme Master LMD

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Parasitologie

Présenté par :

LOUEIL Meriem & MEBARKI Samia

THEME

***Etude de l'effet des extraits de quelque plantes agrumes
et girofle contre les larves de Culiseta longiareolata***

Soutenu publiquement devant le jury composé :

Mme. BOUAAZARA Houria	MAB	Président
Dr. HAMIDA Lamine	MCB	Examineur
Dr. OUBRAHAM Farid	MCB	Encadrant
Pr. CHAIBI Rachid	Pr	Co-encadrant

Année Universitaire 2023/2024

Résumés

Résumé

Ce travail a été réalisé dans le but d'étudier l'effet de l'activité biologique et du potentiel insecticide de quelques agrumes *Citrus sinensis*, *Citrus reticulata*, *Citrus limon* et *Syzygium aromaticum* sur la mortalité des larves insectes L4 notamment l'espèce *Culiseta longiareolata*. Les extraits des plantes ont été extraits par deux méthodes : hydrodistillation, macération à travers trois solvants (Ethanol, Acétone et Hexane). Les résultats d'extraction montrent que le girofle était le meilleur producteur d'huile essentielle et Composé phénolique. Les résultats des tests de mortalités font apparaître que le girofle possède le pouvoir larvicide le plus puissant. Ainsi l'huile essentielle présente plus d'efficacité par rapport aux extraits de macération. L'estimation des indices DL50 et TL50 fait montre que *citrus reticulata* tue 50% de la population au bout de 24 h et une dose de 57,85µL, une dose 75,54µL au bout de 48 h et une dose 47,26µL au bout de 72 h. Il paraît que le girofle la meilleure alternative utilisée dans le cadre biologique contre les moustiques.

Mots clés : Huile essentielle, composés phénoliques, les agrumes, girofle, mortalité, substances bioactives, *Culiseta longiareolata*, bio insecticides.

المخلص

تم تنفيذ هذا العمل من أجل دراسة تأثير النشاط البيولوجي وإمكانات مبيدات الحشرات لبعض الحمضيات *Sinensis* و *Citrus reticulata* و *Citrus limon* و *Syzygium aromaticum* على نفوق يرقات الحشرات L4 وخاصة نوع *Culiseta longiareolata*. تم استخراج المستخلصات النباتية بطريقتين: الاستقطاب المائي، والنقع من خلال ثلاثة مذيبات (الإيثانول والأسيتون والهكسان). أظهرت نتائج الاستخراج أن القرنفل كان أفضل منتج للزيت العطري والمركب الفينولي. تظهر نتائج اختبارات الوفيات أن القرنفل لديه أقوى قوة لمبيدات اليرقات. وبالتالي فإن الزيت الأساسي له فعالية أكبر مقارنة بمستخلصات الضخم. ويبين تقدير الجرعة المميتة 50 والمؤشرات TL50 أن شبكة الحمضيات تقتل 50٪ من اليرقات بعد 24 ساعة وجرعة من 57.85µL، وجرعة من 75.54µL بعد 48 ساعة وجرعة من 47.26µL بعد 72 ساعة. يبدو أن القرنفل هو أفضل بديل يستخدم في الإطار البيولوجي ضد البعوض.

الكلمات الرئيسية: الزيت العطري، المركبات الفينولية، الحمضيات، القرنفل، الوفيات، المواد ذات التأثير البيولوجي، *Culiseta longiareolata*، المبيدات الحشرية الحيوية

Abstract

This work was carried out in order to study the effect of the biological activity and the insecticidal potential of some citrus fruits *Citrus sinensis*, *Citrus reticulata*, *Citrus limon* and *Syzygium aromaticum* on the mortality of insect larvae L4 in particular the species *Culiseta longiareolata*. Plant extracts were extracted by two methods: hydro distillation, maceration through three solvents (Ethanol, Acetone and Hexane). Extraction results showed that clove was the best producer of essential oil and phenolic compound. The results of the mortality tests show that the clove has the most powerful larvicide power. Thus, the essential oil has more effectiveness compared to the maceration extracts. The estimation of the LD50 and TL50 indices shows that citrus *reticulata* kills 50% of the population after 24 h and a dose of 57.85 μ L, a dose of 75.54 μ L after 48 h and a dose of 47.26 μ L after 72 h. it seems that cloves are the best alternative used in the biological framework against mosquitoes.

Keywords: Essential oil, phenolic compounds, citrus, clove, mortality, bioactive substances, *Culiseta longiareolata*, bio insecticides.



قَالَ تَعَالَى : (إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ
مَثَلًا مَا يَغُوضَتُهُ فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا
فَيَعْلَمُونَ أَنَّ اللَّهَ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ
كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا
يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ
بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ)

سورة البقرة آية (26)

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail à, Ceux qui j'ai tant aimé avec beaucoup d'affection
et je suis très fière de les avoir ou tous les mots du monde ne peuvent exprimer
l'amour et le respect que je leur port :

Ma très chère mère qui m'a soutenu et encouragé durant tout le long de ma vie.

A mes très chères sœurs : Oumaima, Khadija.

Mes chères frères : Omar et Imad et à toute ma famille, proche ou éloignée.

À mon ami Abdou 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,

A Ma cher binôme meriam j'ai partagée avec elle les joies et les difficultés au suivi
de notre travail. Et tous les membres de sa famille.

A mes amies et à toute la promotion de MASTER en Parasitologie.

Samia

Dédicace

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(Abdelmalek) dans ta détermination, ta force
et ton honnêteté.*

Ma mère (Fatoum) dans ta bonté, ta patience et ton dévouement pour nous.

Merci pour vos sacrifices, qui ont œuvré pour ma réussite.

À mes chères frères: Mohemmed ,Harzallah , Abdo, et Mourad

À mes chères soeurs : Fatima ,Souad

*À mon ami Jalil 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,*

*À mon chère binôme Samia j'ai partagée avec elle les joies et les difficultés au suivi
de notre travail.*

A mes amies de la promotion de Master en Parasitologie À toute ma grande famille .

A tous ceux qui m'aiment

A tous ceux qui j'aime.

Meriem

Remerciements



Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre DIEU qui nous a
donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

Nous voudrions remercier Mr CHAIBI Rachid, pour avoir accepté de nous encadrer, et
Mme AOUIR Fatima pour nous avoir bien orienté et pour ses conseils très importants
durant toute la période de cette recherche. Qu'il trouve ici nos sentiments de
gratitude et l'expression de notre vive reconnaissance.

Nous remercions Mme BOUAAZARA Houria d'avoir accepté de présider le jury. Nous
remercions également Mr HAMIDA Lamine, pour avoir accepté de bien vouloir
examiner et juger ce travail.

Nous remercions, nos collègues et nos amies pour les moments sympathiques
Qu'on a passé ensemble.

Nos sentiments de reconnaissances et nos remerciements vont également à l'encontre
de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à
la réalisation de ce travail.

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Position systématique de <i>Culiseta longiareolata</i>	04
02	Position systématique de <i>Citrus limon</i>	13
03	Position systématique de <i>Citrus sinensis</i>	14
04	Position systématique de <i>Citrus reticulata</i>	15
05	Position systématique de <i>Syzygium aromaticum</i>	16
06	Moyenne mensuelle et annuelle des Températures de la région de Djelfa (2006- 2017)	21
07	Moyennes mensuelles et annuelles des précipitations de la région de Djelfa	21
08	Protocol de préparation de différentes doses d'extrait avec le DMSO	33
09	les principales caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles extraites des quatre plantes	37
10	Caractéristiques générales des extraits organiques de quatre plantes extraites par trois solvants	38
11	Dose létale 25,50 et 90 des différents huiles essentielles (probits en fonction de la dose)	39
12	Temps léthal 25, 50 et 90 des différentes huiles essentielles (probits en fonction du temps)	40
13	Dose létale 25, 50 et 90 des extraits organiques du Citrus sinensis (probits en fonction du temps)	44
14	Temps léthal 50 et 90 des extraits organiques du Citrus sinensis (probits en fonction du temps)	45
15	Dose létale 25, 50 et 90 des extraits organiques du citrus reticulata (probits en fonction du temps)	47
16	Temps léthal 25, 50 et 90 des extraits organiques citrus reticulata (probits en fonction du temps)	48
17	Dose létale 25, 50 et 90 des extraits organiques du citrus limon (probits en fonction du temps)	50
18	Temps léthal 25, 50 et 90 des extraits organiques citrus limon (probits en fonction du temps)	51

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Les œufs de <i>Culiseta longiareolata</i> (originale; 2024)	06
02	Morphologie générale d'une larve de <i>Culiseta longiareolata</i> (originale;2024)	07
03	Aspect générale d'une nymphe de <i>Culiseta longiareolata</i> (originale;2024)	07
04	Morphologie générale d'un moustique adulte de <i>Culiseta longiareolata</i> (originale;2024)	09
05	Cycle de développement biologique du moustique <i>Culiseta longiareolata</i> (originale;2024)	10
06	Fruit de citron (originale; 2024)	13
07	Fruit d'orange (originale; 2024)	14
08	fruit de mandarine (originale; 2024)	15
09	fruit de de girofle (originale; 2024)	16
10	Montage de l'hydrodistillation de type Clevenger (Originale; 2024)	18
11	Evaporateur rotatif (Originale; 2024)	19
12	Situation géographique de la wilaya Djelfa	20
13	Diagramme Ombrothermique de Gaussen et Bagnauls de la région de Djelfa (2002-2012)	23
14	Oued Messâad (Originale; 2024)	24
15	Gite de l'Université Laghouat (Originale; 2024)	24
16	Elevage des œufs et Larve de stade 1et 2 (Originale; 2024)	25
17	les étapes d'identification des larves des moustiques (Originale ;2024)	26
18	séchage de plantes (Originale; 2024)	26
19	Broyage des plantes (Originale; 2024)	27
20	Schéma illustrant la démarche expérimentale suivie dans cette étude.	28

Liste des figures

21	Différentes étapes d'extraction des huiles essentielles (Originale; 2024)	30
22	Démarche méthodologique pour macérer les plantes (Originale; 2024)	31
23	Différentes étapes de préparation des extraits (Originale; 2024)	32
24	calcul de la masse d'extrait sec (Originale; 2024)	33
25	teste de mortalité des extraits et des HEs. (Originale; 2024)	34
26	Photo de la tête d'une larve d'insecte du stade L4 observe au microscope optique Gr :10×10 (Originale, 2024)	36
27	Photo d'un siphon d'une larve d'insecte du stade L4 observe au microscope optique Gr : 10×10 (Originale, 2024)	36
28	Résultats en pourcentage de différents rendements d'HE des quatre plantes	37
29	Résultats en pourcentage de différents rendements des extraits organiques	39
30	cinétique de mortalité de différentes concentration d'HE de la plante <i>Citrus sinensis</i>	41
31	Cinétique de mortalité de différentes concentrations d'HE de la plante <i>Citrus reticulata</i> .	42
32	Cinétique de mortalité de différentes concentrations d'HE de la plante <i>Citrus limon</i>	43
33	Cinétique de mortalité de différentes concentrations d'HE de la plante <i>Syzygium aromaticum</i>	43
34	Effet toxique des extraits polys phénoliques du <i>Citrus sinensis</i> à base de trois solvants (Hexane, Ethanol et Acétone)	46
35	Effet toxique des extraits polys phénoliques du <i>citrus reticulata</i> à base de trois solvants (Hexane, Ethanol et Acétone)	49
36	Effet toxique des extraits poly phénoliques de <i>Citrus limon</i> à base de trois solvants (Hexane, Ethanol et Acétone)	52
37	Effet toxique des extraits poly phénoliques de <i>Syzygium aromaticum</i> a base de trois solvants (Acétone, Hexane et Ethanol)	54
38	Comparaison effet de quatre huiles essentielles du <i>Citrus limon</i> , <i>Citrus reticulata</i> , <i>Citrus sinensis</i> et du <i>Syzygium aromaticum</i>	55
39	Comparaison effet des extraits acétoniques du <i>Citrus limon</i> , <i>Citrus reticulata</i> , <i>Citrus sinensis</i> et du <i>Syzygium aromaticum</i>	56
40	Comparaison effet des extraits hexanoïques du <i>Citrus limon</i> , <i>Citrus reticulata</i> , <i>Citrus sinensis</i> et du <i>Syzygium aromaticum</i>	57
41	Comparaison effet des extraits éthanoliques du <i>Citrus limon</i> , <i>Citrus reticulata</i> , <i>Citrus sinensis</i> et du <i>Syzygium aromaticum</i>	58

Liste des figures

Liste des abréviations :

μL: Microlitre

AFNOR : Association française de normalisation.

CDL : La Commission de Développement Local-Assises.

Cm : Centimètre.

C° : Degré Celsius.

DL : Les doses létales.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

Km : kilomètre .

L1 : Larve de stade 1.

L2 : Larve de stade 2.

L3: Larve de stade 3.

L4: Larve de stade 4.

ml : Millilitre.

h : Heure.

gr : Gramme.

mm : Millimètre.

NaOH: Hydroxyde de sodium.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé .

PAs : Plantes aromatiques.

R%: Rendement en %.

Rd(%): Rendement (%).

RHE : Rendement en huiles essentielles.

TL: Les temps létaux.

HEs : Huiles essentielles

Titre	Page
ملخص Résumé Abstract Dédicaces Remerciements Liste des tableaux Liste des figures Liste des abréviations	
Introduction	01
APERCU BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Généralités	
I. Présentation des modèles biologiques	03
1. Généralités sur les Culicidae	03
1.2. Présentation de l'insecte <i>Culiseta longiareolata</i>	03
1.3. Position systématique de <i>Culiseta longiareolata</i>	03
1.4. Caractéristiques de <i>Culiseta longiareolata</i>	04
1.5. Habitat de <i>Culiseta longiareolata</i>	05
1.6. Nutrition de <i>Culiseta longiareolata</i>	05
1.7. Morphologie de <i>Culiseta longiareolata</i>	05
1.7.1. Les œufs	05
1.7.2. La larve	06
1.7.3. la nymphe	07
1.7.4. L'adulte	08
1.7.4.1. La tête	08
1.7.4.2. Le thorax	08
1.7.4.3. L'abdomen	08
1.8. Cycle de vie	09
1.9. Facteurs de développement	10
1.9.1. Les facteurs naturels	10
1.9.2. Les facteurs artificiels	11
1.10. La lutte contre <i>Culiseta longiareolata</i>	11
1.10.1. La lutte chimique	11
1.10.2. La lutte biologique	11
1.10.3. La lutte physique	11
1.10.4. La lutte génétique	12

2. Généralités sur les plantes étudiées	13
2.1. <i>Citrus limon</i>	13
2.1.1. Description botanique	13
2.1.2. Position systématique de citronnier	13
2.2. <i>Citrus sinensis</i>	14
2.2.1. Description botanique	14
2.2.2. Position systématique d'oranger	14
2.3. <i>Citrus reticulata</i>	15
2.3.1. Description botanique	15
2.3.2. Position systématique de mandarinier	15
2.4. <i>Syzygium aromaticum</i>	16
2.4.1. Description de giroflier	16
2.4.2. Position systématique de giroflier	16
II. Généralité sur les substances bioactives	17
1. Les huiles essentielles	17
1.1. Définition les huiles essentielles	17
1.2. Localisation des huiles essentielles	17
1.3. Technique d'extraction des huiles essentielles	17
• Extraction par hydro-distillation	17
1.4. Role des huiles essentielles	18
2. Les composés phénoliques	18
2.1. Définition les composés phénoliques	18
2.2. Techniques d'extraction des composés phénolique	19
• Macération	19
Chapitre II : Matériel et méthodes	
I. Présentation générale de la région d'étude	20
1. Situation géographique de la wilaya Djelfa	20
2. Caractérisation climatique	21
2.1. La température	21
2.2. La pluviométrie	21
3. Synthèse climatique	22
3.1. Diagramme Ombrothermique de GAUSSEN	22
4. Présentation du site d'étude	23

II. Protocoles expérimentaux	23
1. Matériel animal	23
1.1. Méthode d'échantillonnage de populations <i>Culiseta</i>	23
1.2. Condition d'élevage	24
2. Méthode d'identification des moustiques	25
2.1. Montage des lames et identification des larves	25
3. Matériel végétal	26
3.1. Préparation du matériel végétal et extraction des substances (HEs, Polyphénol)	26
3.1.1. Séchage	26
3.1.2. Broyage	27
4. Méthodes d'extractions	27
4.1. L'extraction des huiles essentielles par hydro-distillation	29
4.1.1. Rendement des huiles essentielles	30
4.1.2. Les dilutions des HEs	30
4.2. Préparation des extraits	31
a. Macération	31
b. Evaporation	32
4.2.1. Rendement d'extraction	33
4.2.2. Préparation des doses des extraits	33
5. Détermination de l'effet larvicide des extraits sur l'espece <i>Culiseta longiareolata</i>	34
5.1. Protocole d'expérimentaux	34
6. Test de toxicité	34
6.1. Paramètre de toxicité étudiée	35
6.1.1. Taux de mortalité	35
6.1.2. Cinétique de mortalité	35
6.1.3. Doses létales	35
6.1.4. Temps létaux	35
Chapitre III : Résultats et discussion	

Résultats :	36
1. Identification de l'insecte	36
Tête	36
Le Siphon	36
2. Estimation du rendement et caractéristique des extraits	37
2.1. Rendement et caractéristiques des huiles essentielles	37
2.2. Rendements et caractéristiques des extraits organiques	38
3. Résultats du test de toxicité	39
Efficacité de l'activité larvicide	39
3.1. Détermination doses létales des HEs	39
3.2. Détermination temps létaux des HEs	40
3.3. L'effet larvicide des huiles essentielles	41
3.3.1. Effet d'huile essentielle de <i>Citrus sinensis</i>	41
3.3.2. Effet d'huile essentielle de <i>Citrus reticulata</i>	42
3.3.3. Effet d'huile essentielle de <i>Citrus limon</i>	42
3.3.4. Effet d'huile essentielle <i>Syzygium aromaticum</i>	43
4. L'effet larvicide des extraits organiques	44
4.1. <i>Citrus sinensis</i>	44
4.1.1 Détermination doses létales	44
4.1.2. Détermination temps létaux	45
4.1.3. Effet toxique des extraits poly-phénoliques d'orange	45
4.2. <i>Citrus reticulata</i>	47
4.2.1. Détermination doses létales	47
4.2.2. Détermination temps létaux	48
4.2.3. Effet toxique des extraits polys phénoliques de la Mandarine	49
4.3. <i>Citrus limon</i>	50
4.3.1. Détermination doses létales	50
4.3.2. Détermination temps létaux	51
4.3.3. Effet toxique des extraits polys phénoliques de Citron	52
4.4. <i>Syzygium aromaticum</i>	53
4.4.1. Effet toxique des extraits poly-phénoliques du <i>Syzygium aromaticum</i>	53

5. Comparaison de l'efficacité des quatre plantes	55
5.1. Comparaison des huiles essentielles des quatre plantes	55
5.2. Les extraits acétoniques	56
5.3. Les extraits hexanoïques	56
5.4. Les extraits éthanoliques	57
Discussion	59
Conclusion	61
Références bibliographiques	
Annex	

INTRODUCTION

Introduction

Introduction générale

Les Culicidae sont des Insectes Mécoptéroïdes Diptères Nématocères remarquables par l'évolution progressive qui affecte parallèlement l'imago et la larve. Ils occupent la première place, soit par le rôle de vecteur d'organismes pathogènes de certains de ses représentants, soit par la nuisance d'autres. Au cours des dernières années, le moustique est devenu très répandu dans la région présaharienne et peut menacer de propager des maladies graves. Dans le cadre d'un inventaire des Culicidae dans la région de Biskra (Nord-est d'Algérie) (**Merabti et Ouakid, 2011**).

Face au danger des pesticides, l'OMS à interdire l'usage de certains insecticides chimiques, d'autres vont être prohibés dans un futur proche. Il est donc nécessaire de poursuivre la recherche de molécules nouvelles en prenant en compte d'autres critères que l'efficacité. Cette recherche s'est orientée vers la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles actives, non polluantes et s'utilisant dans une lutte moins nocive et plus raisonnée. La lutte biologique prend diverses formes, mais celle qui retient l'attention des chercheurs actuellement est la lutte biologique par l'utilisation des substances naturelles d'origines végétales (**Benayad, 2008**).

Dans le cadre de la lutte contre les Culicidae, plusieurs méthodes essentiellement chimiques sont ritualisées. Cependant, ceux a base des pesticides, qui sont des polluants stricts pour l'environnement. Donc, devant cette situation, la recherche de méthodes de lutte alternatives s'impose. Les plantes aromatiques ont l'aptitude à synthétiser de nombreux métabolites secondaires en réponse aux stress biotiques et abiotiques qu'ils peuvent subir. Ces métabolites secondaires posséder diverses propriétés biologiques (**Haddouchi et al., 2009**).

Les extraits des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses et pour la protection des aliments contre l'oxydation (**Yekhlef., 2010**). Ces substances naturelles qui présentent un large spectre d'action en pharmacologie, comme bactéricides, fongicides, acaricides, etc., peuvent aussi être utilisées comme insecticides de remplacement. L'utilisation des extraits de plantes comme insecticides est connue

Introduction

depuis longtemps, en effet le pyrèthre, la nicotine et la roténone sont déjà connus comme agents de lutte contre les insectes (**Crosby et al., 1966**).

L'objectifs d'étude :

- ✓ Extraction des HEs par méthode d'hydrodistillation clevenger.
- ✓ Extraction des composés phénolique par méthode de macération.
- ✓ Optimisation des conditions standards pour élevage des larves d'insectes 4^{eme} stade.
- ✓ Test de toxicités de différents extraits sur les larves de stade L4.
- ✓ Estimation de cinétique et la mortalité corrigé de DL₂₅, DL₅₀ et DL₉₀.

Le présent a manuscrit est organisé en trois chapitres :

Le premier chapitre est juste après une introduction générale. Il englobe toutes les informations et les notions de bases liées aux modèles biologique que ce soit huiles essentielles, insectes et plantes.

Le deuxième chapitre ; traite les différentes méthodes et technique appliqué lors de la réalisation de l'expérimentation.

Le chapitre trois : représente les résultats et leurs discussions.

En fin une conclusion générale et des perspectives su travaux.

Généralités

I. Présentation des modèles biologiques

Dans la présente étude, nous avons intéressés par l'interaction (action-réaction) plantes insectes.

- Quatre plantes : *Citrus limon*, *Citrus reticulata*, *Citrus sinensis*, *Syzygium aromaticum*.
- Une seule espèce d'insecte : *Culiseta longiareolata*.

1. Généralités sur les Culicidae

Les Culicidae sont des insectes mécoptéroïdes nématocères qui se distinguent par leur évolution progressive qui affecte simultanément l'imago et la larve (**Merabeti et Ouakid, 2011**). La famille des Culicidae comprend environ 3500 espèces et 41 genres recensés à l'échelle mondiale. Actuellement, Elle se subdivise en trois sous familles dont les Toxorhynchitinae, les Culicinae, les Anophelinae (**Brunhes et al, 1999**). En Algérie, 50 espèces des culicidés de 6 genres différents sont regroupés dans les sous familles des Anophelinae et les culicinae (**Hassaine, 2002**).

Ce sont des insectes à métamorphose totale (Holométaboles), ce qui signifie que les trois stades de développement (larve, nymphe et adulte) présentent des morphologies distinctes, adaptées à leurs modes de vie : aquatique pour les stades pré-imaginaux (non adultes) et aérien pour le stade imaginal (adulte) (**Berrah et Ahcene, 2016**).

1.2 Présentation de l'insecte *Culiseta longiareolata*

Cette espèce appartient à la famille des Culicidae et à la sous-famille des Culicinae (**Khaligh et al, 2020**). Il s'agit d'une espèce courante et répandue dans de nombreux pays d'Europe, d'Afrique et également d'Asie (**Hazratian et al, 2019**). Elle est très répandue en Algérie, notamment dans le sud du pays.

Il est responsable de la propagation de la brucellose, de la grippe aviaire et de l'encéphalite dans le Nil occidental (**Hazratian et al, 2019**). Se développe principalement dans les petits plans d'eau, et les adultes ont la capacité d'entrer dans les habitations et d'attaquer les humains, même si leurs principaux hôtes sont les oiseaux. On peut facilement différencier ces espèces de moustiques des autres espèces de *Culiseta longiareolata*, et leurs caractéristiques morphologiques comprennent des rayures blanches et des points sur les jambes, la tête et le thorax (**Khaligh et al, 2020**).

1.3. Position systématique de *Culiseta longiareolata*

Le moustique est le nom commun des insectes de la famille des Culicidae, qui représentent le sous-ordre des Nématocères dans l'ordre des Animalia. Les adultes ont la particularité d'avoir une seule paire d'ailes. On réduit les ailes postérieures en moignons appelés

balanciers ou haltères. Les culicidés se différencient des autres types de nématocères piqueurs en ayant une trompe longue et en ayant des écailles sur les nervures alaires (**Gridet Hamadi, 2018**).

La position systématique de *C. longiareolata* a été proposé par (**Aitken, 1954**) qui classe *Culiseta* comme suit (**Tableau 01**).

Tableau 01 : Position systématique de *Culiseta longiareolata*.

Classification	Dénomination
Règne	Animalia
Sous-règne	Metazoa
Embranchement	Arthropoda
Sous embranchement	Hexapoda
Super-classe	Protostomia
Classe	Insecta
Sous-classe	Pterygota
Infra-classe	Neoptera
Super-ordre	Endopterygota
Ordre	Diptera
Sous-ordre	Nematocera
Infra-ordre	Culicomorpha
Famille	Culicidae
Sous-famille	Culicinae
Genre	<i>Culiseta</i>
Espèce	<i>Culiseta longiareolata</i> (Aitken, 1954)

1.4. Caractéristiques de *Culiseta longiareolata*

Cette espèce est multivoltine avec un développement continu dans les pays chauds à large distribution (**Merabti et al, 2020**). *C. longiareolata* a des fonctionnalités adaptatives et de survie uniques (**Nabti et Bounechada, 2019**). Les premier et deuxième stade de *C. 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**).

1.5 Habitat de *Culiseta longiareolata*

Culiseta longiareolata est une espèce commune du sud de la région paléarctique dans les régions orientales et afro-tropicales. On la retrouve de manière très répandue dans toute l'Afrique méditerranéenne (**Brunhes et al, 1999**).

En Algérie, elle représente l'espèce la plus abondante dans la région de Tébessa (**Tine-Djebbar et al, 2016**). Les adultes se trouvent tout au long de l'année, avec une densité maximale au printemps et une autre à l'automne (**Brunhes et al, 1999**).

1.6 Nutrition de *Culiseta longiareolata*

La première chose à manger au crépuscule est une transige de nectar. Ce genre d'aliment permet la maturation des parties reproductrices et la constitution de réserves d'énergie pour le vol. Une fois la reproduction terminée, les femelles consommeront un aliment sanguin qui sera nécessaire pour la production des œufs. Mais les femelles de *Culiseta longiareolata* ont produit une première ponte sans nourriture : elles sont qualifiées d'autogènes. Elles exploitent les réserves occupées par la larve (**Vinogradova, 2000**).

1.7 Morphologie de *Culiseta longiareolata*

Les culicidés, qui font partie de l'ordre des Diptères et du sous-ordre des Nématocères, sont des insectes piqueurs-suceurs de sang (**Hamaidia et Brechi, 2018**).

De manière morphologique, les culicidés se distinguent par leurs antennes longues et fines, avec plusieurs articles (6 à 40 articles), leurs ailes écaillées et leurs pièces buccales longues et vulnérables en forme de trompe rigide, connues sous le nom de trompes piqueurs (**Alayat, 2012**).

1.7.1. Les œufs

L'œuf se compose de l'intérieur vers l'extérieur : l'embryon, la membrane vitelline pellucide, un endo-chorion épais et un exo-chorion plus ou moins pigmenté et ornementé. Il mesure 2 à 3 mm de taille (**Rodhain et Perez, 1985**).

Lors de la ponte, il est de couleur blanchâtre et acquiert rapidement une teinte marronne ou noire en raison de l'oxydation de certains composants chimiques de la thèque (**Seguy, 1951**). Les œufs de *Culiseta*, qui sont regroupés en nacelle, sont de forme cylindro-conique et contiennent entre 50 et 400 œufs. Sont déposés à la surface de l'eau par les femelles, dont l'état de l'eau est toujours stagnant et riche en matières organiques (**Paul, 2009**).



Figure 01 : Les œufs de *Culiseta longiareolata* (originale ;2024).

1.7.2. La larve

Son corps est vermiforme et se compose de trois segments : la tête, le thorax trapu dépourvu d'appendices locomoteurs, ce qui ne signifie pas qu'elle soit immobile et l'abdomen souple. Sa taille varie de 2 à 12 mm en moyenne en fonction des stades et des espèces. Son extrémité caudale est équipée d'un siphon ou tube respiratoire (dans le prolongement de l'abdomen) qui s'ouvre sur l'eau. Ce tube est muni de 5 clapets qui s'ouvrent sur l'eau. Deux trous d'air entrent à l'intérieur lorsque la larve atteint la surface de l'eau et se referment lorsque celle-ci descend en profondeur (**Kettle, 1995**)

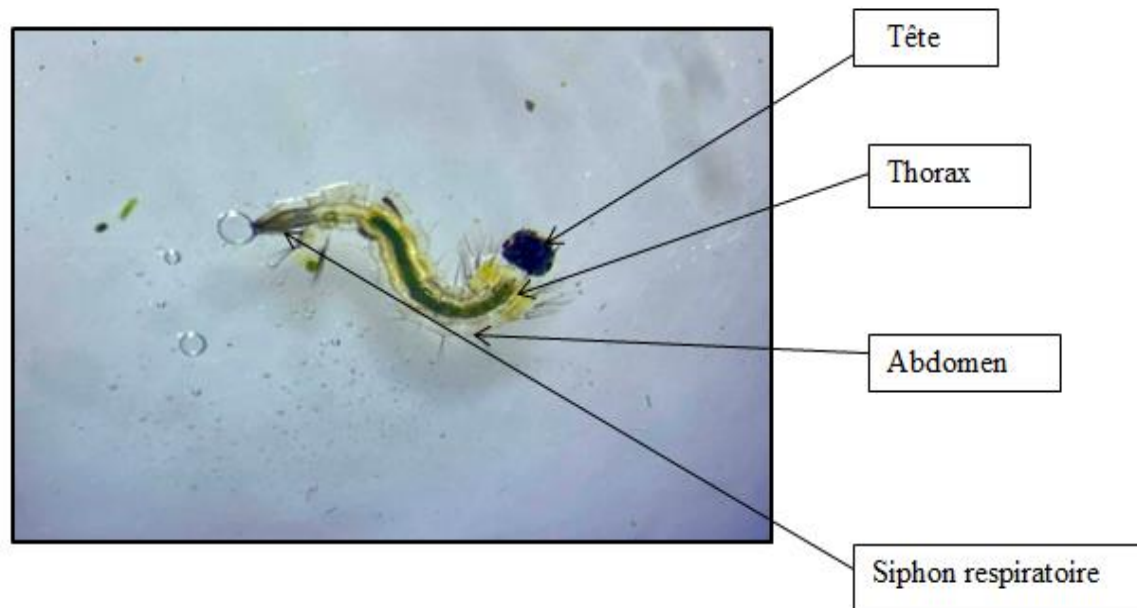


Figure 02 : Morphologie générale d'une larve de *Culiseta longiareolata* (originale ;2024).

1.7.3. La nymphe

La nymphe ou pupa est de forme virgule, mobile, avec un céphalothorax fortement renflé et deux trompettes respiratoires (Bouderhem, 2015). La nymphe, qui est aussi aquatique, éphémère (de 1 à 5 jours) (Azzouz et Halib, 2017). La nymphe est mobile, mais elle ne se nourrit pas (Pagès, 2017), mais à ce stade, le moustique subit des changements morphologiques et physiologiques importants. À la fin de cette période, la nymphe produit un individu adulte, qu'il soit un mâle ou une femelle (Dahchar, 2017).

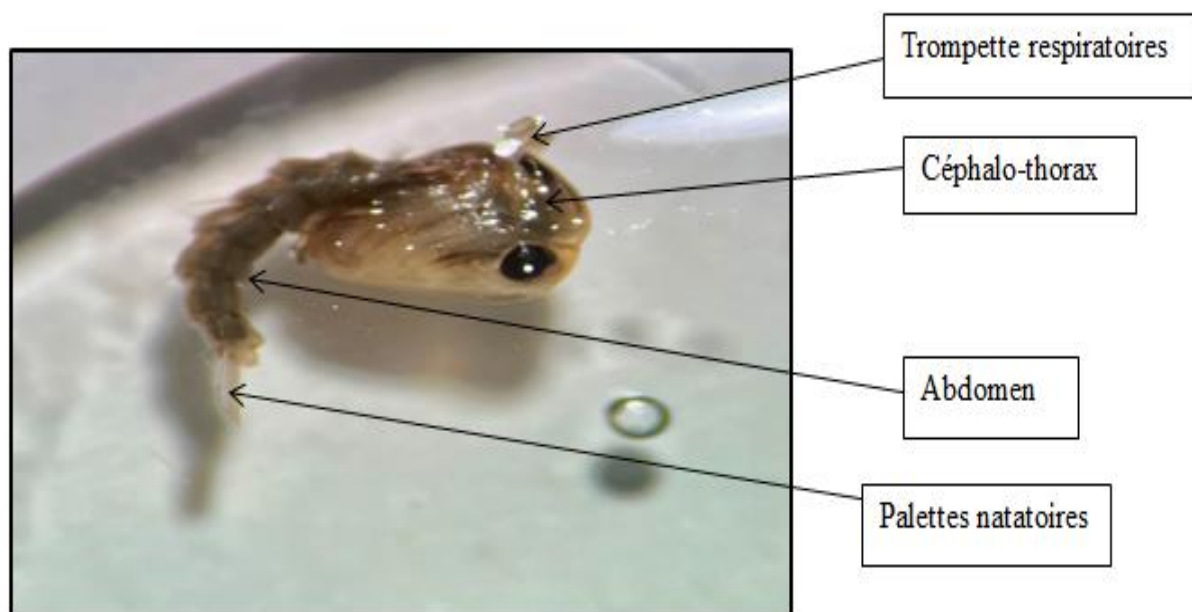


Figure 03 : Aspect générale d'une nymphe de *Culiseta longiareolata* (originale ;2024).

1.7.4. L'adulte

L'adulte a une taille moyenne d'environ 9 mm, généralement brun clair, avec des bandes antérieures claires sur les tergites abdominaux (Fig 08), et se distingue facilement des autres familles de nématocères par les écailles dont le corps est recouvert et par la trompe très allongée. L'adulte est constitué de trois parties distinctes : la tête, le thorax et l'abdomen, dont la connaissance est indispensable en systématique (**Alayat, 2012**).

1.7.4.1. La tête

La tête des insectes est une capsule formée de plusieurs pièces unies par des lignes de suture. Elle comporte divers organes comme les yeux, les antennes, et des pièces buccales (la trompe) (**Guèye, 2013**).

1.7.4.2. Le thorax

Sombre à noir, est la partie centrale du corps à laquelle sont attachées les ailes et les pattes, composé de trois segments soudés (**Larbi, 2015**). le prothorax, le mésothorax et le métathorax, Chaque segment porte une paire de pattes (**Tahraoui, 2012**).

1.7.4.3. L'abdomen

Composé de dix segments couverts d'écailles plates, les huit premiers étant clairement distincts, tandis que les deux segments apicaux sont modifiés pour les fonctions sexuelles. La taxonomie des Culicidés est intéressée par les pièces du mâle (hypopygium ou génitalia), la coloration des écailles et leur disposition (**Seguy, 1950**).



Figure 04 : Morphologie générale d'un moustique adulte de *Culiseta longiareolata* (originale ;2024).

1.8. Cycle de vie

Les moustiques sont des insectes holométaboles, dont le cycle de développement passe par une première vie aquatique avec les œufs, les stades larvaires et le stade nymphale, puis après la métamorphose, une vie aérienne avec le stade adulte (**Fig. 5**) .

Ce cycle s'étend sur une période d'environ douze à vingt jours dans les conditions idéales. Les moustiques se reproduisent en vol ou dans la végétation et ne se reproduisent généralement qu'une seule fois pendant leur vie. La femelle, après avoir ingéré du sang, s'installe dans un endroit sûr pour manger. Les œufs pondront entre 2 et 4 jours après la prise du sang(Clements, 2001).

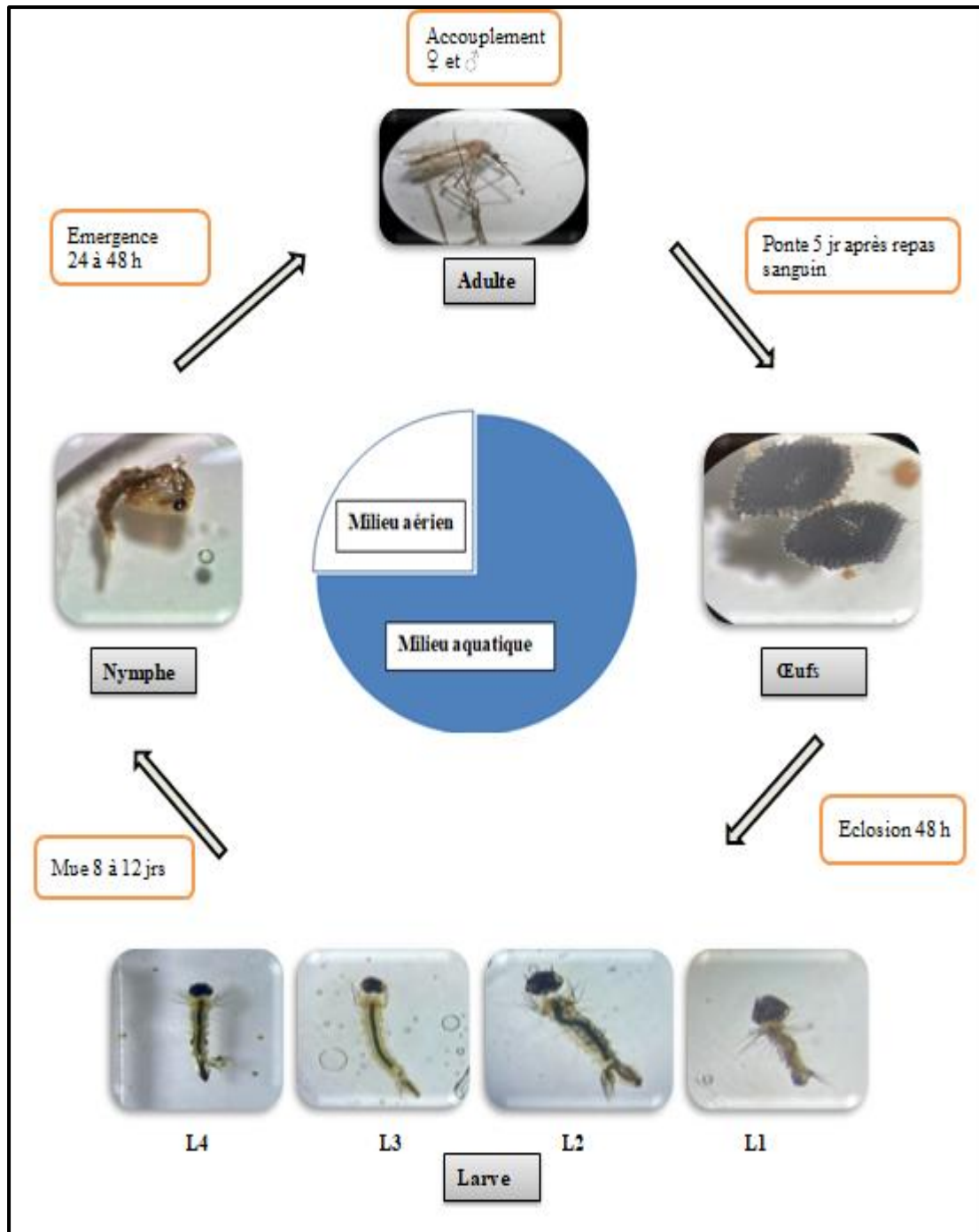


Figure 05 : Cycle de développement biologique du moustique *Culiseta longiareolata* (originale ;2024).

1.9. Facteurs de développement

Différents facteurs vont influencer sur le degré d'humidité, et ainsi jouer un rôle dans le développement des *Culex*, On trouve

1.9.1. Les facteurs naturels : la fréquence des précipitations ainsi que leur quantité, des orages dont les dégâts peuvent causer des crues, la résurgence des nappes phréatique. Ce type

de facteurs dépend essentiellement de la région et il est difficile pour l'homme de les contrôler (**Ripert, 2007 ; Subra et Hebrard, 1975**).

1.9.2. Les facteurs artificiels : les systèmes d'irrigation par gravité tels que les rivières, les zones d'élevage piscicoles et d'aquaculture, les stations d'épuration, les barrages et les lacs artificiels. Ces facteurs sont plus facilement contrôlables car créés par l'homme (**Ripert, 2007 ; Subra et Hebrard, 1975**).

1.10. La lutte contre *Culiseta longiareolata*

Depuis plusieurs années, des recherches sont réalisées afin de trouver une stratégie pour combattre ces moustiques, que ce soit par des moyens chimiques, biologiques, génétiques ou physiques.

1.10.1. La lutte chimique

La lutte chimique comporte à l'emploi de produits chimiques de synthèse pour batailler contre les larves et les imagos de moustiques. Les insecticides chimiques sont efficaces sur les moustiques. On utilise surtout des produits neurotoxiques, possédant eu à long terme des résultats secondaires dans l'environnement comme l'arrivée des espèces résistantes. En conséquence, en plus de leur coût élevé (**Soltani, 2015**).

1.10.2. La lutte biologique

La lutte biologique auprès des moustiques et autres espèces nuisibles comporte à conduire dans leurs biotopes des espèces qui sont leurs adversaires naturels, par exemple, des parasites, des micro-organismes pathogènes ou des prédateurs. Il s'agit d'insectes, de virus, de bactéries, de protozoaires, de champignons, de végétaux divers (**OMS, 1999**).

Deux principaux types de lutte biologique ont été employés pour tuer les moustiques.

Selon **Pates et Curtis (2005)**, la première consiste à utiliser un poisson prédateur, la gambusie (*Gambusia holbrooki*). Le second concerne l'emploi de microbes tels que *Bacillus sphaericus* (**Beckee, 1998**).

1.10.3. La lutte physique

La gestion environnementale des populations de moustiques est essentielle pour toute lutte anti-vectorielle. Cela implique à la fois une modification des habitats pour prévenir, limiter ou supprimer les gîtes larvaires potentiels (drainage des zones humides, traitement des eaux usées, remblai) et une adaptation du comportement humain afin de minimiser le contact entre

l'hôte et le vecteur (gestion des déchets, suppression ou bâchage de récipients d'eau potentiels).**(Bawin, 2014).**

1.10.4. La lutte génétique

Il s'agit de manipuler le patrimoine génétique des moustiques pour obtenir des individus transgéniques qui peuvent être soit stériles, soit résistants aux parasites qu'ils transmettent habituellement. Les plantes comme les algues qui se reproduisent dans les gîtes larvaires sont également intéressées par les manipulations. L'intégration des gènes de toxines bactériennes dans ces algues génétiquement modifiées a un impact sur les larves de moustiques **(Merabti 2016).**

2. Généralité sur les plantes étudiées :

2.1 *Citrus limon*

2.1.1 Description botanique

C'est un arbre à feuilles persistantes, oblongues lancéolées, à limbe nettement articulé avec un pétiole non ailé. Il peut vivre environ quatre-vingt ans. Ses fleurs à pétales blanc violacé, axillaires, sont réunies en petits groupes. Ses fruits oblongs, pointus de 8 à 12 cm de long, de couleur d'abord verte, virant au jaune à maturité, ont une pulpe acide et une écorce épaisse contenant une essence à odeur forte et quelques graines à cotylédons blancs (Nicolas, 2016).

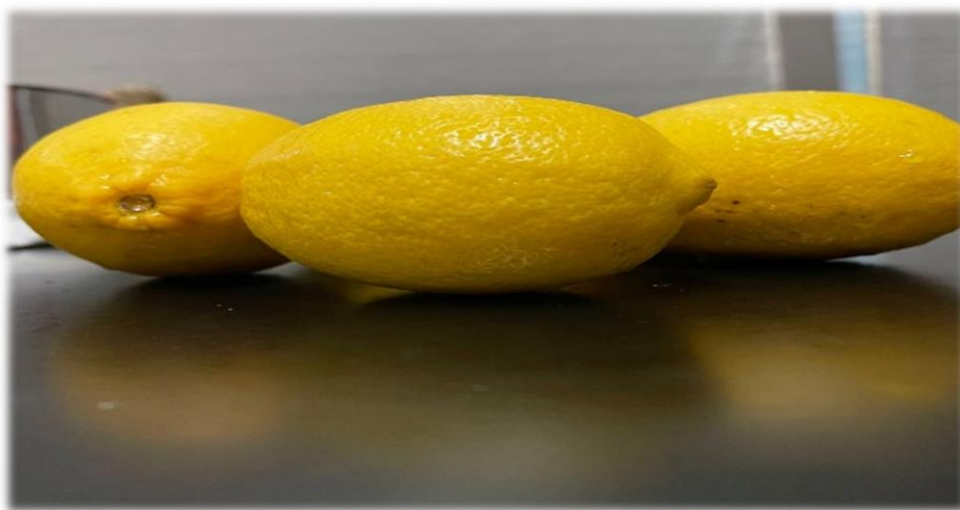


Figure 06 : Fruit de citron (originale ;2024).

2.1.2 Position systématique de citronnier :

Tableau 02 : Position systématique de *Citrus limon*
(Dev et al,2016).

Classification	Dénomination
Règne	Plantae
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citrus limon</i>

2.2 *Citrus sinensis*

2.2.1 Description botanique

Oranger est un arbre environ de 6 à 13 m de haut à feuilles persistantes, racines peu profondes et des branches principalement épineuses. Les feuilles sont lisses et ovales d'un vert foncé au-dessus, brillant, avec une odeur caractéristique souvent similaire aux fruits, à pétiole articulé peu ailé. Fleur cireuse d'un blanc verdâtre, parfumée. Fruits moyen, globuleux, peau lisse, orange claire à rouge foncé (Dugo et Di Giacomo, 2004)



Figure07 : Fruit d'orange (originale ;2024).

2.2.2 Position systématique d'oranger :

Tableau 03 : Position systématique de *Citrus sinensis*
(Chand et al, 2020).

Classification	Dénomination
Règne	Plantae
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citrus sinensis</i> L

2.3 *Citrus reticulata*

2.3.1 Caractéristiques botaniques

Le mandarinier est un petit arbuste au port arrondi d'un parfum exotique à cause de ses fleurs, d'une taille variable qui peut atteindre 3-5 m de hauteur et largeur avec de nombreux rameaux épineux (**Lime, 2012**), produisant le fruit qui peut se distinguer des autres agrumes par sa couleur rougeâtre attrayante et sa peau lisse facile à pelée (**Ladaniya, 2008**).



Figure 08 : fruit de mandarine (originale ;2024).

2.3.2 Position systématique de mandarinier :

Tableau 04 : Position systématique de *Citrus reticulata*.

D'après (**Guignard, 2001**).

Classification	Dénomination
Règne	Plante
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citrus reticulata</i> Blanco

2.4 *Syzygium Aromaticum*

2.4.1 Caractéristiques botaniques

Le girofle (*Syzygium aromaticum* L.) est une épice aromatique possédant un ligneux de 6 à 12 m de haut, qui peut vivre jusqu'à 150 ans. C'est un arbre sempervirent, de forme pyramidale ou conique, qui possède un tronc principal de forme oblique. Il est recouvert, ainsi que tous les rameaux, d'une écorce lisse et de couleur gris clair. Chaque rameau porte à son extrémité un bouquet de 4 à 10 feuilles avec un bourgeon terminal. De nos jours, il ressemble souvent à un arbuste car il est régulièrement taillé pour faciliter la cueillette (Atmani et Baira, 2015).



Figure 09 : fruit de de girofle (originale ;2024).

2.4.2 Position systématique de giroflier :

Tableau 05 : Position systématique de *Syzygium aromaticum*
Selon (Sophie, 2015).

Classification	Dénomination
Règne	Plantae
Classe	Angiosperme
Sous-classe	Tiporées
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Syzygium</i>
Espèce	<i>Syzygium aromaticum</i>

3. Généralité sur les substances bioactive :

3.1. Les huiles essentielles

3.1.1. Définition Les huiles essentielles

Les HEs aussi appelées huiles volatiles, sont des métabolites secondaires produits par les plantes aromatiques pour combattre les infections et les parasites, elles sont synthétisées en réponse à des conditions de stress. L'organisme de normalisation (**AFNOR, 2000**) (association française de normalisation) a défini l'huile essentielle comme un : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (**Bruneton, 2009**).

3.1.2. Localisation de l'huile essentielle

Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles essentielles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums. Les huiles essentielles se trouvent dans tous les organes de la plante : feuilles, fleurs, racines, graines, écorces, bois. La composition de l'HE (qualitative et quantitative) peut varier selon sa localisation dans la plante (**Chouitah, 2012**).

3.1.3. Technique d'extraction des huiles essentielle :

Différentes techniques sont utilisées pour l'extraction des huiles essentielles à partir des différentes parties des plantes (**Bruneton, 1999**).

- **Extraction par hydro-distillation :**

L'hydro-distillation demeure la technique la plus utilisée pour la production d'huile essentielle et elle reste sans doute la plus rentable. Le procédé correspond à une distillation hétérogène, et consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition, généralement à pression atmosphérique. (**Fernandez et Chemat, 2012**).

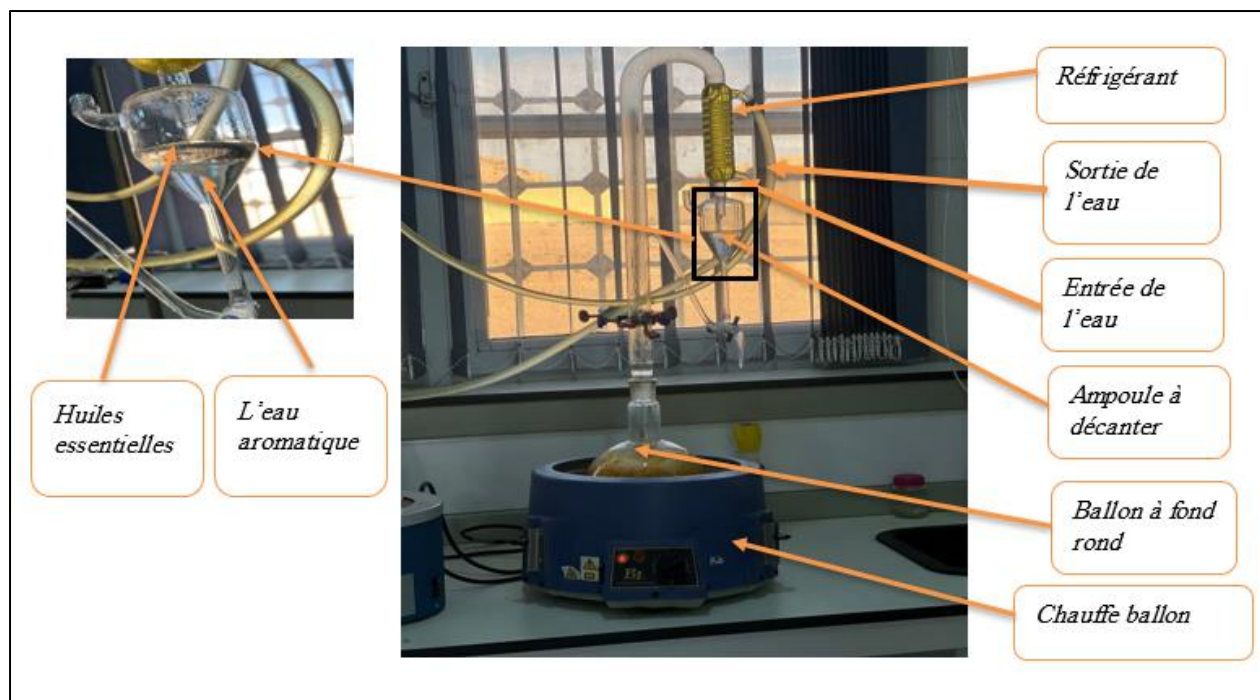


Figure 10 : Montage de l'hydrodistillation de type Clevenger (**Originale ;2024**).

3.1.4. Rôles des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination mais lors des interactions végétal-animal, il s'agit aussi comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction des pollinisateurs. Prouvées par la recherche scientifique moderne, les huiles essentielles (HEs) ont des propriétés médicinales nombreuses et variées. Elles agissent quasiment dans tous les domaines de la santé et de la maladie. D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques (**Jamal Eddine, 2010**).

3.2 Les composés phénoliques

3.2.1. Définition Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des substances présentes dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante, ils possèdent un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (**Nacz et Shahidi, 2003 ; Barboni, 2006 ; Sun et al., 2011**). Leur présence dans les tissus animaux est généralement due à l'ingestion d'aliments d'origine végétale (**Nacz et Shahidi, 2003**).

Le terme « composés phénoliques végétaux » englobe les phénols simples, les acides phénoliques, les coumarines, les flavonoïdes, les stilbènes, les tannins, les lignines et les lignanes (Stalikas, 2007).

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la structure et la protection des plantes (Nacz et Shahidi, 2003 ; Stalikas, 2007). Ils offrent également, pour la santé humaine, une protection contre certaines maladies impliquant un stress oxydatif, comme les cancers et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Sun et al., 2011).

3.2.2. Méthodes d'extraction des composés phénoliques

Macération :

La macération (extraction solide- liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans le solvant organique pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes). Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par (Hamia et al. (2014). Après l'évaporation du solvant dans un rota vapeur.

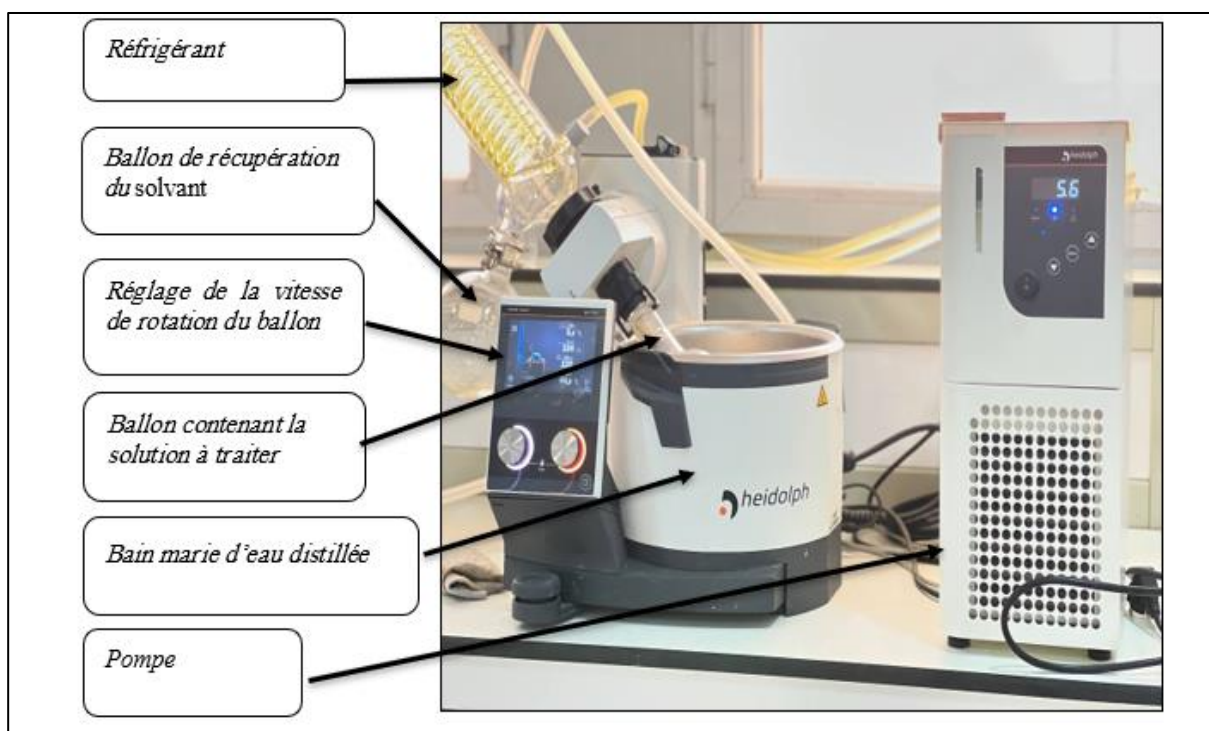


Figure 11 : Evaporateur rotatif (Originale ;2024).

Matériel et méthodes

Méthodes du travail :

Dans cette partie expérimentale, nous présentons les différentes méthodes d'extraction d'une part de huiles essentielles à base des plantes, et d'autre part des protocoles de macération pour obtenir les polyphénols.

Alors que les techniques seront intéressées par la technique d'élevage des insectes, et le différent test larvicide a fin de déterminer le DL₂₅, DL₅₀ et DL₉₀.

I. Présentation générale de la région d'étude

I.1. Situation géographique de La wilaya de Djelfa

La wilaya de Djelfa faisant partie de la région des hauts plateaux, elle se situe entre 2° et 5° de longitude Est et entre 33 ° et 35° de latitude Nord. Elle s'étend sur une superficie totale de 32.280,41 Km² représentant 1.36 % de la superficie totale du pays. A la faveur du découpage administratif de 1974, cette wilaya se compose actuellement de 36 communes regroupées en 12 Daïra.

Elle se limite au Nord par Médéa et Tissemsilt ; à l'Est par Biskra et M'sila ; à l'Ouest par Laghouat et Tiaret ; et au Sud par El-Oued et Ghardaïa (Fig.12).

La wilaya de Djelfa est caractérisée par le point culminant qui se situe à l'Est de la wilaya avec une altitude de 1613 m et le point le plus bas, à l'extrême sud, avec une altitude de 150 m (C.D.L., 2000).

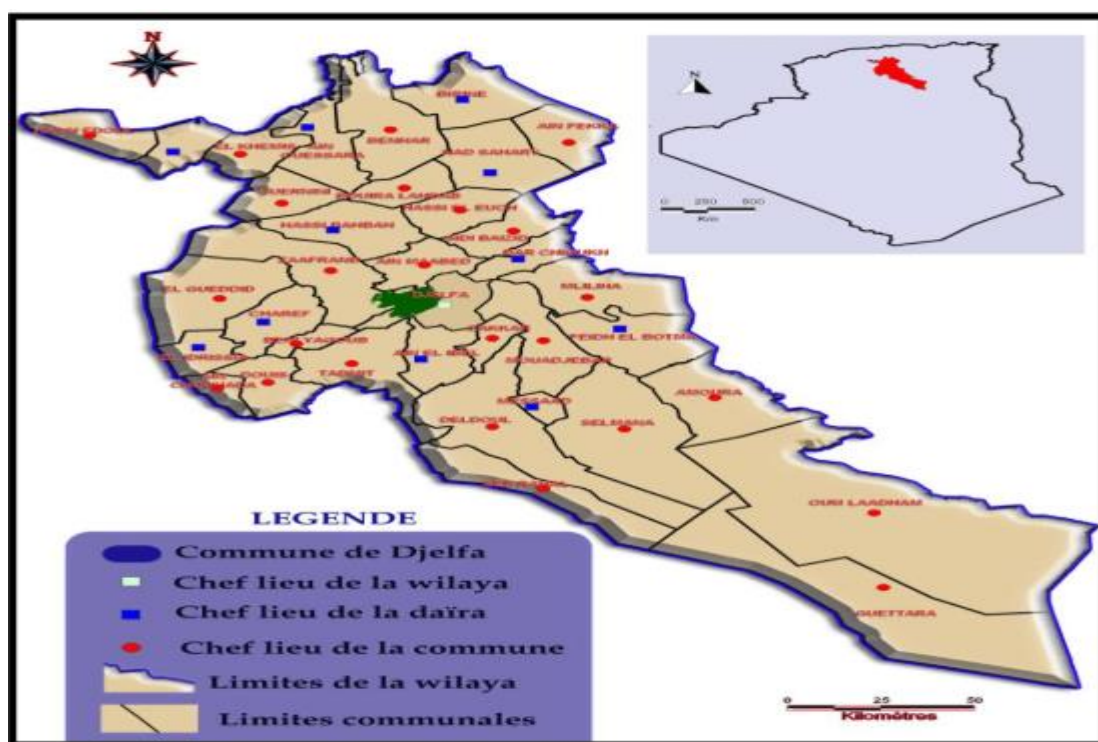


Figure12 : Situation géographique de la wilaya Djelfa (Berkani, 2009)

I. 2. Caractérisation climatique

I.2.1. La Température

D'après **Barbault** en **2000**, la température a une action majeure sur le fonctionnement et la multiplication des êtres vivants et comme elle varie selon un schéma géographique net. Les températures de la région d'étude collectées durant la période allant de 2006 à 2017 sont récapitulées dans le Tableau (6).

Tableau 06 : Moyenne mensuelle et annuelle des Températures de la région de Djelfa (2006- 2017).

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou	Sep	Oct	nov	Déc	Moy
T(°c)	5.36	6.38	10.91	14.2	19.41	25.6	30.44	29.28	22.81	17.45	10.94	6.38	16.59

Source : office nationale de météorologie de Djelfa

Par l'analyse des données des valeurs enregistrées, on constate que le maximum du mois le plus chaud se situe au mois de juillet avec une moyenne de 30,44°C, alors que le minimum du mois le plus froid se situe en janvier avec une moyenne de 5.36°C.

I.2.1. La pluviométrie

Les précipitations constituent un facteur écologique d'importance fondamentale (**Ramade, 1984**). Les précipitations moyennes mensuelles de la région d'étude collectées durant la période allant de 2006 à 2017 sont récapitulées dans le Tableau 07.

Tableau 07 : Moyennes mensuelles et annuelles des précipitations de la région de Djelfa.

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc	Cum
P(mm)	28.13	29.34	28.72	42.37	31.58	17.24	16.89	25.89	32.21	32.68	26.75	26.75	306.34

Source : office nationale de météorologie de Djelfa

La région d'étude est marquée par une variabilité des précipitations dans le temps et dans l'espace. A partir des données enregistrées sur une période de 11 ans (2006-2017). La précipitation moyenne annuelle est d'environ 338.55 mm. Le moins le plus pluvieux est le mois d'Octobre avec de moyenne de 32, 68 mm. Cependant, le mois le plus sèche est Juillet avec de moyenne de 16 ,89 mm.

I.3. Synthèse Climatique**• Diagramme Ombrothermique de GAUSSEN**

Le diagramme Ombrothermique de Gaussen (1953), est un graphique représentant les caractéristiques d'un climat local par-là sur position des figures exprimant d'une part par les précipitations et d'autre part par la température. Il permet de poursuivre les variations saisonnières de la réserve hydrique. Il est représenté :

- En abscisses par les mois de l'année.
- En ordonnées à gauche par les précipitations en mm.
- En ordonnées à droite par les températures moyennes en °C.
- Une échelle de $P=2T$.

La combinaison des variations mensuelles des températures et des précipitations, illustrées par le diagramme Ombrothermique (Fig.13) permet de voir le type du climat régional et d'analyser surtout les caractères essentiels des saisons de la zone d'étude.

Le diagramme Ombrothermique décrit mieux les anomalies des précipitations et des températures pour donner deux périodes climatiques au cours de l'année, l'une sèche et l'autre humide.

La période sèche s'étend de mois de Mai jusqu'à le mois d'Octobre et la caractérise par un climat de type méditerranéen qui comporte deux saisons l'une estivale sèche et chaude et l'autre hivernale pluvieuse et froide. Période humide s'étend de mois de Janvier jusqu'à Mai (Fig.13) Donc la région de Djelfa se caractérise par un climat de type méditerranéen qui comporte deux saisons l'une estivale sèche et chaude et l'autre hivernale pluvieuse et froide.

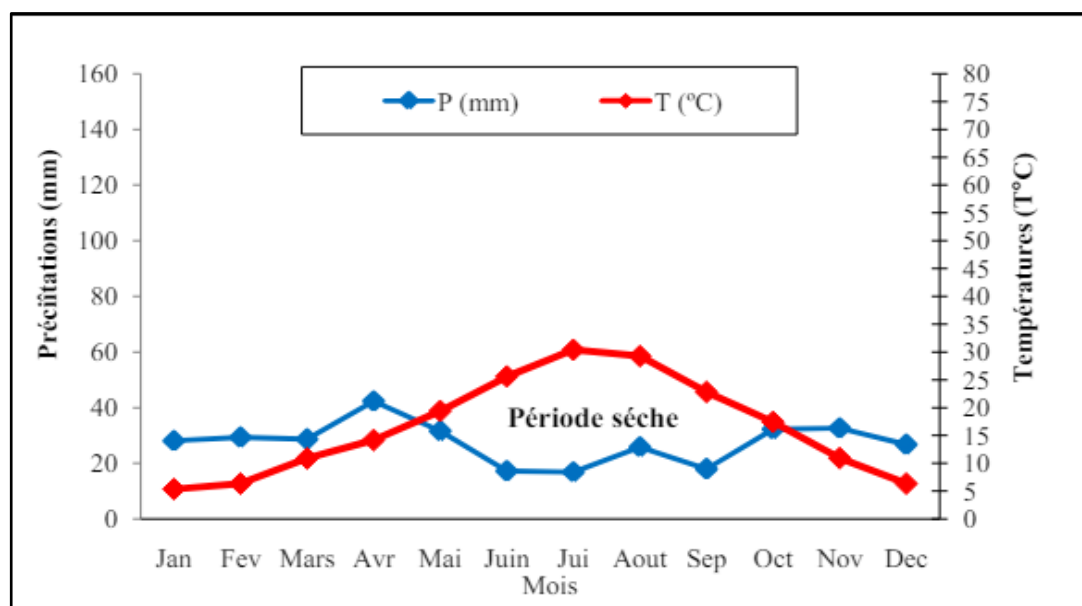


Figure 13 : Diagramme Ombrothermique de Gaussen et Bagnauls de la région de Djelfa (2002-2012)

Présentation du site de l'étude

Les insectes qui font l'objet de notre étude sont tous collectés au niveau d'oued Messâad.

Ce site est dénommé oued Messâad situées à 14 Km du chef-lieu de la commune de Messâad. Il s'agit d'un oued naturel à caractère temporaire.

Ce site est caractérisé par : une eau douce et transparente, température variable d'un caractère saisonnier, la profondeur de l'eau atteint au maximum 90 cm, son élévation était 900m et un climat aride a hiver froid.

II. Protocoles expérimentaux :

• Matériel utilisé

Les détails concernant tous les appareils, les verreries et les solutions utilisées sont notés dans l'annexe.

II.1. Matériel animal :

II.1.1 Méthode d'échantillonnage des populations *Culiseta longiareolata*

Au premier temps, l'opération d'échantillonnage a été effectuée in situ, dont nous récoltant uniquement les sacs ovigères collectés, on les conserve dans des bouteilles en plastiques contenant de l'eau de la station d'échantillonnage.

Puis les œufs doivent rapidement transporter au laboratoire de recherche et les déposés dans des récipients en plastiques.

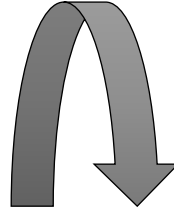


Figure 14 : Oued Messâad (originale ;2024).

Figure 15 : Gite de l'Université Laghouat (originale ;2024).

II.1.2Condition d'élevage :

- Température de la chambre d'élevage entre 25a 28°C.
- Ajouter des levures chimiques ou de la poudre d'algue spirogyra pour faire nourrir des insectes.
- Après 6^{ème} jour d'élevage, ou commence l'opération de séparation des larves de stade 1, 2 et 3. chaque stade doit remplacer dans des nouvelles boites d'élevage à faire de grande homogénéité de l'échantillon



Figure16 : Elevage des œufs et Larve de stade 1 et 2 (originale ;2024).

2. Méthode d'identification des moustiques

2.1. Montage des lames et identification des larves

Les larves L4 subissent des bains de 48 heures dans une solution de NaOH à 10% (10g de NaOH + 100 ml d'eau distillée) pour éclaircir les larves. Par la suite, elles sont rincées à l'eau distillée trois fois. Puis on procède au montage entre lame et lamelle fixé par vernis d'ongle transparent avec une goutte de la glycérine. Cette microgoutte aide à évacuer les bulles d'air qui sont susceptibles de se former après sont observées et identifiées sous microscope optique à l'aide d'un livre les culicidae du Maroc (Himmi *et al.*,1995).

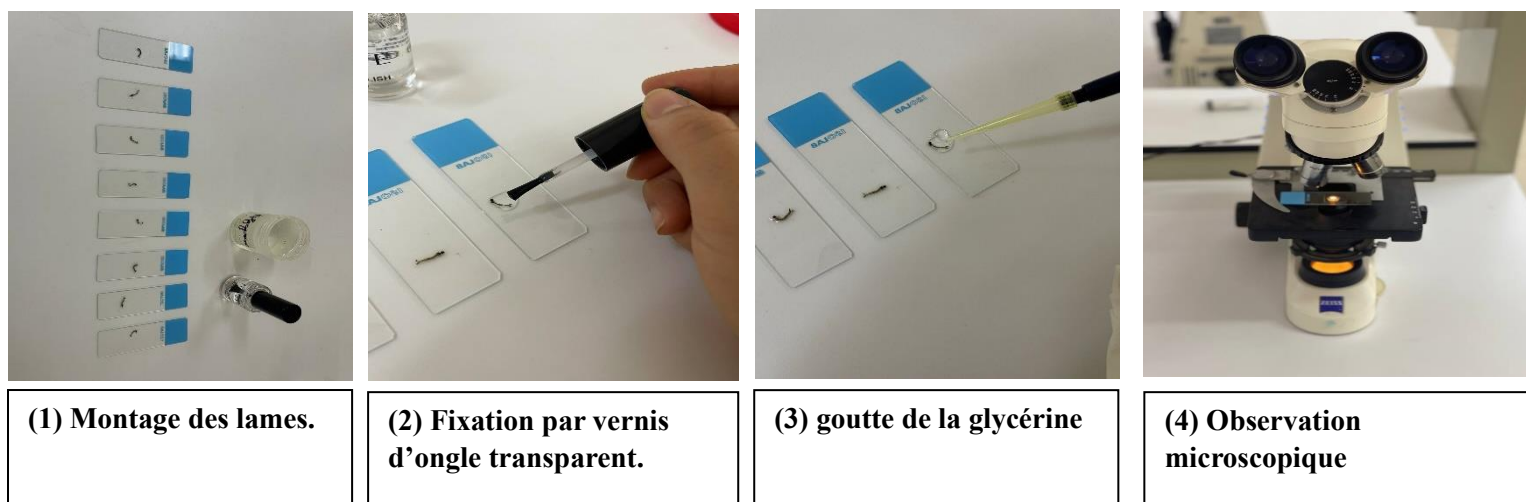


Figure 17 : les étapes d'identification des larves des moustiques (**originale ;2024**).

3. Matériel végétal

3.1 Préparation du matériel végétal et extraction des substance bioactives (HEs, Polyphénol) :

Pour l'ensemble du matériel végétal, sa collecté a été faite auprès des magasin : épicier, marché de Laghouat.

La partie végétale ciblé était l'écorce des agrumes et le fruit de girofle.

3.1.1 Séchage

Les écorces ont été nettoyées avec l'eau puis coupées en petit morceaux, et séchées à l'abri de la lumière à température ambiante 28 pendant quelques jours afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules. Puis, conservées dans des sacs en papier jusqu'à le jour de l'extraction des huiles essentielles.



Figure18 : séchage de plantes

3.1.2 Broyage

Nous avons effectué un broyage pour les écorces et fruit de girofle à l'aide d'un moulin électrique de manière à obtenir une poudre fine et homogène pour préparer les extraits.



Figure 19 : Broyage des plantes

4. Méthodes d'extractions

Le schéma suivant résume les différentes étapes de démarche méthodologique suivie pendant la réalisation de ce travail :

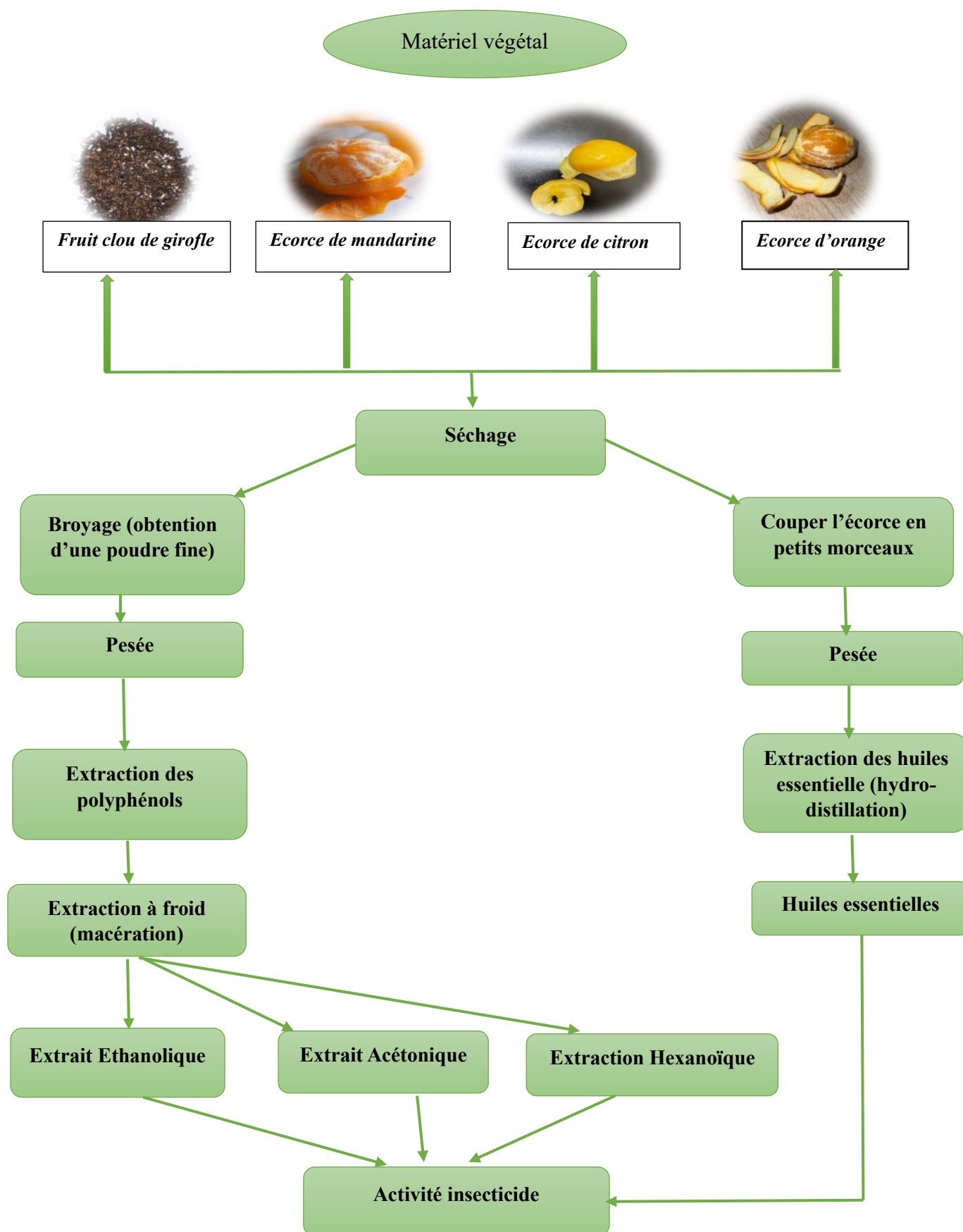


Figure 20 : Schéma illustrant la démarche expérimentale suivie dans cette étude.

4.1 - L'extraction des huiles essentielles par hydro distillation**➤ PRINCIPE**

L'hydro distillation par un appareil de type Clevenger, consiste à laisser baigner directement le végétal dans une enceinte (un ballon) d'eau, à qui les vapeurs, après chauffage à ébullition, entraînent au fur et à mesure des particules légères qui se condensent sur les parois plus froides (réfrigérant) du serpentin, ainsi ces essences (huile essentielle) seront séparées par différence de densité, et seront récupérées dans des eppendorfs (**Bruneton ,1999**).

-Peser 350gr la matière végétale (l'écorces des agrumes, fruit de girofle) dans un ballon de 2 litres rempli de l'eau distillée jusqu'à deux tiers 2/3.

- Porter le mélange (matière végétale / eau) à ébullition à l'aide d'un chauffe-ballon. Qui permet l'obtention de la vapeur qui se charge des produits volatils et se condense au contact du réfrigèrent ;

- Recueillir le condensat dans une ampoule à décanter ;

- Placer l'ampoule sur un support et laisser décanter, la phase organique contenant l'HE et le solvant se trouve dans la partie supérieure ;

- Ajouter après séparation, le sulfate de sodium à la phase organique pour éliminer toute trace d'eau.

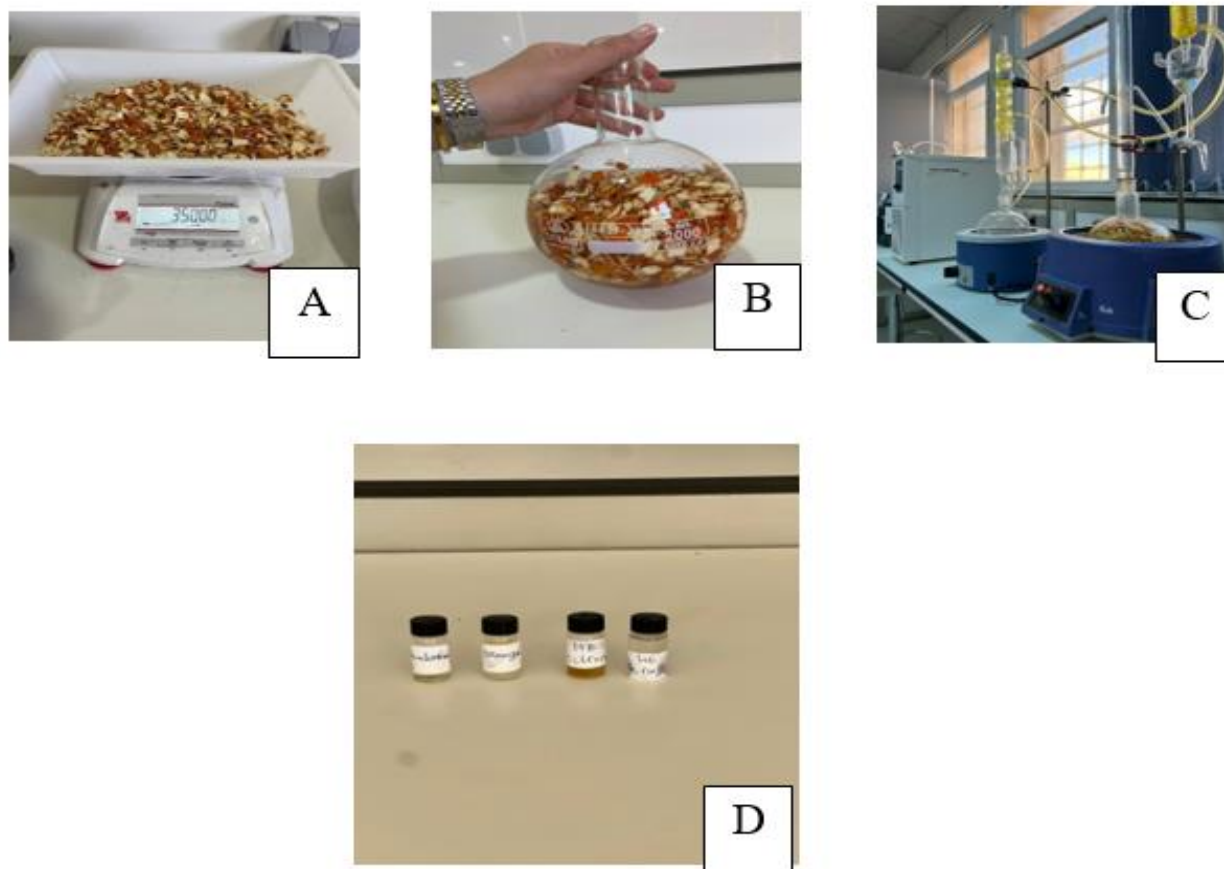


Figure 21 : Différentes étapes d'extraction des huiles essentielle

4.1.1 Rendement des huiles essentielles :

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids d'huile essentielle extraite et le poids de la biomasse végétale utilisée (Foe *et al.*, 2016)

Nous avons calculé le rendement des huiles essentielles.

$$\text{Rdt (\%)} = (\text{PHE}/\text{Pmv}) \times 100$$

- PHE : poids de l'huile essentielle récupérée (g).
- Pmv: poids de la matière végétale sec (g).

4.1.2 Les dilutions des HEs :

A partir de l'huile essentielle extraite préalablement de chaque plante, et suivant la méthodologie inspirée des travaux de Tchoumboungang(2009), on prépare

respectivement des doses de 10, 20, 40, 80, et 160 μL d'HEs diluées dans l'éthanol (Ndomo A.F et *al.*,2009).

4.2 Préparation des extraits :

a. Macération :

Les extraits végétaux utilisés pour les tests de toxicité ont été préparés par l'utilisation de la technique de la macération au froid. Après avoir broyé finement la plante, une masse d'environ 5g a été macérée dans 25ml de 3 solvants de polarité croissante : hexane (100%), acétone (100%) et éthanol (100%), agitation pour une durée de 24 heures (Fig22) (Rouari, 2022).

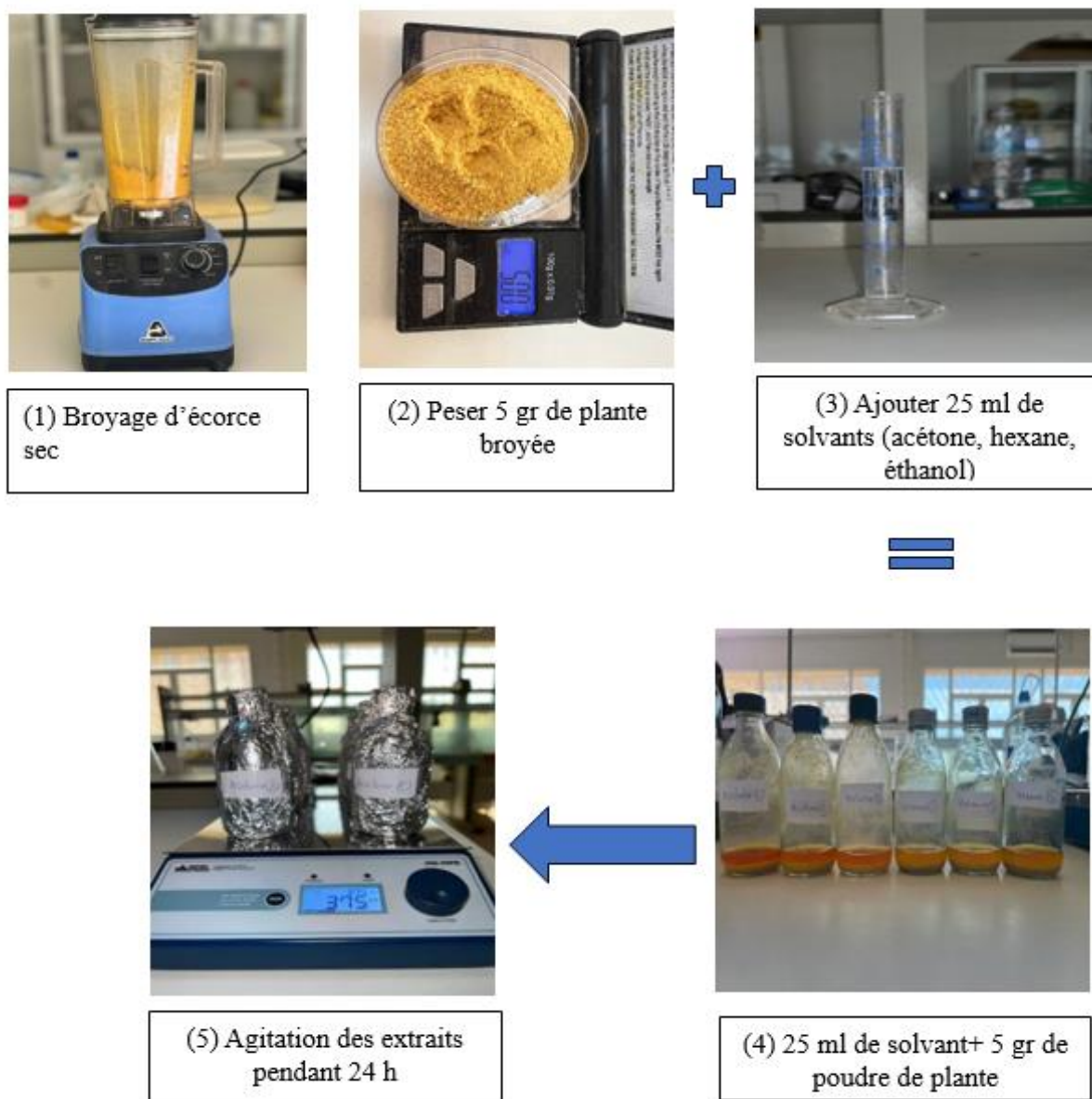


Figure 22 : Démarche méthodologique pour macérer les plantes.

b. Evaporation : Ensuite chaque mélange est filtré sur un papier filtre, Ces derniers ont été évaporés à sec à l'aide d'un rota-vapeur, à une température de 45°C (Rouari, 2022)., Les extraits sont placés dans l'étuves (2 heures) pour séchage.

Solubilisé avec DMSO et récupéré dans des tubes à essai qui est couvrir par un papier d'aluminium dans un réfrigérateur pour éviter toute dégradation des extraits due à l'action de l'air et de la lumière (Fig. 23)

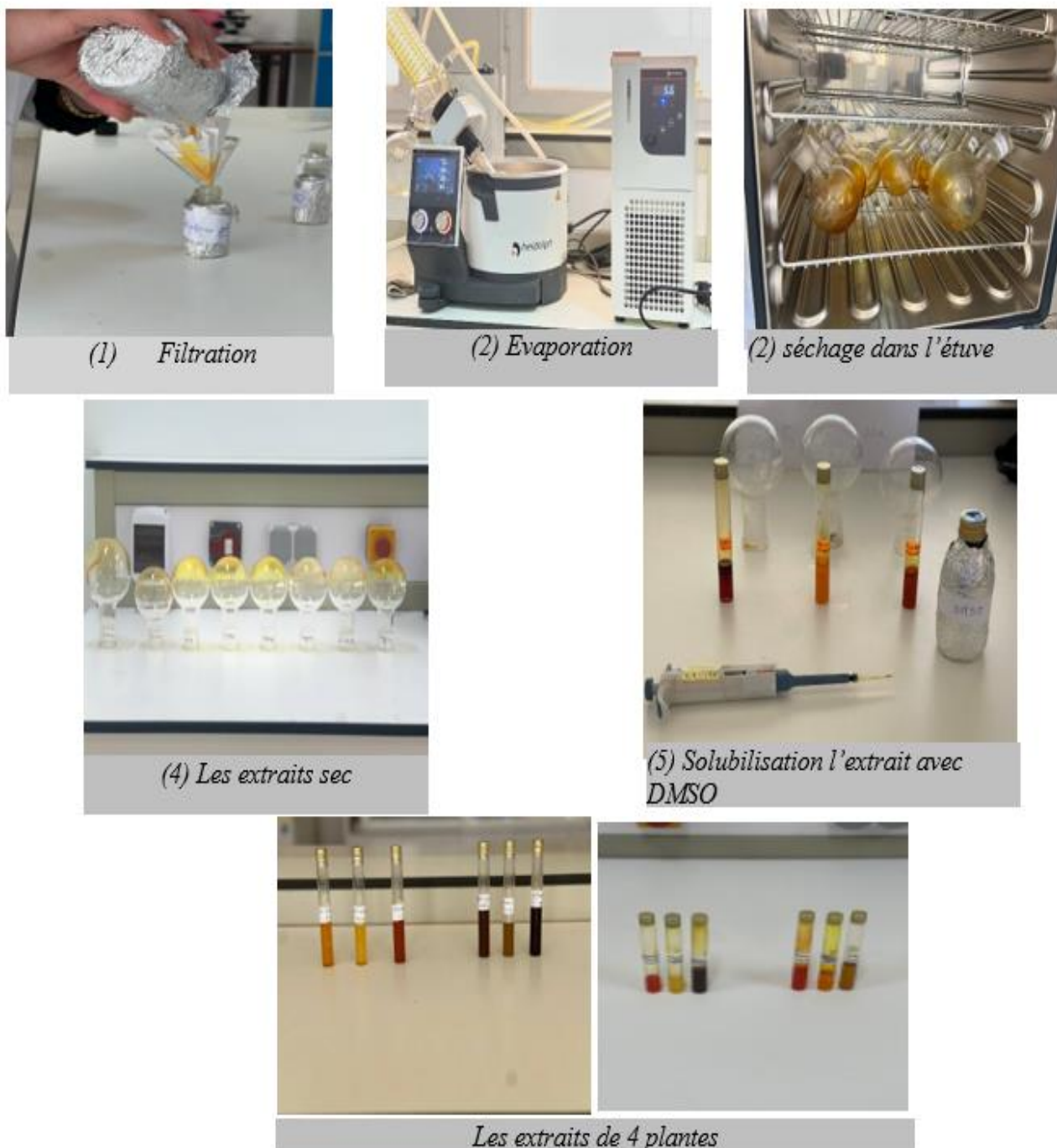


Figure 23 : Différentes étapes de préparation des extraits.

4.2.1 Rendement d'extraction :

Le pourcentage du rendement pour chaque extrait a été calculé selon la formule suivante (Muanda, 2010).

$$R (\%) = m / M \times 100$$

Rd% : Rendement exprimé en %.

m : Masse en gramme de l'extrait sec (g).

M : Masse sèche initiale en gramme du matériel végétal testé (g).

Masse d'extrait sec = la masse du ballon avec l'extrait- la masse du ballon vide (Fig24).

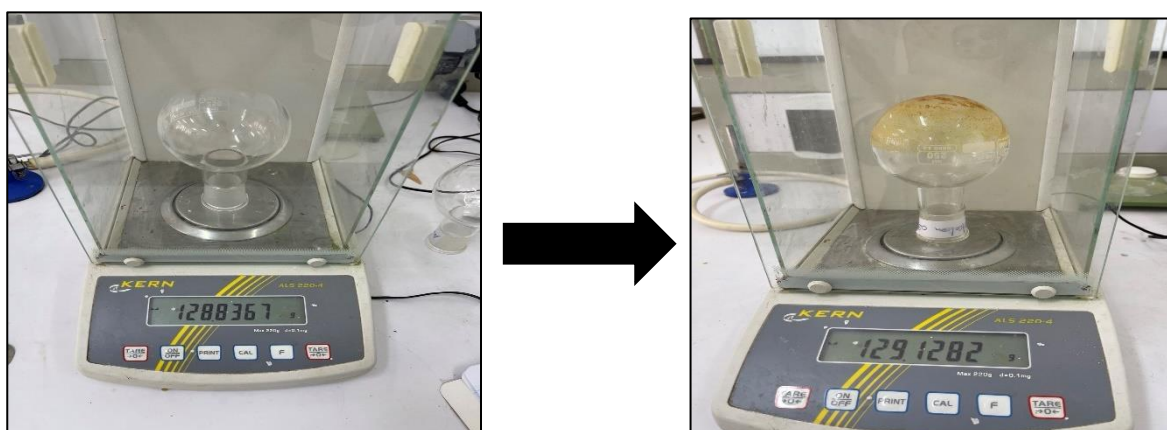


Figure 24 : calcul de la masse d'extrait sec

4.2.3 Préparation des doses des extraits et de l'insecticide :

A partir des trois extraits obtenus des plantes étudiées, les dilutions sont préparées comme il est indiqué dans le tableau suivant :

Tableau 08 : Protocol de préparation de différentes doses d'extrait avec le DMSO.

Méthode	Dose	Extrait
Contact	50%	On introduit 0,25ml extrait dans un tube Eppendorf contenant 0,25 ml DMSO
	60%	On introduit 0,3ml extrait dans un tube Eppendorf contenant 0,2 ml DMSO
	70%	On introduit 0,35ml extrait dans un tube Eppendorf contenant 0,15 ml DMSO
	80%	On introduit 0,4 ml extrait dans un tube Eppendorf contenant 0,1 ml DMSO
	90%	On introduit 0,45ml extrait dans un tube Eppendorf contenant 0,05 ml DMSO
	100%	On introduit 0.5 ml extrait dans un tube Eppendorf.

5. Détermination de l'effet larvicide des extraits sur l'espèce *Culiseta longiareolata*

Protocole d'expérimentation

Pour chaque plante préparer 18 lots, chaque lot contient 10 larves du stade 4 ont été prélevées à l'aide d'une pipette plastique, chaque lot contenant 100 ml de l'eau distillé, puis en ajouter par un volume de différent concentration létal des extraits. Le même nombre des larves a été placé dans un lot témoin contenant la solution de DMSO pure et un lot témoin contenant l'eau distillé pour les extraits, et éthanol pour les huiles essentielles. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque concentration ainsi que pour le témoin, Les taux de mortalité ont été évalués après 24 h, 48 h et 72 h. Les concentrations ont été calculées pour chaque temps (Fig.25).

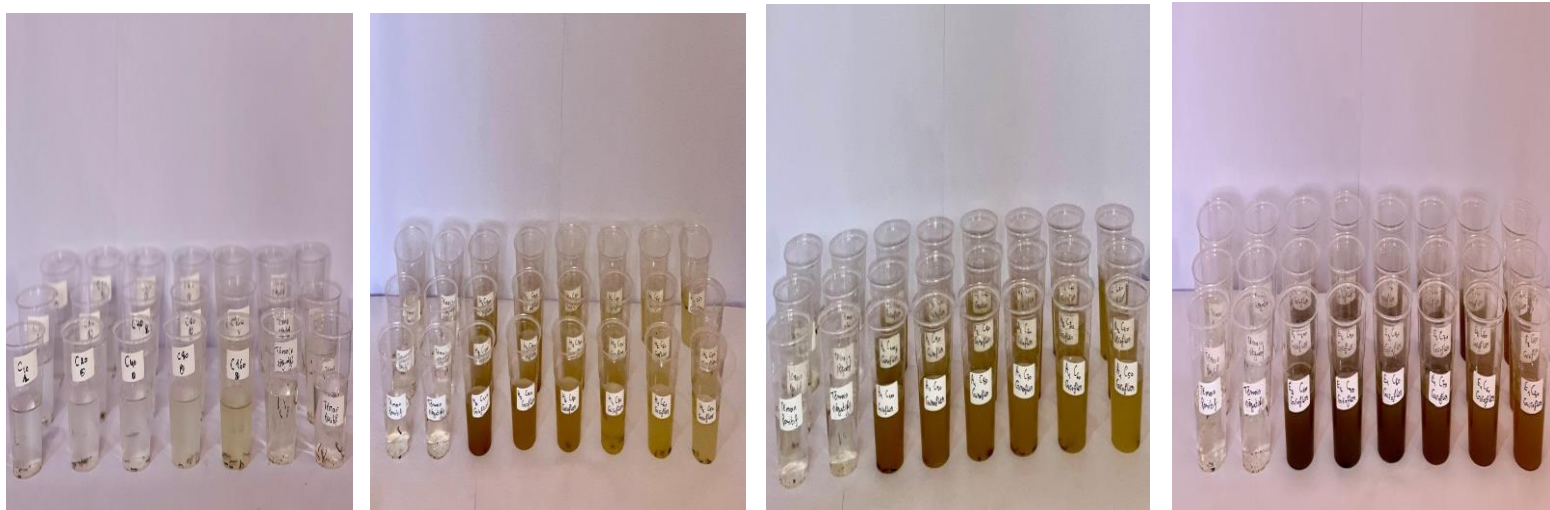


Figure 25 : teste de mortalité des extraits et des HEs.

6. Test de toxicité

La méthodologie de nos tests a été inspirée de la technique des tests de sensibilité normalisés par l'Organisation Mondiale de la Santé (**O.M.S., 1963**) adoptée pour tester la sensibilité des larves.

L'utilisation des insecticides comme un moyen de lutte contre les moustiques est une technique normalisée par l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS.,1963**) qui consiste mettre les moustiques (larves ou adultes) en contact avec la matière active (dose discriminatoire) d'un insecticide donné pendant une période donnée, et ce afin de mesurer la sensibilité de cette population de moustiques à l'insecticide en question.

Cette technique pour objectif de déceler, si à certain moment, une souche de ces moustiques devient résistante (**Trari, 2001**).

6.1 Paramètres de toxicité étudiée

Pour la présente étude, quatre paramètres de toxicité sont étudiés soient :

- Taux de mortalité ;
- Cinétique de mortalité ;
- Doses létales ;
- Temps létaux.

6.1.1 Taux de mortalité

Le premier critère d'étudier de l'efficacité d'un traitement ou biologique est la mortalité (**Kemassi, 2014 ; Cherif, 2020 ; Herouini, 2021**).

6.1.2 Cinétique de mortalité

Pour mieux représenter l'effet larvicide des extraits végétaux organiques sur les larves de *Culiseta longiareolata*, le suivi de l'évolution de mortalité observée des larves traitées a été enregistré avec l'évolution de temps pendant les 72 h d'exposition.

6.1.3 Doses létales

Pour un objectif de calcul des doses létales 25,50 et 90 (DL_{25} , DL_{50} et DL_{90}) qui tuent 25%, 50% et 90% du nombre d'individus exposés aux extraits, les pourcentages de mortalité corrigés ont été transformés en probits, et les concentrations tests de toxicité ont été transformées en un logarithme décimal. Des équations des droites de régression log de dose en fonction des probits ont été établies (**Kemassi et al, 2019 ; Herouini, 2021**).

6.1.4 Temps létaux

Pour un objectif d'estimer des temps létaux 25,50 et 90 (TL_{25} , TL_{50} et TL_{90}) qui correspondent au temps nécessaire pour tuer 50 % et 90 % des individus exposés aux extraits, les droites de régression probit correspondant au pourcentage de mortalité corrigé des logarithmes de temps de traitement ont été établis (**Kemassi, 2014 ; Kemassi et al, 2019 ; Cherif, 2020 ; Herouini, 2021**).

Résultats et discussion

III- Résultats :

1. Identification de l'insecte

L'observation des critères morpho-anatomique (tête et siphon de L4) au microscope optique nous a permis l'identification de l'espèce *Culiseta longiareolata* du quatrième stade (L4). Notre identification est référencée par rapport au livre « *les Culicidae du Maroc* » par (Himmi, 1995).

• Tête

La couleur est sombre, très pigmentée, la longueur de l'antenne est courte par rapport à la longueur du tête, et nous avons constaté que l'ornementation du tégument de l'antenne est lisse.



Antenne

Figure 26 : Photo de la tête d'une larve d'insecte du stade L4 observe au microscope optique Gr :10×10 (Originale, 2024).

• Le Siphon

Le siphon est ornementé par la présence des épines et d'une touffe basale.

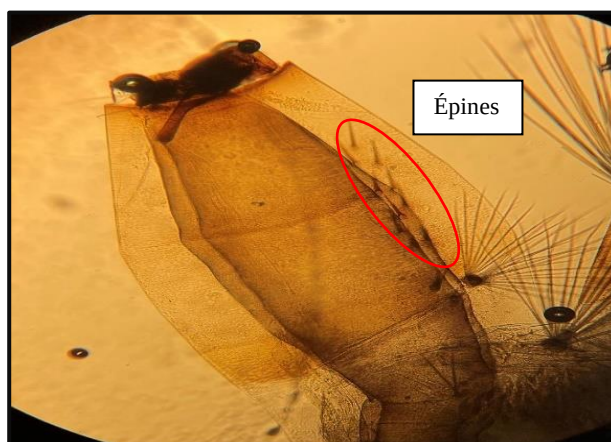


Figure 27 : Photo d'un siphon d'une larve d'insecte du stade L4 observe au microscope optique Gr : 10×10 (Originale, 2024).

2. Estimation du rendement et caractéristique des extraits

2.1 Rendement et caractéristiques des huiles essentielles :

Tous les résultats concernant les caractéristiques générales des huiles essentielles ; le rendement, couleur, aspect et odeur sont enregistrés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 09 : les principales caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles extraites des quatre plantes

Plantes	R%	Couleur	Aspect	Odeur	Saveur
Orange (<i>Citrus sinensis</i>)	0.13 %	Jaune	Liquide visqueux	Caractéristique fraîche, citronnée	Amer
Mandarine (<i>Citrus reticulata</i>)	0.18%	Jaune -Oranger	Liquide, limpide	Aromatique Forte	Amer
Citron (<i>Citrus limon</i>)	0.97%	Jaune pâle ou transparent	Liquide mobile	Aromatique Forte	Aromatique, Amer
Girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>)	6,52%	Transparent	Liquide, limpide	Aromatique, forte	Piquante, amère

Les résultats estimés de différents rendements des HEs des quatre plantes : *Citrus limon*, *Citrus sinensis*, *Citrus reticulata* et *Syzygium aromaticum* sont représentés graphiquement dans la figure 28.

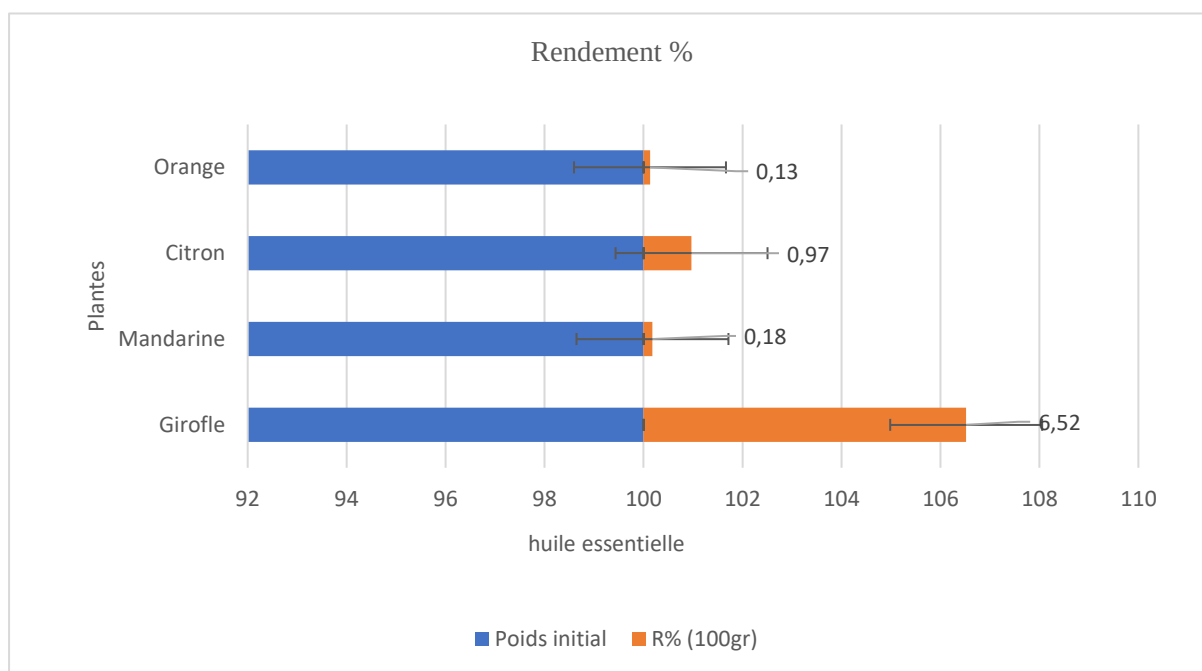


Figure28 : Résultats en pourcentage de différents rendements d'HE des quatre plantes.

Dans cette figure, les rendements sont exprimés en pourcentage et montrent le taux de la substance bioactif dans chaque 100 gr du poids initial de la plante. Il paraît clairement que le girofle représente la plante la plus riche en HE avec un rendement $R\%=6,52\%$. Les agrumes (Ciron, Mandarine et l'orange) sont devenus pauvres en HE et représentent des rendements respectifs : $0,97\%$; $0,18\%$ et $0,13\%$.

2.2 Rendements des extraits organiques

Le tableau suivant représente les caractéristiques générales des extraits organiques de quatre plantes extraites par trois solvants (Acétone, Hexane et Ethanol) :

Tableau10 : Caractéristiques générales des extraits organiques de quatre plantes extraites par trois solvants

Plantes	Solvants	Poids d'extraits	R (%)	Concentration (mg/ml)	Aspect	Couleur
Orange (<i>Citrus sinensis</i>)	Acétone	0,2833±0,04807	5,66±0,96	117,72	Léger	Rouge claire
	Hexane	0,2138±0,02579	4,27 ±0,51	83,94	Léger	Jaune claire
	Ethanol	1,0225±0,1139	20,45±2,27	317,381	Léger	Marron foncé
Mandarine (<i>Citrus reticulata</i>)	Acétone	0,2602±1,6664	5,21±3,30	85,37	Léger	Rouge brique
	Hexane	0,7975±0,2881	15,91±5,81	216,46	Léger	Miel
	Ethanol	0,6375±0,2921	12,75±5,84	180,326	Léger	Marron claire
Citron (<i>Citrus limon</i>)	Acétone	0,1349±0,0663	2,29±1,33	42,33	Caraméliser	Orange jaunâtre
	Hexane	0,0479±0,01845	0,95±0,37	15,97	Caraméliser	Jaune
	Ethanol	0,5316±0,06349	10,632±1,27	151,88	Caraméliser	Rouge brique
Girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>)	Acétone	0,7514±0,04675	15,02±0,93	250,07	Caraméliser	Marron
	Hexane	0,5008±0,00615	10,01±1,23	224,8	Caraméliser	Marron claire
	Ethanol	0,8762±0,0979	17,52±1,96	268,89	Caraméliser	Marron foncé

La présente figure montre les résultats de rendement d'extraction par méthode de macération de 5 gr du poids initiale de la poudre végétale du quatre plantes *Citrus limon*, *Citrus sinensis*, *Citrus reticulata* et *Syzygium aromaticum*. Il paraît clairement que l'éthanol représente meilleur solvant d'extraction pour les trois plantes *Citrus limon*, *Citrus sinensis* et *Syzygium aromaticum*. Néanmoins, pour *Citrus reticulata*, l'hexane était le meilleur solvant extrant.

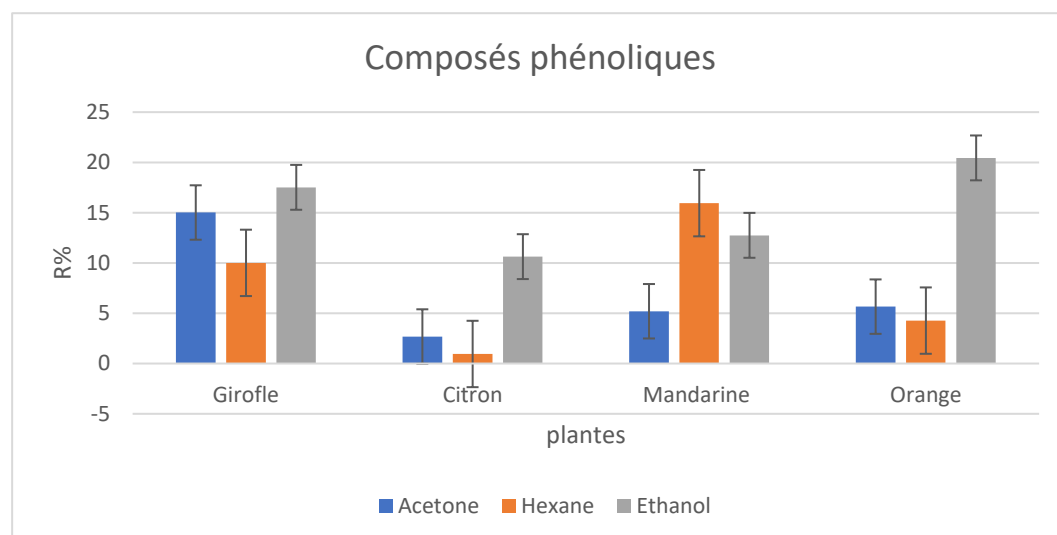


Figure 29 : Résultats en pourcentage de différents rendements des extraits organiques.

3. Résultats du test de toxicité

- **Efficacité de l'activité larvicide**

Efficacité de l'activité larvicide des huiles essentielles et différents extraits organiques de quatre plantes étudiées est mieux évaluée, dont les paramètres estimés sont très importants et les doses létales ainsi les temps létaux sont tous fixés respectivement : (DL₂₅, DL₅₀ et DL₉₀) et (TL₂₅, TL₅₀ et TL₉₀). Ces paramètres sont estimés à l'aide des équations de régressions.

3.1 Détermination doses létales des HES :

Tableau 11 : Dose létale 25,50 et 90 des différents huiles essentielles (probits en fonction de la dose).

Plante	Durée d'exposition	Equation de régression	R ²	DL ₂₅	DL ₅₀	DL ₉₀
<i>Citrus sinensis</i>	24h	Y=2,231x+2,29135	0.9157	3.98	8.51	70.29
	48h	Y=1,0933x+5,5367	0.5	*	*	*
	72h	Y=0,4887x+6,6855	0.5	*	*	*
<i>Citrus reticulata</i>	24h	Y=1,986x+4,2378	0.5	*	*	7.76
	48h	Y=1,0933x+5,5367	0.5	*	*	12.30
	72h	Y=0,733x+6,2207	0.5	*	*	1.20
<i>Citrus limon</i>	24h	Y=1,1813x+5,3695	0.5	*	*	5.88
	48h	Y=0,7333x+6,2207	0.5	*	*	1.20
	72h	*	0	*	*	*
<i>Syzygium aromaticum</i>	24h	*	*	*	*	*
	48h	*	*	*	*	*
	72h	*	*	*	*	*

* : Mortalité dépasse 100%

Le tableau ci-dessus montre les résultats probits de l'efficacité larvicide des HE des quatre plantes à trois doses DL_{25} , DL_{50} et DL_{90} . Il paraît des résultats du tableau les constations suivantes :

- Dès la durée d'exposition plus longue, le taux de mortalité atteint les 100% pour les quatre plantes au niveau des trois doses DL_{25} , DL_{50} et DL_{90} .
✓ A 24heures,
- On y besoin de 3.98 $\mu\text{L/L}$ d'HE de *Citrus sinensis* pour tuer 25% de la population, 8.51 $\mu\text{L/L}$ pour tue 50% de la population et 70.29 $\mu\text{L/L}$ pour éradiquer 90% de la population.
- Pour *citrus reticulata* et *citrus limon* à très faibles doses, une mortalité observée dépasse les 100% au niveau de DL_{25} et DL_{50} . Alors pour avoir tué 90% de la population on y besoin de 7.76 $\mu\text{L/L}$ et 5.88 $\mu\text{L/L}$ respectivement.
- Le *Syzygium aromaticum* reste toxique et fortement larvicide à de très faible dose à tous les niveaux DL_{25} , DL_{50} et DL_{90} .

3.2 Détermination temps létaux des HEs

Tableau 12 : –Temps létaux 25, 50 et 90 des différentes huiles essentielles (probits en fonction du temps)

Plante	Dose	Equation de régression	R^2	TL_{25}	TL_{50}	TL_{90}
<i>Citrus sinensis</i>	10	$Y=2,4419x+1,8024$	0.9677	10.96	20.08	58.79
	20	$Y=3,7163x+0,985$	0.8724	7.76	12.08	26.30
	40	$Y=3,3719x+1,5994$	0.8724	6.30	10	23.98
	80	*	*	*	*	*
	160	*	*	*	*	*
<i>Citrus reticulata</i>	10	$Y=1,8011x+3,0908$	0.9214	4.78	11.48	58.84
	20	*	*	*	*	*
	40	*	*	*	*	*
	80	*	*	*	*	*
	160	*	*	*	*	*
<i>Citrus limon</i>	10	$Y=3,594x+0,7735$	0.9144	10.54	14.79	33.88
	20	*	*	*	*	*
	40	*	*	*	*	*
	80	*	*	*	*	*
	160	*	*	*	*	*
<i>Syzygium aromaticum</i>	10	*	*	*	*	*
	20	*	*	*	*	*
	40	*	*	*	*	*
	80	*	*	*	*	*
	160	*	*	*	*	*

* : Mortalité égale à 100%.

Les larves de *Culiseta longiareolata* exposées à différentes doses de quatre huiles essentielles présentent moyennes de mortalités en fonction de temps. Les valeurs de coefficient de détermination sont comprises entre [0.7_1] (intervalle critique d'accepter la relation) pour tous les essais effectués. Le temps létale TL_{25} ; TL_{50} et TL_{90} varie selon les doses et les extraits des plantes utilisés.

Syzygium aromaticum son HE est qualifié comme très hautement toxique a de très faible dose 10 μ L/L.

Pour les HEs de *Citrus sinensis* et *Citrus limon* on a besoin d'attendre 10heures pour voir une mortalité 25% de la population. Néanmoins, une dose 10 μ L/L de HE de *Citrus reticulata* peut tuer 25% de la population au bout de 4 heures, qu'y est l'huile le plus efficace.

3.3 L'effet larvicide des huiles essentielles

Après avoir traité les larves du stade L4 de l'espèce *Culiseta longiareolata* par les huiles essentielles à différentes concentrations, le taux de mortalité a été enregistré chaque 6 heures pendant 72 heures

3.3.1 Effet d'huile essentielle de *Citrus sinensis*

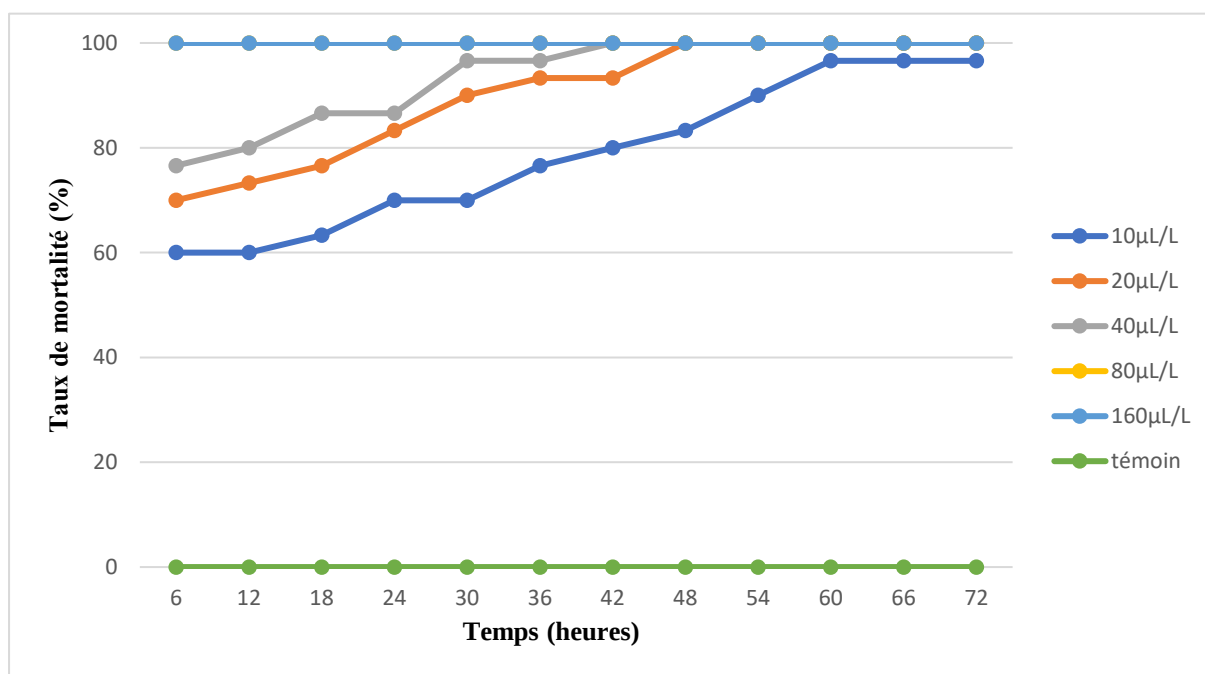


Figure 30 : cinétique de mortalité de différentes concentration d'HE de la plante *Citrus sinensis*.

D'après la figure 30 nous remarquons que toutes les concentrations utilisées d'huile essentielle sont efficace contre les larves de moustiques. Cependant, il est important d'attirer l'attention sur les deux concentration (80 $\mu\text{L/L}$, 160 $\mu\text{L/L}$) qu'ont causé la mortalité 100% des larves en seulement 6 heures. Les deux concentration (20 $\mu\text{L/L}$;40 $\mu\text{L/L}$) ont un effet presque similaire, les taux de mortalité atteignent un maximum de 100% au bout de 48 h, 42h respectivement. La plus faible concentration (10 $\mu\text{L/L}$) a engendré une mortalité de 96.6%. Nous n'avons noté aucune mortalité dans les lots de témoins.

3.3.2 Effet d'huile essentielle de *Citrus reticulata*

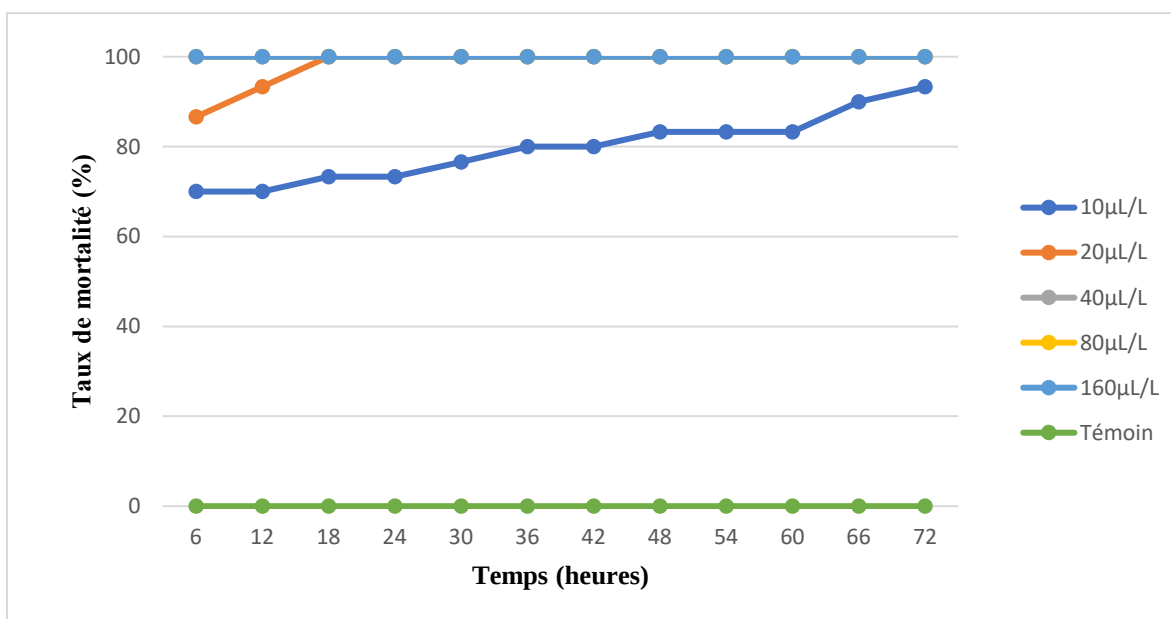


Figure 31 : Cinétique de mortalité de différentes concentrations d'HE de la plante *Citrus reticulata*.

La figure 31 révèle que la plus faible concentration 10 $\mu\text{L/L}$ d'HE de *Citrus reticulata* commence avoir un effet sur les larves dès la 6^{ème} heure ou on a enregistré la mort de 70 % de l'effectif étudié. Ce taux augmenté pour atteindre son maximum de 93.3% à la 72^{ème} heure. Cependant la concentration 20 $\mu\text{L/L}$ engendré une mortalité de 100% à la 18^{ème} heure. Nous avons également noté que les concentration 40 $\mu\text{L/L}$;80 $\mu\text{L/L}$;160 $\mu\text{L/L}$ ont causé des taux de 100% de mortalité au bout de 6 heures. Nous n'avons relevé aucune mortalité dans les lots du témoin.

3.3.3 Effet d'huile essentielle de *Citrus limon*

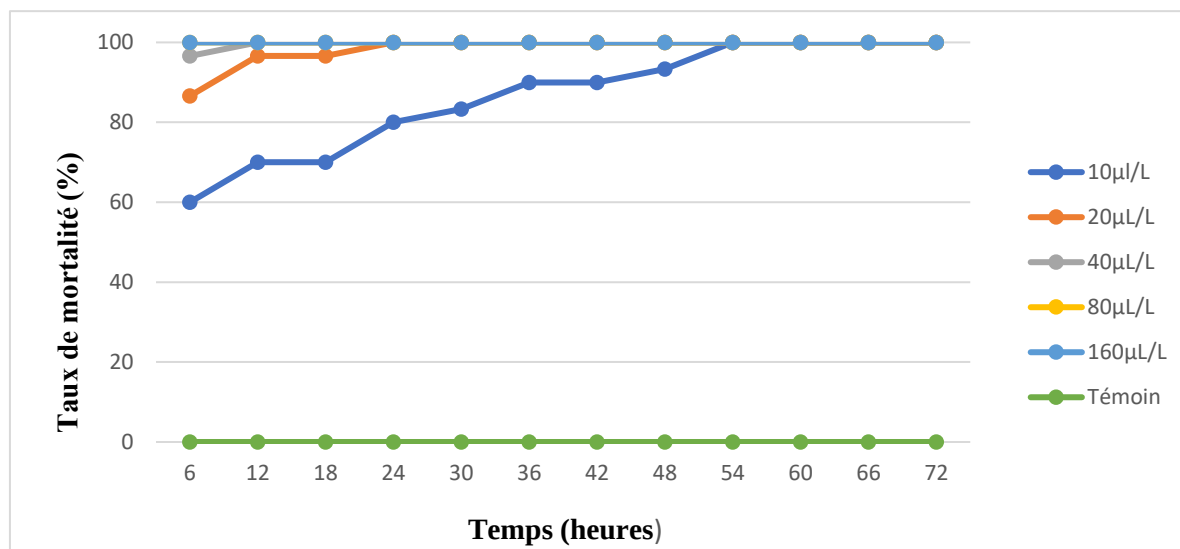


Figure 32 : Cinétique de mortalité de différentes concentrations d'HE de la plante *Citrus limon*.

D'après la figure 32 une cinétique de mortalité supérieur à 50% a été enregistré pour l'ensemble des doses testées. Donc, on peut voir une valeur de 100% dans les premières heures pour une dose de 160µl/L, après 12 heures pour une dose de 40µl/L, après 24 heures pour une dose de 20µl/L et après 54 heures pour la plus faible dose appliquée de 10µl/L.

3.3.4 Effet d'huile essentielle *Syzygium aromaticum*

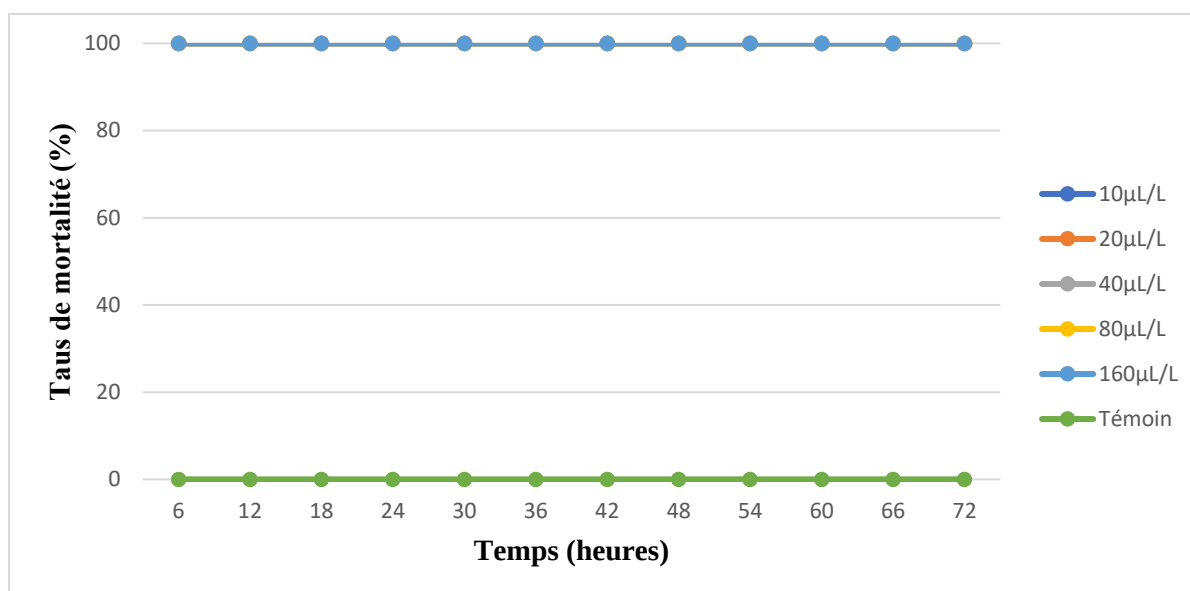


Figure 33 : Cinétique de mortalité de différentes concentrations d'HE de la plante *Syzygium aromaticum*.

La figure 33 montre qu'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* est très efficace contre les larves de *Culiseta longiareolata*. Et ce pour toutes les concentrations

utilisées. Les cinq concentrations ont causé une mortalité de 100% dès les premières heures. Durant tout l'expérience aucune mortalité n'a été noté dans les lots de témoins.

4. L'effet larvicide des extraits organiques :

4.1 *Citrus sinensis*

4.1.1 Détermination doses létales

Les larves du 4^{ème} stade de *Culiseta longiareolata* exposées pendant 24h, 48h et 72h à l'extrait acétonique, hexanoïque et éthanolique de *citrus sinensis* présentent des mortalités plus au moins corrélées aux doses utilisées.

Tableau 13 : Dose létale 25, 50 et 90 des extraits organiques du *Citrus sinensis* (probits en fonction du temps).

Extrait orange	Durée D'exposition	Equation de régression	R ²	DL ₂₅	DL ₅₀	DL ₉₀
Acétonique	24h	Y=6,765x-7,7082	0,8699	58,88	74,13	*
	48h	Y=5,7832x-5,061	0,8176	41,68	53,70	91,20
	72h	Y=6,3792x-5,4631	0,9112	33,88	43,65	96,18
Hexanoïque	24h	Y=15,237x-24,611	0,8194	77,62	87,09	*
	48h	Y=4,4404x-3,2618	0,8379	50,11	72,44	*
	72h	Y=6,7875x-7,0011	0,9585	45,70	57,54	89,12
Ethanolique	24h	Y=12,638x-18,139	0,9522	53,70	67,60	85,11
	48h	Y=11,691x-16,218	0,9493	51,28	58,88	75,85
	72h	Y=10,614x-13,199	0,9199	44,66	51,28	67,60

* : Mortalité égale à 100%.

Tableau représentent les taux de mortalité au niveau de DL25, DL50et DL 90 de trois solvants extractions Acétone, Hexane et l'éthanol pendant trois périodes après 24h,48h et 72h.

D'après les résultats obtenus dans le Tab13 on remarque que le coefficient de détermination présent des valeurs comprise entre la fourchette standard [0.7_1] pour une relation robuste.

Au bout de 24 heures, à base de l'extrait acétonique, pour avoir tué 25% de la population on a besoin de 58.88µl/L et 74.13µl/L pour tuer 50% de la population, et une importante dose pour avoir éradiquer 90% de l'effectif étudié. Il parait que l'extrait hexanoïque est le moins efficace pour tuer 25% ,50% de la population parce que nécessite respectivement des doses élevées 77.62% ; 87.09%. Le meilleur extrait

qui cause la mort de 25% ,50% et 90% a de très faible dose était l'éthanol qui sont respectivement 73.50% ; 67.60% et 85.11%.

4.1.2 Détermination temps létaux

Tableau 14 : – Temps léthal 50 et 90 des extraits organiques du *Citrus sinensis* (probits en fonction du temps).

Extrait	Dose	Equation de régression	R ²	TL ₂₅	TL ₅₀	TL ₉₀
Acétonique	50	Y=3,1487x-0,2968	0,9999	28,84	47,86	*
	60	Y=3,5612x-0,7699	0,9985	26,91	39,81	95,49
	70	Y=3,1187x+0,1301	0,9814	21,87	36,30	93,32
	80	Y=3,6253x-0,3385	0,949	19,05	29,51	66,06
	90	Y=2,6102x+1,9917	0,9824	7,76	14,12	43,65
	100	Y=3,914x+1,814	0,9777	6,45	10,71	27,54
Hexanoïque	50	Y=4,8345x-4,0878	0,8981	54,95	74,13	*
	60	Y=3,7643x-1,9646	0,9871	46,77	70,79	*
	70	Y=1,7688x+1,9007	0,9362	23,98	56,23	*
	80	Y=3,2458x-0,166	0,793	23,44	38,90	95,49
	90	Y=2,6606x+1,2872	0,9757	13,80	24,54	74,13
	100	Y=2,7355x+1,3326	0,939	12,30	21,87	63,09
Ethanolique	50	Y=2,4431x+0,1581	0,9995	50,11	95,49	*
	60	Y=3,0519x-0,2227	0,9651	30,90	51,28	*
	70	Y=2,4912x+1,4477	0,9747	14,12	26,30	87,09
	80	Y=3,5058x+0,8415	0,8177	9,77	15,13	35,48
	90	Y=3,3719x+1,5994	0,8724	6,30	10	23,92

* : Mortalité égale à 100%.

Les résultats mentionnés dans le (Tab.14) indique la même cinétique de mortalité de mortalité en fonction de la dose de l'extrait que ce soit leur nature augmente le temps de létalité réduit, les valeurs de R² sont supérieures à 0.80 pour tous les essais effectués. Temps létales TL₂₅ TL₅₀ et TL₉₀, varie selon les doses et la nature des extraits.

On remarque que le meilleur extrait à faible dose 50% en temps réduite c'est l'acétone, car il peut éradiquer 25% au bout de 28heures et 50% de la population au bout de 47 heures Néanmoins, l'éthanol apparait comme le meilleur solvant qui tué à fort dose 100% 25% ;50% et 90% pour 100% de mortalité de la population.

Pour, l'extrait éthanoïque, au bout de 3h il y a 25% de mortalité, alors en peut 6h et 12h pour voire le même taux de mortalité pour l'extrait acétonique et hexanoïque respectivement.la même constatation est observée pour avoir une mortalité de 50% et 90%.

4.1.3 Effet toxique des extraits poly-phénoliques d'orange :

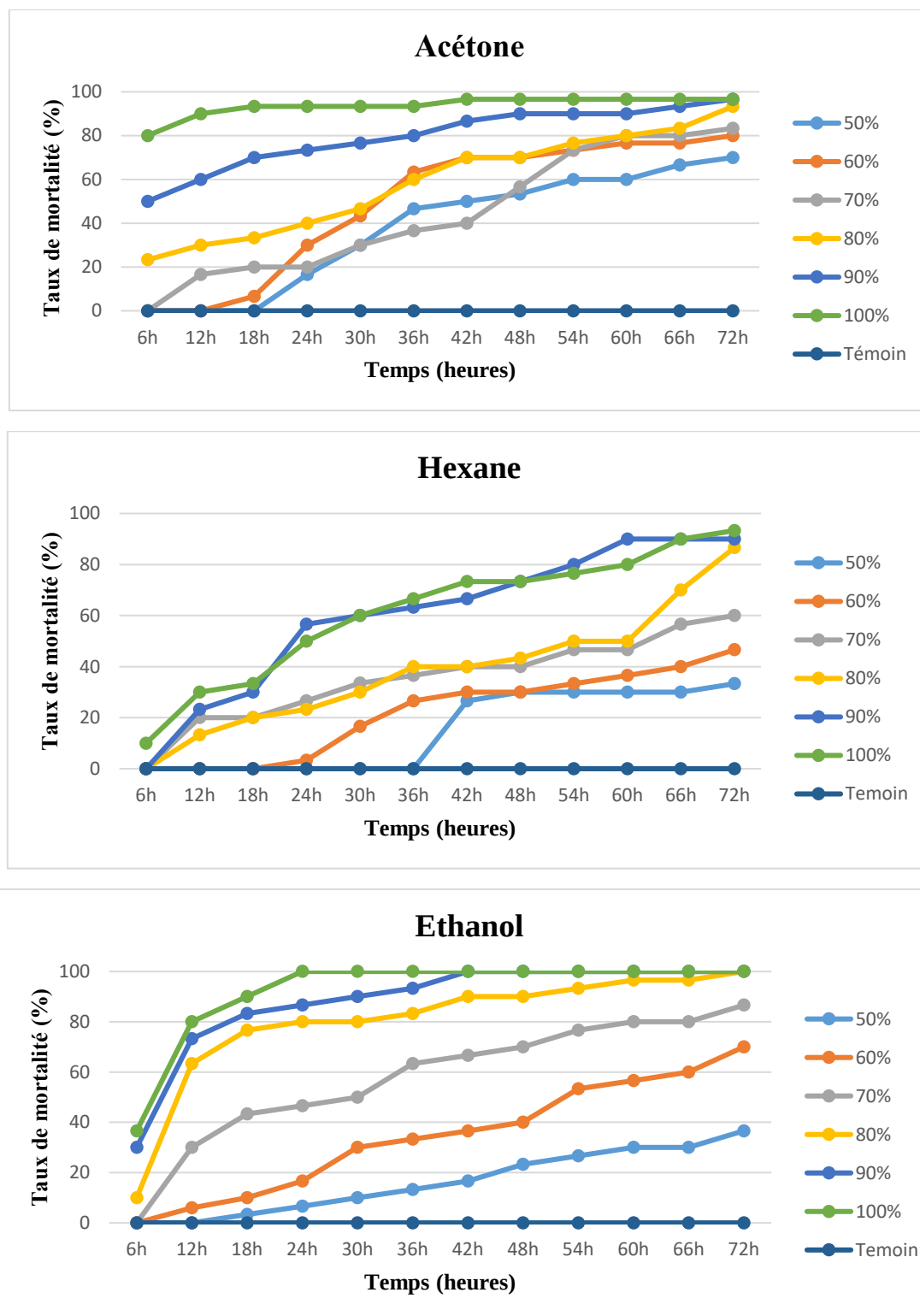


Figure34 : Effet toxique des extraits polys phénoliques du *Citrus sinensis* à base de trois solvants (Hexane, Ethanol et Acétone)

Les résultats de l'effet toxique des extraits polys phénoliques de *Citrus sinensis* sur la survie des larves de moustique stade L4 varie d'un solvant à un autre et d'une concentration a une autre.

La figure 34 montre que, toutes les concentrations utilisées pour l'extrait acétonique et hexanoïque n'atteignent pas taux de mortalité 100 %.

Le taux de mortalité 100% apparaît uniquement pour le solvant éthanol à 90% ; 100% après la 42^{-ème} et la 24^{ème} heures respectivement.

4.2 *Citrus reticulata*

4.2.1 Détermination doses létales

Les doses létales en classe de temps (24 h, 48 h et 72 h) pour les extraits acétonique, hexanoïque et éthanolique de sont résumées aux niveaux des tableau 14.

Tableau 15 : Dose létale 25, 50 et 90 des extraits organiques du *Citrus reticulata* (probits en fonction du temps).

Extrait mandarine	Durée d'exposition	Equation de régression	R ²	DL ₂₅	DL ₅₀	DL ₉₀
Acétonique	24h	Y=6,0206x-7,0299	0,9815	75,85	97,72	*
	48h	Y=5,2923x-5,615	0,9851	46,56	85,11	*
	72h	Y=6,1545x-6,2577	0,9718	51,28	66,06	*
Hexanoïque	24h	Y=7,616x-9,3911	0,9183	63,09	75,85	*
	48h	Y=10,648x-13,749	0,8825	48,97	75,54	75,85
	72h	Y=8,1221x-8,6455	0,9094	38,90	47,86	67,80
Ethanolique	24h	Y=11,944x-17,191	0,8463	61,65	70,79	89,12
	48h	Y=12,289x-17,047	0,8866	53,70	61,65	77,62
	72h	Y=11,221x-14,833	0,907	50,11	57,54	75,85

* : Mortalité égale à 100%.

Les larves de *Culiseta longiareolata* exposés pendant 24h,48h et 72h aux trois extraits organiques présentent des moyennes de mortalités corrélées aux dose utilisées. Les valeurs R² coefficient de détermination sont supérieur a 0.8 pour tous les essais effectués.

Au bout de 24 heures La mortalités des larves de *Culiseta longiareolata* après le traitement avec l'extrait acétonique révèle que les valeurs de DL₂₅, DL₅₀ correspondantes sont 75.85% et 97.72%. Alors que l'utilisation de l'extrait hexanoïque montre que les valeurs de DL₂₅, DL₅₀ correspondantes sont 63.09% ; 75.85%. On a besoin une importante dose pour tuer 90%de la population pour les deux extraits acétonique et hexanoïque. Quant, a l'extrait éthanolique les valeurs DL₂₅, DL₅₀et DL₉₀ sont 61,65% ;70.90% et 89.12%. Donc, l'extrait éthanolique est généralement le plus efficace, suivi de l'extrait acétonique, l'extrait hexanoïque étant le moins efficace.

4.2.2 Détermination temps létaux

Tableau 16 : Temps léthal 25, 50 et 90 des extraits organiques *citrus reticulata* (probits en fonction du temps).

Extrait	Dose	Equation de régression	R ²	TL ₂₅	TL ₅₀	TL ₉₀
Acétonique	50	Y=1,8188x+0,6739	0,9995	100	NE	*
	60	Y=2,6574x-0,2296	0,9066	51,28	91,20	*
	70	Y=2,052x+1,1356	0,96644	35,48	75,85	*
	80	Y=1,7875x+2,0411	0,9189	18,62	44,66	*
	90	Y=1,7896x+2,2252	0,919	14,79	35,48	*
	100	Y=2,3875x+1,5271	0,8377	14,79	28,18	97,72
Hexanoïque	50	Y=4,5213x-3,0933	0,9912	43,65	61,65	*
	60	Y=2,9157x+0,281	0,9914	23,98	40,73	*
	70	Y=2,0747x+2,1383	0,9999	11,22	23,44	97,72
	80	Y=2,936x+0,9749	0,9572	13,80	23,44	63,09
	90	Y=5,5246x-2,2406	0,8724	15,13	20,41	34,67
	100	Y=4,0154x+0,4514	0,8724	9,12	13,48	28,18
Ethanolique	50	Y=1,7909x+1,2279	0,988	52,48	*	*
	60	Y=2,0793x+0,8842	0,9704	44,66	93,32	*
	70	Y=3,2455x-0,3708	0,9635	27,54	35,48	*
	80	Y=1,5793x+3,115	0,9034	5,75	15,48	*
	90	Y=1,661x+4,6512	0,8724	2,88	5,37	1,73
	100	Y=1,661x+4,6512	0,8724	1,25	1,58	9,54

* : Mortalité égale à 100%.

Les résultats mentionnés dans le (Tab.15) indique la même cinétique de mortalité de mortalité en fonction de la dose de l'extrait que ce soit leur nature augmente le temps de létalité réduit, les valeurs de R² sont supérieures à 0.80 pour tous les essais effectués. Temps léthal TL₂₅ TL₅₀ et TL₉₀, varie selon les doses et la nature des extraits.

On remarque que le meilleur extrait à faible dose 50% en temps réduite c'est l'hexane, car il peut éradiquer 25% au bout de 43heures et 50% de la population au bout de 61heures Néanmoins, l'éthanol apparait comme le meilleur solvant qui tué à fort dose 100% 25% ;50% et 90% pour 100% de mortalité de la population.

4.2.3 Effet toxique des extraits polys phénoliques de la Mandarine

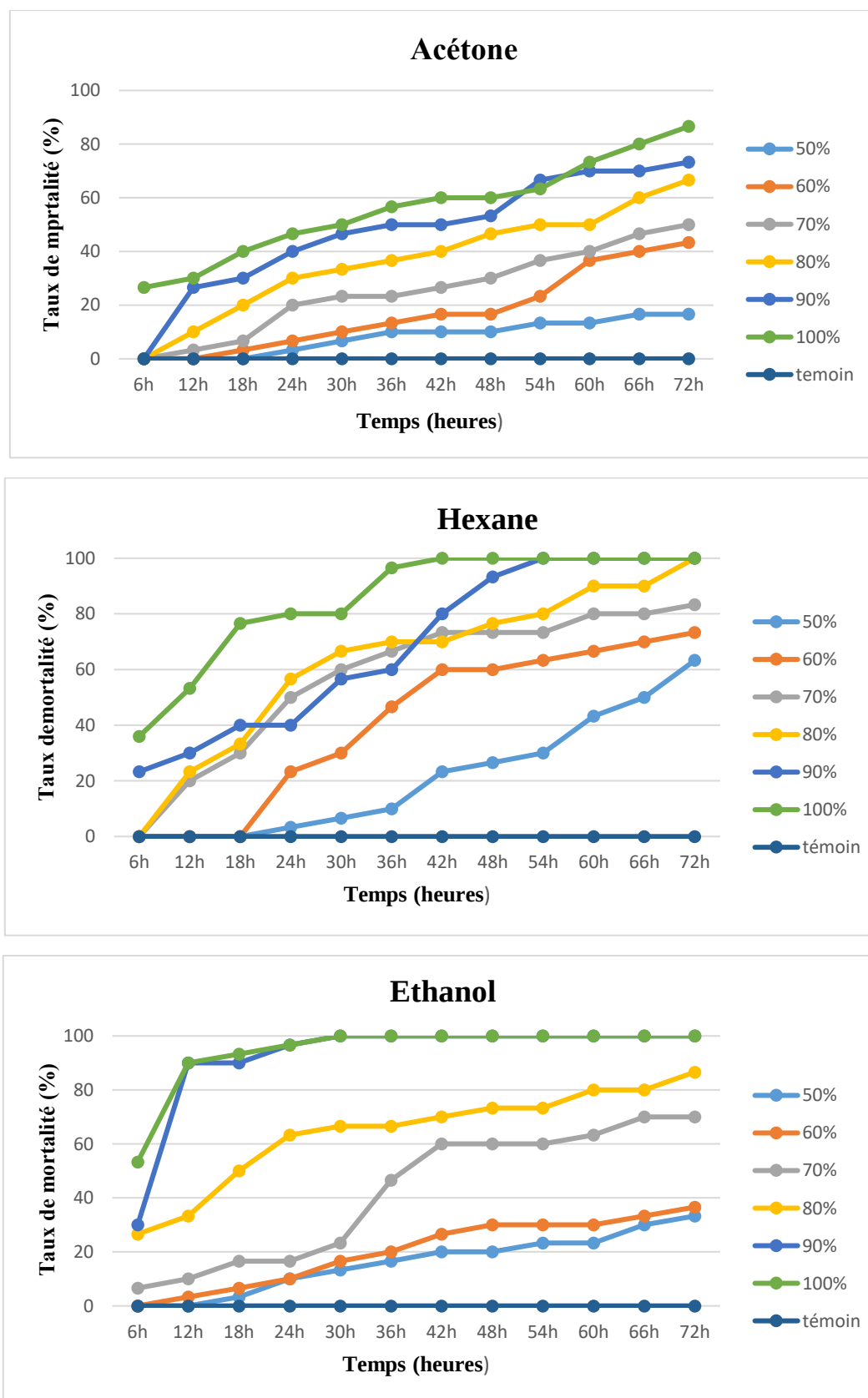


Figure35 : Effet toxique des extraits polys phénoliques du *citrus reticulata* à base de trois solvants (Hexane, Ethanol et Acétone)

L'effet toxique des extraits polys phénoliques de l'écorce de *Citrus reticulata* fait montrer des taux de mortalités ont été enregistrés pour les trois solvants extractifs, mais à des concentrations différentes et dans des intervalles de temps assez différents aussi.

Pour l'extrait acétonique nous avons observé que pendant les premiers 6 heures 0% de mortalité des larves ont été enregistrée pour les concentrations 50% ; 60% ; 70% ; 80% ; 90%. Cependant la forte concentration 100% a entraîné un taux de mortalité égale à 86.6 % après 72 heures. Alors, pour l'extrait éthanolique et hexanoïque le taux 100% de mortalité devient précoce, apparaît aux mêmes concentrations 90% ; 100%. C'est l'éthanol qui présente 100% de mortalité plus précoce après 30 heures.

4.3 *Citrus limon*

4.3.1 Détermination doses létales

Les doses létales en classe de temps (24 h, 48 h et 72 h) pour les extraits acétonique, hexanoïque et éthanolique de sont résumées aux niveaux des tableau 16.

Tableau 17 : Dose létale 25, 50 et 90 des extraits organiques du *citrus limon* (probits en fonction du temps).

Extrait	Durée d'exposition	Equation de régression	R ²	DL ₂₅	DL ₅₀	DL ₉₀
Acétonique	24h	Y=6,0206x-7,0299	0,9726	61,65	72,44	*
	48h	Y=5,2923x-5,615	0,884	52,84	58,88	72,44
	72h	y=6,1545x-6,2577	0,9228	45,70	52,48	69,18
Hexanoïque	24h	Y=7,616x-9,3911	0,8106	*	*	*
	48h	Y=10,648x-13,749	0,8965	85,11	*	*
	72h	Y=8,1221x-8,6455	0,9601	79,43	*	*
Ethanolique	24h	Y=11,944x-17,191	0,8998	52,48	60,25	77,62
	48h	Y=12,289x-17,047	0,9215	44,66	52,48	70,79
	72h	Y=11,221x-14,833	0,889	40,73	47,86	66,06

* : Mortalité égale à 100%.

D'après les résultats obtenus dans le tableau 16 on remarque que les valeurs de R² coefficient de détermination sont comprise dans l'intervalle critique , on observe que l'extrait acétonique est généralement le plus efficace, suivi de l'extrait éthanoliques, l'extrait hexanoïque étant le moins efficace

4.3.2 Détermination temps létaux

Tableau 18: Temps léthal 25, 50 et 90 des extraits organiques *citrus limon* (probits en fonction du temps).

Extrait Citron	Dose	Equation de régression	R ²	TL ₂₅	TL ₅₀	TL ₉₀
Acétonique	50	Y=2,0356x+0,7211	0,999	58,88	*	*
	60	Y=2,5771x+0,3749	0,8292	33,88	61,65	*
	70	Y=3,2866x+0,029	0,9991	19,95	32,35	79,43
	80	Y=5,1416x-1,5575	0,8724	13,80	18,62	33,11
	90	Y=3,7163x+0,985	0,8724	7,76	12,02	26,30
	100	Y=3,671x+1,0658	0,8724	7,58	11,74	26,30
Hexanoïque	50	Y=1,5354x+0,2498	0,8809	*	*	*
	60	Y=3,1952x-1,9524	0,9858	91,20	*	*
	70	Y=1,1327x+1,9675	0,9926	*	*	*
	80	Y=1,269x+2,0144	0,8724	*	*	*
	90	Y=1,1249x+2,4945	0,9999	41,62	*	*
	100	Y=1,4848x+1,9929	0,9992	37,15	*	*
Ethanolique	50	Y=1,7858x+1,8388	0,9694	24,54	58,88	*
	60	Y=1,6031x+2,5112	0,8892	13,48	35,48	*
	70	Y=0,9692x+4,1937	0,9943	11,51	18,76	*
	80	Y=3,7392x+0,4251	0,8507	10,96	16,59	36,30
	90	*	*	*	*	*
	100	*	*	*	*	*

* : Mortalité égale à 100%.

D'après le tableau 17 on remarque que l'extrait acétonique diminue avec l'augmentation de la dose ce qui suggère que des concentrations les plus élevées sont les plus efficaces pour atteindre une létalité plus rapidement semble être le plus efficace, suivi par l'extrait éthanoliques puis le moindre extrait c'est l'hexane

Effet toxique des extraits poly phénoliques de Citron

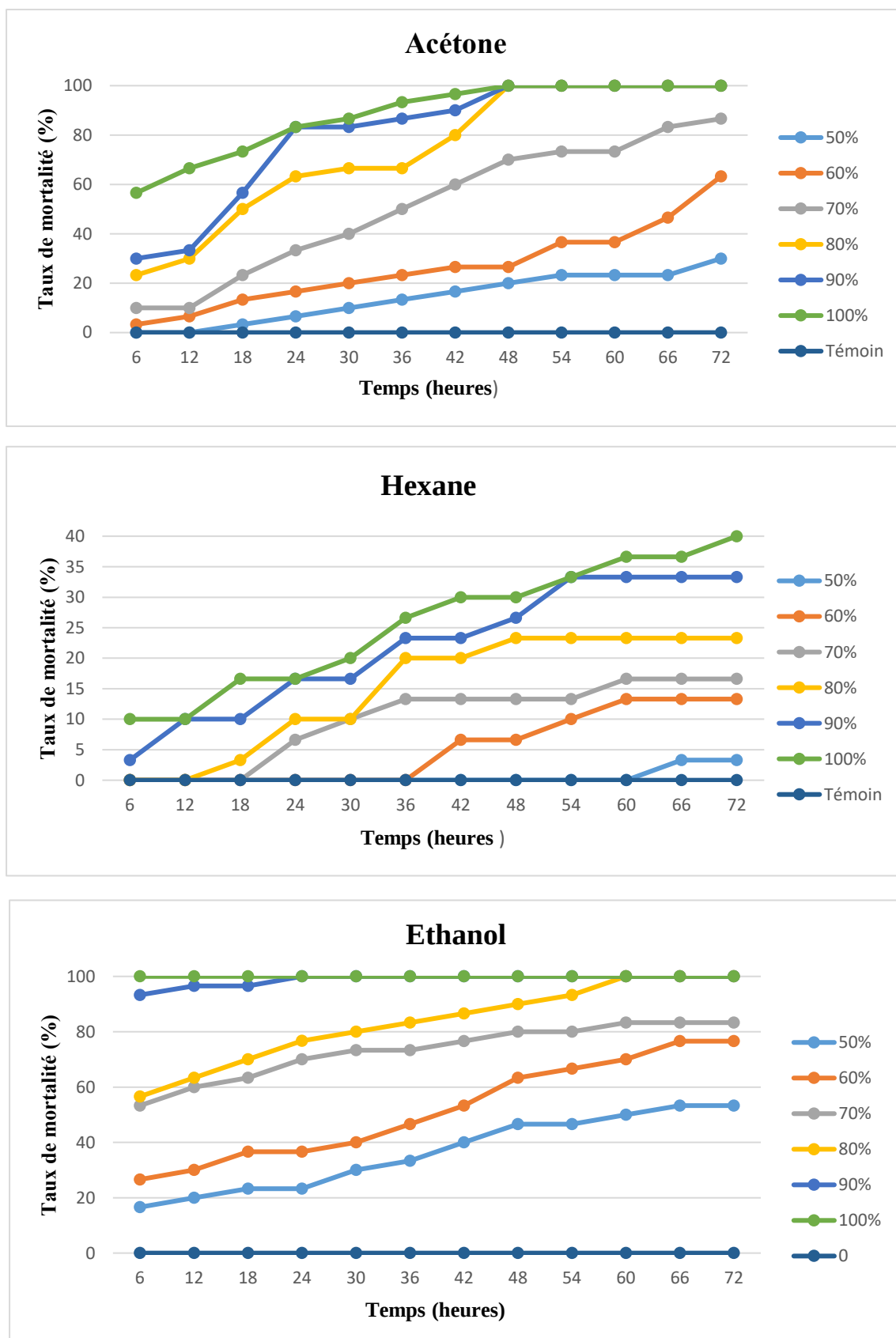


Figure36 : Effet toxique des extraits poly phénoliques de *Citrus limon* à base de trois solvants (Hexane, Ethanol et Acétone).

La figure 36 montre l'évolution de toxicité des extraits acétonique, hexanoïque et éthanoliques a différents concentrations en fonction de temps l'explication des résultats comme suit :

On observe que la plus faible concentration 50% de l'extrait acétonique commence avoir un effet sur les larves de 12^{ème} heures, ou on a enregistré la mort de 3,3% de l'effectif étudié. Ce taux n'a augmenté que très légèrement pour atteindre son maximum de 30% de mortalité à la 72^{ème} heures. Cependant les concentrations (60% ;70), ont entraîné une mortalité de 63,3% ;86,6% respectivement à la 72^{ème} heures. Nous avons également noté que les plus fortes concentrations (80 % ; 90% ; 100) ont causé une mortalité de 100% à la 48^{ème} heures.

D'après, les résultats de l'effet toxique de l'extrait on remarque que la concentration 50% montre une mortalité de 50% après 60 heures d'exposition. À partir de 100% de concentration de l'extrait, le taux de mortalité des larves L4 était 100% au bout des 6 heures.

L'étude comparative des extraits larvicide des trois solvants montre que l'éthanol représente le meilleur bio-insecticide suivi par l'acétone.

Et enfin, hexane qui ne dépasse pas les 40%de létalité quel que soit le temps de l'exposition.

4.4 Syzgium aromaticum

4.4.1 Effet toxique des extraits poly-phénoliques du *Syzgium aromaticum*

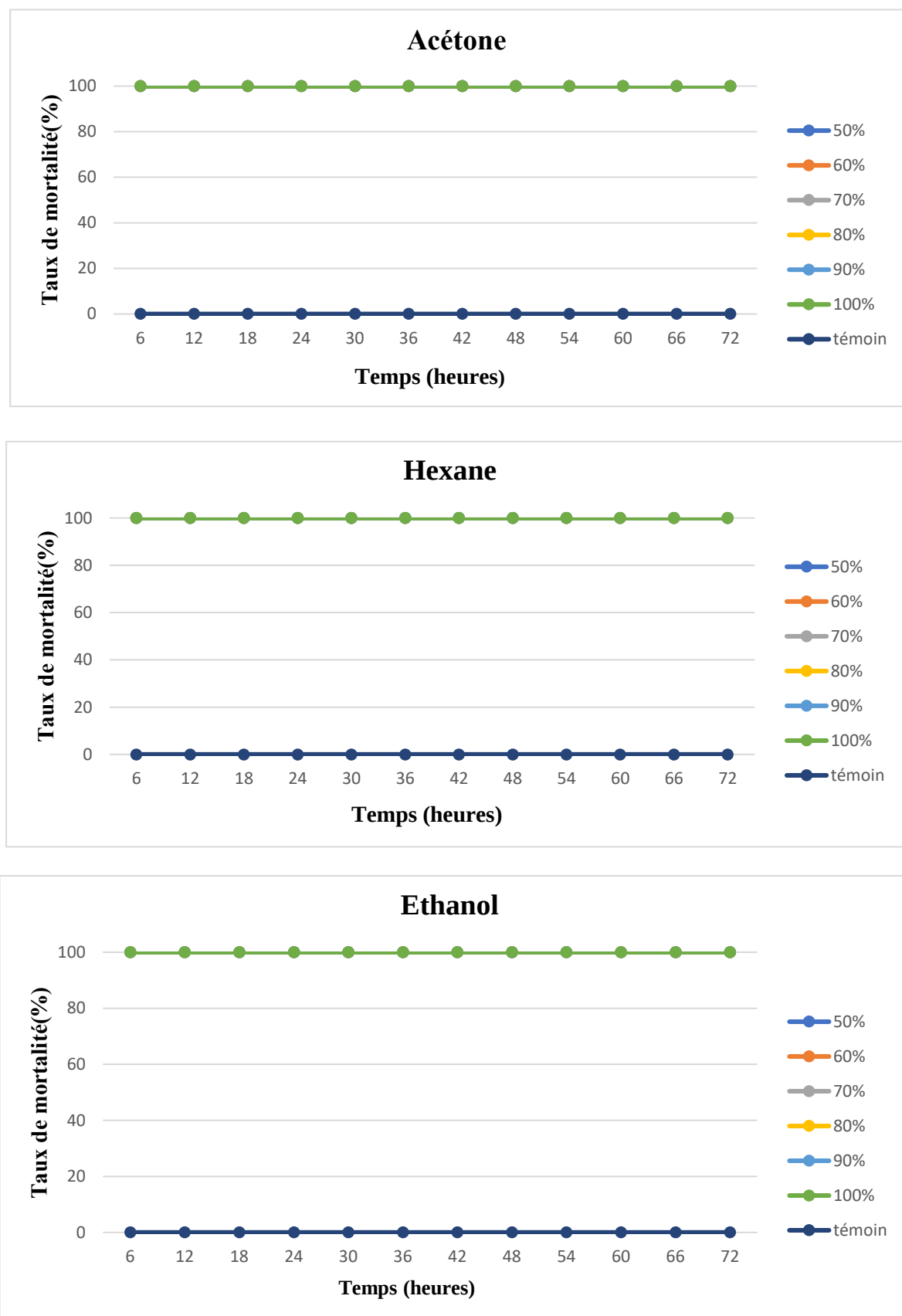


Figure 37 : Effet toxique des extraits poly phénoliques de *Syzgium aromaticum* a base de trois solvants (Acétone, Hexane et Ethanol)

D'après la figure 37 on constate que les extraits de *Syzygium aromaticum* sont très efficaces contre les larves de moustique. Donc que ce soit la concentration appliquée dans le test larvicide et la nature du solvant on a un taux de létalité de 100% dans les premières heures (avant 6 heures). Nous n'avons noté aucune mortalité dans les lots de témoins.

5. Comparaison de l'efficacité des quatre plantes

5.1 Comparaison des huiles essentielles des quatre plantes

Les taux de mortalité des larves de *Culiseta longiareolata* sont représentés dans la figure 38. Ces taux correspondent à la mortalité enregistrée après 24 heures pour les quatre plantes médicinales en utilisant les concentrations suivantes : 10 µl/L ; 20 µl/L ; 40 µl/L ; 80 µl/L ; 160 µl/L.

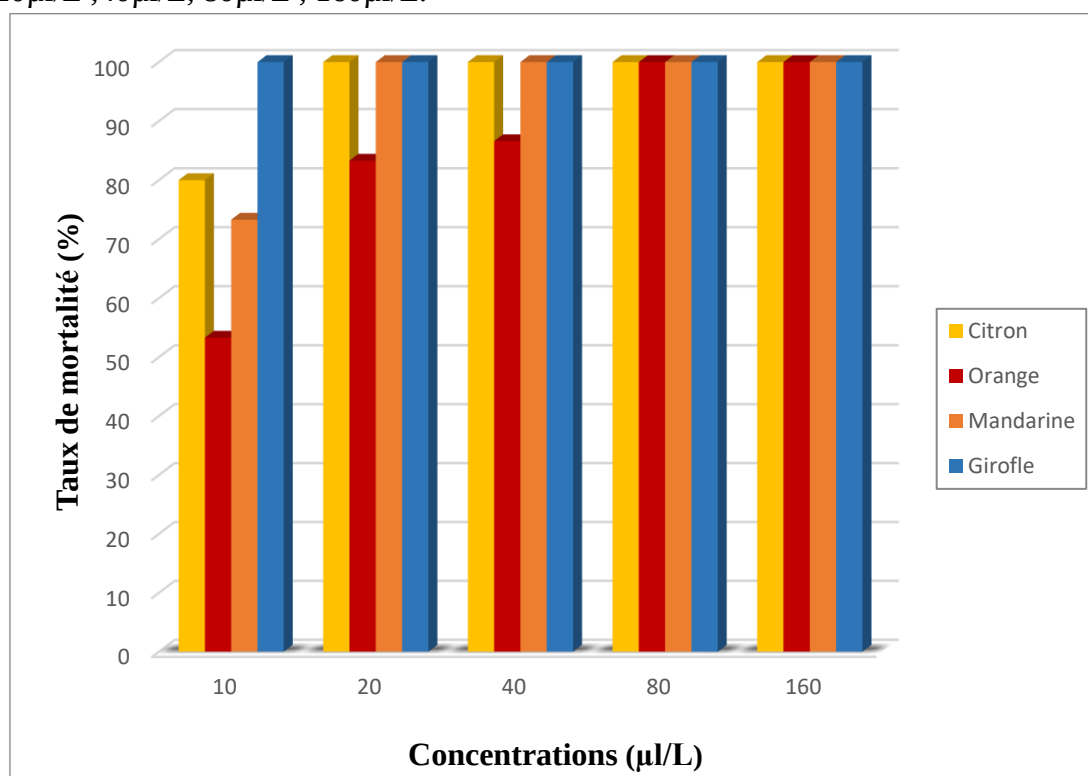


Figure 38 : Comparaison effet de quatre huiles essentielles du *Citrus limon*, *Citrus reticulata*, *Citrus sinensis* et du *Syzygium aromaticum*.

Le taux de mortalité des larves du 4^{ème} stade traitées par les huiles essentielles varie entre 53.3 % et 100 %. Après 24 heures de traitement, les huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* montrent une toxicité importante sur les larves L4 avec une mortalité 100% pour toutes les doses. De même pour les huiles de *C. limon* et *C. reticulata* révèlent

une mortalité de 100% avec la dose 20 μ l/L . Huile de *C.sinensis* montre une mortalité de 100 %avec la dose 80 μ l/L

5.2 Les extraits acétoniques

Les taux de mortalité des larves de *Culiseta longiareolata* sont représentés dans la figure... Ces taux correspondent à la mortalité enregistrée après 24 heures pour les quatre plantes médicinales en utilisant les concentrations suivantes :50% ; 60% ; 70% ; 80% ;90% ; 100%.

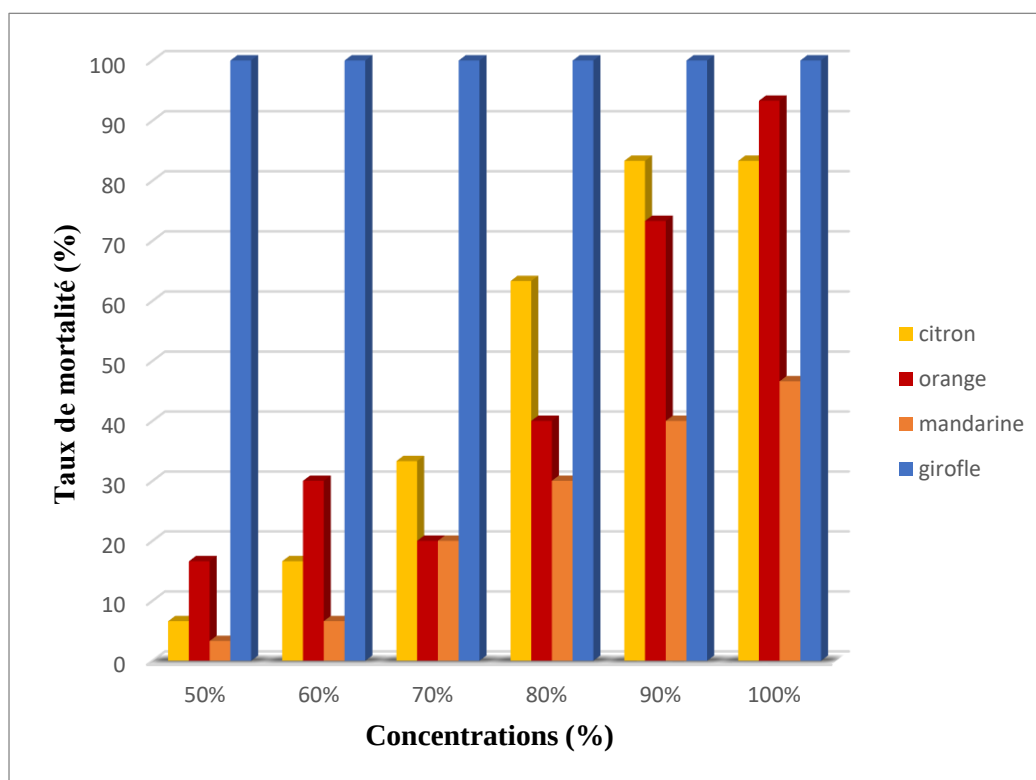


Figure 39 : Comparaison effet des extraits acétoniques du *Citrus limon*, *Citrus reticulata*, *Citrus sinensis* et du *Syzygium aromaticum*.

D'après la figure 39 nous remarquons que l'extrait acétonique *Syzygium aromaticum* est plus efficace que celui l'extrait des trois plantes utilisées. Et ce pour toutes les concentrations l'effet des concentrations (50% ; 60% ; 100%) est légèrement plus importantes chez *Citrus sinensis*. Mais à partir de 70%, l'extrait acétonique de *Citrus limon* devient plus efficace que celui de *C. sinensis* et *C. reticulata*.

5.3 Les extraits hexanoïques

Les taux de mortalité des larves de *Culiseta longiareolata* sont représentés dans la figure 40. Ces taux correspondent à la mortalité enregistrée après 24 heures pour les

quatre plantes médicinales en utilisant les concentrations suivantes : 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%.

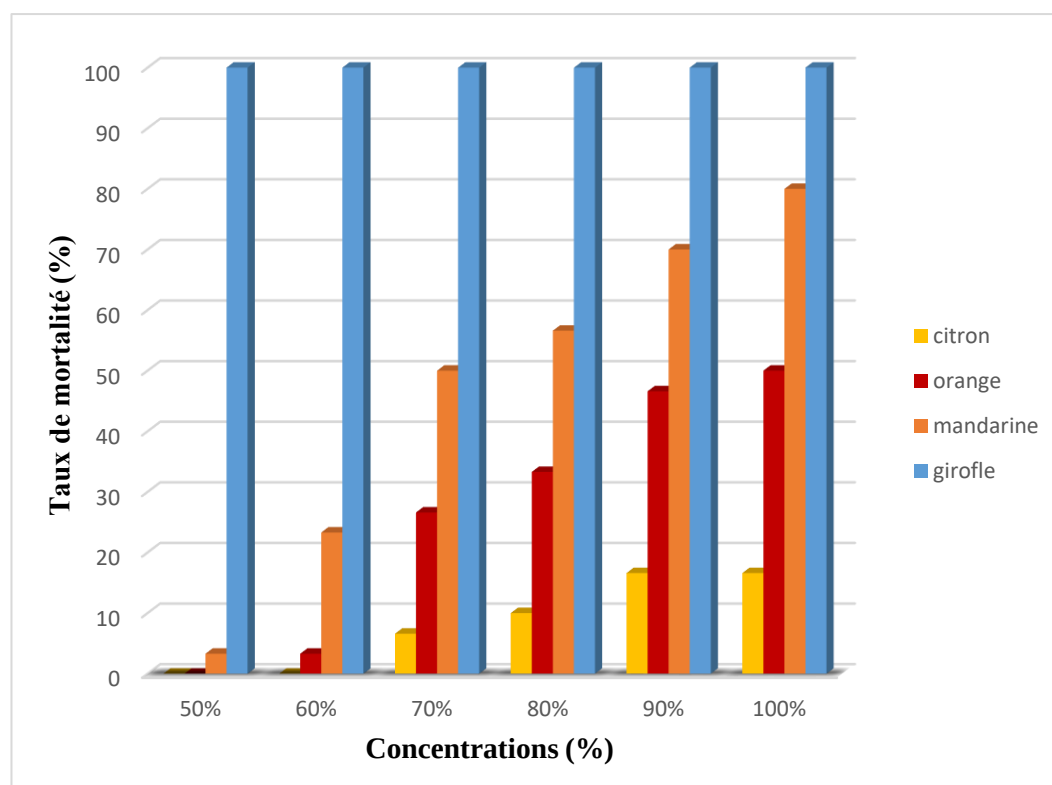


Figure 40 : Comparaison effet des extraits hexanoïques du *Citrus limon* , *Citrus reticulata*, *Citrus sinensis* et du *Syzygium aromaticum*.

D'après les résultats obtenus sur la comparaison de l'effet de l'extraits hexanoïques du quatre plantes.

On remarque que l'effet de l'extrait hexanoïque du *Syzygium aromaticum* apparaît élevé à toutes les concentrations, alors que l'effet de l'extrait du *Citrus reticulata* apparaît augmente de la concentration la plus faible à la plus élevée. Nous avons également noté que la concentration la plus faible (50 %) n'avait aucun effet pour l'extrait du *Citrus limon* et du *citrus sinensis*, à partir de la concentration (60%), l'effet augmente progressivement.

5.4 Les extraits éthanoliques :

Les taux de mortalité des larves de *Culiseta longiareolata* sont représentés dans la figure 41. Ces taux correspondent à la mortalité enregistrée après 24 heures pour les quatre plantes médicinales en utilisant les concentrations suivantes : 50% ; 60% ; 70% ; 80% ; 90% ; 100%.

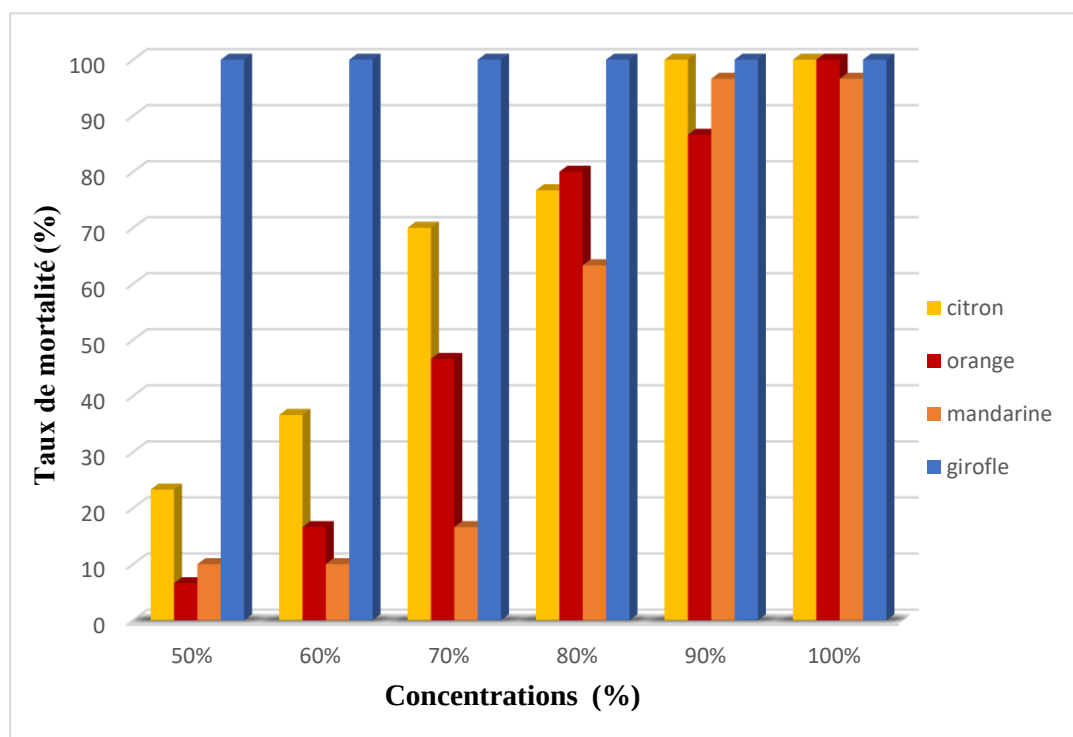


Figure 41 : Comparaison effet des extraits éthanoliques du *Citrus limon*, *Citrus reticulata*, *Citrus sinensis* et du *Syzygium aromaticum*.

La figure 14 montre que l'extrait qu'a le meilleur effet larvicide est celui de *Syzygium aromaticum* avec toutes les concentrations utilisées engendré un taux de mortalité 100%. L'extrait de *Citrus limon* montre un taux de mortalité 100% avec la concentration de (90% ; 100%), celui de *Citrus sinensis* a révèlè 100 % de mortalité (concentration =100%), puis l'extrait de *Citrus reticulata* enregistré un taux de 96.6% de mortalité avec la même concentration.

Discussion :**Comparaison de rendement :**

Les résultats de cette étude montrent que le rendement des HEs et différents extraits organiques se varie en fonction de la polarité de solvant d'extraction utilisé et même en fonction de la technique d'extraction utilisée. **D'après Kemassi *et al* (2018) et Do *et al* (2014)**, plusieurs facteurs influent sur le rendement d'extraction tels que l'espèce végétale, le cycle végétatif de la plante, l'organe utilisé, le solvant utilisé, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition phytochimique de l'échantillon lui-même. La polarité du solvant organique a une influence importante sur le rendement des extraits organiques des plantes. La solubilité de plusieurs composants phytochimiques diffère d'un solvant organique à l'autre (**Turkmen *et al*, 2006 ; Atik et Mohammedi, 2011 ; Koruthu *et al*, 2011 ; Bendif, 2017**).

Par comparaison de nos résultats avec ceux des travaux antérieurs, nous avons constaté que nos rendements (0,18%) sont comparables à ceux cités dans la littérature. En effet, **Khan *et al.*, 2012** rapportent un rendement très faible de l'ordre de 0,04%. De même, **Minh Tu *et al.*, (2002)** avancent une teneur (0,25%) comparable à nos résultats. **Lota *et al.*** En 2000 et en 2001 rapportent également des teneurs faibles, de plusieurs échantillons d'huile essentielle du zeste de *C. reticulata* récoltés en Corse, variant entre 0,05 et 0,60%. De même, **Sawamura *et al.* (2004)** avancent une teneur de l'ordre de 0,53%. En revanche, selon, une étude rapportée par **Bourgou *et al.* (2012)**, l'écorce de *Citrus reticulata* originaire de Tunisie est très riche en huile essentielle, avec un rendement largement supérieur à nos teneurs, de l'ordre de 2,70% avant maturité et 1,30% en pleine maturité des fruits.

Par comparaison de nos résultats avec les données de la littérature, nous avons constaté que nos rendements (0,13) sont comparables à ceux cités dans les travaux antérieurs. En effet, ils rapportent des rendements variants entre 0,13 et 0,58% (**Minh Tu *et al.*, 2002 ; Ferhat *et al.*, 2006 ; Khan *et al.*, 2012 ; Djenane *et al.*, 2015 ; Ben Miri *et al.*, 2018 ; Aboudaou *et al.*, 2019**). En revanche, certains auteurs avancent des rendements largement supérieurs aux nôtres. Ainsi, **Blanco-Tirado *et al.* (1995)**, ont obtenu une teneur en huile essentielle du zeste de *Citrus sinensis*, de l'ordre de 0,71%.

En 2006, Ahmad *et al.*, rapportent des teneurs plus importantes de l'ordre de 0,98 et 1,21% pour deux variétés de *C. sinensis*. Une étude réalisée par Hosni *et al.* En 2010 qui a travaillé sur plusieurs variétés de *Citrus sinensis*, a montré que les rendements sont très élevées, allant de 1,49 à 2,31%. Ils rapportent également que la variété Meski est la plus riche en huile essentielle, avec une teneur de l'ordre de 2,31%. En revanche, Njoroge et al., 2009, rapportent des rendements très faibles de l'ordre de 0,06 et 0,05% de deux échantillons originaires de Uganda et Rwanda, respectivement. De même, Sawamura *et al.*, 2005 rapportent également des teneurs très faibles variant entre 0,01 et 0,06%, obtenus à partir de l'écorce de 4 variétés de *Citrus sinensis*.

Activité insecticide :

Les huiles extraites des écorces de *C. sinensis* et *C. reticulata* testées sur les larves et les adultes de *T. castaneum* par contact, ont donné des CL50 respectives de 58,31 µl et de 45,46 µl, 24 heures après traitement (Muhammad et al., 2013). Pour nos résultats ont donné pour *citrus sinensis* des DL50 respectives de 8,51 µl et de

L'activité insecticide de l'huile essentielle de clou de girofle a été testée à différentes doses (8, 10, et 12 µl/10g de son de blé) sur les larves et les adultes de *Tenebrio molitor*. Les résultats obtenus montrent que l'effet de l'huile essentielle de *syzygium aromaticum* sur les larves de *Tenebrio molitor* sont avérées être plus toxiques avec une DL50 de 14,98 µl 10g son de blé et TL50 de 2,79 jours comparativement avec l'effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur les adultes *Tenebrio molitor* qui présente une DL50 de 17,74 µl/10g son de blé de et un TL50 de 4,02 jours (Hassaine, 2021), Nos résultats obtenu mortalité 100% à faibles doses et les premiers heurs.

Conclusion

Conclusion

Conclusion et perspectives :

La présente étude entre dans le cadre de valoriser les substances naturelles d'origine végétales. Le girofle, le citron, et la mandarine se sont les principales plantes qui font l'objet de cette étude.

Nous avons testé le pouvoir larvicide des extraits :

Les huiles essentielles et composés phénoliques de ces quatre plantes :

Les résultats obtenus ont permis de ces conclusions suivantes

- Les quatre plantes sont riches en huiles essentielles et composés phénoliques mais avec de concentration différente
- Chaque plante présente une réponse vis-à-vis au solvant extractif selon leur polarité.
- Le girofle représente le meilleur rendement parmi les plantes expérimentées.
- Toujours le girofle était excellent insecticide à de très faible concentration et dans un court laps de temps.
- Huile essentielle de la mandarine était le meilleur insecticide par rapport aux agrumes.
- L'estimation de DL_{50} = 8,51 et DL_{90} = 70,29 fait montre une gamme d'efficacité par plante utilisée (*Citrus sinensis*).
- L'estimation de TL_{50} = 20,08 et TL_{90} = 58,79 montre qu'une gamme d'efficacité par plante utilisée (*Citrus sinensis*).

Les résultats prometteurs obtenus dans cette étude ouvrent la voie à plusieurs perspectives de recherche et d'application pratique.

- 1 Optimisation des méthodes d'extraction .
- 2 Évaluation de l'efficacité à long terme .
- 3 Études de toxicité et de sécurité .
- 4 Poursuivre les recherches pour élucider les mécanismes d'action des composés bioactifs présents dans les extraits d'orange, mandarine, le citron et girofle . Une compréhension plus approfondie de ces mécanismes pourrait conduire à l'amélioration des formulations insecticides et à la découverte de nouveaux agents bioactifs.
- 5 Étudier l'acceptabilité sociale et culturelle de l'utilisation des extraits de plantes dans la gestion des nuisibles, en impliquant les communautés locales et les agriculteurs dans les processus de développement et de mise en œuvre.

Références bibliographie

Référence bibliographie

Référence bibliographie

A

Aboudaou, M., Ferhat, M. A., Hazzit, M., Ariño, A., & Djenane, D. (2019). Solvent free microwave green extraction of essential oil from orange peel (*Citrus sinensis* L.): effects on shelf life of flavored liquid whole eggs during storage under commercial retail conditions. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(4), 3162-3172.

Afnor, association français de normalisation française : huile essentielle, Ed, Afnor, Paris. 2000

ALYAT M.S.2012, Bio écologie, position taxonomique et compétence vectorielle du complexe *Culex pipiens* (Diptera ;Culicidae)responsable de la transmission du virus W est Nile et du virus de la fièvre de la vallée du Rift en Algérie ,département de biologie, Faculté des sciences ,Thèse magistère Université badji Mokhtar-Annaba

Atmani H., Baira K. Mise en évidence de l'activité antibactérienne et antifongique et l'étude des caractères Physico-chimique de l'huile essentielle du clou de girofle *Syzygium aromaticum* L.[en ligne]. Biologie et physiologie végétale. Algerie: Université Frères Mentouri 1 Constantine, 2015, 86 p

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

Barbault R., 2000. Ecologie générale, structure et fonctionnement de la biosphère, 5^{ème} édition, Dunod. 326 p.

Barboni T. (2006) Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse de doctorat. Université de Corse Pascal Paoli.

Référence bibliographie

BAWIN T., SEYE F., BOUKRAACS., ZIMMZER J., DELVIGNE F. ET FRANCIS F (2014) ,La lutte contre des moustiques (Diptera : Culicidae) : diversité approches et application du contrôles biologique .P50.

BECKER, N., ET ASCHER, K. R. S. (1998). The use of *Bacillus thuringiensis* (Bt) against mosquitoes, with special emphasis on the ecological. *Journal of Entomology*, 32, 63-69.

Ben Miri Y., 2019- Etude du potentiel antifongique, anti aflatoxinogène et antioxydant de certaines huiles essentielles et leur efficacité dans le système alimentaire. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou. 192p.

Ben Miri, Y., Arino, A., & Djenane, D. (2018). Study of antifungal, anti-aflatoxigenic, antioxidant activity and phytotoxicity of Algerian Citrus limon var. eureka and Citrus sinensis var. valencia essential oils. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(2), 345-361

Benayad N., (2008). Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines. Université Mohammed V- Aqdal de rabat. Laboratoire des substances naturelles de thermolyse. 63 p.

Bendif, H., Miara, M. D., Peron, G., Sut, S., Dall'Acqua, S., Flamini, G., & Maggi, F. (2017). NMR, HS-SPME-GC/MS, and HPLC/MS analyses of phytoconstituents and aroma profile of *Rosmarinus eriocalyx*. *Chemistry & Biodiversity*, 14(10), e1700248.

Berkani S., 2009. Application de l'outil SIG et télédétection à la cartographie de l'aléa feu de forêts : cas de la forêt Senelba Chergui série I et II (W. Djelfa), Mémoire de Master en Agronomie, Universités Ziane Achour - Djelfa, Algérie. 96 p.

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

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.

Référence bibliographique

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 académique en biochimie appliquée. Département de biologie cellulaire et moléculaire. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Echahide Hamma Lakhder D'el-oued. P90

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.

Bourgou, S., Rahali, F. Z., Ourghemmi, I., & Saïdani Tounsi, M. (2012). Changes of peel essential oil composition of four Tunisian citrus during fruit maturation. *The Scientific World Journal*, 2012(1), 528593.

Bruneton Jean , Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, techniques et documentation, 3e édition, 1999 (ISBN 2-7430-0315-4)

BRUNETON, 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, Edition technique et documentation, 3eme Edition Lavoisier .Paris p 585

Brunhes I., Rhaim A., Geoffroy B., Angel G. & Hervy J. P., 1999.- Les moustiques de l'Afrique méditerranéenne, Logiciel d'identification et d'enseignement, I.R.D.

Brunhes J., 1999. Culicidae du Maghreb. Description d'*Aedes* (*Ochlerotatus*), *Bisckraensis* sp. D'Algérie (Diptera, Nematocera). Bulletin de la société entomologique de France, 104 (1) : 25 - 30.

BRUNTON J., 2009- Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier, 4ème éd, Paris. 1292p.

C

C.D.L., 2000. La commission de développement local - Assises pour le développement de la Wilaya de Djelfa. 13p.

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

Référence bibliographie

mosquito *Culiseta longiareolata* Marquart (Diptera: Culicidae), Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters [En ligne]. 26:4, 350-355.

Chand P., Rana S., Singh A., 2020- A Review on citrus: Medicinal activity of Citrus X sinensis (orange). International Journal of Scientific Development and Research, Vol. 5 Issue. 8: 438-442.

Cherif R, 2020- Etude comparative des activités biologiques des extraits aqueux de deux plantes spontanées récoltées au Sahara Algérien. Thèse de Doctorat : Option d'Ecologie saharienne : Université de Ghardaïa

Chouitah.o .Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles, des feuilles de GLYCYRRHIZAGLABRA. [Thèse] : Biochimie : Université Oran. 2012.

Clements A.N. 2001. The biology of mosquitoes: development, nutrition and reproduction. CAB International Publishing, Eastbourne.

Crosby DG. ; 1966. Natural pest control agents. In Gould, R.F. Natural Pest Control Agents. Adv. Chem. Ser. American Chem. Society: Washington.

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.

D

Dev Chaturvedi., Shrivastava Rishi Raj Suhane Nidhi Daksh 2016 : Article in Institute of Pharmaceutical Science, Chhatarpur (M.P.), India INTERNATIONAL RESEARCH JOURNAL OF PHARMACY

Djenane D (2015). Chemical profile, antibacterial and antioxidant activity of Algerian Citrus essential oils and their application in *Sardina pilchardus*. Foods, 4, 208-228

Do, C., Waples, R. S., Peel, D., Macbeth, G. M., Tillett, B. J., & Ovenden, J. R. (2014). NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of

Référence bibliographie

contemporary effective population size (N_e) from genetic data. *Molecular ecology resources*, 14(1), 209-214

Dugo, G., & Di Giacomo, A. (Eds.). (2002). Citrus: the genus citrus. CRC Press.

F

Farhat, I., Hammami, M., Cherif, M., & Nasraoui, B. (2020). Chemometric analysis of geographic origins and compositions of Citrus sinensis (L.) Osbeck var 'Maltaise demi sanguine' essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 32(3), 216-226.

Fernandez x. Et chemat F., 2012. La chimie des huiles essentielles : Tradition et innovation, Edit. Vuibert, Paris, France, p.228.

Foe, F. M. C. N., Tchinang, T. F. K., Nyegue, A. M., Abdou, J. P., Yaya, A. J. G., Tchinda, A. T., ... & Etoa, F. X. (2016). Chemical composition, in vitro antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oils of four dietary and medicinal plants from Cameroon. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 11

FUSELLI R., SUSANA B., GARCIA D.L.R., MARTIN J. & ROSALIA F. (2008). Chemical composition and antimicrobial activity of citrus essences on honeybee bacterial pathogen *Paenibacillus* larvae, the causal agent of American foulbrood. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 2067-2072.

G

GRID NARIMANE, HAMDI AIDA 2018, Etude comparative de l'effet des extraits aqueux et huiles essentielles de certaines plantes contre les larves de CULEX PIPIENS (Diptera, Culicidae), Université des Frères Mentouri Costantine, P 1

Guèye, A. (2013). Techniques de capture et d'identification des moustiques (Diptera: Culicidae) vecteurs de la fièvre de la vallée du Rift. 32p.

Guignard J.L. (2001). Botanique, Systématique moléculaire. Ed. Masson, 290.

H

Référence bibliographie

Haddouchi F ; Lazouni HA ; Meziane A ; Benmansour A, 2009 : Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. Afrique SCIENCE. 05(2): 246 – 259.

HAMAIDIA HOUDA ,SELIMA BRECHI,2018 .Etude systématique et écologique des moustiques (DIPTERA :Culicidae) dans la région de souk-Ahras.p 01.

Hamia C., Guergab A., Rennane N., Birache M., Haddad M., Saidi M et yousfi M. (2014) Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du *rhanterium adpressum*. Annales des sciences et technologie. 6(1).

Hassain K., 2002. Biogéographie et biotypologie des Culicidae (Diptère : Nématocera) de l'Afrique méditerranéenne, Bioécologie des espèces les plus vulnérantes (*Aedes caspius*, *Aedes detritus*, *Aedes mariaae* et *Culex pipiens*) de la région occidentale Algérienne, Thèse Doctorat, Universités de Tlemcen, Algérie. 203 p.

Hassaine K., 2002 - Les culicides (Diptera- Nematocera) de l'Afrique méditerranéenne. Bioécologie d'*Aedes caspius* et d'*Aedes detritus* des marais salés, d'*Aedes mariaae* des rock Pools littoraux et de *Culex pipiens* des zones urbaines de la région occidentale algérienne. Thèses Doc.d'état. Univ. Tlemcen : 203p

HASSAINE Nassima 2021 Effet bio-insecticide de l'huile essentielle de Clous de Girofle (*Syzygium aromaticum*) à l'égard de *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera : Tenebrionidae)

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

Herouini A, 2021- Évaluation du pouvoir biocide des huiles de graines de *Citrullus colocynthis* Schard. (Cucurbitaceae), *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadaceae) et *Datura stramonium* L. (Solanaceae) récoltées dans la région de Ghardaïa. Thèse de Doctorat : Option d'Ecologie saharienne : Université de Ghardaïa

Référence bibliographie

Himed L., Barkat M., 2014- Elaboration d'une nouvelle margarine additionnée des huiles essentielles de Citrus limon. Oilseeds and fats, Crops and Lipids, Vol. 21, N° 1. A102 :1-5.

Himmi O., Dakki M., Trabi B., Elagbani M. (1995). *Les Culicidae du Maroc : Clés d'identification, avec données biologiques et écologiques*. Rabat : Institut Sciences

Hosni, K., Zahed, N., Chrif, R., Abid, I., Medfei, W., Kallel, M., ... & Sebei, H. (2010). Composition of peel essential oils from four selected Tunisian Citrus species: Evidence for the genotypic influence. *Food chemistry*, 123(4), 1098-1104.

J

Jamal Eddine M., (2010). Extraction et caractérisation de la Composition des Huiles Essentielles de Juniperus phoenicea et Juniperus oxycedrus du Moyen Atlas, Thèse de Master en Sciences et Techniques, Université Sidi MohamedBen Abdellah, Algérie. 21p

Jean Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, techniques et documentation, 3e édition, 1999 (ISBN 2-7430-0315-4)

JEANNOT V., CHAHBOUN, J., RUSSELL D. & BARET, P. (2005). Quantification and determination of chemical composition of essential oil extracted from natural orange blossom water (Citrus aurantium L. ssp. aurantium). *International Journal of Aromatherapy*, 15 (2), 94-97.

K

KELEN M. & TEPE B. (2008). Chemical composition, antioxydant and antimicrobial proprieties of the essential oils of three Salvia species from Turkish flora. *Bioresource Technology*, 99, 4096-4104.

Kemassi A., Herouini A., Hadjseyd A., Cherif,R., Ould El Hadj M.D., 2019- Effet insecticide des extraits aqueux d'Euphorbia guyoniana (Euphorbiaceae) récoltée dans Oued Sebseb (Sahara Algerien) sur le Tribolium castaneum. *Lebanese Science Journal*, 20(1), 5570

KEMASSI, A., BOUAL, Z., HADJSEYD, A., BOUZIANE, N., HEROUINI, A., MENSOURI, K., ... & OULD EL HADJ, M. D. (2018). EFFETS BIOTOXIQUES

Référence bibliographie

DES EXTRAITS DE *Cleome arabica* L.(Capparidaceae) SUR LE CRIQUET PELRIN *Schistocerca gregaria* (FORSKÅL, 1775)(ORTHOPTERA, ACRIDIDAE). *Algerian Journal of Arid Environment (AJAE)*, 8(2).

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

Kettle, 1995. Evaluation du potentiel larvicide des extraits organiques d'*Artemisia campestris* à l'égard de *Culex pipiens* (Mémoire de master en biochimie appliquée. Département de la biologie appliquée. Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Larbi Tébéssi

Khaligh FG., NaghianA., Soltanbeiglou S., and Gholizadeh S. (2020). Autogeny in *Culiseta longiareolata* (Culicidae: Diptera) mosquitoes in laboratory conditions in Iran.13:81.

Khan, M. M., Iqbal, M., Hanif, M. A., Mahmood, M. S., Naqvi, S. A., Shahid, M., & Jaskani, M. J. (2012). Antioxidant and antipathogenic activities of citrus peel oils. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15(6), 972-979. Lota, M.L., de Rocca Serra, D., Tomi, F., & Casanova, J. (2000). Chemical variability of peel and leaf essential oils of mandarins from *Citrus reticulata* Blanco. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(1), 61-78.

Koruthu, D. P., Manivarnan, N. K., Gopinath, A., & Abraham, R. (2011). Antibacterial evaluation, reducing power assay and phytochemical screening of *Moringa oleifera* leaf extracts: effect of solvent polarity. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(11), 2991.

L

Ladaniya, MS (2008). Cultivars commerciaux d'agrumes frais et pays producteurs. *Agrumes : biologie, technologie et évaluation*. Presse universitaire, San Diego, 13-65.

Larbi Cherif Y., 2015. Diversité et Caractérisation des habitats des diptères (diptera, culicidae) de la région de Chetouane (Tlemcen) (mémoire). Université Abou Bekr Belkaïd, tlemcen, p70.

Lim. T.K. (2012). *Citrus reticulata* Blanco in Edible medicinal and non-medicinal plants. Springer sciences et Business Media B.V; 4: 695-715.

M

Merabeti B., Ouakid M.L., 2011. Contribution à l'étude des moustiques (Diptera : Culicidae) dans les Oasis de la région de Biskra (Nord -Est d'Algérie), pp.185–188.

MERABTI BRAHIM, 2016. Identification, composition et structure des populations liquidienne de la région de Biskra (Sud-est Algérien). Effets des facteurs écologiques sur l'abondance saisonnière. Essais de lutte, Université Kasdi Merbah-Ouargla.

Merabti, B., & Ouakid, M. L. (2011). Contribution a l'etude des moustiques (diptera : culicidae) dans les oasis de la region de Biskra (Nord- Est D'algerie). ResearchGate. V 2 Page 185

Merabti, B., Boumaaza, M., Lebbouz, I., Ouakid, M. l. (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.

Minh Tu, N.T., Thanh, L.X., Une, A., Ukeda, H., Sawamura, M. (2002). Volatile constituents of Vietnamese pummelo, orange, tangerines and lime peel oils. *Flavour Fragr. J.*, 17(3): 169-174.

Mohammedi, Z., & Atik, F. (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) Karst.

Muanda FN. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques (Thèse de doctorat, Université de Lorraine).

Muhammad S., Dilbar H., Rahat H.R., Hafiz S., Ghulam G. and Muneer A., 2013- Insecticidal activities of two Citrus oils against *T.castaneum* (Herbst). *American journal of Research Communications*, Vol. 1 (6): 67-74

Mukhtar. R.; Khan M.M.; Fatima B.; Abbas .M.; Shahid A. (2005). In vitro regeneration and multiple shoots induction in citrus reticulata (Blanco), *International Journal of Agriculture et Biology*, 7(3): 414-416.

N

Référence bibliographie

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.

Naczek M and Shahidi F. (2003) Phenolics in food and nutraceuticals. Boca Raton, FL: CRC Press

Ndomo Agnès Flore., Azefack Léon Tapondjou., Tendonkeng Fernand (January 2009) Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Aconthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera; Bruchidae) 27(3)

Nicolas J.P., 2016- Plantes médicinales du Nord de Madagascar Ethnobotanique Antakarana et informations scientifiques. Ed. Jardins du Monde, France, 298 p.

O

O.M.S. (1999). La lutte antivectorielle-Méthodes à usage individuel et communautaire-Sous la direction de Jan A .Rozendaal, 540 P

OMS., 1963.- Method to follow to determine the sensitivity or resistance of Mosquito larvae to insecticides. In Resistance to insecticides and fight against the vectors. Thirteen thre port of the committee who d'experts of insecticides, Geneva: WHO, Ser .Rapp. Techn., 265,55-60

P

Pagès, J. C. Comité scientifique du HCB (2017). Avis du Comité scientifique du Haut Conseil des biotechnologies concernant l'utilisation de moustiques génétiquement modifiés dans le cadre de la lutte antivectorielle en réponse à la saisine du 12 octobre 2015 (Réf. HCB2017.06.07) [En ligne]. (Paris, HCB), 150p. Disponible sur <http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr>.

PATES, H., ET CURTIS, C. (2005). Mosquito behavior and vector control. Annual Review of Entomology, 50, 53-70.

PAUL R. (2009)- Généralités sur les moustiques du littoral méditerranéen français. EID méditerranée, p : 1-11

Référence bibliographie

R

Ramade F., 1984. Eléments d'écologie – Ecologie fondamentale, Ed. Mc Graw-Hill, Paris, France. 397p

REGA B., FOURNIER N., GUICHARD E. & RUSSELL R. (2003). Citrus flavour. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 117-133

Ripert C., 2007. Epidemiologie des maladies parasitaires, affections provoquéSubra R. et Hébrard G., 1975. Ecologie larvaire de Culex pipiens fatigans (Wiedemann, 1828) (Diptera, Culicidae) dans une zone de haute endémie filarienne (Mayotte, archipel des Comores). Tropenmedizin und Parasitologie, 26 (1), 48-59 ou transmises par les arthropodes. 581p.

Ripert C., 2007-Epidemiologie des maladies parasitaires, tome 4, affections provoquées ou transmises par les arthropodes. Cachan: EM inter. p 581

Rodhain et Perez., 1985. Étude Biométrique sur des larves de culex pipiens Exposées aux Extraits Des plantes. (Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master de Biologie, Evolution et Contrôle Des Populations d'Insectes. Département de Biologie animal. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université des Frères Mentouri Constantine).

Rodhain F. et Perez C., 1985. Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Ch: 3: Les moustiques : systématique et biologie, Maloine S.A, 49 (54) : 77 - 111. Rodhain F. et Perez C., 1985. Précis d'entomologie médicale et vétérinaire, Ed. Maloine S. A, Paris, France. 458p.

Rouari IH Gouzi. M Ghermaoui F. Benaceur A. Kemassi B. MerabtiI. Messahli A. Rezzoug A. Rouari R. Chaibi.(2022). Première étude de l'activité larvicide des extraits algériens d'Oudneya Africana contre les larves de Culex pipiens. Journal ukrainien d'écologie.Vol 12 N°1.65-70.

S

SAWAMURA, Naoya, SAWAMURA-YAMAMOTO, Takako, OZEKI, Yuji, *et al.* A form of DISC1 enriched in nucleus: altered subcellular distribution in orbitofrontal

Référence bibliographique

cortex in psychosis and substance/alcohol abuse. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, vol. 102, no 4, p. 1187-1192.

Seguy E., 1950. La biologie des diptères, Encycl. Entomo. XXVI, Ed, Paul le chevalier, Paris, France. 16p

Seguy E., 1951. Nouvel Atlas d'entomologie des Diptères de France, Belgique et Suisse, Tomes 1 et 2 Boubée, 19 - 38 - 67- 84 -109 p.

Soltani N. (2015). Les moustiques : Risques sanitaire, Bioessais et stratégie de control. 1er Séminaire National sur l'Entomologie Médicale et la Lutte Biologique Tébessa, 19-20.

Sophie Barbelet ; Le giroflier : historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle. Thèse de doctorat, Université de lorraine 2015.

Stalikas C D (2007) Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.* 2007, 30, 3268–3295

Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang L and Zhang Y. (2011) Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food Chem Toxicol.* 49: 2689-2696.

T

Tahraoui C., 2012. Abondance saisonnière des Culicidae dans l'écosystème humide du parc national d'El-Kala. Identification et lutte. (mémoire). Université Badji Mokhtar, Annaba, p80.

Tasic, L., Mandic, B., Barros, C. H. N., Cypriano, D. Z., Stanisic, D., Schultz, L. G., ... & Queiroz, V. L. (2016). Exploring bioactivity of hesperidin, naturally occurring flavanone glycoside, isolated from oranges. *Citrus Fruits*, Nova Science Publishers, Inc.

Tchoumboungang, F., Dongmo, P. M. J., Sameza, M. L., Mbanjo, E. G. N., Fotso, G. B. T., Zollo, P. H. A., & Menut, C. (2009). Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Base*.

Référence bibliographique

Tine-Djebbar, F., Bouabida, H. et Soltani, N., 2016. Répartition spatio-temporelle des Culicidés dans la région de Tébessa. Editions universitaires européennes. ISSN/ISBN : 978-3-63950856-7.

Tine-Djebbar, F., Bouabida, H., & Soltani, N. (2011). Caractérisation morphométrique et biochimique de certaines espèces de moustiques inventoriées dans la région de Tébessa. In Bulletin de la Societe Zoologique de France (Vol. 136, pp. 177–185).

Tirado, C. B., Stashenko, E. E., Combariza, M. Y., & Martinez, J. R. (1995). Comparative study of Colombian citrus oils by high-resolution gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 697(1-2), 501-513.

Trari.B., 2001.- Tests de sensibilité des moustiques vis à vis des pesticides. Séminaire deformation sur l'Elevage et la Lutte contre les Arthropodes Rabat, 15 et 16 mai 200

Turkmen, N., Sari, F., & Velioglu, Y. S. (2006). Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. *Food chemistry*, 99(4), 835-841.

V

VEKIARI S.A., PROTOPAPADAKIS E.F., PAPADOPOULOU P., PAPANICOLAOU D., PANOU C. & VAMVAKIAS M. (2002). Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a lemon variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5 (1), 147-153.

Vinogradova E.B. (2000). *Culex Pipiens* Mosquitoes: Taxonomy, Distribution, Ecology, Physiology, Genetics, applied importance and control. PENSOFT, Bulgaria, p 205.

Y

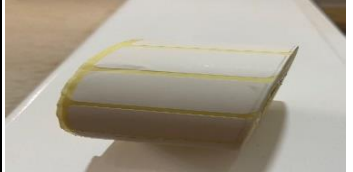
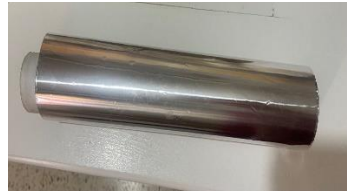
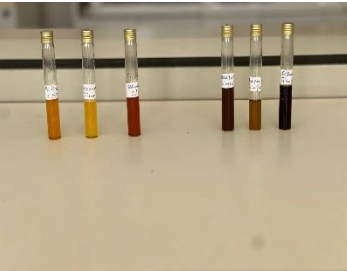
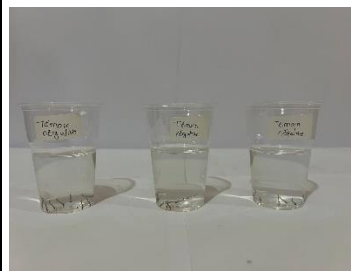
Yakhlef G. (2010). Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L. Thèse Magister. Université EL hadj lakhdar –Batna, p78.

Annex

Annexe

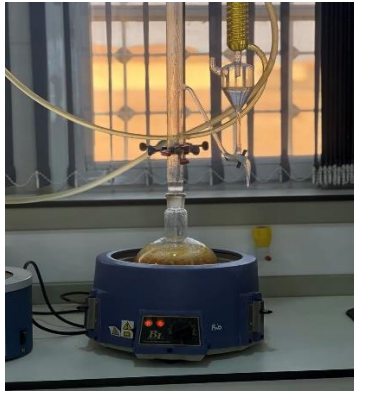
Matériel utilisé dans cette étude :

1. Consommables :

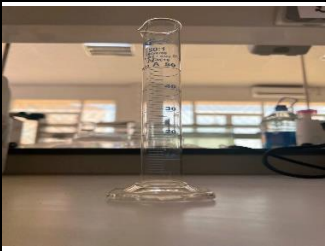
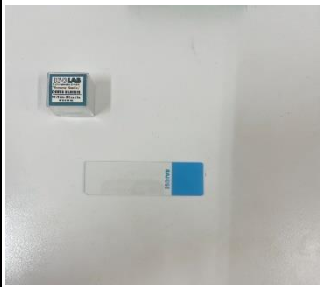
Spatule		Entonnoir	
Portoir		Papier filtre	
Filme transparent		Scotch (Ruban adhésif)	
Aluminium		Micropipette	
Embouts		Eppendorf	
Tubes à essai		Les gobelets	

2-Appareillages :

Annexe

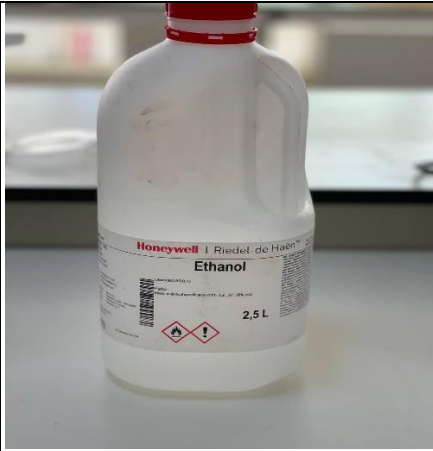
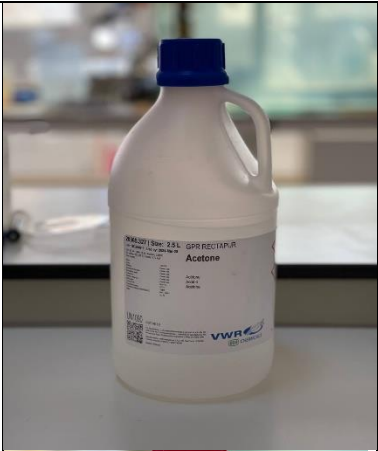
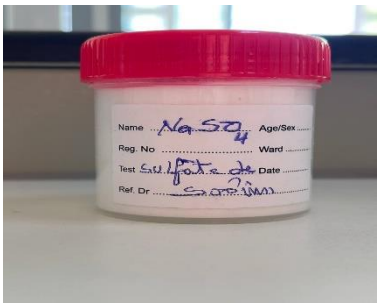
Etuve		Moulin électrique	
Rotavapeur		Clevenger	
Agitateur		Balances	
Loupe binoculaire		Microscope optique	

3. Verreries

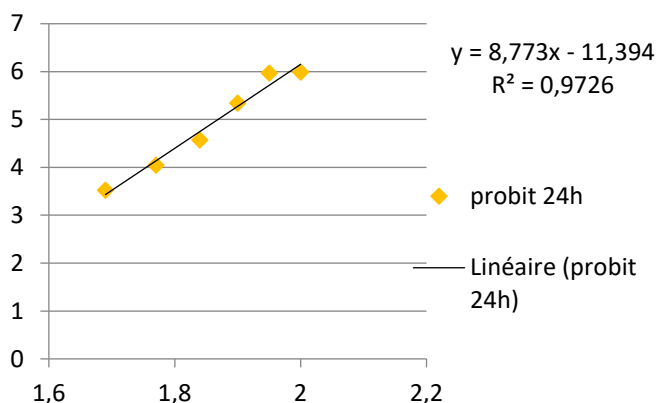
Eprouvette	
Bécher	
Mortier et pilon	
Les Flacons	
Lame et lamelle	
Les ballons	

Annexe

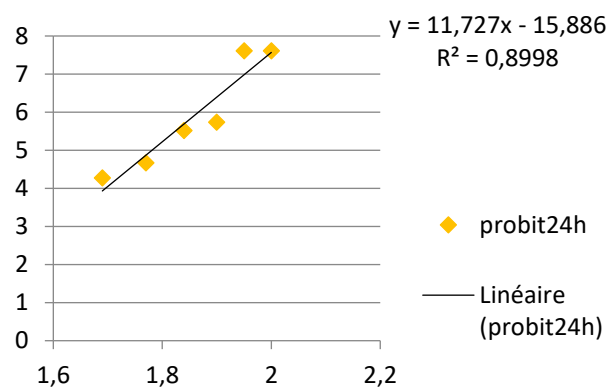
4. Réactifs :

Ethanol		Acétone	
Eau distillée		Hexane	
DMSO		Glycerin	
Sulfate de sodium			

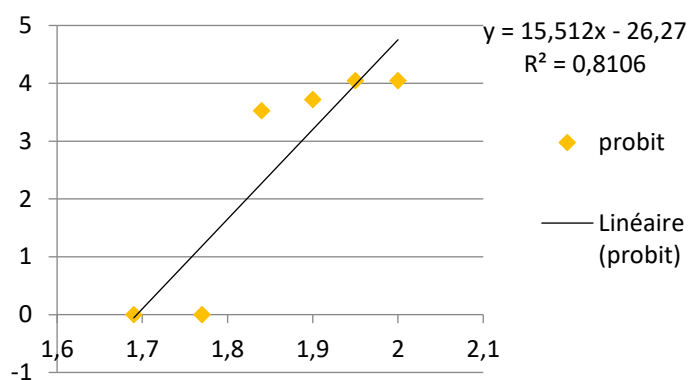
probit aceton citron 24h



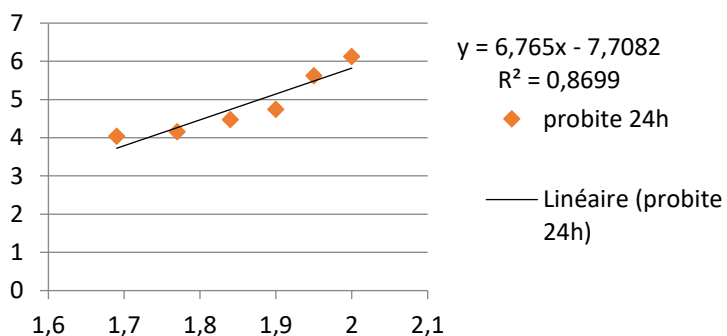
probit éthanol citron 24h



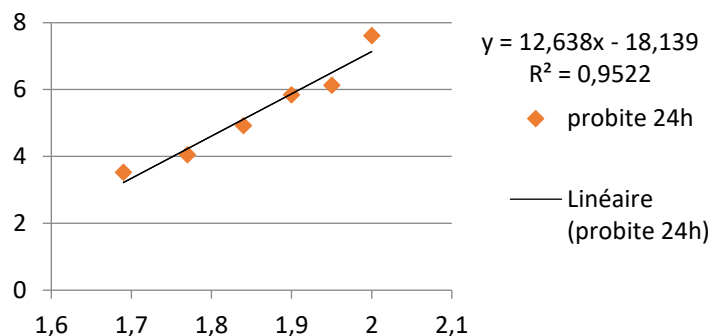
probit hexane citron 24 h



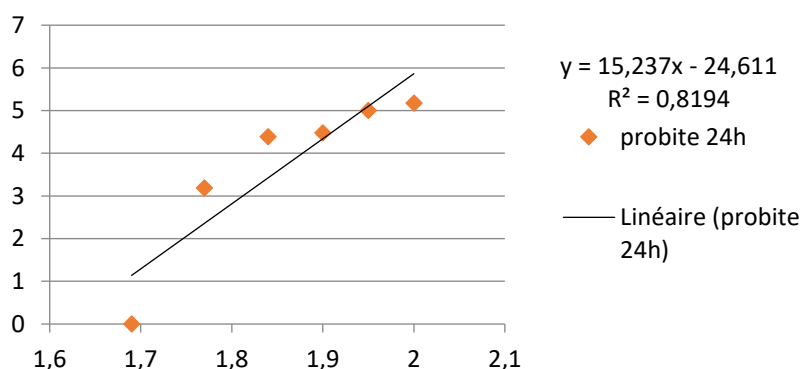
probit acétone d'orange 24h

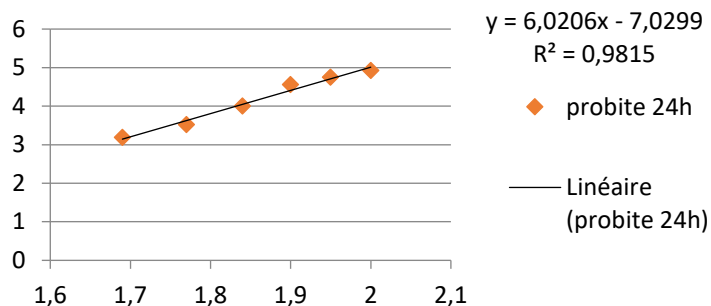
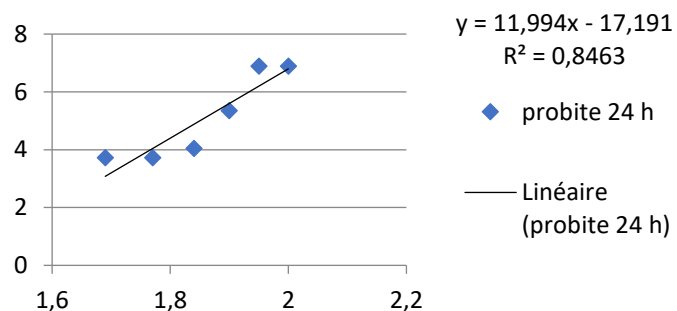
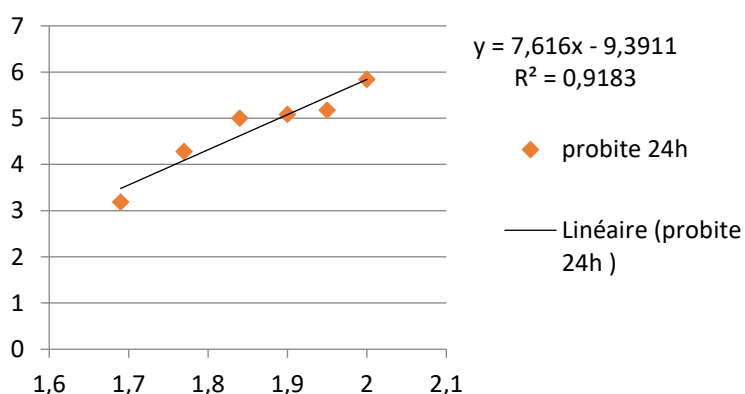
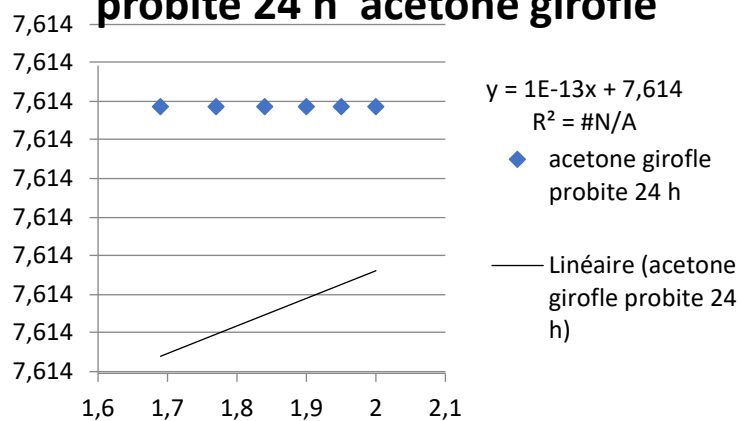
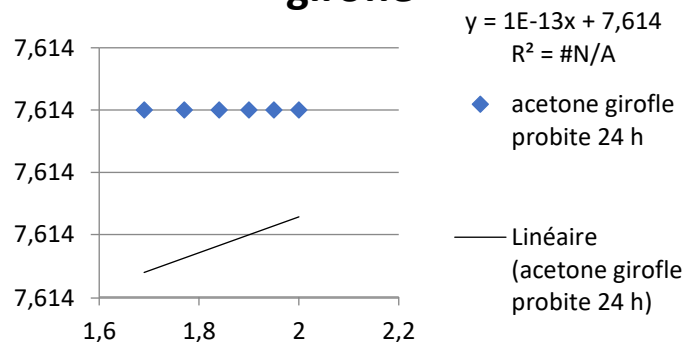


probit éthanol d'orange 24h



probit hexane d'orange 24h



**Probit acétone mandarine
24 h****probit ethanol mandarine
24 h****probit hexane mandarine 24h****probite 24 h acetone girofle****probite 24 h éthanol girofle****probite 24 h hexane girofle**