

**Ministère de l'enseignement supérieur
et de la recherche scientifique**

Université de BLIDA 1



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie des Population et des Organismes**

**Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention
du Diplôme de MASTER en Biologie
Option : Entomologie médicale**

Thème

**Evaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles et des
extraits aqueux formulés de lentisque
à l'égard des larves de *culex***

Présenté par : Mme BOUCHEKKIF HADDA

Le 08/10/2017

Devant le jury :

Mme. KARA F/Z.	Professeure	U.B. 1	Présidente
Mme. SAIGHI H.	Maître assistante A	U. B. 1	Examinatrice
Mr. DJAZOULI Z/E.	Professeur	U. B. 1	Promoteur

ANNEE UNIVERSITAIRE 2016/2017

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout d'abord Le « Bon Dieu » tout puissant de m'avoir donné la force, la santé, la volonté et le courage qui m'a permis de réaliser ce travail.

J'exprime ma gratitude à **Mme KARA F/Z**. Professeure à l'université de BLIDA1, qui m'avait fait l'honneur de présider le jury. Vous compter parmi les membres de mon jury est un véritable honneur.

Mes vifs remerciements à **Mme SAIGHI H.** MAA au sein de l'université de BLIDA1, qui a voulu examiner ce manuscrit et juger ce travail. Je suis très honorée que vous ayez accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à exprimer mes remerciements en premier lieu à **Mr. DJAZOULI Z. E.**, Professeur à l'université de BLIDA1 qui a accepté de m'encadrer, avec le témoignage de mon profond respect. Ainsi pour l'intérêt qu'il a apporté à la réalisation de ce travail. Je le remercie chaleureusement pour ses encouragements, orientations, aide, précieux conseils, patience et aussi pour sa disponibilité. Travailler sous votre direction a été un honneur et un plaisir inégalables.

Je n'oublierai jamais l'aide avantageuse de mes collègues de travail, **Mme yamina, amel, malika** . au sein du département des biotechnologie je leur remercie infiniment.

Je ne pourrai terminer cette liste de remerciements sans exprimer ma profonde gratitude à tous les enseignants qui ont assuré ma formation en MASTER 2, option Entomologie médicale.

DEDICACES

Mes très chers parents, aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez, pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis toujours, vous m'avez guidé pour suivre le bon chemin dans ma vie et mes études. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

Je dédie aussi ce modeste travail:

A mes frères et sœur, surtout ismail, mahfoud et hacène qui n'ont pas cessé de m'encourager.

A mon mari mourad et mes aimable enfants.

Je tiens à remercier aussi toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce modeste travail.

nadjia

Liste des abréviations

Q : quartile

D : dose

T : témoin

EAB : extrait aqueux brut

EAF : extrait aqueux formulé

HEF : huiles essentielles formulées

SP : spinosad

L3 : troisième stade larvaire

CL50: concentration létale 50%

DL50 : dose létale 50%

G.L.M : modèle linéaire global.

C.V : coefficient de variance

ANOVA : Analysis of variance

A.C.P : analyse en composantes principale par litre

ACHE : acetylcholinesterase

Liste des figures

Figure 1: Aspect des œufs de <i>Culex pipiens</i>	4
Figure 2: Larve de <i>Culex pipiens</i>	4
Figure 3: Nymphe de <i>Culex pipiens</i> (Balenghien, 2007).....	5
Figure 4: Morphologie générale d'un imago de <i>Culex pipiens</i> Schaffner <i>et al.</i> , 2001).....	6
Figure 5 : Cycle de developpement de moustique <i>Culex pipiens</i> (Klowden, 1990).....	7
Figure 6: Distribution globale du complex <i>Culex pipiens</i> (Smith et Fonesca, 2004; Vinogradova, 2000).....	8
Figure 7 : Arbuste de <i>Pistacia lentiscus</i> L. (Belfadel, 2009).....	17
Figure 8: Méthode de préparation des larves de <i>Culex pipiens</i> (Originale, 2017).....	21
Figure 9: Critères d'identification des larves de <i>Culex pipiens</i> (Originale, 2017).....	22
Figure 10: Schéma récapitulatif de la logique des traitements appliqués sur les larves de <i>Culex pipiens</i>	24

Liste des figures

Tableau 1 : Substances secondaires d'origine végétale (ISRA/CNRA, 1997).....	15
---	----

SOMMAIRE

Introduction	1
Chapitre 1: Synthèse bibliographique	
1. Présentation de <i>Culex pipiens</i> (Linné, 1758)	3
1.1. Position systématique	3
1.2. Description morphologique du <i>Culex pipiens</i>	3
1.2.1. L'Œuf.....	3
1.2.2. La Larve.....	4
1.2.3. La Nymphe	5
1.2.4. L'adulte.....	6
1.3. Cycle de développement de <i>Culex pipiens</i>	7
1.3.1. La Phase aquatique.....	7
1.3.2. La Phase aérienne.....	7
1.4. Le complexe <i>Culex pipiens</i> , ses membres et leurs répartition mondiale.....	8
1.5. Les principales nuisances causées par <i>Culex pipiens</i> L.....	9
1.6. Les différents moyens de lutte contre les moustiques.....	10
1.6.1. Lutte physique.....	10
1.6.2. Lutte génétique.....	10
1.6.3. Lutte chimique.....	11
1.6.4. Lutte biologique.....	12
1.6.5. Lutte intégrée.....	12
2. Substances végétales à effet insecticide	12
2.1. Les huiles essentielles.....	12
2.1.1. Définition des huiles essentielles.....	12
2.1.2. Localisation.....	13
2.1.3. Composition chimique.....	13
2.1.4. Rôle physiologique.....	13
2.1.5. Activité insecticide et mécanismes d'action.....	14
2.2. Les extraits aqueux.....	14

2.2.1. Définition.....	14
2.2.2. Intérêt des extraits aqueux.....	15
3. Importance des formulations.....	16
3.1. Définition des formulations.....	16
3.2. Les composants d'un produit formulé.....	16
3.3. Types de formulations.....	16
3.4. Importance de formulation.....	16
4. Présentation de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	17
4.1. Origine.....	17
4.2. Description botanique.....	18
4.3. Constituants chimiques.....	18
4.4. Utilisations industrielles.....	19

CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Objectif.....	20
2. Matériel et méthodes.....	20
2.1. Matériel biologique	20.
2.1.1. Matériel végétale.....	20.
2.1.2. Matériel animal.....	20
2.2. Méthodes d'étude.....	21
2.2.1. Méthode d'échantillonnage.....	21
2.2.2. Identification des larves de <i>Culex pipiens</i>	21
2.2.3. Extraction des huiles essentielles de <i>Pistacia lentiscus</i>	22
2.2.4. Préparation des extraits aqueux de <i>Pistacia lentiscus</i>	
2.2.5. Formulations.....	23
2.2.6. Dilutions des phytopréparations et présentation du témoin positif.....	23
2.2.7. Application des traitement.....	24
2.2.8. Estimation du taux de mortalité.....	25
2.2.8.1. Calcul du pourcentage de la mortalité observée.....	25
2.2.8.2. Calcul du pourcentage de la mortalité corrigée.....	25

3. Analyses statistiques des données.....	25
Chapitre 3 : Résultats	
1. Potentialité larvicide d'une formulation à base d'extrait aqueux de Lentisque a l'égard des larves L3 de <i>Culex pipiens</i>.....	26
1.1. Evolution temporelle des mortalités observées de <i>Culex pipiens</i> sous l'effet des différentes phytopréparations à base d'extrait aqueux de Lentisque et de Spinosad.....	26
1.2. Evolution temporelle des mortalités corrigées de <i>Culex pipiens</i> sous l'effet des différentes phytopréparations à base d'extrait aqueux de Lentisque.....	28
2.2. Evolution temporelle des mortalités corrigées des L3 de <i>Culex pipiens</i> sous l'effet de l'huile essentielle de Lentisque formulée et de Spinosad	34
1.3. Tendance de l'activité larvicide des différentes phytopréparations à base d'extrait aqueux de Lentisque et de Spinosad sur <i>Culex pipiens</i>	30
1.4. Etude comparée de l'activité larvicide des différentes phytopréparations à base d'extrait aqueux de Lentisque et de Spinosad sur L3 de <i>Culex pipiens</i>	31
2. Potentialité larvicide d'une formulation à base d'huile essentielle de Lentisque a l'égard des larves L3 de <i>Culex pipiens</i>.....	33
2.1. Evolution temporelle des mortalités observées des L3 de <i>Culex pipiens</i> sous l'effet de l'huile essentielle de Lentisque formulée et de Spinosad	33
2.2. Evolution temporelle des mortalités corrigées des L3 de <i>Culex pipiens</i> sous l'effet de l'huile essentielle de Lentisque formulée et de Spinosad.....	34
2.3. Tendance de l'activité larvicide de la phytopréparation à	

.4. Etude comparée de l'activité larvicide des base d'huile essentielle de Lentisque et de Spinosad sur les L3 de <i>Culex pipiens</i>	36
.....	36
2différentes phytopréparations à base d'huile essentielle de Lentisque sur les L3 de <i>Culex pipiens</i>	37
Chapitre IV : Discussion générale	40
Conclusion et perspective	43
Références bibliographiques	45

Résumé :

Ce travail avait pour but l'évaluation et l'optimisation de l'activité larvicide des pytopréparations extraites à partir du pistachier lentisque sur les larves *Culex pipiens* du troisième stade en comparaison avec un bioinsecticide d'origine bactérien (spinosad). Les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* sont obtenues par hydro-distillation des parties aériennes sèches récoltées dans la région de Hammam mellouane alors que les extraits aqueux sont obtenus par une macération de la poudre végétale de cette plante. Les tests de sensibilité ont été réalisés conformément au protocole mondial de la santé.

Les résultats obtenus ont montré une activité bioinsecticide très remarquable pour l'ensemble des traitements appliqués surtout pour les fortes doses (D2=0.5g/l, D3=0.75g/l) des huiles essentielles par rapport aux résultats obtenus de l'application du témoin positif. Les extraits aqueux bruts et formulés ont présentés des taux de mortalité des larves qui tendent à se rapprocher malgré que le produit formulé contenait moins de principe actif d'où l'intérêt de la formulation.

Mots clés: bioproduit, macération, spinosad, *Pistacia lentiscus*, bioinsecticide. *Culex pipiens*

Summary :

The purpose of this work was to evaluate and optimize the larvicidal activity of phytopreparations extracts of *Pistacia lentiscus* on the mosquito larvae of *Culex pipiens* of the third larval stage. in comparison with a biolarvicide (spinosad). The essential oils of plant are obtained by hydro-distillation of the dried aerial parts harvested in the region of Hammam ellouane while the aqueous extracts are obtained by maceration of the plant powder of this plant

The sensitivity tests were carried out in accordance with the World Health Protocol.

The results obtained showed a very remarkable bioinsecticidal activity for all the treatments applied especially for the high doses of the essential oils by contribution to the results obtained from the application of the positive control. The crude and formulated aqueous extracts have shown larval mortality rates which tend to come closer even though the formulated product contained less active principle, hence the interest of the formulation.

Key words:, bioproducts, maceration, spinosad, bioinsecticide *Pistacia lentiscus*, *Culex pipiens*.

ملخص:

الغرض من هذا العمل هو تقييم النشاط البيولوجي المبيدض يرقات البعوض من بيبينز كوليكنس من المرحلة اليرقات الثالثة بالمقارنة مع المبيد الحشري (سبينوساد). يتم الحصول على الزيوت الأساسية من بيستاسيا لينتيسكوس عن طريق التقطير المائي للأجزاء الهوائية المجففة التي يتم حصادها في منطقة الحمام. اما المستخلص المائي فبمزج مسحوق النبتة مع الماء. وأجريت اختبارات الحساسية وفقا لبروتوكول الصحة العالمية. النتائج التي تم الحصول عليها أثبتت ان التراكيز العالية من الزيوت الأساسية لها اثر ملحوظ خلال المساهمة في النتائج مقارنة بالتي تم الحصول عليها من تطبيق السيطرة الإيجابية (سبينوساد). وقد أظهرت المستخلصات المائية الخام والمصاغة نتائج متقاربة مما يثبت صحة صياغة المحلول الخام.

الكلمات الدالة: ، المنتجات البيولوجية, سبينوزاد, المبيد الحيوي, بيستاسيا لينتيسكوس, بيبينز كوليكنس, النقع.

Introduction

Parmi les plus redoutables insectes au monde les Culicidae, ils sont cosmopolites et ils sont responsables de maladies infectieuses à transmission vectorielle parfois mortelles (**Aouinty et al., 2006**), pour l'homme et/ou l'animale, tel que la fièvre de la vallée du Rift, le West Nile, le paludisme, l'encéphalite japonaise, la fièvre jaune, la filariose et la dengue; en effet leurs rôles épidémiologiques variés, ont fait d'eux un problème majeur de santé publique (**Berge, 1975 ; Jolivet, 1980**).

Le *Culex pipiens*, est l'espèce de moustique qui présente le plus d'intérêt pour son étude en raison de son abondance et de sa nuisance réelle, surtout dans les zones urbaines (**Bendali et al., 2001**). Il réalise une transmission biologique ou active car l'agent infectieux accomplit un cycle d'amplification ou de développement au préalable chez l'arthropode vecteur, la plupart de ces maladies à transmission vectorielle sont des zoonoses où l'homme est le plus souvent un hôte accidentel, mais néanmoins fortement affecté (**Amraoui et al., 2012**).

Face à ces menaces et afin de contrer la propagation des insectes et des épidémies y découlant, les stratégies de lutte se sont appuyées sur l'utilisation des quantités considérables d'insecticides chimiques conventionnels tel que les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoïdes de synthèse (**O.M.S, 1963**) et qui ont conduit à des dommages irréversibles à l'environnement et à l'homme; en effet il a été prouvé qu'une perte massive de la biodiversité est liée à l'usage des insecticides à large spectre (**Altieri et Nicholls, 2004 ; Bianchi et al, 2006**). A tout ces inconvénients s'ajoute un grand souci qui est celui de la résistance des insectes à l'égard de ces molécules chimiques (**Georghiou et al., 1975 ; Sinegre et al., 1977**). Suite à ces conséquences néfastes, la recherche a élaboré d'autres méthodes alternatives aux insecticides chimique (**kim et al., 2000**), d'origine biologique sans risques écotoxicologiques, biodégradables (**Rageau et al, 1980**), et non toxiques pour les organismes non visés (**Kostyukovsky et al., 2000**).

Pour assurer une meilleure intervention, tout en préservant au maximum le milieu naturel, de nouveaux produits naturels d'origine végétale sont constamment recherchés pour le contrôle des moustiques. 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, en effet L'utilisation de ces derniers était connue depuis longtemps comme agents de lutte contre les insectes (**Crosby et al., 1966**) comme le pyrèthre, la nicotine et la roténone; ainsi que les pyréthrines considérés comme des insecticides naturels extraits de plantes

(Aligon et al., 2010). Ces insecticides biologiques sont caractérisés par une innocuité écologique, par l'abondance de leurs matières premières dans certains pays et donc leur faible coût de fabrication, présentant ainsi un grand intérêt dans la protection de masse **(Combemale, 2001).**

C'est dans cette perspective que s'inscrit ce travail de mémoire, relatif à l'évaluation de l'activité larvicide d'une bioformulation à base d'huiles essentielles et d'extrait aqueux de *Pistacia lentiscus*L vis-à-vis des larves de *Culex pipiens* en comparaison avec un bioinsecticide d'origine bactérien (le spinosad) utilisé dans la lutte antivectorielle.

L'objectif de ce travail sera de répondre à ces questions à savoir: *(i)* Est ce que la nature des métabolites secondaires des plantes expriment les mêmes activités biologiques (Activité larvicide)?, *(ii)* Est-ce que l'effet concentration du principe actif affecte l'activité larvicide des bioproduits?, *(iii)* Est-ce que la formulation sécurise le principe actif et augmente son effet larvicide?

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Présentation de *Culex pipiens* (Linné, 1758)

Ce sont des insectes Ptérygotes holométaboles. Leur corps est élancé possédant de longues antennes et des pattes fines et longues. Seules les femelles sont hématophages. La famille des culicidés dont fait partie *Culex pipiens* se caractérise par des ailes recouvertes d'écailles. La trompe des adultes est d'une taille égale à celle de la tête et du thorax combinés (**Rioux, 1958**).

1.1. Position systématique

Les moustiques sont des antennates appartenant à la classe des Insectes de l'embranchement des arthropodes. Ils possèdent trois paires d'appendices locomoteurs. Ils appartiennent à l'ordre des Diptères, qui comme leur nom l'indique regroupe des insectes qui ne possèdent qu'une paire d'aile mésothoracique; les ailes métathoraciques sont transformées en haltères (ou balanciers). La famille des Culicidae dont fait partie le genre *Culex* comprend environ trois mille espèces (**Knight et Stone 1977**).

La position systématique prise en considération actuellement est celle émise par Linné(1758) qui classe *Culex* comme suit:

Règne: Animalia
Embranchement : Arthropoda
Sous-embranchement: Antennata
Classe: Insecta
Sous-classe: Pterygota
Ordre: Diptera
Sous-ordre: Nematocera
Famille: Culicidae
Sous-famille: Culicinae
Genre: *Culex*
Espèce: *Culex pipiens*

1.2. Description morphologique du *Culex pipiens*

Comme tout insecte à métamorphose complète (holométabole), le développement du moustique se caractérise par quatre stades: Œuf, larve, nymphe et adulte.

1.2.1. L'Œuf

Les œufs sont pondus habituellement à la surface de l'eau, soit isolément (genres *Aedes* et *Anopheles*), soit regroupés dans des masses ayant la forme de nacelle (genres *Culex*, *Culiseta*, *Uranotaenia*, *Orthopodomyia* et *Mansonia*), ils peuvent être déposés sur substrats humides (*Aedes*) qui peuvent éclore après une

période de dessiccation. Les œufs flottent à la surface de l'eau soit du fait des phénomènes de tension superficielle, soit grâce à la présence de flotteurs latéraux (Anopheles) ou apicaux (Culex). La variation de forme, de taille et de coloration a parfois été utilisée en taxonomie. (Schaffner *et al.*, 2001). Ils sont blancs au début mais virent au noir ou au brun au bout de 12 à 24 heures la durée d'incubation des œufs est généralement de 2 à 3 jours mais dépend de la température (OMS, 2015) (Fig. 1). Les œufs ne donnent pas de larves à la glace (Gashen, 1932) mais aussi n'éclosent pas lorsque la température monte à plus de 30°C.

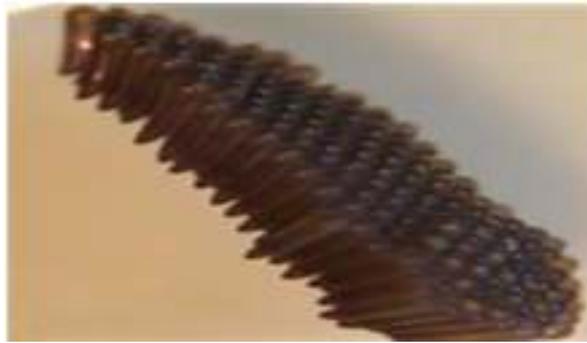


Figure 1: Aspect des œufs de *Culex pipiens* (Aouati, 2009)

1.2.2. La Larve

Le développement larvaire des Culicidae comporte quatre stades de morphologie comparable, hormis la taille (de 1 à 1,5 cm). La durée du stade larvaire dépend de la température et dure cinq à huit jours. Les caractères morphologiques utiles en systématique concernent le quatrième stade. La tête de la larve des moustiques a fait l'objet de très nombreux travaux, parmi lesquels, il faut citer surtout ceux de (Becker, 1938), (Cook, 1974). Elle est formée par une plaque chitineuse médiane : le frontoclypéus et deux latérales (plaques épicroaniennes). Au frontoclypéus est rattachée une plaque antérieure étroite (préclypéus) portant des brosses buccales. Les pièces buccales sont du type broyeur. Les plaques chitineuses (préclypéus et frontoclypéus) portent des soies symétriques (soies préclypéales, clypéales, frontales, occipitales...). Latéralement on distingue deux tâches oculaires ainsi que les deux antennes qui ont un aspect variable suivant les groupes, spiculées sur toute la longueur chez les Anophelinés mais portant toujours des soies caractéristiques (Fig. 2).

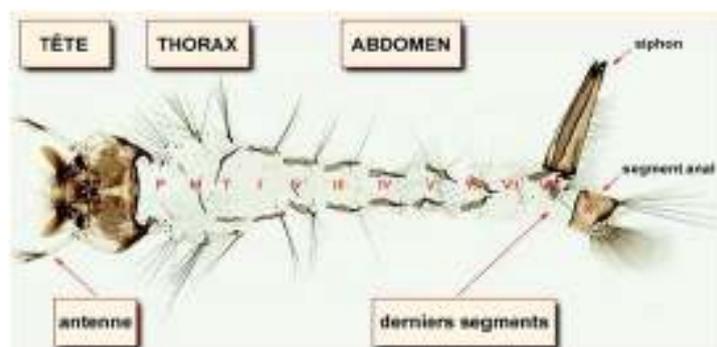


Figure 2: Larve de *Culex pipiens* (Bruhnes *et al.*, 1999)

Le thorax représenté par une masse indivisé de forme légèrement globuleuse, large aplatie dorso-ventralement, est formé de trois segments soudés (Prothorax, mésothorax et métathorax), dont la distinction se fait à l'aide de la chétotaxie. L'abdomen de la larve de moustique possède dix segments : huit segments bien apparents, le neuvième pas évident, soudé au huitième, et un dixième segment forme le segment anal. Chez les Culicinés et les Toxorhynchitines l'extrémité apicale est munie d'un organe médian, chitinisé, de forme tronconique appelé siphon respiratoire. La longueur et la largeur sont caractéristiques de l'espèce (indice siphonique, c'est le rapport de la longueur / largeur à la base, qui varie de 1 à 15) ce dernier porte latéralement une rangée d'épines appelée peigne du siphon et une ou plusieurs touffes de soies. Le dixième segment est le segment anal, il porte quatre longues papilles annales (lobes annaux), une brosse ventrale et des soies caudales internes et externes, sa partie tergale compte un sclérite en selle (**Snodgrass, 1959**).

1.2.3. La Nymphé

La tête et le thorax chez la nymphé du moustique forment un volumineux céphalothorax, qui fait suite à un abdomen étroit muni de deux palettes natatoires transparentes (**Rodhain et Perez, 1985**) Elle est recourbée de forme générale en virgule ou en point d'interrogation (Fig. 2). La nymphé ne se nourrit plus, elle respire à l'aide de deux trempettes respiratoire situées sur le céphalothorax (**Guillermet, 2013**).



Figure 3: Nymphé de *Culex pipiens* (Balenghien, 2007)

La cuticule du cephalothorax est transparente ou, on voit la majorité des éléments nymphaux (**Snodgrass, 1959 ; Beker, 2003**). Les distinctions taxonomiques des nymphes sont fondées sur les caractères des trompettes respiratoires, la chétotaxie et les caractères des nageoires (**Séguy, 1923**).

1.2.4. L'adulte

Une fois métamorphosé, provoque une cassure au niveau de la tête nymphale et émerge à la surface de l'eau. Les mâles atteignent leur maturité sexuelle au bout d'un jour alors que les femelles l'atteignent au bout de 1 à 2 jours, et elles sont plus

grandes que les mâles issus d'une même émergence (**Clements, 1999**).

Les moustiques, comme beaucoup d'insectes se nourrissent de nectar, source d'énergie. Seules les femelles sont hémaphages, elles n'ont pas besoin de sang pour leur propre survie mais en retirent les protéines nécessaires à la maturation de leurs œufs. La fécondation des œufs s'effectue lors de la ponte grâce au stockage du sperme des mâles par la femelle dans une spermathèque. En général, la durée de vie des moustiques adultes varie d'une semaine à plus d'une trentaine de jours. Deux éléments permettent de distinguer le mâle de la femelle à l'œil nu; les palpes maxillaires sont très courts et effilés chez la femelle, contrairement au mâle où ils sont plus longs que la trompe et ses antennes sont plus développées et très poilues (**Urquhart et al., 1996 ; Euzéby, 2008**).

Les trois parties fondamentales du corps du Moustique sont bien distinctes : La tête de forme générale globuleuse, elle porte : des yeux à facettes, volumineux et presque jointifs (séparés par une bande frontale étroite) souvent de couleur bleue ou vert métallique ; une paire d'antennes à quinze segments, plumeuses chez le mâle, presque glabres chez la femelle (**Brunhes, 1970**). Les appendices buccaux sont de type piqueur-suceur. Le thorax est formé de trois segments soudés : le prothorax, le mésothorax et le métathorax, chacun portant une paire de pattes. Le mésothorax et le métathorax portent respectivement les ailes fonctionnelles et les balanciers (deuxième paire d'ailes modifiées). La chétotaxie thoracique, surtout les soies pleurales (spiraculaires, postspiraculaires, sterno-pleurales, préalaires...), ont un grand intérêt systématique. L'abdomen mince et allongé, composé de dix segments dont les neuvième et dixième formant les génitalia (ou hypopygium) assurant les fonctions sexuelles (Fig. 4) (**Bendali, 2006**).

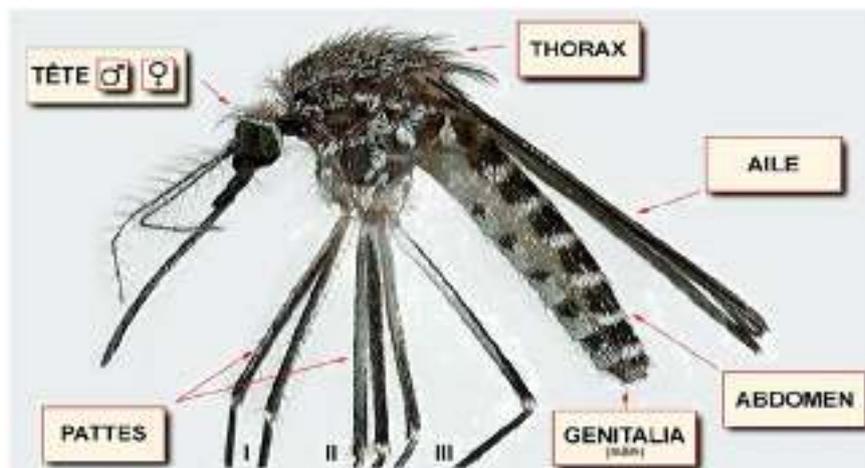


Figure 4: Morphologie générale d'un imago de *Culex pipiens* (Schaffner et al., 2001)

1.3. Cycle de développement de *Culex pipiens*

Le cycle de développement des moustiques dure environ douze (12) à vingt (20) jours (**Adisso et Alia, 2005**). Il se caractérise par deux phases distinctes (**Rodhain et Perez., 1985**). Phase aquatique, pour les trois premiers stades et une phase aérienne pour le dernier stade, imago ou adulte (Fig. 5).

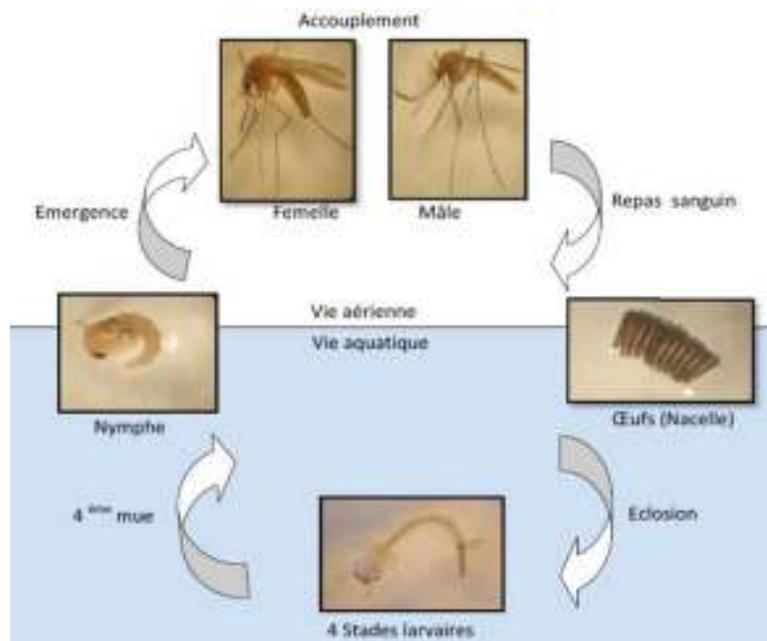


Figure 5 : Cycle de développement de moustique *Culex pipiens* (Klowden, 1990)

1.3.1. La Phase aquatique

A maturité, les œufs éclosent et donnent des larves de stade 1 (1 à 2 mm) qui, jusqu'au stade 4 (1,5 cm) se nourrissent de matières organiques, les larves de moustiques ont une respiration aérienne qui se fait à l'aide de stigmates respiratoires ou d'un siphon (Rodhain et Perez., 1985). Au bout de six à dix jours et plus, la quatrième mue donne naissance à une nymphe: c'est la nymphose (Guillaumot, 2006). C'est la phase de métamorphose qui dure un à deux jours. L'adulte émerge progressivement en se gonflant d'air pour s'envoler après un temps nécessaire au dépliement des ailes et des pattes par augmentation de la pression de l'émolymph. L'émergence dure environ quinze minutes (Rodhain et Perez, 1985).

1.3.2. La Phase aérienne

Les sujets des deux sexes s'accouplent en vol ou dans la végétation et ont une distance de vol de un à deux km. Grâce aux longs poils dressés sur leurs antennes, les mâles peuvent percevoir le bourdonnement produit par le battement rapide des ailes des femelles, qui s'approchent des essaims lors du vol nuptial. A ce moment, le mâle féconde la femelle en lui laissant un stock de sa semence. Elle ne s'accouple donc qu'une seule fois (Darriet, 1998). Les adultes mâles et femelles se nourrissent de jus sucrés, de nectars et d'autres sécrétions végétales. Pourtant, une fois fécondées, seules les femelles partent à la recherche d'un repas sanguin duquel, elles retirent les protéines et leurs acides aminés, nécessaires pour la maturation des œufs. Ce repas sanguin prélevé sur un vertébré (mammifère, amphibien, oiseau), est ensuite digéré dans un endroit abrité (Guillaumot, 2006). Dès que la femelle est gravide. La ponte a lieu généralement au crépuscule. Le gîte larvaire est une eau stagnante ou à faible courant, douce ou salée (Ayitchedji, 1990).

1.4. Le complexe *Culex pipiens*, ses membres et leurs répartition mondiale

L'existence du complexe *Culex pipiens* est établie depuis longtemps, mais ce n'est qu'à partir de 1960 que les spécialistes le considèrent comme étant un problème mondial, de par son implication pathologique humaine ou vétérinaire (Vinogradova, 2003). L'avènement des outils génétique a considérablement amélioré notre compréhension de l'histoire de la spéciation (séparation d'une espèce en deux nouvelles espèce lors du processus évolutif). Selon les conclusions de Vinogradova (2000) ; le complexe *Culex pipiens* regroupe plusieurs espèces: *Culex pipiens* (Linnaeus, 1758) avec ses deux formes; la forme *C. pipiens pipiens* et la forme *C. pipiens molestus* Forskål, 1775, *Culex pipiens quinquefasciatus* Say, 1823, *Culex pipiens pallens* Coquillett, 1898, *Culex pipiens australicus* (Dobrotworsky et Drummond, 1953). D'autre espèce est étroitement liée ou suggérée appartenir à ce complexe telle que, *Culex globocoxitus* Dobrotworsky, 1953. Les membres de ce complexe présentent des caractères morphologiques semblables avec des différences éco-physiologiques qui se traduisent par leur capacité à produire une première ponte sans prendre de repas sanguin (autogénie versus anautogénie), à s'accoupler dans des espaces fermés (sténogamie versus eurygamie), à entrer en diapause durant la période hivernale (hétérodynamie versus homodynamie) (Vinogradova, 2003; Smith; Fonseca, 2004). Chaque membre appartenant au complexe *Culex pipiens* a une répartition géographique caractéristique. En effet, *Culex pipiens* L. est présent en Europe, au Nord et au Sud de l'Afrique, en Asie non tropicale et en régions tempérées de l'Amérique du Nord et du Sud (Harbach et al., 1985; Vinogradova, 2000; Vinogradova, 2003). *Culex pipiens* existe uniquement sous sa forme *molestus* au Japon, en Corée du Sud et en Australie (Vinogradova, 2000). *Culex quinquefasciatus* est présent en région tropicale, subtropicale de l'Afrique et des Amériques et en Sud-Est de l'Asie et de l'Australie (Fonseca et al., 2006). *Culex pallens* est distribué à l'Est de l'Oural à travers l'Asie tempérée (Fonseca et al., 2009). *Culex globocoxitus* et *Culex australicus* sont essentiellement limités à l'Australie (Fig. 6).

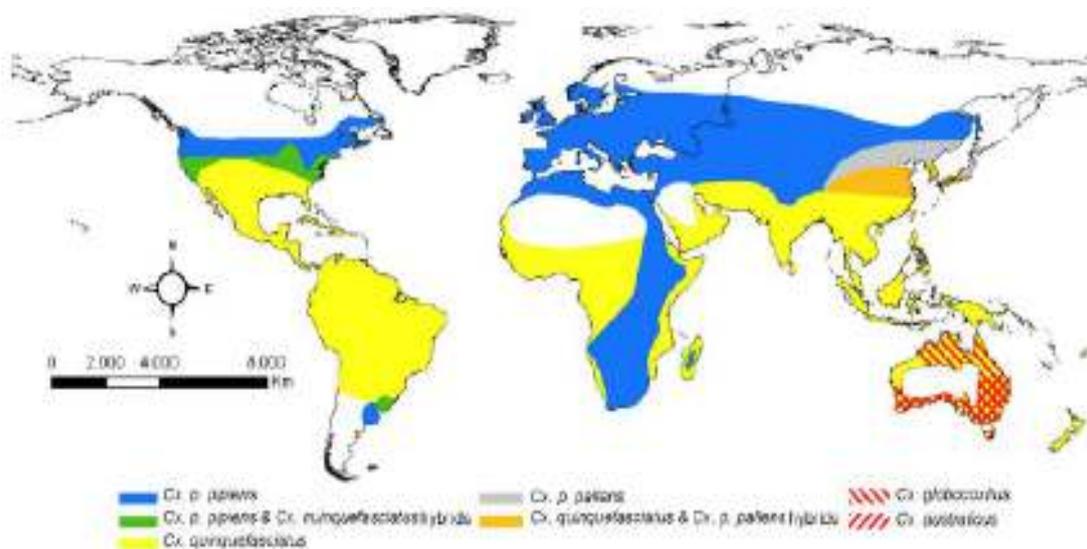


Figure 6: Distribution globale du complex *Culex pipiens* (Smith et Fonesca, 2004; Vinogradova, 2000)

Le moustique *Culex pipiens* L. existe sous deux formes: une forme molestus et une forme pipiens. La forme molestus est autogène (capable de réaliser une première ponte sans prendre de repas de sang), sténogame (peut s'accoupler dans des espaces confinés) et reste en activité durant la période hivernale (homodynamique). A l'inverse, la forme pipiens est anautogène (exigeant toujours un repas de sang pour réaliser une ponte), eurygame (s'accouple en plein air) et rentre en diapause pendant l'hiver (hétérodynamique). (**Amraoui et al., 2012**). Les deux formes semblent ne pas être isolées génétiquement et leurs hybrides sont présents aux USA, au Sud et au Nord de l'Europe (**Fonseca et al., 2004; Gomes et al., 2009; Reusken et al., 2010**). Les deux formes présenteraient des préférences trophiques différentes, la forme pipiens se nourrit principalement sur les oiseaux (ornithophile) et la forme molestus sur les mammifères (mammophile). Par ailleurs, les hybrides ont des préférences trophiques mixtes pour les oiseaux et les mammifères (**Amraoui et al., 2012**). *Culex pipiens* L. est le seul membre du complexe *Culex pipiens* présent en Afrique du Nord.

Dans les zones urbaines, les populations de *Culex pipiens* colonisent les gîtes hypogés et ont été décrites comme autogènes, sténogames et anthropophiles. Des populations anautogènes ont été également observées en gîtes épigés. A l'inverse, en zones rurales *Culex pipiens* est anautogène, sténogame et anthropophile ou ornithophile (**Amraoui et al., 2012**).

1.5. Les principales nuisances causées par *Culex pipiens* L.

On distingue deux types de nuisances causées par *Culex pipiens* : La première est causée par la pique de la femelle (**Urquhart et al., 1996**) qui va entraîner, chez l'homme comme chez l'animal, une lésion ronde érythémateuse de quelques mm à deux cm de diamètre. Il est à noter que la pique ne provoque aucune douleur immédiate grâce à un anesthésique local contenu dans la salive (**Andreo, 2003**). Les lésions sont très souvent suivies d'une réaction allergique due aux allergènes présents dans la salive de *Culex pipiens* injectée durant le repas sanguin. Cela entraîne généralement un fort prurit (**Toral et Caro, 2005**). La deuxième nuisance est liée à la transmission de maladies. Le moustique se contamine au cours du repas sanguin sur un hôte infecté. L'agent pathogène va alors subir un cycle de maturation et sera transmis au cours du repas suivant sanguin, dont l'agent pathogène accomplit une période de son développement chez le moustique.

On distingue deux types d'agents pathogènes transmis par les *Culex* :

- **Des virus**, de la famille des *Bunyaviridae* genre *Phlebovirus*, responsable de la maladie de la Fièvre de la Vallée du Rift, zoonose dont l'espèce cible principale est le bétail (**Petit et al., 2009**). De la famille des *Flaviviridae* genre *Flavivirus* qui cause le West Nile, atteint les oiseaux mais peut aussi toucher l'homme (**Faraj et al., 2006 ; Hamer et al., 2008**). L'encéphalite de Saint Louis atteint également l'oiseau et l'homme. L'encéphalite japonaise humaine a pour réservoirs le porc et les oiseaux sauvages. Le virus de la dengue atteint exclusivement l'homme. La fièvre jaune peut se transmettre aux singes et à l'homme (**Andreo, 2003**).

- **Des parasites**, *Dirofilaria immitis*, responsable de la dirofilariose cardio-pulmonaire du chien. D'autres espèces peuvent néanmoins être atteintes : le chat, les canidés sauvages et même l'homme (**Toral et Caro, 2005**). *Dirofilaria repens*, agent de la filariose sous-cutanée chez le chien, mais aussi chez le chat et l'homme. L'adulte se développe dans le tissu conjonctif sous-cutané. Cliniquement, des nodules de quelques millimètres à quelques centimètres de diamètre, indolores, prurigineux et localisés préférentiellement en région postérieure du corps (**Euzeby, 2008; Toral et Caro, 2005**). *Wuchereria bancrofti*, responsable de la filariose lymphatique de l'homme (**Andreo, 2003**).

1.6. Les différents moyens de lutte contre les moustiques

Depuis l'antiquité, l'homme a toujours cherché à se protéger contre les arthropodes nuisants et vecteurs. Dans différentes régions tropicales, certaines pratiques traditionnelles permettent la réduction des piqûres de moustiques dans les habitations. Les moyens mis alors en œuvre étaient essentiellement des mesures d'aménagement de l'environnement (**Mouchet et Carnevale, 1991**).

1.6.1. Lutte physique

Elle consiste à modifier le biotope de l'insecte en supprimant tous les facteurs favorables à son développement, cette technique est la plus anciennement connue contre *Culex*, elle est basée sur les mesures d'assainissement et d'aménagement du milieu urbain qui consiste à éliminer les collections d'eaux usées stagnantes ou tout au moins à les rendre inaccessibles aux adultes, et concurremment à prévenir l'apparition et la multiplication des gîtes. Malheureusement, de tels travaux d'assainissement restent le plus souvent à l'état de projet et les rares mesures prises sont généralement insuffisantes (coût budgétaire très élevé) (**Curtis, 1994 ; Chavasse et al., 1995**).

L'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides de portes et de fenêtre des maisons et des immeubles, qui gardent les moustiques à l'extérieur. Les filets tendus dans les tentes ou suspendus au-dessus des lits sont des barrières efficaces contre les insectes piqueurs ou suceurs tels que les moustiques (**Mathis et al., 1970**).

1.6.2. Lutte génétique

Elle consiste à provoquer l'extinction d'une population naturelle d'insectes en y introduisant des individus de la même espèce préalablement rendus stériles par les rayons X ou par chimio-stérilisation. Cette technique a donné de bons résultats sur les insectes à faible densité de population et en milieu isolé (glossine, lucille bouchère). Sur les moustiques, ces techniques séduisantes au laboratoire n'ont donné jusqu'à présent que peu de résultats sur le terrain (**Crampton et al., 1990; Collins et al., 2000**).

1.6.3. Lutte chimique

Elle est basée sur l'utilisation d'insecticides chimiques, les plus couramment utilisés à ce jour en santé publique, sont des insecticides organiques de synthèse. Ils sont répartis en six grandes familles, organochlorés, organophosphorés, carbamates, pyréthrinoïdes, phényl pyrazoles, régulateurs de croissance.

- **Organochlorés**, on retrouve dans ce groupe le DDT (dichloro-diphényl-trichloréthane) et ses analogues (ex: le méthoxychlore); le Lindane (l'hexachlorocyclohexane: HCH); les Cyclodiènes (la Dieldrine). La découverte du DDT a été une véritable révolution dans la lutte contre les insectes. Il fut largement utilisé en agriculture et en santé publique, où il contribua à sauver de nombreuses vies humaines (**Mouchet, 1994**). Il agit sur le système nerveux périphérique et central des insectes, en perturbant les mécanismes de perméabilité aux ions sodium (Na^+) et potassium (K^+) (**Hassal, 1990**). Le lindane et les cyclodiènes (Dieldrine) agissent sur le système nerveux central. Ils inhibent les canaux chlorures, récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) qui joue un rôle de neuromédiateur inhibiteur. L'apparition de résistance à ces produits et leur grande toxicité entraîne une diminution de leur utilisation, voire leur retrait.

- **Organophosphorés**, agissent en inhibant l'acétylcholinestérase nécessaire à la transmission correcte des impulsions nerveuses et aux contrôles musculaires chez l'insecte. Le Chlorpyrifos, le Malathion et le Fenthion, insecticides de référence, ont été utilisés succès dans le traitement des eaux usées contre les larves de *Culex quinquefasciatus* car ils présentent alors une efficacité immédiate et une persistance d'activité élevée (**Bang et al., 1975**).

- **Carbamates**, ils agissent par leur complémentarité structurale à l'égard du site actif de la cholinestérase, provoquant des symptômes d'intoxication cholinergique au même titre que les organophosphorés.

- **Pyréthrinoïdes**, ce sont des dérivés synthétiques des pyréthrines (extrait naturel des fleurs de chrysanthème). Ils agissent sur les macromolécules de la membrane nerveuse qui régissent la perméabilité des ions Na^+ et K^+ au moment de l'activité nerveuse. Ce sont les insecticides les plus utilisés en santé publique. Nous pouvons citer: la Perméthrine, la Deltaméthrine, l'Alpha-cyperméthrine, la Cyfluthrine, etc. Ils sont efficaces, rémanents et faiblement toxiques pour les mammifères, d'où l'intérêt de leur utilisation pour l'imprégnation des moustiquaires de lit comme méthode de lutte contre les moustiques et plus particulièrement de prévention vis à vis du paludisme (**Lengeler et al., 1997**).

- **Phényl pyrazole**, agit sur le système nerveux central, Il interfère sur les canaux chlorures, récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) qui joue un rôle de neuromédiateur inhibiteur. Il perturbe le système nerveux central et à dose suffisante cause la mort de l'insecte (**Lengeler et al., 1997**).

- **Régulateurs de croissance**, ce sont des analogues d'hormone de croissance. Les juvénoïdes inhibent la nymphose et les ecdysoïdes inhibent la sclérisation de la cuticule après les mues larvaires. Les inhibiteurs de croissance, en particulier le Flumuron ou l'Hexaflumuron, ont montré de très bons résultats, aussi bien en terme de toxicité que de rémanence, au laboratoire et sur le terrain (**Doannio et al., 1986 ; Darriet et al., 1987**).

1.6.4. Lutte biologique

Sous ce vocable, on retrouve notamment l'emploi de prédateurs naturels des moustiques pour lutter contre ces derniers, comme les oiseaux, les chauves-souris, les poissons et certains insectes. À ce propos, **Kumar et Hwang (2006)** ont élaboré une revue de littérature des moyens de lutte biologique ayant recours à des amphibiens, des poissons, des petits crustacés aquatiques (comme les copépodes) ainsi que des insectes. Parmi l'arsenal d'agents potentiels de lutte (bactéries, champignons, protozoaires, virus) identifiés au cours des 30 dernières années, les plus efficaces et les plus prometteurs se sont révélés être deux bactéries sporulant et appartenant au genre *Bacillus* (**Who, 1984**) *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bt-H14) et *Bacillus Sphaericus*. Le spectre d'activité de ces deux bactéries est assez étroit et constitue l'un des atouts majeurs de ces agents de lutte.

1.6.5. Lutte intégrée

On la définit comme étant « l'emploi rationnel de toutes les méthodes de lutte appropriées tant sur le plan technique (compatibilité, innocuité), que sur le plan de la gestion (rentabilité), afin d'obtenir une réduction efficace des populations de vecteurs et d'enrayer la transmission de la maladie ». Les moyens mis en œuvre peuvent être de nature chimique ou autre (aménagement de l'environnement, protection individuelle et lutte biologique). En outre, si l'on veut pouvoir mener durablement la lutte anti vectorielle intégrée, il est essentiel de s'appuyer sur l'éducation pour la santé et la participation communautaire (**Who, 1992**).

2. Substances végétales à effet insecticide

2.1. Les huiles essentielles

2.1.1. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE), appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal (**Padrini et Lucheroni, 1996**). Pour la 8ème édition de la pharmacopée française (1965), les huiles essentielles sont : «des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation» (**Bruneton, 1993**). Elles sont odorantes et très volatiles, c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air

(Padrini et Lucheroni, 1996). Généralement se sont des antiseptiques antibactériens vermifuges ou stomachiques. On dénombre environ 600 essences utilisées de nos jours en aromathérapie dont l'essor s'étend dans le domaine médical et touristique **(Delille, 2010)**. Il est important de faire une différence entre les HE et les huiles végétales. Les HE sont obtenues par expression (réservée aux agrumes) ou par distillation à la vapeur d'eau, Une huile végétale est obtenue par pression, et est constituée majoritairement de corps gras **(Binet et Brunel, 2000 ; Chaker, 010)**.

2.1.2. Localisation

HE peuvent être stockées dans tous les organes de la plante, par exemples: dans les sommités fleuries (menthe, lavande) les feuilles (eucalyptus, laurier) les rhizomes (gingembre) les fruits (agrumes, badiane, anis), les racines (vétiver), les graines (muscades), bien que cela soit moins habituel dans des écorces (cannelier) **(Yahyaoui, 2005)**. Elles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante .la synthèse et l'accumulation des HE sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisés, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante qui sont: cellules à HE de Lauraceae, les poils sécréteurs des Laminaceaes, poches sécrétrices des Myrtaceaes, des Rutaceaes, et les Laminaceaes, et les canaux sécréteurs qui existent dans de nombreuses familles. Il est intéressant de remarquer que les organes d'une même espèce peuvent renfermer des huiles essentielles de composition différente selon la localisation dans la plante **(Belkou et al., 2005)**.

2.1.3. Composition chimique

Dans les plantes, les HE n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Elles peuvent être stockées dans divers organes: fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits ou graines **(Brunetton, 1987)**. Les HE sont constitués principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes, les monoterpènes (myrcène, Ppinène, γ -terpinène) et sesquiterpènes (P-caryophyllène, α -humulène, P-bisabolène), prépondérants dans la plupart des essences et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane **(Kurkin, 2003)**. Les terpènes sont des composés issus du couplage de plusieurs unités «isopréniques» (C_5H_8), soit deux unités pour les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$) et trois pour les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$). Exceptionnellement, quelques diterpènes ($C_{20}H_{32}$) peuvent se retrouver dans les huiles essentielles **(Vila et al., 2002)** .

2.1.4. Rôle physiologique

Les plantes aromatiques produisent des HE en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante reste inconnu **(Rai et al., 2003)**. Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation.

D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, conservant l'humidité des plantes dans les climats désertiques (**Belaiche, 1979**). Certaines huiles essentielles servent à la défense des plantes contre les herbivores, insectes et micro-organismes (**Capo et al., 1990**).

2.1.5. Activité insecticide et mécanismes d'action

Les huiles essentielles se disposent de grands potentiels, qui les rend une piste de recherche très prometteuse, et particulièrement leur effet insecticide (**Glitho, 2002**). La grande majorité de ces études portaient sur les moustiques, que ce soit sur l'effet répulsif des huiles essentielles (**Oshaghi et al., 2003**) ou sur leur effet ovocide (**Martin et al., 2006**) ou larvicide (**Markouk et al., 2000**).

Le mode d'action des huiles essentielles est relativement peu connu chez les insectes (**Isman, 2000**).

- **Effets physiologiques:** Les huiles essentielles ont des effets anti-appétent, affectant ainsi la croissance, la mue, la fécondité et le développement des insectes et acarien. Des travaux récents montrent que les monoterpènes inhibent la cholinestérase (**Keane et al., 1999**).

- **Effets sur le system nerveux :** L'octopamine est un neuromodulateur spécifique des invertébrés : Cette molécule a un effet régulateur sur les battements de cœur, la motricité, la ventilation, le vol et le métabolisme des invertébrés. **Enan (2000)** et **Isman (2000)** font le lien entre l'application de l'eugénol, de l'alpha-terpinéol et de l'alcool cinnamique, et le blocage des sites accepteurs de l'octopamine. **Enan (2000)** a également démontré un effet sur la Tyramine, autre neurotransmetteur des insectes. En général, les huiles essentielles sont connues comme des neurotoxiques à effets aigus interférant avec les transmetteurs octopaminergiques des Arthropodes.

2.1.5. Activité insecticide et mécanismes d'action:

2.2. Les extraits aqueux

2.2.1. Définition

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en quatre grandes catégories : les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques. Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils y jouent différents rôles, dont celui de moyen de défense contre les agressions externes. Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante. Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies (**Hartmann, 2007**) et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une

famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Les composés phénoliques, les terpénoïdes, les stéroïdes et les alcaloïdes sont des exemples de métabolites secondaires ; ils ont de nombreuses applications phytopharmaceutiques.

2.2.2. Intérêt des extraits aqueux

Les substances naturelles défensives des plantes ont servi d'insecticide longtemps avant l'avènement des substances chimiques de synthèse à la faveur des deux grandes guerres mondiales. La littérature mentionne plusieurs exemples de plantes dont les genres *Srafrum*, *Derris*, *Chrysanthemum* ayant des propriétés insecticides et qui ont orienté la mise au point de produits commerciaux modernes très actifs. C'est ainsi qu'avec plus de 400.000 substances chimiques (terpènes, alcaloïdes, phénols, tannins) le règne végétal constitue la plus grande source de produits insecticides naturels du monde (**Shoonhoven, 1978 cité par ISRA/CNRA, 1997**). En effet les plantes synthétisent de nombreux métabolites secondaires dotés de propriétés répulsives, anti-appétantes ou biocides à l'égard des herbivores (Tableau 1)

Tableau 1 : Substances secondaires d'origine végétale (ISRA/CNRA, 1997)

Groupe chimique	Nombre de produits actifs identifiés
Alcaloïdes	4 500
Flavonoïdes	1 200
Terpènes	1100
Autres	3 600
Total	10 400

3. Importance des formulations

3.1. Définition des formulations

La formulation est, par définition, «l'ensemble des connaissances et des opérations mises en œuvre lors du mélange de l'association ou de la mise en forme d'ingrédients (matières premières) souvent incompatibles entre eux de façon à réaliser un produit caractérisé par une fonction d'usage» (**Aubrey et Schorsch, 1999**). Les produits formulés sont destinés à remplir une fonction principale, appelée fonction d'usage. Contrairement à la synthèse chimique, on évite en formulation que les produits réagissent entre eux lors du mélange, puis lors du stockage et de la préparation. La réaction doit se produire précisément au moment où le produit remplit sa fonction d'usage (réactivité retardée) (**Schorsch, 2000**).

3.2. Les composants d'un produit formulé

D'après **Smith** (2006), un produit formulé ou un composé formulé est constitué d'une molécule active (matière active) et d'un adjuvant.

- **Matière active** : Une matière active est une matière première permettant de remplir la fonction d'usage d'un produit.

- **Adjuvant** : Un adjuvant permet d'augmenter l'efficacité, la sécurité, la manipulation et l'application d'une matière active en modifiant ces caractéristiques physique ou chimique.

3.3. Types de formulations

Les produits formulés se présentent sous la forme liquide, solide ou gazeuse.

- **Les formulations liquides incluent** : Les concentrés émulsifiables, les suspensions concentrées, les suspensions en microcapsules, les solutions.

- **Les formulations solides comprennent** : Les poudres solubles, les appâts, les granulés, les comprimés, les pastilles, les pâtes granulées, les granulés solubles, les poudres mouillable

- **Les formulations gazeuses sont des fumigants**: Elles sont disponibles sous forme solide, liquide ou gazeuse (**Martini et Seiller, 2006**)

3.4. Importance de formulation

Le premier rôle d'une formulation est donc d'améliorer les performances des principes actifs en permettant notamment une réduction des doses d'emploi limitant ainsi leur impact sur la faune et la flore. Pour pallier aux problèmes de pertes lors de l'utilisation des produits phytosanitaires, Il est également intéressant de rappeler les étapes et les points clés de l'application d'un produit phytosanitaire sur une culture (**Holloway, 1993**). La première étape d'une application part de la pulvérisation jusqu'à l'impact sur la plante cible. La seconde étape part de la formation de dépôt à l'expression de l'activité biologique. En effet après dépôt sur la feuille, des pertes de matière active sont encore envisageables (**Holloway et Stock, 1990**). Comme il a été déjà mentionné, les pertes de matière active sont très importantes durant la pulvérisation, c'est-à-dire entre la formation de gouttelettes, la rétention du liquide, et la formation du dépôt. Les phénomènes les plus importants à l'origine de ces pertes sont la volatilisation, la dégradation photochimique, la cristallisation et surtout le rebond et le ruissellement de gouttelettes (**Gauvrit, 1995**). D'après **Gauvrit, (1994)**, le rôle majeur des produits formulés s'exprime lors de l'impact des gouttelettes de produit sur la feuille. En effet, comme ils diminuent la tension superficielle de l'eau, ils permettent aux gouttelettes de s'étaler sur la cible. Cet étalement augmente l'adhésion de la bouillie à la surface foliaire et donc la probabilité d'accrochage (pour

un diamètre donné). A l'échelle de la plante entière, on observe une rétention plus élevée de la bouillie du produit, d'où le nom d'effet mouillante, qui permet d'améliorer la sécurité et la commodité d'emploi de ces produits, leur stabilité et éventuellement leur capacité à pénétrer dans le végétal (Vernner et Bauer, 2007). Ce qui permet de créer un produit efficace (Aubrey et Schorsch, 1999).

4. Présentation de *Pistacia lentiscus* L.

Parmi les espèces du genre *Pistacia*, on retrouve le lentisque (*Pistacia lentiscus*) qui est un arbuste connu pour l'usage de ses feuilles et fruits en médecine traditionnelle pour leurs vertus thérapeutiques. En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, en l'occurrence *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* (Quezel et Santa, 1962). *Pistacia lentiscus* est un arbuste à feuilles persistantes de la famille des anacardiées pouvant atteindre 3 à 4 m de hauteur, allant jusqu'à 6 à 7 m dans les conditions favorables (Fig. 7). Il se développe dans des régions arides et caractéristiques des pays méditerranéens (Castola et al., 2000). En méditerranée, cet arbuste a la capacité de se développer le long d'un gradient d'humidité et de température où les composés volatils des différentes parties de cette plante (les feuilles, les fruits et le mastic) ont fait l'objet de plusieurs études (Fernández et al., 2000).



Figure 7 : Arbuste de *Pistacia lentiscus* L. (Belfadel, 2009)

4.2. Origine

Pistacia lentiscus est largement distribuée dans les écosystèmes extrêmes du bassin méditerranéen, notamment dans les régions ensoleillées à basse altitude, et constitue, avec les myrtes et les cistes, d'immenses broussailles appelées maquis. C'est une espèce thermophile très vigoureuse prospérant dans tous les terrains secs et arides (Bhourri et al., 2010). Le lentisque se rencontre dans toutes les parties chaudes de la méditerranée de l'Europe, de l'Asie, de l'Afrique jusqu'au Canaries (Al-Saghir, 2006). En Algérie, *Pistacia lentiscus* est très répandue dans tout le

littorale et le bassin de la soummam, les régions sub-littorales et jusqu'au Sahara (Belhadj, 2002).

4.1. Description botanique :

Pistacia lentiscus, connu aussi comme l'arbre au mastic, est décrite comme l'une des espèces ligneuses les plus importantes dans le bassin méditerranéen (Cortina et al., 2008). C'est un arbuste ou arbrisseau résineux à odeur très prononcée buissonnant et touffu de quelques mètres de hauteurs (un à trois mètres) (Baba-Aissa, 1999). Elle est caractérisée par :

- **Ecorce**: rougeâtre sur les jeunes branches et vire au grise avec le temps. Lors de l'incision de l'écorce, la plante laisse s'écouler une résine irritante non colorée et à odeur forte.

- **Feuilles** : persistantes, composées, paripennées, possédant un nombre pair de folioles (quatre à dix) d'un vert sombre, elliptiques, obtuses, luisantes en dessus, glabres, coriaces et dont le pétiole est bordé d'une aile verte (Boullard B. 2000).

- **Mastique**: l'incision du tronc de cet arbuste fait écouler un suc résineux nommé mastic qui, une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie.

- **Fleurs** : Les fleurs sont unisexuées d'environ 3 mm de large se présentent sous forme de grappe, et très aromatiques, forment des racèmes de petite taille à l'aisselle des feuilles. On distingue les fleurs femelles des fleurs mâles grâce à leur couleur, vert jaunâtre pour les femelles et rouge foncé pour les mâles. La plante est dioïque (Somson, 1987).

- **Fruit** : est une baie globuleuse de deux à trois mm, d'abords rouges puis noirs à la maturité (Abdelwahed et al., 2007 ; Charef et al., 2008).

4.3. Constituants chimiques

Comme d'autres plantes du genre *Pistacia*, le lentisque contient des centaines de substances chimiques actives. L'analyse phytochimique des feuilles indique la présence des métabolites secondaires : des tannin, flavonoïdes, stérol des triterpènes et des saponoside (Bamou et al., 1997). Des composés phénoliques à savoir les acides phénoliques notamment l'acide gallique et ses dérivés glycosylés, les flavonoïdes dont les flavones (Djeridane et al., 2007; López-Lázaro, 2009), les flavonols, des hétérosides et des anthocyanins (Benhammou et al., 2008; Hamlat et Hassani, 2008), mais aussi des tannins (Wei et al., 2002; Addelwahed et al., 2007). En outre, il a été rapporté que les parties aériennes sont extrêmement riches en monoterpènes, tels que le myrcène, α -pinène, Terpinen-4-ol, limonène, longifolène, β -caryophyllène, D-germacrène, δ -caryophyllène, δ -cadinène, α -cadinol, β -bisabolène, β -bourbonène et oxide de caryophyllène et camphène (Amhamdi et al, 2009 ; Bamou et al., 2015, Belkhoumali, 2015).

De même, les fruits sont aussi riches en tannins, en monoterpènes tels que myrcène, α -pinène et limonène (**Baba-Aissa, 1999; Castola et al., 2000**), en flavonoïdes et les dérivés de galloyl (**Bhourri et al., 2010**) et en acides phénoliques, notamment l'acide gallique (**Addelwahed et al., 2007**). On trouve aussi les acides gras insaturés comme l'acide oléique et linoléique (**Charaf et al., 2008**).

4.4. Utilisations industrielles

Cette espèce présente un intérêt économique particulier du fait que les huiles essentielles extraites à partir des feuilles et des rameaux sont utilisées dans la parfumerie, en alimentation et en para-pharmacie (**Longo et al., 2007 ; Amhamdi et al., 2009**). Pour la résine de Pistacia, elle est utilisée dans certains mélanges de cosmétiques et de parfumeries; mais aussi comme ingrédient de matériau de remplissage en dentisterie et en production de dentifrice ; car elle possède, entre autre, la propriété de purifier l'haleine, blanchir les dents et traiter les problèmes de gingivites (**Dogan et al., 2003**).

CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Objectif

L'objectif de ce travail consiste à estimer l'efficacité de différentes doses de phytopréparations à base d'extraits aqueux et d'huiles essentielles des feuilles de l'arbre au mastic, ou Pistachier lentisque *Pistacia lentiscus* à l'égard des formes larvaires de moustique *Culex pipiens*.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Matériel végétale

Le modèle végétal convoité a été récoltée manuellement au niveau du piémont de l'Atlas Blidéen plus précisément dans le secteur de Hammam Melouane à une altitude de 396 mètres (**Latitude: 36,4833, Longitude: 3,05 ; 36° 28' 60" Nord, 3° 3' 0" Est**); durant le mois de mars qui correspond au stade floraison. L'échantillonnage s'est limité aux feuilles âgées et jeunes de cette Anacardiaceae. Le matériel végétal échantillonné, a été transporté au laboratoire où son séchage a été persuadé à l'abri de la lumière. Le matériel végétal séché dont une partie est conservée en état jusqu'à son utilisation pour l'extraction des huiles essentielles, alors qu'une autre partie a été écrasé dans un mortier puis il a subi un broyage à l'aide d'un mixeur à hélice afin d'obtenir une poudre fine. La poudre obtenue a été stocké dans des buccaux en verre hermétiques jusqu'à son utilisation pour la préparation des extraits aqueux.

2.1.2. Matériel animal

Le matériel biologique destiné à l'évaluation de l'efficacité des phytopréparations à base d'extraits aqueux et d'huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* est limité au 3^{ème} stade larvaire du nuisible à la santé publique *Culex pipiens* prélevés du plan d'eau du marais côtier de Réghaïa durant la période mars-avril 2017.

La zone humide de Réghaïa est située à 30Km à l'Est d'Alger, formant un débouché naturel de la plaine de Mitidja, dont le bassin versant est de 75 Km². Elle est bordée au Nord par la mer Méditerranée, au Sud par la RN24 reliant Alger à Constantine, à l'Est par la ville de Boudouaou et à l'Ouest par la ville d'Ain Taya. C'est une zone très fragile et sensible aux conditions climatiques, topographiques, hydriques mais aussi aux actions anthropiques. Cette zone est constituée par un couvert végétal halophile très diversifié.

2.2. Méthodes d'étude

2.2.1. Méthode d'échantillonnage

La récolte des larves de moustiques a été conduite selon la méthode préconisée par **Rioux et al. (1965)**, connue sous le nom de coup de louche « Dipping ». La méthode consiste à plonger, en plusieurs endroits du gîte larvaire, un récipient prolongée par un manche assez long pour pouvoir atteindre les endroits difficiles d'accès. Par ailleurs, la collecte des larves a été réalisée en s'approchant lentement du gîte car toute perturbation est susceptible de faire plonger les larves et les nymphes au fond du gîte et de les rendre inaccessibles. Cette collecte consiste à se positionner face au soleil de sorte que l'ombre ne balaie pas la surface du gîte, en restant immobile, pendant quelques secondes, pour permettre aux larves de reprendre leur activité normale et de plonger la louche doucement dans l'eau suivant un angle de 45°C et la retirer d'un mouvement uniforme en évitant les remous puis verser le contenu de la louche dans un contenant (bouteille en plastique) en prenant soin de bien l'étiqueter. et de ne pas fermer les bouteilles hermétiquement pour permettre aux larves de respirer et enfin reporter sur le carnet d'annotation toutes les informations concernant le gîte avant de les rapporter au laboratoire.

2.2.2. Identification des larves de *Culex pipiens*

Cette étape de l'étude a été réalisée au laboratoire de Phytopharmacie (département des Biotechnologies, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Blida1). Elle consiste à identifier morphologiquement les larves de *Culex* par la méthode isolement-éclaircissement-montage. Seules les larves du 4^{ème} stade ont été utilisées pour l'identification vue leur facilité de manipulation et leur chétotaxie (**Bouadiba et al., 2012**).

D'après **Messai et al. (2012)**, le montage des larves se fait, en premier lieu, par la réhydratation des larves conservées dans de l'alcool dans un bain d'eau distillée pendant quelques minutes. Puis, leur éclaircissement dans une solution de potasse (KOH) à 10% pendant environ 10 minutes, leur rinçage à l'eau distillée (3 bains de 2 à 5 minutes), leur déshydratation par passage dans de l'alcool à concentration croissante (70°,90° et 100°) pendant 15 minutes pour éliminer l'eau contenue dans l'échantillon. Et enfin, leur montage entre lame et lamelle dans une goutte de baume du Canada, en sectionnant à l'aide d'une fine aiguille la larve au niveau du 7^{ème} segment abdominal en deux parties. La partie antérieure est montée face dorsale et la partie postérieure est montée latéralement. Les larves préparées seront examinées sous un microscope photonique (Fig. 8).



Figure 8: Méthode d'identification des larves de *Culex pipiens* (Originale, 2017)

L'identification a été faite grâce au programme logiciel « Les Moustiques de l'Afrique méditerranéenne », réalisé par l'IRD de Montpellier en collaboration avec l'institut Pasteur de Tunis (**Brunhes et al., 1999**) (Fig. 9).

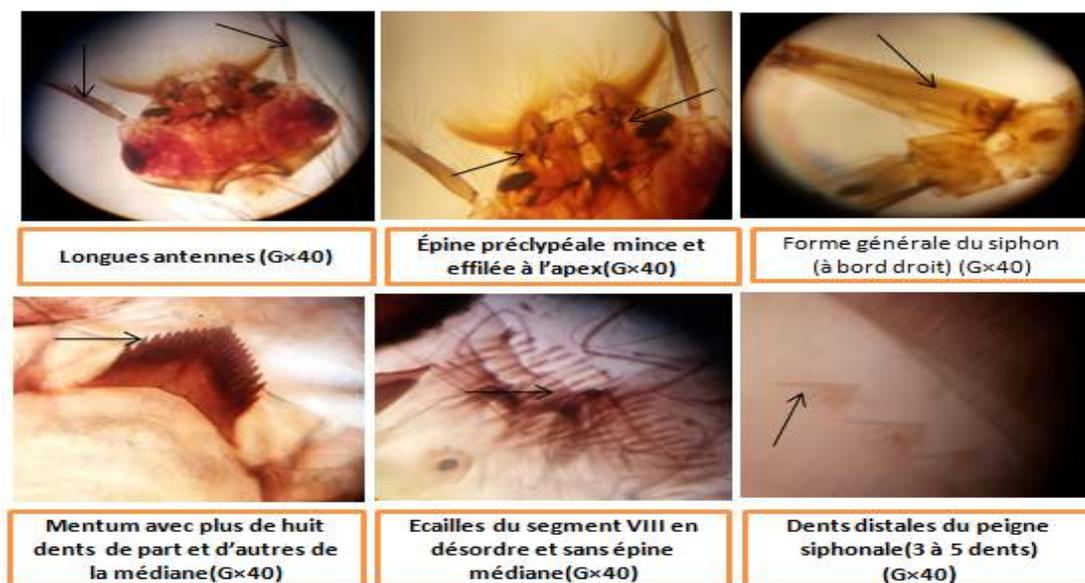


Figure 9: Critères d'identification des larves de *Culex pipiens* (Originale, 2017)

2.2.3. Extraction des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus*

La matière végétale est immergée directement dans un ballon rempli d'eau, placé sur une source de chaleur (Chauffe ballon), le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant puis elle récupérées dans une ampoule à décanter et l'huile essentielle se séparé de l'hydrolat par simple différence de densité (**Hellal, 2011**). Le milieu réactionnel constitué par 100 g de la matière végétale et de 600 ml d'eau distillé est porté à ébullition grâce à un chauffe-ballon. Une fois, l'ébullition s'effectue les cellules éclatent et se commencent à dégager leurs contenus en huiles essentielles, qui par la suite transportent avec le vapeur d'eau jusqu'à le réfrigérant, et après la condensation dans ce dernier l'huile se rassemble dans une ampoule à décantation. Les huiles essentielles récupérées dans de petits flacons opaques et stockée à 4°C.

2.2.4. Préparation des extraits aqueux de *Pistacia lentiscus*

Les extraits aqueux sont préparés selon la méthode décrite par **Royet al. (2011)**. La procédure prévoit une macération à froid qui consiste à prendre 25 g de la poudre végétal et à l'additionner à 250 ml d'eau distillée sous agitation magnétique horizontal pendant 72 h à la température ambiante (24-27°C). Les macérât obtenus ont été centrifugés pendant 15min avec une vitesse de 4000 tr/min pendant 15min. puis le surnageant est récupéré.

2.2.5. Formulations

Les formulations sont préconisées dans le but d'optimiser l'activité biologique des extraits aqueux et des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus*. La formulation a été réalisée au niveau du laboratoire de phytopharmacie du Département des biotechnologies, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Blida1.

- **Formulation des extraits aqueux**, a été préparée selon la méthode décrite par **Lesueur (2006)**. Elle est préparée par un mélange contenant 70% d'extrait aqueux et de 30% de solvant et d'émulsifiant ;

-**Formulation des huiles essentielles**, a été préparée selon la méthode décrite par **Moussaoui et al. (2014)**. Elle est obtenue par l'utilisation d'huiles essentielles (14%) comme matière active auquel un mélange de mouillant, de pénétrant et de tension actif sont ajoutés, après une agitation active à l'UltraTurrax IKA.

2.2.6. Dilutions des phytopréparations et présentation du témoin positif

- Phytopréparations à base d'extrait aqueux

Trois doses de concentrations ascendantes ont été préparées par le surnageant de l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus*. Les doses préconisées pour l'extrait brut sont comme suite : EABD1 (1ml/l), EABD2 (2ml/l) au EABD3 (4ml/l). L'effet biocide des différentes dilutions est comparé à un témoin négatif TEAB (00ml/100ml). En revanche, les doses préconisées pour l'extrait formulé sont comme suite : EAFD1 (1ml/l), EAFD2 (2ml/l) au EAFD3 (4ml/l). L'effet biocide des différentes dilutions est comparé aux témoins négatifs relatifs TFD1 (1ml/l), TFD2 (2ml/l).et TFD3 (4ml/l).

- Phytopréparations à base d'huiles essentielles

Trois doses de concentrations ascendantes ont été préparées par les huiles essentielles des feuilles de *Pistacia lentiscus*. Les doses préconisées pour la phytopréparation formulée sont comme suite : HEFD1 (0,25g/l), HEFD2 (0,5g/l) au HEFD3 (0,75g/l). L'effet biocide des différentes dilutions est comparé aux témoins négatifs relatifs THEFD1 (0,25g/l), THEFD2 (0,5g/l).et THEFD3 (0,75g/l).

- Témoin positif (Spinosad)

Le spinosad est un insecticide d'origine biologique composé d'un mélange de deux métabolites (spinosynes A et D) synthétisés par la bactérie *Saccharopolyspora spinosa*, du groupe des actinomycètes. Le mode d'action du spinosad est unique car il agit à la fois sur les récepteurs GABA et nicotiniques (**Salgado, 1998**). Le spinosad possède une très faible toxicité pour les mammifères [(DL50 pour le rat par ingestion de 3 783 à 5 000 mg/kg (**Tomlin, 2000**), l'environnement et la faune non

cible (DowElenco 1994 ; Miles & Dutton, 2000 ; Williams *et al.*, 2003)]. Il est par exemple 100 à 1 000 fois moins toxique pour la faune aquatique et en particulier les poissons que les insecticides de la famille des pyréthrinoides (Bret *et al.*, 1997). Sur les souches sensibles aux insecticides de trois moustiques d'intérêt médical : *Aedes. aegypti*, *Anopheles. gambia.* et de *Culex. quinquefasciatus*, les concentrations létales 50 (CL₅₀) ont été respectivement de 0,35 ; 0,01 ; et 0,093 mg/L. Une autre étude réalisée avec un concentré émulsifiable (EC) de spinosad titrant 4,8 % de matière active a donné des CL₅₀ de 0,0096 mg/L sur *Ae. aegypti*, 0,0064 mg/L sur *Cx. pipiens* et de 0,039 mg/L sur *An. stephensis* (Romi *et al.*, 2006).

Les doses préconisées pour le Spinosad sont comme suite : SPD1 (0,5ml/l), SPD2 (1ml/l) au SPD3 (2ml/l). L'effet biocide des différentes dilutions est comparé à un témoin négatif TSP (00ml /l).

2.2.7. Application des traitements

Les tests d'évaluation des potentialités larvicide des phytopréparations à base d'extraits aqueux et d'huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* à l'égard des larves du 3eme stade larvaire de *Culex pipiens* ont été conduit selon le protocole de l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S,2005). Les expérimentations ont été réalisées dans des gobelets de 5cm de diamètre, avec des lots de 10 larves de moustiques. Dans chaque gobelet, a été versé un mélange constitué de 100ml d'eau distillée additionnée de la dose correspondante de solution de larvicide. Les traitements sont réalisés au niveau du laboratoire de phytopharmacie du Département des biotechnologies, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Blida1, dans des conditions ambiantes (25 - 28°C et 60-80H%). L'essai est réalisé en 3 répartitions étalées sur une période de 72h (Fig. 10).pour les phytopreparation à base d'extrait aqueux et sur une période de 18h pour les huiles essentielles (fig.10).

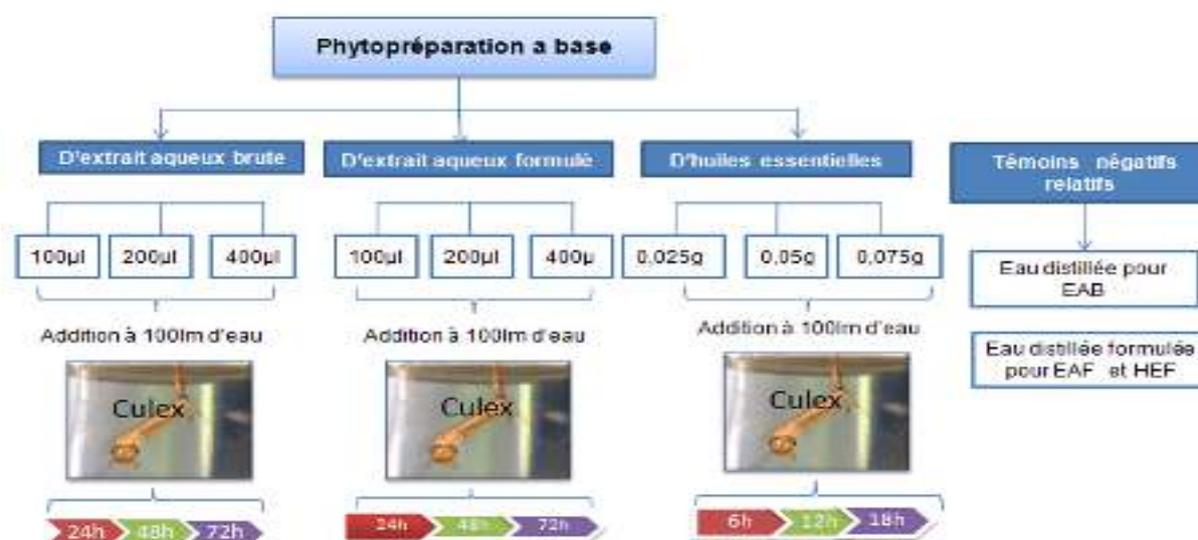


Figure 10: Schéma récapitulatif de la logique des traitements appliqués sur les larves de *Culex pipiens*

2.2.8. Estimation du taux de mortalité

Selon **Marmonieret al. (2006)**, le taux de mortalité est le taux de disparition d'individus dans des conditions d'environnement données (varient en fonction de la population considérée et des facteurs du milieu). Il est donné par la diminution de la population par mortalité/variation du temps.

2.2.8.1. Calcul du pourcentage de la mortalité observée

Le pourcentage de mortalité observée chez les individus témoins et testé été estimé par la formule suivante :

$$\text{Mortalité observée} = \frac{\text{Nombre d'individus morts}}{\text{Nombre total des individus}} \times 100$$

2.2.8.2. Calcul du pourcentage de la mortalité corrigée

Le nombre d'individus dénombrés morts dans une population traitée par un toxique n'est pas le nombre réel d'individus tués par ce toxique. Il existe, en fait dans toute population traitée une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par ce toxique, les pourcentages de mortalité doivent être corrigés par la formule d'Abbott (1925).

$$\text{Mortalité corrigée} = \frac{M2 - M1}{100 - M1} \times 100$$

Avec :

M1 : pourcentage de mortalité dans le témoin

M2 : pourcentage de mortalité dans le lot traité

Si la mortalité du témoin dépasse 20% le test est annulé

3. Analyses statistiques des données

L'analyse statistique a concerné l'évaluation de l'activité insecticide des phytopréparations à base d'extrait aqueux et d'huiles essentielles des feuilles de *Pistacia lentiscus* sur les larves du troisième stade larvaire *Culex pipiens*. Les analyses de la variance sont faites sur des moyennes homogènes adoptées sur la base d'un coefficient de variance (C.V. <15%). La tendance de la variation temporelle des mortalités corrigées des larves de *Culex pipiens* par rapport à leurs réactions aux différentes phytopréparations à base d'extrait aqueux et d'huiles essentielles des feuilles de *Pistacia lentiscus* ont été établies par une analyse en composante principale (A.C.P.). La projection des variables sur les deux axes de l'analyse multivariée a été conduite par le logiciel (PAST vers. 1.37) (**Hammer et al., 2001**). La signification des comparaisons des moyennes a été confirmée par un test de comparaison par paire (Test GLM et le Test Tukey). Les contributions significatives retenues sont au seuil d'une probabilité de 5%, les calculs ont été déroulés par le logiciel XLSTAT vers. 9 (**SPSS, 2016**).

Chapitre III : Résultats et discussion

La présente étude vise l'estimation des potentialités larvicides de phytopréparations formulées à base d'extrait aqueux et de l'huile essentielle du Pistachier lentisque *Pistacia lentiscus* à l'égard des larves du troisième stade de *Culex pipiens*.

1. Potentialité larvicide d'une formulation à base d'extrait aqueux de Lentisque a l'égard des larves L3 de *Culex pipiens*

1.1. Evolution temporelle des mortalités observées de *Culex pipiens* sous l'effet des différentes phytopréparations à base d'extrait aqueux de Lentisque et de Spinosad

Selon la figure 11, l'évolution temporelle de la mortalité observée chez le troisième stade larvaire de *Culex pipiens* sous l'effet des phytopréparations à base d'extraits aqueux brut et formulé et du Spinosad montre un effet larvicide plus important selon le degré de concentration des dilutions utilisées, obéissant à un gradient positif $D1 < D2 < D3$ pour l'extrait aqueux brut (Fig. 11a), l'extrait aqueux formulé (Fig. 11c) et le Spinosad (Fig. 11e). La mortalité signalée sous l'effet des différents traitements se détache nettement de la mortalité signalée chez les différents témoins.

L'efficacité des phytopréparations et du Spinosad apparaît respectivement dès 24h et 6h d'exposition des larves L3 pour l'ensemble des traitements (Fig. 11a, c et e). Sous l'effet de l'extrait brut, l'activité larvicide du principe actif s'accroît graduellement dans le temps. Elle affiche des mortalités importantes après 48h et 72h d'exposition (Fig. 11a). En revanche, sous l'effet de l'extrait aqueux formulé et du Spinosad, la mortalité la plus importante est signalée successivement des 12 et 48h d'exposition aux fortes doses (Fig. 11c et e)

La présentation graphique en Box Plot des données expérimentales est avancée dans le but d'apprécier la variation des mortalités observées sous l'effet des différentes doses des phytopréparations à base d'extrait aqueux et du Spinosad (Fig. 11b, d et f). La comparaison des mortalités observées sous l'effet des fortes doses annonce une similarité d'effet entre l'extrait aqueux brut (EABD3 : $Q_1=50$, $Q_2=80$, $Q_3=95$) et l'extrait aqueux formulé (EAFD3 : $Q_1=57,5$, $Q_2=80$, $Q_3=82,5$) (Fig. 11b et d). Cependant, la forte dose de Spinosad, dépasse largement l'effet des phytopréparations en termes de mortalité maximale, mais elle s'ajuste au niveau des mortalités minimales (SPD3 : $Q_1=42,5$, $Q_2=Q_3=100$) (Fig. 11f). Les doses EABD2, EAFD2 et SPD2 signalent des mortalités proches.

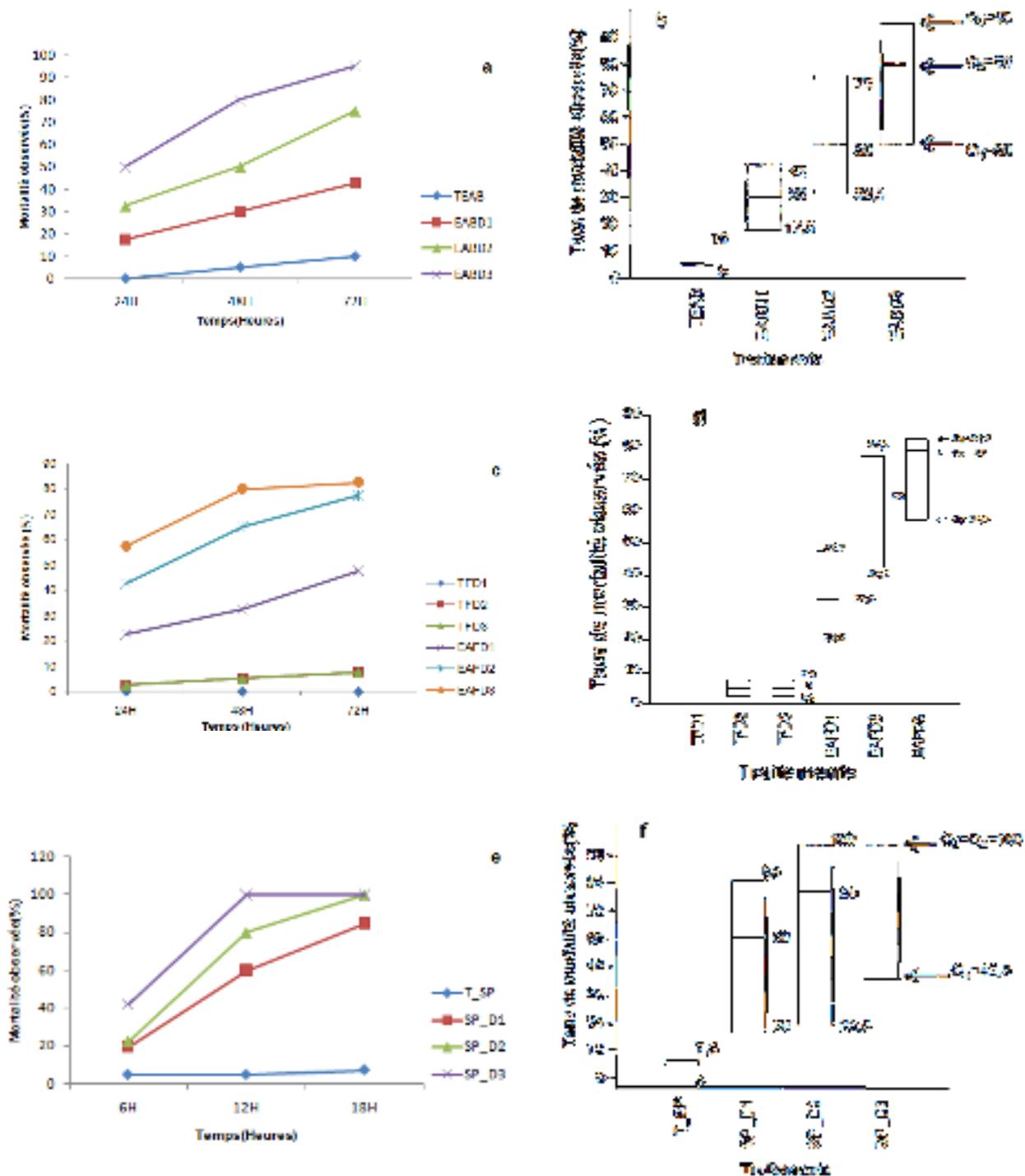


Figure 11: Variation de la mortalité observée des larves L3 de *Culex pipiens* sous l'effet des différents extraits aqueux et de Spinosad

TEAB : 00ml, EABD1 : 1ml/l, EABD2 : 2ml/l, EABD3 : 4ml/l,
 TFD1 : 1ml/l, TFD2 : 2ml/l, TFD3 : 4ml/l, EAFD1 : 1ml/l, EAFD2 : 2ml/l, EAFD3 : 4ml/l,
 TSP : 00ml, SPD1 : 0.5ml/l, SPD2 : 1ml/l, SPD3 : 2ml/l

1.2. Evolution temporelle des mortalités corrigées de *Culex pipiens* sous l'effet des différentes phytopréparations à base d'extrait aqueux de Lentisque

La fluctuation temporelle des mortalités corrigées suit la même tendance que celle signalée chez l'évolution temporelle de la mortalité observée (Fig. 12).

Les larves L3 de *Culex pipiens* enregistrent des taux de mortalité plus imposant selon le degré de concentration des dilutions utilisées, obéissant à un gradient positif $D1 < D2 < D3$ pour l'extrait aqueux brut (Fig. 12a), l'extrait aqueux formulé (Fig. 12c) et le Spinosad (Fig. 12e).

Le taux de mortalité signalé sous l'effet de l'extrait aqueux formulé et du Spinosad (Fig. 12c et e) se détache nettement du taux de mortalité signalé sous l'effet de l'extrait aqueux brut (Fig. 12a) en termes d'importance.

L'efficacité des phytopréparations et du Spinosad apparait respectivement dès 24h et 6h d'exposition des larves L3 (Fig. 12a, c et e). Sous l'effet de l'extrait brut, l'activité larvicide du principe actif s'accroît graduellement dans le temps. Elle affiche des mortalités importantes après 48h et 72h d'exposition (Fig. 12a).

En revanche, sous l'effet de l'extrait aqueux formulé et du Spinosad, la mortalité la plus importante est signalée successivement des 48h et 12h d'exposition aux fortes doses (Fig. 12c et e).

Les boîtes graphiques en BoxPlot montrent que le taux de mortalité corrigée se rapproche sous l'effet des fortes doses de l'extrait aqueux brut (EABD3 : $Q_1=50$, $Q_2=78,8$, $Q_3=94,7$) et l'extrait aqueux formulé (EAFD3 : $Q_1=56,11$, $Q_2=79,44$, $Q_3=82,83$) (Fig. 12b et d).

Cependant, la dose moyenne de l'extrait aqueux formulé (EAFD2 : $Q_1=40,80$, $Q_2=63$, $Q_3=75,80$) se tend pour se rapprocher de l'effet de la dose moyenne du Spinosad (SPD2 : $Q_1=18,4$, $Q_2=78,9$, $Q_3=100$) (Fig. 12f).

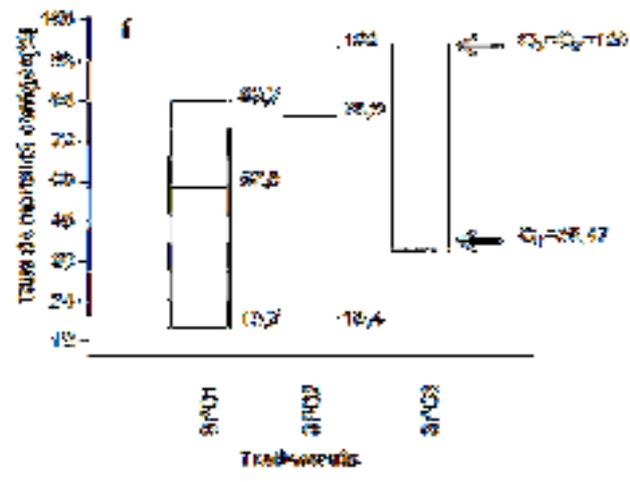
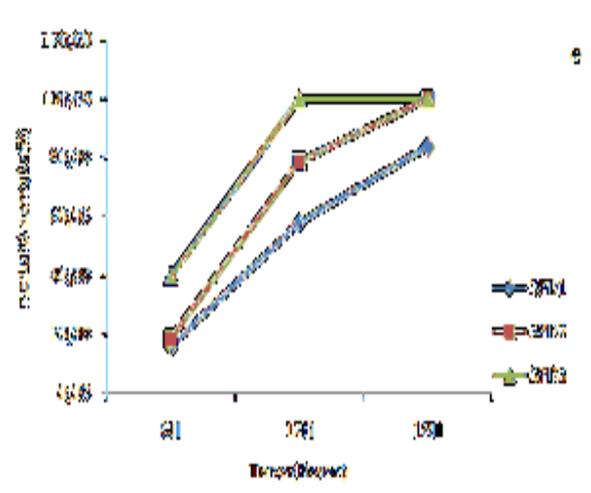
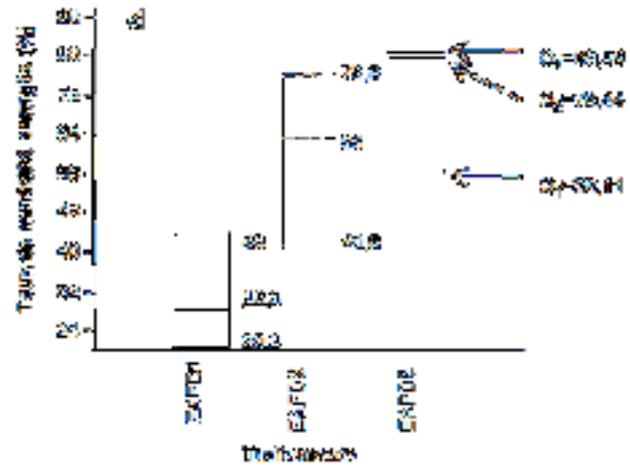
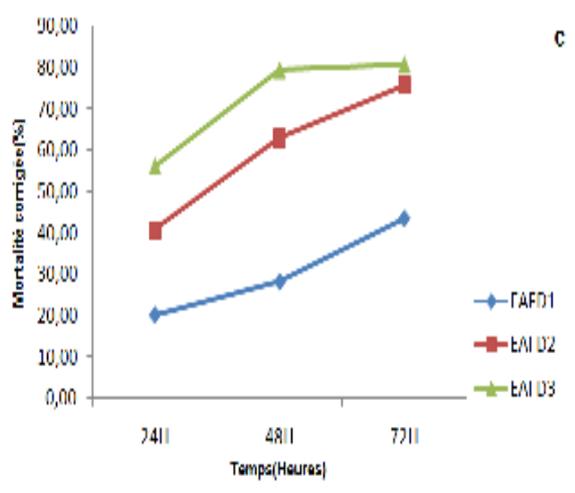
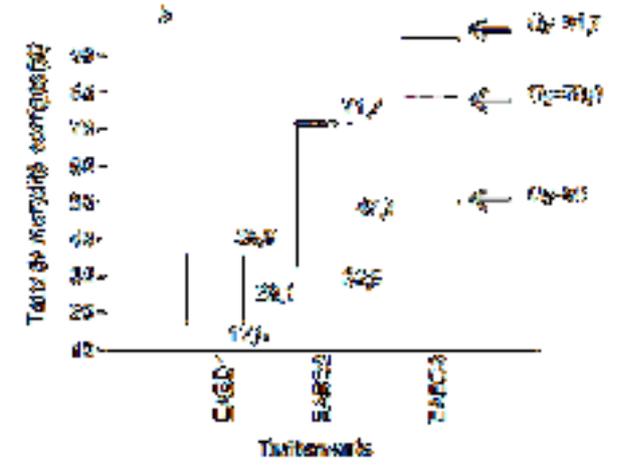
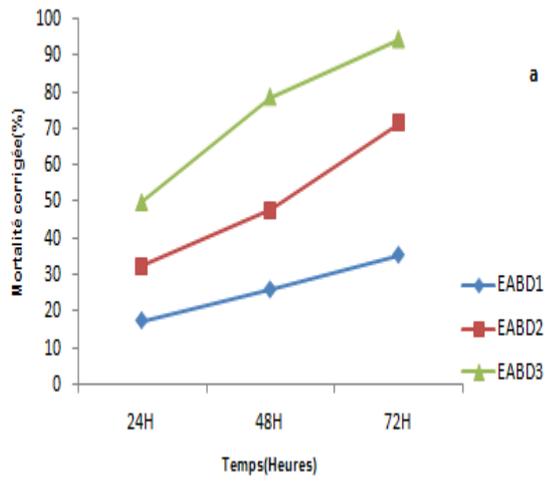


Figure 12: Variation de la mortalité corrigée des larve L3 de *Culex pipiens* sous l'effet des différents extraits aqueux et de Spinosad

1.3. Tendance de l'activité larvicide des différentes phytopréparations à base d'extrait aqueux de Lentisque et de Spinosad sur *Culex pipiens*

L'analyse en composantes principales (A. C. P) effectuée avec le logiciel PAST à partir des valeurs des mortalités corrigées des L3 de *Culex pipiens* est satisfaisante pour les paramètres étudiés (facteur phytopréparations & facteur doses) dans la mesure où plus de 90% de la variance est exprimée sur les deux premiers axes (Fig. 13)

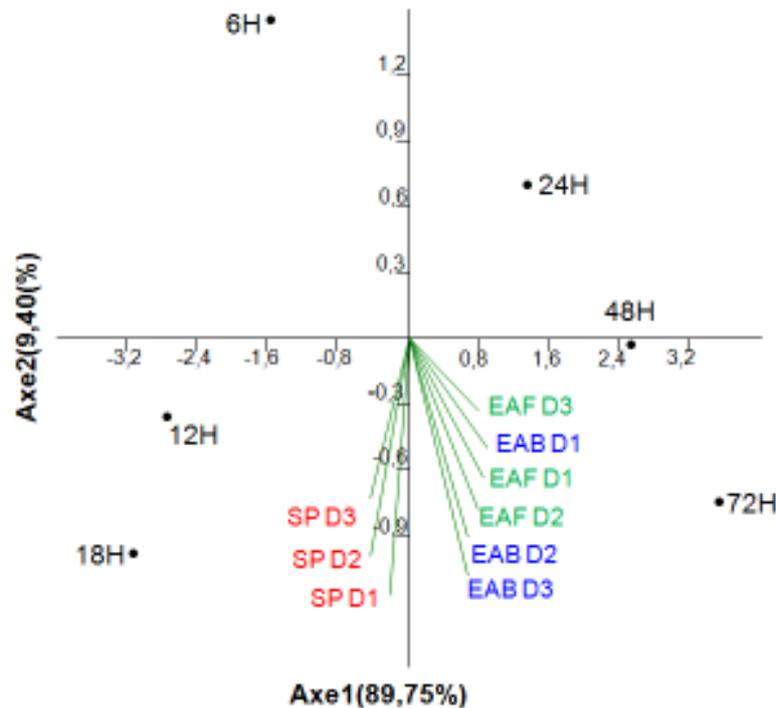


Figure 13: Projection des mortalités corrigées des larves L3 de *Culex pipiens* sous l'effet des extraits aqueux et de Spinosad sur les deux axes de l'A.C.P.

La Projection des valeurs des mortalités corrigées des larves de *C. pipiens* sur le premier axe 1 (89,75%) montre que les différentes phytopréparations à base d'extrait aqueux de *Pistacia lentiscus* et le Spinosad (en fonction du type de formulations et des concentrations du principe actif) affichent une corrélation positive avec le temps d'exposition (Fig13). Les projections des vecteurs relative aux mortalités corrigées informent que les différentes phytopréparations de l'extrait aqueux brut et formulé du Pistachier montrent réellement leurs potentiel larvicide à l'égard des larves L3 de *C. pipiens* qu'à partir de 48h d'exposition aux traitements et qui s'accroît vers les 72h d'exposition. Cependant, le Spinosad, affiche des mortalités très précoces visibles dès 12h d'exposition et qui s'affirment vers 18h d'exposition.

1.4. Etude comparée de l'activité larvicide des différentes phytopréparations à base d'extrait aqueux de Lentisque et de Spinosad sur L3 de *Culex pipiens*

Une analyse type G.L.M a été utilisée pour chaque facteur étudié. Les résultats graphiques sont consignés dans la figure (Figure 14).

À partir des résultats obtenus, nous remarquons que le temps d'exposition enregistre un effet très significative sur le taux de mortalité corrigée des larves L3 de *Culex pipiens* pour l'ensemble des traitements ($p < 0,0001$) (Fig. 14A, C, E et G). Le test de comparaison multiple Post-Hoc de Tukey, désigne pour la phytopréparation à base d'extrait aqueux brut, la présence de 3 groupes homogènes relatifs aux paliers temporels d'activité larvicide. Le premier palier est signalé à 24h d'exposition montrant le taux de mortalité le plus faible, affilié au groupe homogène (c). Le deuxième palier est remarquable après 48h d'exposition montrant une mortalité corrigée modérée, affilié au groupe homogène (b). Enfin, le troisième palier est visible dès 72h d'exposition exprimant le taux de mortalité corrigée le plus important, affiliée au groupe homogène (a) (Fig. 14A). Le même test indique pour la phytopréparation à base d'extrait aqueux formulé, la présence de 2 groupes homogènes relatifs aux paliers temporels d'activité larvicide. Le premier palier est signalé à 24h d'exposition montrant le taux de mortalité le plus faible, affilié au groupe homogène (b). Le deuxième palier est remarquable après 48h d'exposition et qui s'étale à 72h d'exposition relatant le taux de mortalité corrigée le plus important, affiliée au groupe homogène (a) (Fig. 14C). Le temps d'exposition à la phytopréparation à base d'extrait aqueux formulé engendre des mortalités corrigées plus importantes qu'au temps d'exposition à la phytopréparation à base d'extrait brut (Fig. 14A et C).

Enfin, le test de comparaison désigne pour le Spinosad la présence de 3 groupes homogènes. Le premier palier est signalé à 6h d'exposition montrant le taux de mortalité le plus faible, affilié au groupe homogène (c). Le deuxième palier montre une mortalité corrigée écrasante dès 12h d'exposition, affilié au groupe homogène (b). Le troisième palier est visible dès 18h d'exposition exprimant le taux de mortalité corrigée le plus important, affiliée au groupe homogène (a) (Fig. 14E). La comparaison entre les paliers temporels des phytopréparations à base d'extrait aqueux et du Spinosad affiche la présence de trois groupe temporels. Spinosad entraîne des mortalités importantes après 18h d'exposition (Groupe homogène A). Le Spinosad exprime à 12 h d'exposition le même taux de mortalité enregistré chez les phytopréparations à 72h (Groupe homogène B) (Fig. 14G).

Concernant, le facteur doses, l'analyse de la variance montre que la mortalité corrigée est significativement tributaire des doses des phytopréparations à base d'extrait aqueux de Lentisque et de Spinosad. ($p < 0,0001\%$). Les résultats du test de Tukey reportés dans la figure (14B, D, F et H) montrent la

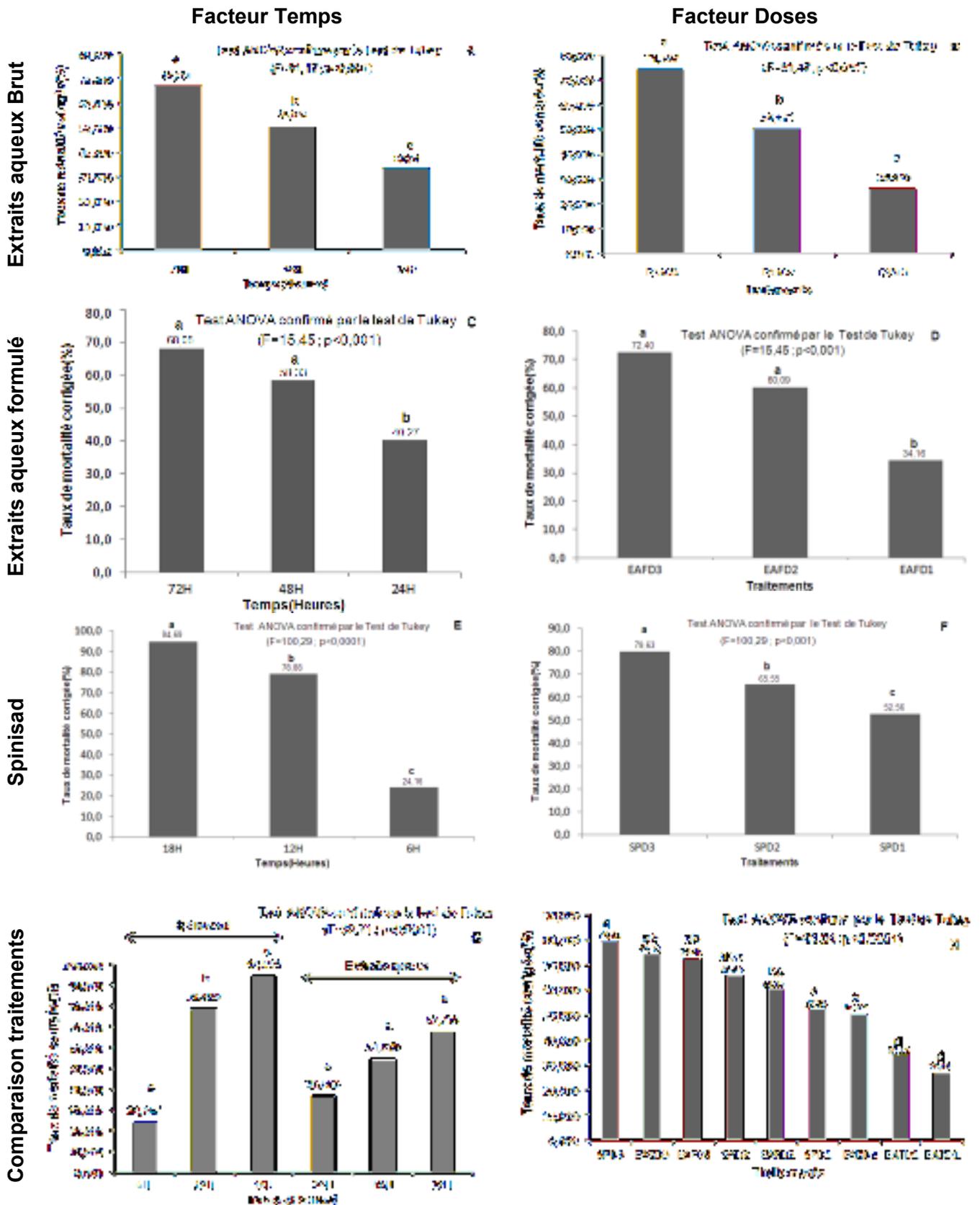


Figure 14: Variation des mortalités corrigées selon les facteurs temps et doses des phytopréparations à base d'extraits aqueux et de Spinosad

Présence de 3 groupes homogènes d'efficacité (a, b et c), dont la mortalité corrigée la plus marquée est allouée aux fortes doses EABD3, EAFD3 et SPD3 formant ainsi le groupe homogène (a), par conséquent les groupes homogène (b) et (c) renferment simultanément les doses EABD2, EAFD2 et SPD2 et EABD1, EAFD1 et SPD1 dont la mortalité corrigée est moins importante. La vision globale des potentialités larvicides des différents traitements montre à travers le test de Tukey que les fortes doses des phytopréparations à base d'extrait aqueux brut et formulé engendrent des mortalités corrigées très similaire que la forte dose du Spinosad (Fig. 14H).

2. Potentialité larvicide d'une formulation à base d'huile essentielle de Lentisque a l'égard des larves L3 de *Culex pipiens*

2.1. Evolution temporelle des mortalités observées des L3 de *Culex pipiens* sous l'effet de l'huile essentielle de Lentisque formulée et de Spinosad

Selon la figure 15, l'évolution temporelle de la mortalité observée chez le troisième stade larvaire de *Culex pipiens* sous l'effet de la phytopréparation formulée à base d'huile essentielle de Lentisque et du Spinosad montre un effet larvicide plus important selon le degré de concentration des dilutions utilisées, obéissant à un gradient positif $D1 < D2 < D3$ la phytopréparation formulée à base d'huile essentielle de Lentisque (Fig. 15a) et le Spinosad (Fig. 15c). La mortalité signalée sous l'effet des différents traitements se détache nettement de la mortalité signalée chez les différents témoins.

L'efficacité de l'huile essentielle formulée et du Spinosad apparait dès 6h d'exposition des larves L3 aux deux traitements (Fig. 15a et c). Sous l'effet de l'huile essentielle formulée, l'activité larvicide du principe actif s'accroît graduellement dans le temps. Elle affiche des mortalités importantes après 12h et 18h d'exposition (Fig. 15a). En revanche, sous l'effet du Spinosad, la mortalité la plus importante est signalée des 12h d'exposition aux fortes doses (Fig. 15c).

Les BoxPlot des mortalités observées sous l'effet des fortes doses annoncent une similarité d'effet entre l'huile essentielle formulée (HEFD3 : $Q_1=70$, $Q_2=95$, $Q_3=100$) et le Spinosad (SPD3 : $Q_1=42,5$, $Q_2=Q_3=100$) (Fig. 15b et d). Cependant, la dose moyenne de l'huile essentielle formulée (HEFD2 : $Q_1=57$, $Q_2=87$, $Q_3=95$) se montre plus performante que la dose moyenne du Spinosad (SPD2 : $Q_1=22,5$, $Q_2=80$, $Q_3=100$) en termes d'activité larvicide (Fig. 1b et d).

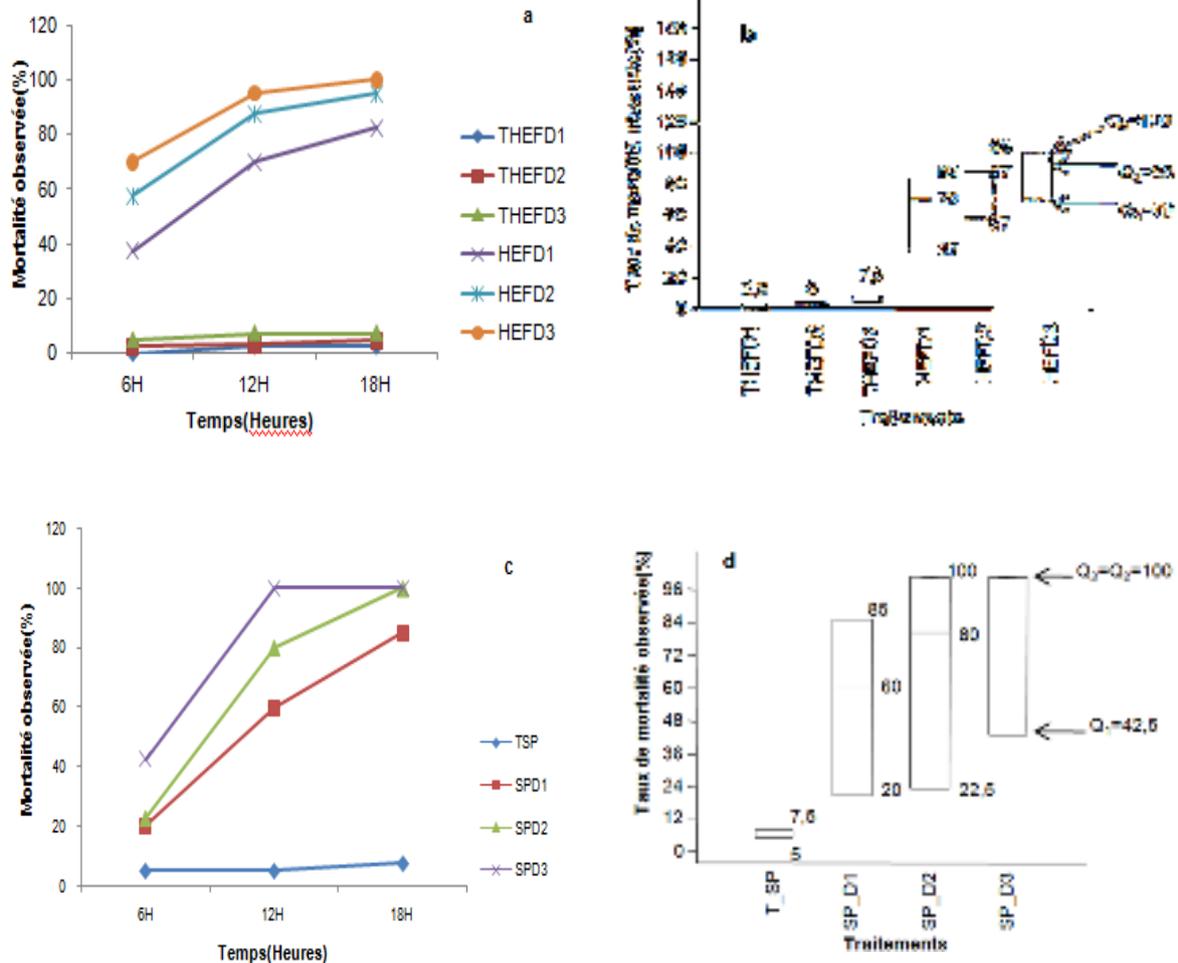


Figure 15: Variation de la mortalité observée des larve L3 de *Culex pipiens* sous l'effet de l'huile essentielle formulée et de Spinosad

THEFD1 :0.25g/l, THEFD2 :0.5g/l, THEFD3 : 0.75g/l, HEFD1 :0.25g/l,
HEFD2 : 0.5g/l, HEFD3 : 0.75g/l, TSP : 00ml, SPD1 :0.5ml/l,
SPD2 :1ml/l, SPD3 :2ml/l.

2.2. Evolution temporelle des mortalités corrigées des L3 de *Culex pipiens* sous l'effet de l'huile essentielle de Lentisque formulée et de Spinosad

La fluctuation temporelle des mortalités corrigées des larves L3 de *Culex pipiens* enregistrent des taux de mortalité plus imposant selon le degré de concentration des dilutions utilisées, obéissant à un gradient positif $D1 < D2 < D3$ pour l'huile essentielle formulée (Fig. 16a), et le Spinosad (Fig. 16c).

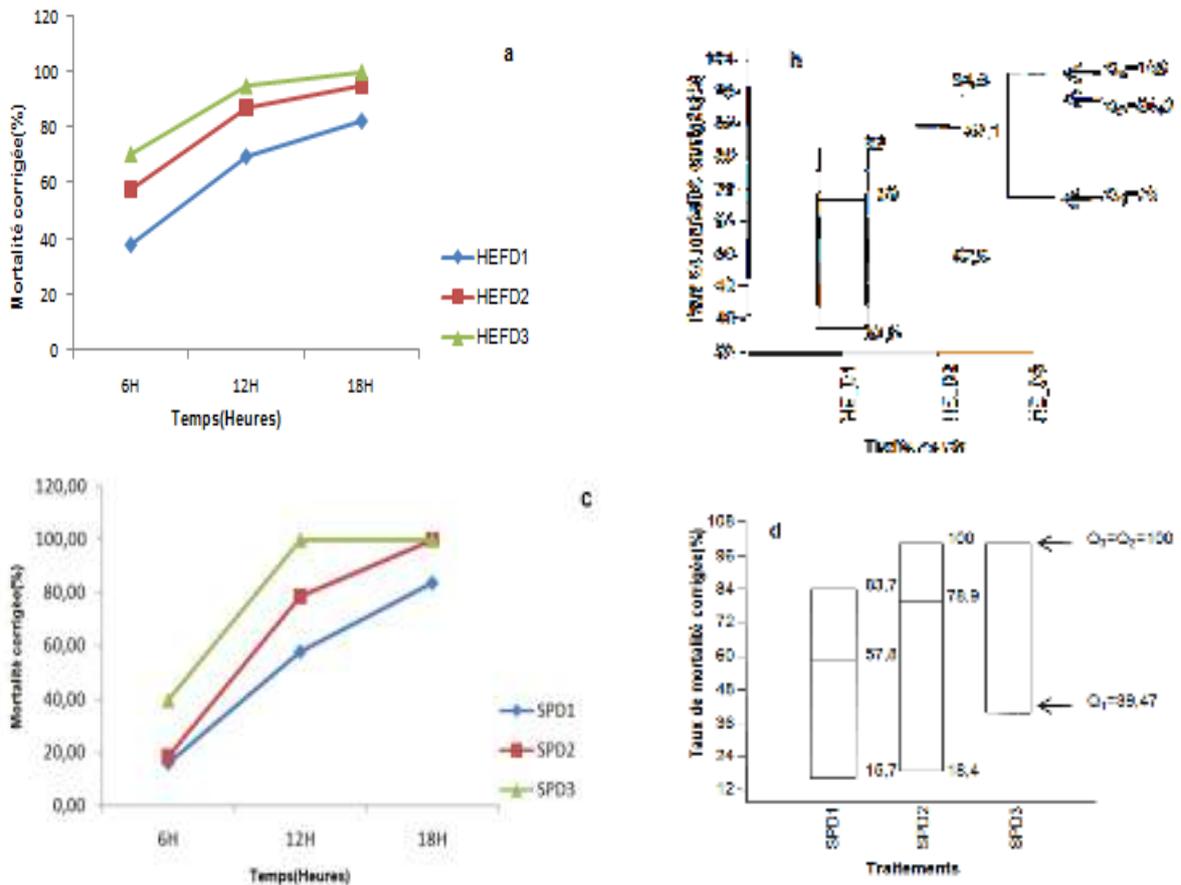


Figure 16: Variation de la mortalité corrigée des larve L3 de *Culex pipiens* sous l'effet de l'huile essentielle formulée et de Spinosad

L'efficacité temporelle de la phytopréparation formulé à base d'huile essentielle se détache nettement du Spinosad dès 6h d'exposition des larves L3 pour l'ensemble des doses (Fig. 16a et c).

Sous l'effet des deux traitements considérés, l'activité larvicide du principe actif s'accroît graduellement dans le temps. Elle affiche des mortalités importantes après 6h et 12h d'exposition (Fig.16a et c).

Les boîtes graphiques en BoxPlot montrent que le taux de mortalités corrigées se rapproche sous l'effet des fortes doses de la phytopréparation formulé à base d'huile essentielle et le Spinosad (Fig. 16 b et d).

2.3. Tendance de l'activité larvicide de la phytopréparation à base d'huile essentielle de Lentisque et de Spinosad sur les L3 de *Culex pipiens*

L'analyse en composantes principales (A. C. P) effectuée sur la base des valeurs des mortalités corrigées des L3 de *Culex pipiens* est satisfaisante pour les paramètres étudiés (facteur phytopréparations & facteur doses) dans la mesure où plus de 90% de la variance est exprimée sur les deux premiers axes (Fig. 17)

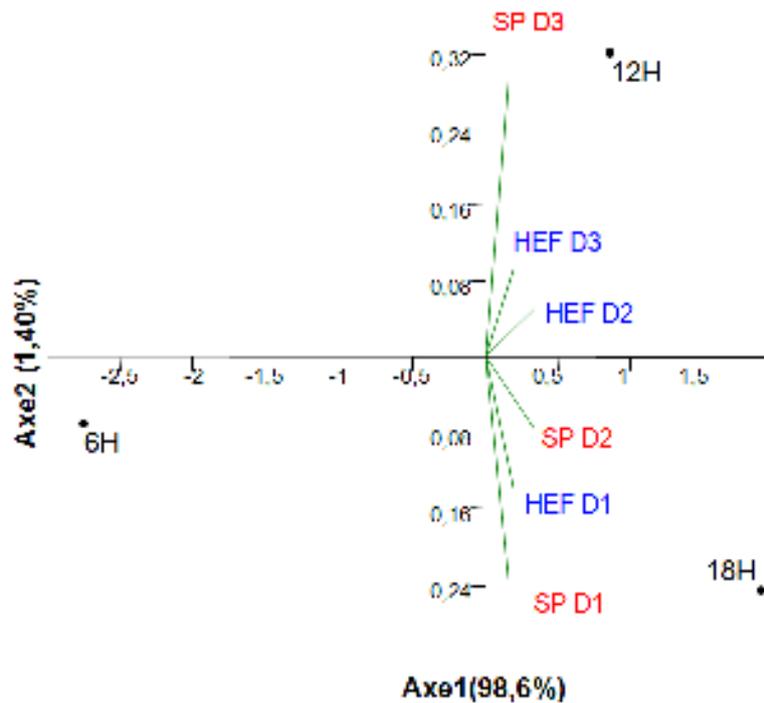


Figure 17: Projection des mortalités corrigées des larves L3 de *Culex pipiens* sous l'effet de l'huile essentielle formulée et de Spinosad sur les deux axes de l'A.C.P.

La Projection des valeurs des mortalités corrigées des larves de *C. pipiens* sur le premier axe 1 (98,6%) montre que les différentes doses de la phytopréparation formulée à base d'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* et le Spinosad annoncent une corrélation positive avec le temps d'exposition (Fig. 17). Les projections des vecteurs relative aux mortalités corrigées informent que l'huile essentielle formulée aux doses HEFD2 et HEFD3 ainsi que le Spinosad sous la dose SPD3 montrent leurs potentiel larvicide à l'égard des larves L3 de *C. pipiens* dès 12h d'exposition. Quant aux doses moyenne (SPD2) et faibles (SPD1 et HEFD1) leur efficacité ne s'affirment que vers 18h d'exposition.

2.4. Etude comparée de l'activité larvicide des différentes phytopréparations à base d'huile essentielle de Lentisque sur les L3 de *Culex pipiens*

Les résultats graphiques de l'analyse de la variance type GLM relatifs aux facteurs étudiés sont consignés dans la figure (Figure 18). Ils montrent que le temps d'exposition enregistre un effet très significatif sur le taux de mortalité corrigée du troisième stade larvaire de *Culex pipiens*. Le test Post-Hoc de Tukey, désigne la présence de 2 groupes homogènes relatifs aux paliers temporels d'efficacité de la phytopréparation formulée à base d'huile essentielle de Lentisque. Le premier palier est signalé à 6h d'exposition dévoilant le taux de mortalité le plus faible, affilié au groupe homogène (b). Le deuxième palier est remarquable pareillement après 12h et 18h d'exposition dévoilant une mortalité corrigée plus importante, affiliée au groupe homogène (a) (Fig. 18A). Concernant, le Spinosad, le test de comparaison signale la présence de 3 groupes homogènes. Le premier palier est signalé à 6h d'exposition montrant le taux de mortalité le plus faible, affilié au groupe homogène (c). Le deuxième palier montre une mortalité corrigée écrasante dès 12h d'exposition, affilié au groupe homogène (b). Le troisième palier est visible dès 18h d'exposition exprimant le taux de mortalité corrigée le plus important, affilié au groupe homogène (a) (Fig. 18C).

La mortalité corrigée est significativement différentes sous l'effet du facteur doses de la phytopréparation formulée à base d'huile essentielle de Lentisque et du Spinosad. Globalement, le Test de Tukey désigne la présence de 3 groupes homogènes d'efficacité (a, b et c), dont la mortalité corrigée la plus marquée est allouée aux fortes doses HEFD2, HEFD3 et SPD3 formant ainsi le groupe homogène (a), par conséquent les groupes homogène (b) et (c) renferment simultanément les doses HEFD1 et SPD1, SPD2 dont la mortalité corrigée est moins importante (Fig. 18B et D).

L'analyse de la variance des mortalités corrigées confirmée par le Test de Tukey relative à la vision globale des potentialités larvicides des différents traitements montre que la forte dose de l'huile essentielle formulée HEFD3 provoque les taux de mortalité les plus importantes, alors que la dose moyenne de l'huile essentielle formulée HEFD2 s'ajuste au même taux de mortalité signalé sous l'effet de la forte dose du Spinosad SPD3 (Fig. 18F).

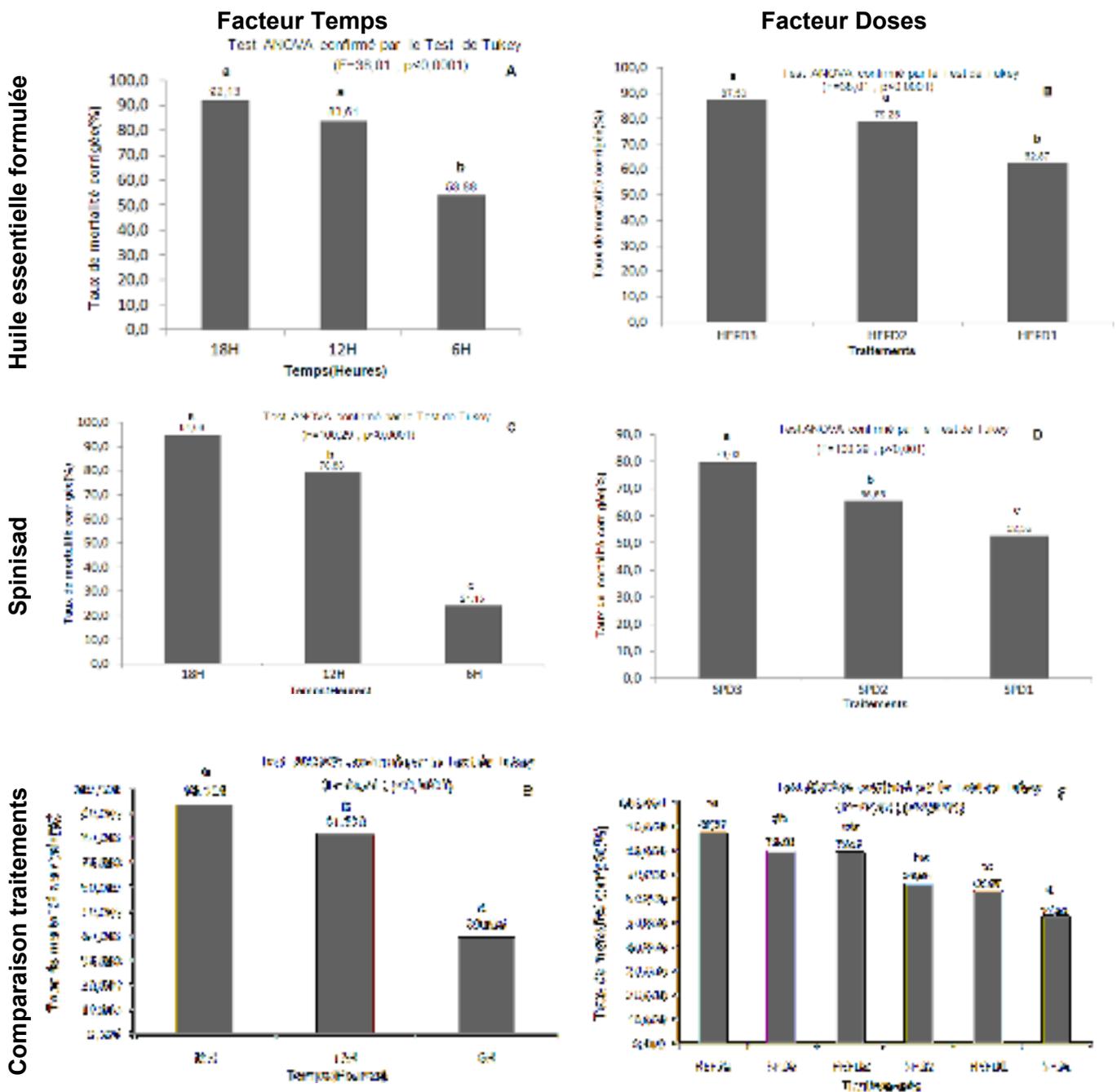


Figure 18: Variation des mortalités corrigées selon les facteurs temps et doses de l'huile essentielle formulée et de Spinosad

L'analyse de la variance appliquée à la mortalité corrigée est significativement différente sous l'effet du facteur doses des phytopréparations à base d'extrait aqueux de Lentisque et du Spinosad (Fig. 19). Le résultat du test de Tukey reporté dans la figure 19 montre les performances des différents traitements. Ainsi, nous dressons le gradient des potentialités larvicide des bioproduits testés :

HEFD3>SPD3 & HEFD2>EABD3>EAFD3>SPD2>HEFD1&HEFD2>SPD1>EABD2>EAFD1&EABD1

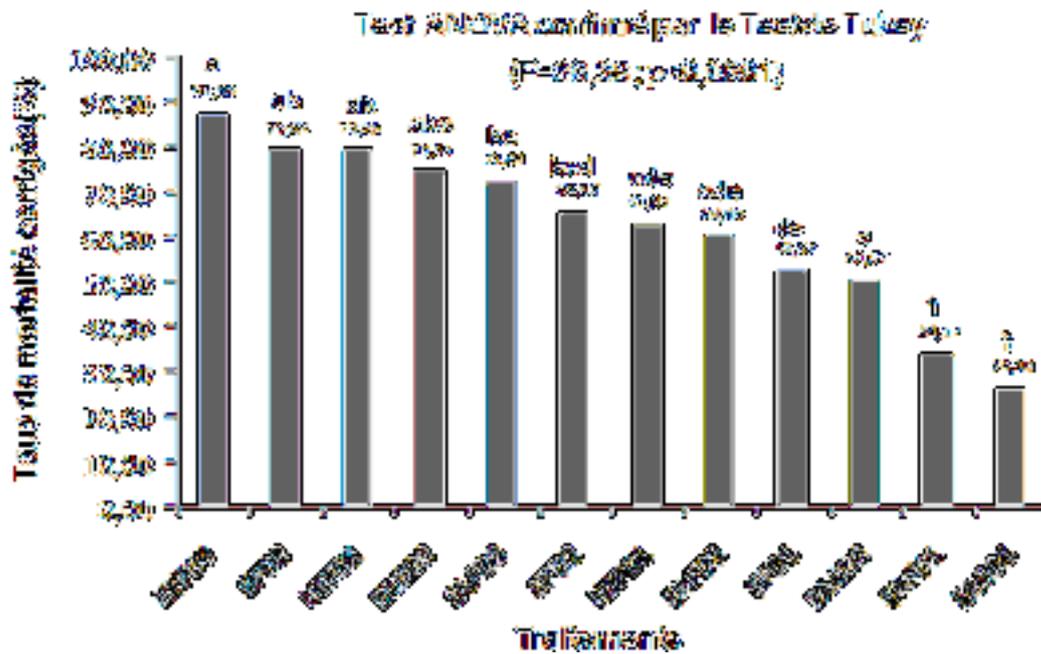


Figure 19: Performances larvicide des différentes phytopréparations à base d'extrait aqueux et d'huile essentielle de Lentisque et de Spinosad

TEAB : 00ml, EABD1 : 1ml/l, EABD2 :2ml/l, EABD3 : 4ml/l, TFD1 :1ml/l,
TFD2: 2ml/l, TFD3 : 4ml/l, EAFD1 :1ml/l, EAFD2 :2ml/l, EAFD3 :4ml/l,
THEFD1 :0.25g/l, THEFD2 :0.5g/l, THEFD3 : 0.75g/l, HEFD1 :0.25g/l,
HEFD2 : 0.5g/l, HEFD3 : 0.75g/l TSP : 00ml, SPD1 :0.5ml/l,
SPD2 :1ml/l, SPD3 :2ml/l

Chapitre IV : Discussion générale

En raison des problèmes liés à l'utilisation des insecticides chimiques et leur impact nocif sur la santé et l'environnement, le recours à des alternatives naturels remplissant le même rôle que celui des insecticides de synthèse, et présentant des avantages écologiques et économiques, s'avère nécessaire. Des études récentes ont montré que les produits naturels issus des plantes et les métabolites secondaires représentent une importante source de molécules pouvant être exploitées dans différents domaines entre autres l'entomologie médicale. Cette recherche s'inscrit dans le cadre de la valorisation de certains métabolites issus de plantes afin de mettre au point des méthodes de lutte intégrée, peu onéreuses, efficaces et aisément utilisables dans la lutte contre les moustiques. Trois objectifs ont été menés tout au long de ce travail. Le premier concernait l'étude de la sensibilité des larves de *Culex pipiens* de troisième stade vis-à-vis des différentes concentrations de phytopréparations à base d'extrait aqueux et d'huiles essentielles de *Pistacia lentiscus*. Le second, est de connaître si la nature des métabolites secondaires présente les mêmes activités biologiques. Le troisième c'est de savoir si la formulation du bioproduit sécurise le principe actif et améliore son efficacité contre les larves *Culex*. Une comparaison de l'activité des extraits du pistachier lentisque avec un biolarvicide homologué (Spinosad) très efficace et faite dans le but de bien valoriser les phytoproduits.

Les résultats de cette étude semblent être intéressants et confirment le pouvoir biolarvicide des phytopréparations du nuisible à la santé publique ciblé à savoir *Culex pipiens*. Toutefois, nous dénotons les aspects suivants :

Pour l'ensemble des traitements, les résultats obtenus ont montré une variabilité dans le taux de mortalité, cependant les doses testées ont présenté un effet toxique qui a évolué progressivement dans le temps. Les mêmes résultats signalent une progression de toxicité selon le degré de concentration des dilutions utilisées obéissant à un gradient positif $D1 < D2 < D3$. L'analyse de la variance relatifs aux facteurs étudiés montre que le temps d'exposition enregistre un effet très significatif sur le taux de mortalité corrigée du troisième stade larvaire de *Culex pipiens* et que la mortalité corrigée est significativement différente sous l'effet du facteur dose des différents traitements à base de phytopréparation et du Spinosad. La vision globale des potentialités larvicides des différents traitements montre à travers le test de Tukey que les fortes doses des phytopréparations à base d'extrait aqueux brut et formulé engendrent des mortalités corrigées très similaire que la forte dose du Spinosad . Aussi, la forte dose de l'huile essentielle formulée HEFD3 provoque les taux de mortalité les plus importantes, alors que la dose

moyenne de l'huile essentielle formulée HEFD2 s'ajuste au même taux de mortalité signalé sous l'effet de la forte dose du Spinosad SPD3. Concernant les taux de mortalités signalés par l'activité larvicide de l'extrait aqueux brut et formulé tend à se rapprocher, malgré que l'extrait aqueux formulé ne contenait que 70% de l'extrait brut de *Pistacia lentiscus*. Nos résultats s'articulent avec les propos de **Constant (2009)**, qui signale que les adjuvants sont des substances dépourvues d'activités biologiques mais capables de modifier les propriétés physiques ou biologiques des préparations phytosanitaires. Il estime que l'influence des adjuvants sur les produits formulés permet l'augmentation de la résistance à la photodégradation de la molécule. Nous estimons que les potentialités larvicides des phytopréparations testées, sont dues leur composition chimique riche en métabolites secondaires, l'extrait aqueux est riche en tanins flavonoïdes et des terpénoides. Tandis que l'huile essentielle est riche en monoterpènes comme composés majoritaires et des sesquiterpènes. L'hypothèse avancée corrobore avec les travaux de **Huignard et al. (2008)**, qui ont montré que les monoterpènes contenus dans les huiles essentielles sont des neurotoxiques qui agissent sur différentes cibles en fonction de leur nature chimique. Selon **Ryan et Byrne (1988)**, cinq monoterpènes (citral, pulegone, linalol, bornyl acétate et cinéole) représentant chacun un groupement fonctionnel donné (aldéhyde, cétone, alcool, ester et éther) sont des inhibiteurs réversibles compétitifs occupant le centre du site actif hydrophobique de l'acétylcholinestérase (AChE). D'autres composés terpéniques ont également montré une efficacité dans l'inhibition de l'AChE *in vitro*. Selon **Isman (1999)**, les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des insectes et acariens à corps mou car plusieurs huiles essentielles semblent plus efficaces sur les arthropodes à corps mou.

D'après les travaux de **Sayah et al. (2014)**, l'activité de trois huiles essentielles (*Citrus aurantium*, *Citrus siensis* et *Pistacia lentiscus*) sur les larves de *Culex pipiens*, ont montré une activité larvicide, ces huiles sont composés majoritairement par des monoterpènes qui sont célèbres pour leur propriétés insecticides. Les travaux de **Tchomboungang et al. (2008)**, relatifs à l'activité larvicide sur *Anopheles gambiae* de quatre plantes (*Cymbopogon citratus*, *Ocimum canum*, *Ocimum gratissimum* et *Thymus vulgaris*). Les huiles essentielles de ces derniers composés principalement de monoterpènes possèdent de remarquables propriétés larvicides.

Concernant l'extrait aqueux, on peut citer l'activité larvicide des plantes suivantes, *Hemidesmus indicus*, *Gymnema sylvestris* et *Eclipta prostrata* vis à vis des larves de *Culex quinquefasciatus*, cette activité est confirmée dans la recherche de **Gopiesh et al. (2006)**, une analyse phytochimique révèle la présence des carbohydrates, saponines, phytostérols, phénols, flavonoïdes et des tanins, Les saponosides étaient le composé majoritaire suivi par les

tanins dans les trois plantes. D'autres plantes étudiées dont leurs extraits aqueux possèdent une activité larvicide, les fruits de *Citrullus colocynthis* contre *Culex pipiens* et *Culiseta longeariolata* (**Merabti et al., 2015**); l'activité bioinsecticide de l'extrait aqueux d '*Euphorbia gugoniana* (**Khemassi et al., 2015**). De ce que nous avons pu avancer comme résultats, les phytopréparations testées et évaluées, ont montrés une remarquable activité larvicide contre les larves de *Culex pipiens*.

Conclusion et perspective

Le concept de lutte biologique mérite d'être développé lors d'intervention sanitaire en milieu urbain et périurbain. Dans cette optique, notre étude vise la valorisation et l'optimisation de l'activité larvicide d'une bioformulation à base d'extrait aqueux et d'huiles essentielles d'une plante aromatique et médicinale *Pistacia lentiscus* contre *Culex pipiens*, qui représente une menace pour la santé humaine et animale étant donné qu'il peut être vecteur de plusieurs maladies.

Les résultats de cette étude ont révélés, pour l'ensemble des traitements, que la fluctuation temporelle des mortalités corrigées des larves L3 de *Culex pipiens* enregistrent des taux de mortalité plus imposant selon le degré de concentration des dilutions utilisées, obéissant à un gradient positif $D1 < D2 < D3$ pour l'huile essentielle formulée, le Spinosad, l'extrait aqueux brut et formulé.

Sous l'effet de l'extrait aqueux brut, l'activité larvicide du principe actif s'accroît graduellement dans le temps. Elle affiche des mortalités importantes après 48h et 72h d'exposition. En revanche, sous l'effet de l'extrait aqueux formulé et du Spinosad, la mortalité la plus importante est signalée successivement des 48h et 12h d'exposition aux fortes doses. Le Spinosad, affiche des mortalités très précoces visibles dès 12h. La vision globale des potentialités larvicides des différents traitements montre que les fortes doses des phytopréparations à base d'extrait aqueux brut et formulé engendrent des mortalités corrigées très similaires que la forte dose du Spinosad.

Concernant les huiles essentielles, les résultats montrent que le taux de mortalités corrigées se rapproche sous l'effet des fortes doses de la phytopréparation formulé à base d'huile essentielle et de Spinosad. La mortalité corrigée informe que l'huile essentielle formulée ainsi que le Spinosad montrent leurs potentiels larvicides à l'égard des larves L3 de *C. pipiens* dès 12h d'exposition. Les potentialités larvicides des différents traitements montre que la forte dose de l'huile essentielle formulée provoque les taux de mortalité les plus importants, alors que la dose moyenne de l'huile essentielle formulée s'ajuste au même taux de mortalité signalé sous l'effet de la forte dose du Spinosad. Les huiles essentielles et les extraits aqueux évalués et comparés avec le Spinosad ont montré une intéressante activité larvicide envers les *Culex pipiens*.

Ainsi, l'intérêt de la formulation est prouvé par l'efficacité de l'extrait aqueux formulé (70% principe actif) qui a affiché des taux de mortalités comparables

à ceux de l'extrait aqueux brut (100% principe actif), et huile essentielle formulé avec une activité biolarvicide similaire avec le Spinosad.

Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour l'application des huiles essentielles et des extraits aqueux des poudres végétales dans la production des bio-insecticides. Nous envisagerons de poursuivre cette étude afin de préciser la nature des composés chimiques responsables de l'activité larvicide par un fractionnement mené en parallèle avec les tests de sensibilité. Aussi nous proposons d'évaluer l'activité larvicide d'autres espèces végétales non testées.

Abdelwahed, A.; Bouhlel, I.; Skamdrani, I.; Valenti, K.; Kadri, M.; Guirand, P.; Steiman, R.; Mariotte, A. M.; Gherdia, K.; Laporte, F.; Dijoux, F.; Ranca, M. G.; and Chekir-Ghedira, L. (2007). Study of antimutagenic and antioxidant activities 1, 2, 3, 4, 6 pentagalloylglucose from *Pistacia Lentiscus* confirmation by microarray expression profiling. *Chem. Biol. Inter.* 165:1-13.

Adisso D. et Alia R., 2005. Impact des fréquences de lavage sur l'efficacité et la durabilité des moustiquaires à longue durée d'action de types Olyset Net et Permanet dans les conditions de terrain. Mémoire de fin de formation en ABM-DITEPAC-UAC, Cotonou : 79.

Aligon D., Bonneau J., Garcia J., Gomez D. et Goff D., 2010. Projet d'estimation des risques sanitaires. Estimation des expositions de la population générale aux insecticides : les organochlorés, les Organophosphorés et les Pyréthrinoides, IGS PERSAN 2009-2010, Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique : 78.

Altieri M.A. and Nicholls C.I., 2004. Biodiversity and pest management in agro ecosystems. *2nd edn Food Products Press, New York.*

AL Saghir M.G., 2006. Phylogenetic Analysis of the Genus *Pistacia* (Anacardiaceae). Blacksburg, Virginia. *Thèse de doctorat* : 137.

Amhamdi H., Aouinti F., Wathelet J.P. and Elbachiri A., 2009. Chemical Composition of the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. from Eastern Morocco. *Rec. Nat. Prod.* 3(2) : 90- 95.

Amraoui F., Krida G., Bouattour A., Rhim A., Daaboub J., Harrat Z., Boubidi S.C., Tijane M., Sarih M. and Failloux A.B., 2012. *Culex pipiens*, an Experimental Efficient Vector of West Nile and Rift Valley Fever Viruses in the Maghreb Region. *PLoS One.* 2012;7(5):e36757. Epub.

Andreo V., 2003. L'effet anti-gorgement sur un chien d'un shampoing a 0,07% de Deltamethrine sur un moustique du Complexe *Culex pipiens*, Thèse de Médecine Vétérinaire, Toulouse : 170.

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

Aouati A., 2009. Inventaire des culicidae des zones humides et des forêts de chêne-liège. Caractérisation systématique par les profils des hydrocarbures cuticulaires. Essais de lutte. Thèse de Magistère, Université Badji Mokhtar, Annaba: 131.

Aubry J.M. et Schorsch G., 1999. Formulation - Présentation générale. Formulation. Paris, Techniques de l'ingénieur, J210.

- Ayitchedji A.M., 1990.** Bio écologie des Anophèles mêlas et des anophèles gambiae s.s. comportement des adultes vis-à-vis de la transmission du paludisme en zone coutière lagunaire, République du Bénin. Mémoire de fin de formation en TLM-DETS-CPU-UNB- cotonou: 76.
- Baba-Aissa F., 1999.** Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algerie et du Maghreb : 1- 218.
- Balenghien T., 2006.** De l'identification des vecteurs du virus WestNile à la modélisation du risque d'infection dans le sud de la France.Thèse de Doctorat, Grenoble, Université J. Fourier: 235.
- Bamou M., Daoudi A., Slimani I., Nadjem M., Bouiamrine E. H., Ibijbiben J et Nassiri L., 2015.**Valorisation du lentisque« Pistacia lentiscus »: Étude ethnobotanique,Screening phytochimique et pouvoir antibactérien.J.APPL.Biosc.
- Bang Y.H., Sabuni I.B. and Tonn R.J., 1975.** Integrated control of urban community sanitation supplemented by mosquitoes in Dar es Salaam using larviciding. E. Afr. Med. J., 52: 578-584.
- Becker N., 1998.** The use of *Bacillus thuringiensis* sub sp. israelensis (BTI) against mosquitoes, with special emphasis of the ecological impact. Israel Journal of Entomology XXXII : 63-69.
- Belaiche P., 1979.** Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie. Tome I. Ed. Maloine S.A. Paris.
- Belfadel F.Z., 2009.** Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* –Caractéristiques physico-chimiques et effets biologiques. Mémoire présenté pour obtenir le diplôme de Magister en chimie organique, Université Mentouri Constantine: 139.
- Belhadj S., 2002.** Les pistacheraies algériennes: Etat actuel et dégradation. Centre Universitaire de Djelfa : 107-109
- Belkhoumali S., 2015.** Evaluation de l'activité insecticide et phytostimulatrice des huiles essentielles formulées de lentisque sur le puceron vert du peuplier noir. Mémoire de magister, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de BLIDA 1: 116.
- Belkou H., Beyoud F. et Taleb Bahmed Z., 2005.** Approche de la composition biochimique de la menthe vert (*menthe spicata L*) dans la région de Ouargla. Mémoire DES, univ. Ouargla : 61.
- Bendali F., 2006.** Etude bioécologique, systématique et biochimique des Culicidae (Diptera : Nematocera) de la région d'Annaba .Lutte biologique.

- Bendali F., Djebbar F. et Soltani N., 2001.** Efficacité comparé de quelques espèces de poisons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire. *Parasitica*, 57(4): 255-265.
- Benhammou N., Bekkara F.A and Panovska T.K. 2008.** Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(2): 22-28.
- Berge T.O., 1975.** International catalogue of Arboviruses, including certain other viruses of Vertebrates. US Depart. Hlth. Educ. And Welfare.Public.N°75-8301, 2 edit.
- Bhourri W., Derbel S., Skandrani I., Boubaker J., Bouhlel I.B., Sghaier M., Kilani S. Mariotte A.M., Dijoux-Franca M.G., Ghedira K. and Chekir-Ghedira L., 2010.** Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits. *Toxicology in Vitro*, 2: 509-515.
- Bianchi F.J., Booij C.J. and Tschardt T., 2006.** Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proceedings Biological sciences/ The Royal Society*, 27: 1715-1727.
- Binet P. et Brunel J. P., 2000.** *Physiologie Végétale*. Tome II. Edit. Doin : 54.
- Bouabida H., Djebbar M. et Soltani N., 2012.** Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). *Faunistic Entomology*, Tébessa, 65 : 99-103.
- BOULLARD B., 2001.** *Plantes médicinales du monde, croyances et réalités*, édit Estame, Paris ,636 p.
- Bret B.L., Larson L.L., Schoonover J.R., Parks T.C. and Thompson G.D., 1997.** Biological properties of spinosad. *Dow to Earth*, 5: 6-13.
- Boulkenafet F., 2006.** Contribution à l'étude des Phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera : Culicidae) dans la région de Skikda. Mémoire de Magister, Université de Constantine : 190.
- Brunhes J., Rhaim A., Geoffroy A., Angel G. et Hervy J.P., 1999.** Les moustiques de l'Afrique méditerranéenne : Programme d'identification et d'enseignement. Ed.IRD, Montpellier.
- Brunhes J., Rhaim A., Geoffroy B., Angel G. et Hervy J.P., 1999.** Les Culicidae d'Afrique méditerranéenne. Logiciel de l'Institut de Recherche pour le Développement (I.R.D.), Montpellier, ISBN 2,7099 : 1446-8.

Brunetton J., 1987. Elément de phytochimie et pharmacognosie, Paris : Lavoisier - Tech. et doc. : 584.

Bruneton J., 1993. «Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales».Ed .Tec. et Doc. Lavoisier, paris : 915.

Capo M., Courilleau V. et Valette C., 1990. Chimie des couleurs et des odeurs. Culture et techniques :204

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

Charef M., Yousfi M., Saidi M. and Stocker P., 2008. Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria. J. Am. Oil Chem. Soc. 85: 921-924.

Chavasse D.C., Lines J.D., Ichimori K., Majala A.R., Minjas J.N. and Marijani J., 1995. Mosquito control in Dar es SalaamII Impact of expanded polystyrene beads and pyriproxyfen treatment of breeding sites on *Culex quinquefasciatus* densities Med. Vet. Entomol. 9 (2) : 141-146.

Chevillon C., Eritja R., Pasteur N. and Raymond M., 1995. Commensalism, adaptation and gene flow: mosquitoes of the *Culex pipiens* complex in different habitats. Genet Res 66: 147-1 57.

Clement A.N., 1999. The Biology of Mosquitoes: Sensory Reception and Behaviour. CAB International Publishing: 576.

Collins F.H., Kamau L., Ranson H.A. and Vulule J.M., 2000. Molecular entomology and prospects for malaria control. Bull. WHO. (78) : 1412-1423.

Combemale P., 2001. La prescription des repulsifs. med. trop., 61 : 99-103.

Constant N.,2009.L'utilisation du pyrethre naturel pour lutter contre la cicadelle de la flavescence dorée en viticulture biologique.AIVB-LR.

www.constant.aivb@wanadoo.fr

Cook D.R., 1974. Water mite genera and subgenera. Mem. Am. Entomol. Inst., 21 :860.

Cortina J., Green J.J., Baddeley J.A., and Watson C.A., 2008. Root morphology and water transport of *Pistacia lentiscus* seedlings under contrasting water supply: A test of the pipe stem theory. Environmental and Experimental Botany, 62: 343–350

Crampton J., Morris A., Lycett A. and

Eggleston P., 1990. Transgenic mosquitoes : a future vector control strategy ? Parasitology Today, 6 (2) : 31-36.

- Crosby D.G., 1966.** Natural pest control Agents. *Adv. Chem. Ser.*, (53) :1-16.
- Curtis C.F., 1994.** Approaches to vector control : new and trusted. 4. Appropriate
- Darriet F., Robert V., et Carnevale P., 1987.** Evaluation de trois inhibiteurs de croissance, deux ecdysoïdes et un juvénoïde, dans la lutte contre *Culex quinquefasciatus*. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et parasitol.*, 25 : 119-126.
- Delille A.L., 2010.** Les plantes medicinales d'Algerie. 2eme edition, Berti, Paris: 488- 538.
- Djeridane A., Yousfi M., Boutassouna D., Stocker P. and Vidal N., 2006.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Journal of Food Chemistry*, 97: 654-660.
- Doannio J.M.C., Hougard J.M., Dossou-Yoyo J. et Duval J., 1986.** Evaluation en milieu naturel de l'activité de trois analogues de régulateurs de croissance, L'OMS 3 007, l'OMS 3 010 et l'OMS 3 019, sur *Culex quinquefasciatus* en Afrique de l'Ouest. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et parasitol.*, 24 (4) : 287-291.
- Dobrotworsky N.V. and Drummond F.H., 1953.** The culex pipiens group in South-eastern Australia. II. *pro. Linn. Soc . N.S.W.* 78 :131-146.
- DowElanco., 1994.** Spinosad technical guide. DowElanco, Indianapolis, IN.
- Edwards F.W., 1941.** Mosquito of the Ethiopian Region, part III: Culicinae adult and pupae, *Brit. Mus. Nat. Hist.*, London : 499.
- El beyrouthy M., 1999.** Contribution à l'étude de quelques familles médicinales de la flore libanaise. Université Saint-Esprit de Kaslik Faculté des Sciences Agronomiques.
- Enan E., 2000.** Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part Toxicology and Pharmacology*.
- Euzeby J., 2008.** Grand dictionnaire illustre de parasitologie medicale et veterinaire. Paris : Editions Tec. and Doc. : 818.
- Faraj C., Elkholi M. et Lyagoubi M., 2006.** Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 99 : 119-121.

Fernandez A., Camacho A., Fernandez C. and Altarejos J., 2000. Composition of the Essential Oils from Galls and Aerial Parts of *Pistacia lentiscus* L. Essent. Oil Res.12: 19-23

Fonseca D.M., Smith J.L., Wilkerson R.C. and Fleischer R.C., 2006 . Pathways of expansion and multiple introductions illustrated by large genetic differentiation among worldwide populations of the southern house mosquito. Am J Trop Med Hyg 74(2): 284-289.

Fonseca D.M., Smith J.L., Kim H.C. and Mogi M., 2009. Population genetics of the mosquito *Culex pipiens pallens* reveals sex-linked asymmetric introgression by *Culex quinquefasciatus*. Infect Genet Evol 9: 1197-1203.

Gashen H., 1932. Influence de la température et de la diminution larvaire sur ledéveloppement de *Culex pipiens* (race autogène). Bull. Soc. Path. Exot., 25 : 577-581.

Garnier G., Bézanger-Beauquesne L. et Debraux G., 1961. Ressources médicinales de la flore française. Edition Vigot Frères Editeurs : 665-666.

Gauvrit. C., 1995. Les principaux types d'adjuvants et leurs actions majeurs. ANPP-Seizième conférence de Columa, Reims: 445-452.

Gauvrit. C. 1994. Oils in plant protection: herbicide case study. Phytoma. 458(37-38): 40-42.

Georghiou G.P., AriaratnamV., Pasternak M.E. et Lin C.S. 1975. Organophosphorus multiresistance in *Culex quinquefasciatus* in California. J.Econ. Entomol. 68 : 461-467.

Glitho A.I., 2002, Post-récolte et biopesticides en Afrique, Annexe. In: Biopesticides d'origine végétale. Regnault Roger C., Philogène B.J.R. et Vincent C. Eds. Paris: **313-321**.

Gopiesh k. and kannabiran k., (2006). Larvicidal effect of *Hemidesmus indicus*, *Gymnema sylvestre* and *Eclipta prostrata* against *Culex quinquefasciatus* mosquito larvae.african journal of biotechnology vol.6(3) :207-311

Gomes B., Sousa C.A., Novo M.T., Freitas F.B., Alves R., Côte-Real A.R., Salgueiro P., Donnelly M.J., Almeida A.P.and Pinto J., 2009. Asymmetric introgression between sympatric molestus and pipiens forms of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in the Comporta region, Portugal. BMC Evol Biol 9: 262.

Guillaumot L., 2006. Les moustiques et la dengue. Institut pasteur de Nouvelle. Calédonie. 15p. Article. Site :Institut pasteur .Hyperlien(url) :http://www.institutpasteur.nc/article.php3?id_article=78 consulté le 13.05.17.

Guillermet C. 2013. Les moustiques. L'entomologie à l'île de la Réunion.

Hamer G.L., Kitron U.D., Brawn J.D., Loss S.R., Ruiz M.O., Goldberg T.L. and Walker E.D., 2008. *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) : a bridge vector of West Nile virus to humans. *Journal of Medical Entomology*, janvier, 45 : 125-128.

Hammer Øyvind, David A.T., Harper and Paul D. Ryan., 2001. *Palaeontologia Electronica*. <http://palaeo-electronica.org>

Hamlat N. et Hassani A., 2008. Analyse des flavonoïdes présents dans les feuilles du lentisque par les méthodes chromatographiques. X^{les} Journées Scientifiques du réseau "Biotechnologies végétales Amélioration des plantes et sécurité alimentaire" de l'Agence universitaire de la Francophonie.

Hassal K.A., 1990. The biochemistry and uses of pesticides : structure, metabolism, mode of action and uses in crop protection. VCH publ. Inc., New York, USA : 536.

Harbach R.E., Dahl C., and White G.B.,1985. *Culex (Culex) pipiens* Linnaeus (Diptera, Culicidae)-concepts, type designations, and description. *Proc Entomol Soc Wash* 87: 1-24.

Hellal, Z., 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*), Magister en BIOLOGIE Option : Biochimie Appliquée et Biotechnologies, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou : 95.

Holloway P.J. and Stock. D., 1990. Factors affecting the activation of foliar uptake of agrochemicals by surfactants dans industrial applications of surfactants II. *D.R Royal Society of London*: 303-307.

Holloway P.J. 1993. Adjuvant for agrochemicals. *Melingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent*. 58(2a) : 125-140.

Homburger F. and Boger E., 1968. The carcinogenicity of essential oils, flavors and spices: A review. *Cancer Res*. 28 : 2372-2374.

Huard I. et Huard D. 1999. Les huiles essentielles et l'aromathérapie , éd. Québecot.

Huignard J., Lapied B., Dugravot S., Magnin-Robert M. et Ketoh K. G., 2008. Modes d'actions neurotoxiques des dérivés soufrés et de certaines huiles essentielles et risques liés à leur utilisation. In « Biopesticides d'origine végétale », 2^{ème} Ed., 219-230.

Isman, 1999. Insecticidal activity of essential oils of the tobacco cutworm, *Spodoptera litula*, *Ftoterapia*:65-72

Isman, 2000 .Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protection 19(2000) : 603- 608.

Jolivet, 1980. Les insectes et l'homme.PUF, collect. Que sais-je ? :128 .

Keane S. et Ryan M.F., 1999. Purification, characterisation, and inhibition by monoterpenes of acetylcholinesterase from the waxmoth, *Galleriamellonella* (L.).Insectbiochemistryandmolecularbiology Vol29(12) : 1097-1104.

Kemassi A., Boukhari C., Ghada K., Bendakem N., Bouziane N., Boual Z., Bouas N., Ould elhadj K. et Ould elhadj M.D., 2015.Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait aqueux d'*Euphorbia gygoniana*(Boiss. Et Reut.) (Euphorbiaceae).Revue EL Wahat pour les recherché scientifiques et les etudes vol(8) n°1:44-61.

Kim K.S., Chung B.J. and Kim H.K. 2000. A new benzoylphenyl urea insecticide with particular activity against whitefly. Proceedings of the British Crop Protection Council Conference. Pests and Diseases. DBI-320(1) : 41-46.

Klowden M.J., 1990. The endogenous regulation of mosquito reproductive behavior

Knight K.L. and Stone A., 1977. A Catalog of the World. (Diptera : *Culicidae*), The Thomas Say Foundation, Vol. 6, 2eme édit., publié par l'Entomological Society of America, Maryland : 611.

Kostyukovsky M., Chen B., Atsm S. and Shaaya E., 2000. Biological activity of two juvenoids and two ecdysteroids against three stored product insects. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 30: 891-897.

Kumar R. and Hwang J.S. 2006. Larvicial efficiency of aquatic predators: a perspective for mosquito biocontrol. Zoological Studies. 45 (4) : 447-466.

Kurkin V.A. 2003. Phenylpropanoids from medicinal plants. Distribution, classification, structural analysis and biological activity. Chem. Nat. Compd, 39 : 123-153.

Lengeler C., Cattani J. et Don de Savigny., 1997. Un mur contre la malaria. Du nouveau dans la prévention des décès dus au paludisme. Publié conjointement par le CRDI/OMS.

Lesueur F., 2006. Élaboration de formulations a base d'extraits de Neem (*Azadirachta indica a. juss*) pour la protection de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) contre le *Myzus persicae*, un puceron colonisateur et vecteur de virus circulants et non circulants. Mémoire Maitrise Biologie Végétale, Université Laval Québec : 139 .

Linné C., 1758. Systema naturae per regna fria naturae. Edition 10. Holmia, 1: 82.

López-Lázaro M., 2009. Distribution and Biological Activities of the Flavonoid Luteolin. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, 9 : 31-59.

Marmonier P., Lagadeuc Y., et Aquilina L., 2006. Introduction à l'écologie. Ed ENVAM : 36.

Markouk M.K., Bekkouche M., Larhsini M., Bousaid H.B. and Lazre k., 2000. Evaluation of some Moroccan medicinal plant extracts for larvicidal activity. Journal of Ethnopharmacology 73293 : 29.

Martini M.C., Seiller M., 2006. Actifs et additifs en cosmétologie, 3 e éd. Paris, Éditions Lavoisier.

Merabti B., Lebouz I., Adamou A., Ouakid M.L., 2015. Effect toxique de l'extrait aqueux des fruits de *Citrillus colocynthis* (L.) Shrad sur les larves des culicidae. Revue des bioressource vol. 5 n°2 :120-130.

Messai N., Berchi S., Boulkenafed F. et Louadi K. 2012. Inventaire systématique et diversité biologique de Culicidae (Diptera : Nematocera) dans la région de Mila (Algérie). Faunistic Entomology, 63(3) : 203-206.

Mathis W., Smith E. A. and School H. F., 1970. Use of air barriers to prevent entrance of house flies, J. Fifth Edition. McGraw-Hill Inc, New York : 1094.

Miles M. and Dutton R., 2000. Spinosad, a naturally derived insect control agent with potential for use in glasshouse integrated pest management system. Mededelingen Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische wetenschappen Universiteit Gent. 65-2a : 393-400.

Mouchet J., 1994. Le DDT en santé publique. Cahier santé, 4: 257-262.

Mouchet J. et Carnevale P., 1991. Les vecteurs et la transmission : épidémiologie. Le paludisme Ellipses U.R.E.F : 34-59.

Muller M. F., 2003. << Aromathérapie >>, éd. Anne la fay, Fabienne vaslet, Hachette livre.

OMS., 1963. Méthode à suivre pour déterminer la sensibilité ou la résistance des larves de moustiques aux insecticides. In résistance aux insecticides et lutte contre les vecteurs. Treizième rapport du comité OMS d'experts des insecticides, Genève : OMS, Sér. Rapp. Techn. 265 : 55-60

OMS. 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides, (Page consultée le 02/03/2017). [en ligne]. Adresse URL : www.who/cds/whopes/gcdpp/2005.13.

OMS., 2015. La Filariose lymphatique: entomologie pratique : manuel à l'intention des programmes nationaux :-92

Oshaghi M.A., Ghalandari R., Vatandoost H., Shayeghi M., Kamali-nejad M., Tourabi-Khaledi H., Abolhassani M. and Hashemzadeh M. 2003. Repellent Effect of Extracts and Essential Oils of Citrus limon (Rutaceae) and Melissa officinalis (Labiatae) Against Main Malaria Vector, Anopheles stephensi (Diptera: Culicidae). Iranian J Publ Health, Vol. 32, No. 4 : 47-52.

Pavan M., 1986. Una revolutione. Cultural. Europea. La “carta sugli invertebrate” delonsiglio d’europa. Pubblicazioni dell’ Institute entonologico, Universita di Pavia, 33 :1-51.

Petit S., Gogny M., Martel J.L., Pellerin J.L., Pinault L., Pouliquen H., Puyt J.D., and Vandaele E. 2009. Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires 2009. 15ème édition. Rueil-Malmaison : Editions du Point Vétérinaire : 1808.

Padrini F. et Lucheroni M.T.,1996. Le grand livre des huiles essentielles .Ed. de Vecchi. pp 115.

Quezel P. et Santa S., 1962. Nouvelle Flore d’Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Tome I, Centre Nationale de la Recherche Scientifique : 611

Rageau J. et Delaveau P. 1980. effets toxiques d’extraits de végétaux sur les larves de moustiques. *Bulletin de la société de pathologie exotique.* (72): 168-171.

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

Ryan M. F., Byrne O., 1988. Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *J. Chem. Ecol.*, 14, 1965–1975.

Reusken C., Vries A., Buijs J., Braks M.A.H., den Hartog W. and Scholte E.J., 2010 . First evidence for presence of *Culex pipiens* biotype molestus in the Netherlands, and of hybrid biotype pipiens and molestus in northern Europe. *Journal of Vector Ecology* 35: 210-212.

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

- Rioux J.A., Golvan Y.J., Croset H., Tour S., Houin R., Abonnec E., Petitdidier M., Volhardt Y., Dedet J.P., Albert J.L., Lanotte G. and Quilici M., 1965.** Epidémiologie des leishmanioses dans le Sud de la France. Paris : Ed INSERM ; Montpellier INSERM ; (37) : 223.
- Rodhain F., Perez C., 1985.** Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Paris: Maloine : 458.
- Romi R., Proietti S., Di-Luca M. and Cristofar M., 2006.** laboratory evaluation of the bio insecticide spinosad for mosquito control. Journal of american mosquito control association, 22 : 93-96.
- Sayah M.Y., El Ouali Lalami A., Greech H., Errachidi F., Rodi Elkandi Y. and Ouazzani C., 2014..** Larvicidal activity of Aromatic Plant Extracts on Larvae of mosquitos vectors of parasitic diseases. International journal of innovation and Applied Studies: 832-842
- Schaffner E., Angel G., Geoffroy B., Hervy J.P., Rhaïem A. and Brunhes J., 2001.** Les moustiques d'Europe : logiciel d'identification et d'enseignement Paris (FRA) ; Montpellier : IRD ; EID, 2001, 1 CD ROM (Didactiques). ISBN 2-7099-1485-9.
- Salgado V.L., 1998.** Studies on the mode of action of spinosad : insecte symptoms and physiological correlates. Pesticide Biochemistry and physiology, 60 : 91-102.
- Schorsch G., 2000.** "La formulation : de l'art à la science du compromis". In : Actualité chimique 20-24. 237.
- Seguy E., 1923.** Les moustiques de France. Ed. Paul Lechevalier, Paris: 225.
- Sinegre G., Jullien J.L. et Crespo O., 1976.** résistance de certaines populations de *Culex pipiens* (L.) au Chlorpyrifos (Dursban) en Languedoc-Roussillon (France). *Cah. S.R.S.T.O.M., sér. ent. méd. et parasitol.* (1) : 49-59.
- Smith J.L., Fonseca D.M., 2004.** Rapid assays for identification of members of the *Culex (Culex) pipiens* complex, their hybrids, and other sibling species (Diptera: Culicidae). *Am J Trop Med Hyg* 70(4): 339-345.
- Smith S., 2006.** Série de manuels de Formation sur l'utilisation des pesticides au Canada. Chapitre 1 renseignements généraux, volume 1: 1-19.
- Snodgrass R.E., 1959.** The anatomical life of the Mosquito. *Smiths. misc. Coll.*, 139 (8) : 87.
- Tomlin C., 2000.** The pesticide manual. 12th ed. British Crop Protection Council, London, United Kingdom.

- TCHOUMBOUNANG F., Jazet D. P.M., Lambert S., Edwige G. Nkouaya M., Guy Bertrand Tiako F., Amvam Z.P.H., et MENUTC., 2008.** Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun.
- Toral Y. and Caro M., 2005.** Evaluation in vitro de l'efficacité du fipronil sur *Culex pipiens pipiens*. Th. : Med.Vet. : Toulouse, 099 : 53.
- Urquhart G.M., Armour J., Duncan J.L., Dunn A.M., Jennings F.W., 1996.** Veterinary parasitology. 2nd edition. Oxford: Blackwell scienc : 307.
- Vernner R., and Bauer P., 2007.** Q-TEO, a formulation concept that overcomes the incompatibility between water and oil. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 60(1) : 7-26.
- Vinogradova E.B., 2000.** Mosquitoes *Culex pipiens pipiens*: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control. PenSoft, Sofi : 280.
- Vinogradova E.B., 2003.** Ecophysiological and morphological variations in mosquitoes of the *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae). Acta Soc Zool Bohem 67 : 41-50.
- W.H.O., 1984.** Report of the seventh meeting of the scientific working group on biological control of vectors. Mimeogr. doc. TDR/BCV/SWG/84 : 3- 33.
- W.H.O., 1992.** Résistance des vecteurs aux pesticides. Quinzième rapport du Comité OMS d'experts de la biologie des vecteurs et de la lutte antivectorielle. Genève,(Organisation Mondiale de la Santé, Série de rapport technique : 818.
- Wei T., Sun H., Zhao X., Houa J., Hou, A., Zhao Q and Xin W., 2002.** Scavenging of reactive oxygen species and prevention of oxidative neuronal cell damage by a novel gallotannin, Pistafolia A. *Life Sciences*, 70 : 1889-899.
- Williams T., Valle J and Vinuela E., 2003.** Is the naturally-derived insecticide spinosad compatible with insect natural enemies? *Biocontrol Science and Technology*, 1 : 459-475.