



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET PUBLIQUE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة

Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Animale

N° d'ordre .....

N° de série.....

## THESE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE  
DOCTORAT 3<sup>EME</sup> CYCLE

Spécialité : Biologie Animale

Option : Biodiversité et Écologie des Arthropodes

**Etude biométrique et histologique sur des larves de  
*Culex pipiens* Linnée, 1758 (Diptera, Culicidae)  
Exposées aux extraits aqueux de plantes**

Présentée par :

**ZERROUG SARRA**

Devant le jury :

Président: BAAZIZ Nasser. Professeur Université des frères Mentouri Constantine  
Directrice de thèse: BERCHI Selima. Professeur ENSB Constantine  
Examineurs: BENKENANA Naima. MCA Université des frères Mentouri Constantine  
BOUDAH Abdenacer. Professeur ENSB Constantine

# SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1. DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES .....	5
1.1. Présentation du moustique <i>Culex pipiens</i> .....	5
1.1.1. Position systématique et la notion de complexe <i>Culex pipiens</i> .....	5
1.1.2. Bio écologie et cycle de développement de <i>Culex pipiens</i> .....	6
1.1.2.1. Facteurs de développement.....	10
1.1.2.2. Cycle de développement de <i>Culex pipiens</i> .....	10
1.1.2.3. Morphologie des différents stades.....	11
1.1.2.3.1. Les Œufs.....	11
1.1.2.3.2. La larve.....	12
1.1.2.3.3. La nymphe.....	16
1.1.2.3.4. L`adulte.....	16
La tête.....	18
Le thorax.....	29
Les pattes.....	20
Les ailes.....	20
L`abdomen.....	21
Les génitalia mâles.....	22
Les génitalia femelles.....	22
1.1.2.4. Cycle gonotrophique des moustiques.....	23
1.2. Aspect nuisance et rôle vectoriel de <i>Culex pipiens</i> .....	23
1.3. Moyens de lutte contre les moustiques.....	24
2. Présentation des plantes.....	29
2. 1. <i>Eucalyptus globulus</i> Labill 1800.....	29

2. 2. Le tabac ( <i>Nicotiana tabacum</i> L. 1753).....	30
2. 3. Le basilic ( <i>Ocimum basilicum</i> L).....	31
2. 4. Le Myrte ( <i>Myrtus communis</i> Linnée 1753).....	32
2. 5. La marjolaine ( <i>Origanum majorana</i> L., 1753).....	33
2. 6. Laurier-rose ( <i>Nerium oleander</i> )L., 1753.....	34
2. 7. La sauge ( <i>Salvia officinalis</i> L., 1753).....	35
2. 8. Le jasmin ( <i>Jasminum polyanthum</i> ).....	36
CHAPITRE 2. MATERIEL ET METHODES.....	38
2.1. Matériel animal.....	38
Suivi de l'élevage.....	39
2.2. Matériel végétal .....	39
2.2.1. Préparation des extraits de plantes.....	39
2.3. Réalisation des tests biologiques.....	41
2.4. Analyses statistiques.....	42
2.5. Etude histologique.....	43
2.6. Etude biométrique.....	44
CHAPITRE 3. RESULTATS.....	46
3.1. Etude de la toxicité des extraits aqueux de plantes sur les larves L4 de <i>Culex pipiens</i> .....	46
3.1.1. Toxicité de l'extrait de <i>Eucalyptus globulus</i> sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	46
3.1.1.2. La régression linéaire de l' <i>Eucalyptus globulus</i> de 24h, 48h et 72 heures.....	46
3.1.1.3. Etude comparative des doses utilisées de l' <i>Eucalyptus globulus</i> sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	48
3.1.1.4 Etude des paramètres toxicologiques de l' <i>Eucalyptus globulus</i> pendant 24h, 48h et 72h d'exposition.....	49
3.1.2. Toxicité de l'extrait de <i>Myrtus communis</i> sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	50

3.1.2.1. La régression linéaire de <i>Myrtus communis</i> de 24h, 48h et 72heures.....	51
3.1.2.2. Etude comparative des doses utilisées de <i>Myrtus communis</i> sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	53
3.1.2.3. Etude des paramètres toxicologiques de <i>Myrtus communis</i> pendant 24h, 48h et 72h d'exposition.....	54
3.1.3. Toxicité de l'extrait de <i>Nerium oleander</i> sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	55
3.1.3.1. La régression linéaire de <i>Nerium oleander</i> de 24h, 48h et 72heures.....	55
3.1.3.2. Etude comparative des doses utilisées de <i>Nerium oleander</i> sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	57
3.1.3.3. Etude des paramètres toxicologiques de <i>Nerium oleander</i> pendant 24h, 48h et 72h d'exposition.....	58
3.1.4. Toxicité de l'extrait d' <i>Ocimum basilicum</i> sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	59
3.1.4.1. La régression linéaire d' <i>Ocimum basilicum</i> de 24h, 48h et 72heures.....	60
3.1.4.2. Etude comparative des doses utilisées d' <i>Ocimum basilicum</i> sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	62
3.1.4.3. Etude des paramètres toxicologiques d' <i>Ocimum basilicum</i> pendant 24h, 48h et 72h d'exposition.....	63
3.1.5. Toxicité de l'extrait de <i>Jasminum polyanthum</i> sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	64
3.1.5.1. La régression linéaire de <i>Jasminum polyanthum</i> de 24h, 48h et 72heures.....	64
3.1.5.2. Etude comparative des doses utilisées de <i>Jasminum polyanthum</i> sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	66
3.1.5.3. Etude des paramètres toxicologiques de <i>Jasminum polyanthum</i> pendant 24h, 48h et 72h d'exposition.....	67
3.1.6. Toxicité de l'extrait d' <i>Origanum majorana</i> sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	68
3.1.6.1. La régression linéaire d' <i>Origanum majorana</i> de 24h, 48h et 72heures.....	69

3.1.6.2. Etude comparative des doses d' <i>Origanum majorana</i> utilisées sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	71
3.1.6.3. Etude des paramètres toxicologiques d` <i>Origanum majorana</i> pendant 24h, 48h et 72h d'exposition.....	72
3.1.7. Toxicité de l'extrait de <i>Nicotiana tabacum</i> sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	73
3.1.7.1. La régression linéaire de <i>Nicotiana tabacum</i> 24h, 48h et 72heures.....	73
3.1.7.2. Etude comparative des doses de <i>Nicotiana tabacum</i> utilisées sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	75
3.1.7.3. Etude des paramètres toxicologiques de <i>Nicotiana tabacum</i> pendant 24h, 48h et 72h d'exposition.....	76
3.1.8. Toxicité de l'extrait de <i>Salvia officinalis</i> sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	77
3.1.8.1. La régression linéaire de <i>Salvia officinalis</i> 24h, 48h et 72heures.....	78
3.1.8.1. Etude comparative des doses de <i>Salvia officinalis</i> utilisées sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	80
3.1.8.2. Etude des paramètres toxicologiques de <i>Salvia officinalis</i> pendant 24h, 48h et 72h d'exposition.....	81
3.2. Etude histologique des larves traitées avec l'extrait de l' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	84
3.2.1. Examen histologie d'une larve témoin (non traitée).....	84
3.2.2. Examen histologique des larves traitées à l'extrait aqueux de l' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	85
3.2.2.1. Les caeca gastriques.....	85
3.2.2.2. L'intestin moyen des larves.....	87
3.3. Etude biométrique des adultes.....	89
3.3.1. Etude biométrique des adultes mâles.....	89
3.3.1.1. Etude de l'effet des extraits de plantes sur le développement morphologique des moustiques mâles <i>Culex pipiens</i> .....	91
3.3.2. Etude biométrique des adultes femelles .....	91

3.3.2.1. Etude de l'effet des extraits de plantes sur le développement morphologique des moustiques femelles <i>Culex pipiens</i> .....	93
CHAPITRE 4. DISCUSSION.....	94
4.1. Activité larvicide des plantes sur les larves L4 de <i>Culex pipiens</i> .....	94
4.2. Etude histologique sur les larves de <i>Culex pipiens</i> exposées au extrait aqueux de l' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	99
4.3. Biometrie des adultes mâles et femelles.....	101
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	104
RESUMES.....	106
RÈFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	109
ANNEXES	

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Toxicité de l' <i>Eucalyptus globulus</i> sur <i>Culex pipiens</i> .....	47
<b>Tableau 2:</b> Effet dose de l' <i>Eucalyptus globulus</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	49
<b>Tableau 3:</b> Effet dose de l' <i>Eucalyptus globulus</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	50
<b>Tableau 4:</b> Effet dose de l' <i>Eucalyptus globulus</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition.....	50
<b>Tableau 5:</b> Activité larvicide de l' <i>Eucalyptus globulus</i> à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre <i>Culex pipiens</i> .....	51
<b>Tableau 6:</b> Toxicité de <i>Myrtus communis</i> sur <i>Culex pipiens</i> .....	51
<b>Tableau 7:</b> Effet dose de <i>Myrtus communis</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	54
<b>Tableau 8:</b> Effet dose de <i>Myrtus communis</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	54
<b>Tableau 9:</b> Effet dose de <i>Myrtus communis</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition. ....	55
<b>Tableau 10:</b> Activité larvicide de <i>Myrtus communis</i> à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre <i>Culex pipiens</i> .....	55
<b>Tableau 11:</b> Toxicité de <i>Nerium oleander</i> sur <i>Culex pipiens</i> .....	56
<b>Tableau 12:</b> Effet dose de <i>Nerium oleander</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	58
<b>Tableau 13:</b> Effet dose de <i>Nerium oleander</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	59
<b>Tableau 14:</b> Effet dose de <i>Nerium oleander</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition.....	59
<b>Tableau 15:</b> Activité larvicide de <i>Nerium oleander</i> à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre <i>Culex pipiens</i> .....	60
<b>Tableau 16:</b> Toxicité d' <i>Ocimum basilicum</i> sur <i>Culex pipiens</i> .....	60

<b>Tableau 17:</b> Effet dose d' <i>Ocimum basilicum</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	62
<b>Tableau 18:</b> Effet dose d' <i>Ocimum basilicum</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	63
<b>Tableau 19:</b> Effet dose d' <i>Ocimum basilicum</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition.....	63
<b>Tableau 20:</b> Activité larvicide d' <i>Ocimum basilicum</i> à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre <i>Culex pipiens</i> .....	64
<b>Tableau 21:</b> Toxicité de <i>Jasminum polyanthum</i> sur <i>Culex pipiens</i> .....	64
<b>Tableau 22:</b> Effet dose de <i>Jasminum polyanthum</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	67
<b>Tableau 23:</b> Effet dose de <i>Jasminum polyanthum</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	67
<b>Tableau 24:</b> Effet dose de <i>Jasminum polyanthum</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition.....	68
<b>Tableau 25:</b> Activité larvicide de <i>Jasminum polyanthum</i> à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre <i>Culex pipiens</i> .....	68
<b>Tableau 26:</b> Toxicité d' <i>Origanum majorana</i> sur <i>Culex pipiens</i> .....	69
<b>Tableau 27:</b> Effet dose d' <i>Origanum majorana</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	71
<b>Tableau 28:</b> Effet dose d' <i>Origanum majorana</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	72
<b>Tableau 29:</b> Effet dose d' <i>Origanum majorana</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition.....	72
<b>Tableau 30:</b> Activité larvicide d' <i>Origanum majorana</i> à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre <i>Culex pipiens</i> .....	73
<b>Tableau 31:</b> Toxicité de <i>Nicotiana tabacum</i> sur <i>Culex pipiens</i> .....	73
<b>Tableau 32:</b> Effet dose de <i>Nicotiana tabacum</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	75



<b>Tableau 33:</b> Effet dose de <i>Nicotiana tabacum</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	76
<b>Tableau 34:</b> Effet dose de <i>Nicotiana tabacum</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition.....	76
<b>Tableau 35:</b> Activité larvicide de <i>Nicotiana tabacum</i> à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre <i>Culex pipiens</i> .....	77
<b>Tableau 36:</b> Toxicité de <i>Salvia officinalis</i> sur <i>Culex pipiens</i> .....	77
<b>Tableau 37:</b> Effet dose de <i>Salvia officinalis</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	80
<b>Tableau 38:</b> Effet dose de <i>Salvia officinalis</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	80
<b>Tableau 39:</b> Effet dose de <i>Salvia officinalis</i> appliqué sur les larves du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition.....	81
<b>Tableau 40:</b> Activité larvicide de <i>Salvia officinalis</i> à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre <i>Culex pipiens</i> .....	81
<b>Tableau 41:</b> Toxicité des extraits des plantes sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h, 48h et 72h d'exposition.....	82
<b>Tableau 42:</b> Étude des paramètres toxicologiques des extraits des plantes pendant 24h, 48h et 72h d'exposition.....	83
<b>Tableau 43:</b> mensurations moyennes des critères des mâles témoins et traités (mm).....	87
<b>Tableau 44:</b> mensurations moyennes des critères des femelles témoins et traités (mm).....	90

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Gite larvaire naturel.....	9
<b>Figure 2.</b> Gite larvaire artificiel.....	10
<b>Figure 3.</b> Cycle de développement de <i>Culex pipiens</i> .....	11
<b>Figure 4.</b> Nacelle d'œufs de <i>Culex pipiens</i> .....	12
<b>Figure 5.</b> Morphologie générale d'une larve du IVe stade de <i>Culex pipiens</i> .....	13
<b>Figure 5a.</b> Aspect morphologique de la tête d'une larve de <i>Culex pipiens</i> .....	13
<b>Figure 5b.</b> Aspect morphologique du siphon respiratoire.....	14
<b>Figure 6:</b> Tube digestif d'une larve de moustique au dernier stade larvaire (L4); organisation générale.....	15
<b>Figure 7.</b> Coupe frontale d'une L4 : situation des différents types cellulaires du mesenteron....	16
<b>Figure 8.</b> Morphologie générale d'une nymphe de <i>Culex pipiens</i> .....	17
<b>Figure 9.</b> Morphologie générale d'un moustique adulte.....	18
<b>Figure 10.</b> A gauche, tête de Culex mâle et femelle, A droite, tête de Culex mâle.....	18
<b>Figure 11.</b> Morphologie schématique de la tête de <i>Culex pipiens</i> .....	19
<b>Figure 12.</b> Morphologie schématique et emplacement des soies du thorax en vue latérale.....	20
<b>Figure 13.</b> Différentes parties d'une patte de <i>Culex pipiens</i> .....	21
<b>Figure 14.</b> Morphologie des ailes de <i>Culex pipiens</i> .....	22
<b>Figure 15.</b> Morphologie de l'abdomen de <i>Culex pipiens</i> .....	22
<b>Figure 16.</b> Morphologie schématique de l'appareil génital femelle.....	23
<b>Figure 17.</b> Tri des moustiques selon le stade de développement au laboratoire.....	30

<b>Figure 18.</b> Présentation d'une cage d'élevage surmontée d'une boîte de pétri contenant du sang pour le repas des femelles.....	31
<b>Figure 19.</b> Aspect morphologique d' <i>Eucalyptus globulus</i> Labill, 1800.....	33
<b>Figure 20.</b> Le tabac ( <i>Nicotiana tabacum</i> L. 1753).....	34
<b>Figure 21.</b> <i>Ocimum basilicum</i> L., 1753.....	35
<b>Figure 22.</b> <i>Myrtus communis</i> Linnée 1753.....	36
<b>Figure 23.</b> <i>Origanum majorana</i> L., 1753.....	37
<b>Figure 24.</b> Laurier-rose ( <i>Nerium oleander</i> L., 1753).....	38
<b>Figure 25.</b> <i>Salvia officinalis</i> L., 1753.....	39
<b>Figure 26.</b> <i>Jasminum polyanthum</i> L. 1753.....	40
<b>Figure 27.</b> Photographie représentant un dispositif reliant deux Soxhlet sur leurs chauffe ballons à un Cryothermostats à circulation.....	41
<b>Figure 28.</b> Photographie représentant un appareil Rotavapor.....	42
<b>Figure 29.</b> Photographie représentant la technique des bioessais.....	43
<b>Figure 30 :</b> Droite de régression des concentrations de l'extrait de l' <i>Eucalyptus globulus</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	48
<b>Figure 31 :</b> Droite de régression des concentrations de l'extrait de l' <i>Eucalyptus globulus</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	48
<b>Figure 32 :</b> Droite de régression des concentrations de l'extrait de l' <i>Eucalyptus globulus</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition.....	49
<b>Figure 33 :</b> Droite de régression des concentrations de l'extrait de <i>Myrtus communis</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	52

<b>Figure 34</b> : Droite de régression des concentrations de l'extrait de <i>Myrtus communis</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	53
<b>Figure 35</b> : Droite de régression des concentrations de l'extrait de <i>Myrtus communis</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition.....	53
<b>Figure 36</b> : Droite de régression des concentrations de l'extrait de <i>Nerium oleander</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	57
<b>Figure 37</b> : Droite de régression des concentrations de l'extrait de <i>Nerium oleander</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	57
<b>Figure 38</b> : Droite de régression des concentrations de l'extrait de <i>Nerium oleander</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition.....	58
<b>Figure 39</b> : Droite de régression des concentrations de l'extrait d' <i>Ocimum basilicum</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	61
<b>Figure 40</b> : Droite de régression des concentrations de l'extrait d' <i>Ocimum basilicum</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	61
<b>Figure 41</b> : Droite de régression des concentrations de l'extrait d' <i>Ocimum basilicum</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition.....	62
<b>Figure 42</b> : Droite de régression des concentrations de l'extrait de <i>Jasminum polyanthum</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	65
<b>Figure 43</b> : Droite de régression des concentrations de l'extrait de <i>Jasminum polyanthum</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	66
<b>Figure 44</b> : Droite de régression des concentrations de l'extrait de <i>Jasminum polyanthum</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition.....	66
<b>Figure 45</b> : Droite de régression des concentrations de l'extrait d' <i>Origanum majorana</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	70

<b>Figure 46 :</b> Droite de régression des concentrations de l'extrait d' <i>Origanum majorana</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	70
<b>Figure 47 :</b> Droite de régression des concentrations de l'extrait d' <i>Origanum majorana</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition.....	71
<b>Figure 48 :</b> Droite de régression des concentrations de l'extrait de <i>Nicotiana tabacum</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	74
<b>Figure 49 :</b> Droite de régression des concentrations de l'extrait de <i>Nicotiana tabacum</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	74
<b>Figure 50 :</b> Droite de régression des concentrations de l'extrait de <i>Nicotiana tabacum</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition.....	75
<b>Figure 51 :</b> Droite de régression des concentrations de l'extrait de <i>Salvia officinalis</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	78
<b>Figure 52 :</b> Droite de régression des concentrations de l'extrait de <i>Salvia officinalis</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 48h d'exposition.....	79
<b>Figure 53 :</b> Droite de régression des concentrations de l'extrait de <i>Salvia officinalis</i> en fonction de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> après 72h d'exposition.....	79
<b>Fig 54:</b> Coupe longitudinale des cellules des caeca gastriques d'une larve témoin de <i>Culex pipiens</i> .....	82
<b>Fig 55:</b> Coupe longitudinale des cellules de l'intestin moyen D'une larve témoin de <i>Culex pipiens</i> .....	82
<b>Fig 56:</b> Coupe longitudinale des cellules des caeca gastriques après 2h d'exposition.....	83
<b>Fig 57:</b> Coupe longitudinale des cellules des caeca gastriques après 4h d'exposition.....	83
<b>Fig 58:</b> Coupe longitudinale des cellules des caeca gastriques après 6h d'exposition.....	84
<b>Fig 59:</b> Coupe longitudinale des cellules des caeca gastriques après 12h d'exposition.....	84

<b>Fig 60:</b> Coupe longitudinale des cellules des caeca gastriques après 24h d'exposition.....	85
<b>Fig 61:</b> Coupe longitudinale des cellules de l'intestin moyen de larves de <i>Culex pipiens</i> après 4h d'exposition.....	85
<b>Fig 62:</b> Coupe longitudinale des cellules intestinales de <i>Culex pipiens</i> après 6h d'expositio.....	86
<b>Fig 63:</b> Coupe longitudinale des cellules de l'intestin moyen d'une larve de <i>Culex pipiens</i> après 12h d'exposition.....	86
<b>Fig 64:</b> Coupe longitudinale des cellules de l'intestin moyen d'une larve de <i>Culex pipiens</i> après 24h d'exposition.....	86
<b>Figure 65 :</b> représentation des mensurations moyennes des adultes mâles.....	88
<b>Figure 66 :</b> histogramme représentant les mensurations moyennes des femelles témoins et traitées.....	91

# Remerciements

A l'issue de la rédaction de cette recherche, je suis convaincue que la thèse est loin d'être un travail solitaire. En effet, je n'aurais jamais pu réaliser ce travail sans le soutien d'un grand nombre de personnes dont la générosité, la bonne humeur et l'intérêt manifestés à l'égard de ma recherche m'ont permis de progresser dans cette phase délicate.

Je commence donc par remercier tous ceux que je n'ai pas nominativement cités dans le texte qui suit et qui ont contribué de près ou de loin à ce travail.

Je tiens à remercier ma directrice de thèse professeur *BERCHI Sèlima*, pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.

Nos remerciements s'étendent également aux membres du jury, le président de jury *Mrs BAAZIZ Nacer*, et les examinateurs, docteur *BENKENANA Naima*, docteur *BOUDAH Abdenacer* pour l'intérêt qu'ils ont porté à cette recherche en acceptant d'examiner mon travail et de l'enrichir par leurs remarques et propositions.

Un grand merci à l'ingénieur de laboratoire, Fouad pour son aide, sa disponibilité, et sa sympathie au quotidien.

J'ai une pensée spéciale pour ceux qui m'ont amené à ce monde, ceux qui m'aiment sans conditions, ceux que j'aime sans doute le plus dans ce monde, mes parents. Je vous ai toujours trouvé à mes côtés, quand je tombais je trouvais vos mains pour m'aider à me relever, vous m'avez appris beaucoup de choses, je vous dois ma vie, grâce à vous je suis ce que je suis aujourd'hui et j'espère que vous en êtes fiers.

Mes pensées vont aussi à mes chers frères, *SAMI*, *AMINE* et *MONCEF*, sans oublier ma chère belle-sœur *MERIEM*.

Merci également à ma grand-mère *MAMANOUA*, mes chers oncles et tantes qui m'ont apporté un soutien sans faille depuis le début. Merci pour votre confiance, vos attentions bienveillantes et vos encouragements.

Enfin, je termine en ayant une douce pensée pour mes très chers amis, *Hayet*, *Batoul*, *Fatima*, *Esma*, *Asma*, *Imane*, *Sarrah*, *Amel*, et *Mohamed*.

## INTRODUCTION

Depuis 170 millions d'années, les diptères forment un groupe d'insecte le plus écologiquement diversifié. La famille des culicidés est considérée comme la plus importante, elle comprend environ 3528 espèces de la faune du monde (Poupardin, 2011). Les espèces constituant le même groupe sont regroupées sous le vocable commun : le complexe d'espèces. Dans le groupe des culicidés, on trouve trois complexes ; le complexe *Anopheles gambiae* Giles, 1902, le complexe *Anopheles punctulatus* et le complexe *Culex pipiens* Linnee, 1758. Ce dernier est le plus anciennement étudié (El ouard, 1974). Il comprend deux espèces (Barr, 1982) ; *Culex globocoxitus* Dobrotworsky, 1953 endémique de l'Australie et *Culex pipiens* Linné, 1758 à répartition circummondiale, qui est parmi les espèces les plus abondantes en Algérie (Aissaoui et Boudjelida, 2014) et la seule présente en Afrique du nord.

La place importante qu'occupent les moustiques dans la faune terrestre comme dans la faune aquatique, fait de ces Arthropodes un matériel d'étude important pour les biologistes. Au cours des vingt dernières années, la faune Culicidienne d'Algérie a fait l'objet d'un grand nombre de travaux qui s'intéressent plus particulièrement à la systématique, la biochimie et la morphométrie de ces insectes (Bendali et al., 2001; Boudjelida et al., 2005; Tine-Djebbar et Soltani, 2008; Tine- Djebbar, 2009; Messai et al., 2010; Tine-Djebbar et al., 2011). Depuis les travaux de Laveran (1880) in Benkalfate El hassar (1991) à Constantine sur l'hématozoaire du paludisme et de Ross sur l'Anophèle, la présence de Culicidés en Afrique du Nord a longtemps été synonyme d'épidémies graves. Parmi les espèces culicidiennes, *Culex pipiens*, plus précisément la femelle, est connue comme vecteur de plusieurs agents pathogènes responsables de maladies infectieuses parfois mortelles pour l'homme et les animaux (Gad et al., 1995; Turell et al., 1996; Guyatt et al., 1999; Aouinty et al., 2006 ; Kosone et al., 2008).

Citons par exemple le cas du virus West Nile (Krida et al., 1998), le virus de la fièvre de la vallée du Rift (Hoogstraal et al., 1979; Meegan et al., 1980; Moutailler et al., 2008) et des filaires (Harb et al., 1993; Krida et al., 1998; Aubry et Gaüzère, 2013). D'après Hassaine (2002) cette puissance de transmettre les agents pathogènes est due à son adaptation à tous les biotopes.



*Culex pipiens* se trouve sous deux formes : *Culex pipiens pipiens* rural, dont les larves se développent dans les eaux claires et qui attaque surtout les oiseaux et *Culex pipiens molestus*, citadin, attaque les oiseaux et l'homme.

A ce rôle vectoriel des moustiques, s'associe un autre concept plus récent, celui de la nuisance. Cette dernière vient compromettre notre repos et notre bien-être par leur bourdonnement, leurs piqûres irritantes ou par des réactions allergiques.

Face à cette nuisance, l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) préconise certaines stratégies. Celle qui a donné une efficacité considérable consiste à contrôler les populations des vecteurs (larves et adultes). Pour cela, plusieurs méthodes ont été utilisées; passive ou active, biologiques ou chimiques, selon les différents stades de développement de ces insectes (Fontenille *et al.*, 2006). Pour les maladies vectorielles, il n'existe pas de méthodes préventives et curatives.

Dans les années soixante, la lutte était essentiellement basée sur l'élimination mécanique des gîtes larvaires potentiels (Hamon et Mouchet, 1967) et à la protection personnelle, en portant des vêtements amples à manches longues et de couleurs pâles, ainsi que les moustiquaires imprégnées d'insecticides de synthèse et les pulvérisations intra domiciliaires d'insecticides.

En effet, les stratégies de lutte se sont appuyées dans les premiers temps sur l'utilisation d'insecticides chimiques comme par exemple; le DDT (Dichloro-Diphenyle-trichloethane), la deltaméthrine, le malathion, les pyrethroides et les organophosphorés. Bien que cela se révèle très efficace sur les moustiques culicidés, il présente plusieurs inconvénients. En effet, en plus de l'effet néfaste de ces produits sur la vie aquatique, ils sont à l'origine de divers problèmes environnementaux (Aouinty *et al.*, 2006). À tous ces inconvénients s'ajoute le grand problème de la résistance, les insectes traités développent une résistance aux insecticides chimiques (Georghiou *et al.*, 1975; Sinegre *et al.*, 1976; Weill *et al.*, 2003).

Cet état de fait vis-à-vis de ces produits toxiques, a généré l'intérêt pour développer d'autres moyens de lutte (Georghiou & Lagunes-Tejeda, 1991).

Ces derniers peuvent être définies comme l'ensemble des moyens propres à freiner le développement des Culicidés, ils sont décrits sous plusieurs formes (Benkalfate-El Hassar, 1991):

-La lutte par utilisation de prédateurs larvaires (poissons et oiseaux).

-Lutte microbiologique : les parasites conventionnels, les virus et les bactéries pathogènes des Culicidés comme *Bacillus thuringiensis*. Depuis 1982, on utilise efficacement cette bactérie qui vit naturellement dans le sol partout dans le monde. Son activité larvicide provient de la structure cristalline (Lacoursiere et Boisvert, 2004).

-Lutte génétique qui utilise des méthodes modifiant artificiellement le potentiel génétique de l'espèce (mâles stériles, translocations).

Par ailleurs, les chercheurs et scientifiques tentent, d'ores et déjà, de trouver des alternatives efficaces et accessibles, à partir de nouvelles molécules, prenant en considération les paramètres biologiques, physiologiques et biochimiques des organismes vivants. Ces molécules sont biodégradables, sans risques (Rageau et Delaveau, 1980), et non toxiques pour les organismes non cibles (Kostyukovsky *et al.*, 2000). Ces molécules sont principalement extraites à partir de plantes sous forme des huiles essentielles ou des extraits aqueux (Guarrera, 1999). Elles contiennent des substances toxiques, pouvant agir comme larvicide, causant une mortalité remarquable des larves en 1 à 12 jours. Ces substances ont également une action juvénile (mimétique de l'hormone juvénile) entraînant une inhibition de la nymphose (Crosby *et al.*, 1966; Aligon *et al.*, 2010; Alaoui, 2012). L'utilisation des plantes pour leur effet insecticide est connue depuis longtemps, cet effet a été évalué par nombreux chercheurs. C'est notamment le cas de Koua (1994) qui a montré l'activité larvicide de *Persea americana* contre *Anopheles gambiae*. Récemment, l'aulne s'est révélée être douée de propriétés toxiques vis-à-vis les larves du moustique *Culex pipiens*, *Aedes aegypti* (David *et al.*, 2000). Une autre plante (le neem) ayant un effet insecticide a été utilisée sur les larves de *Culex quinquefasciatus* (Seye *et al.*, 2006). Dans des travaux encore plus récents, les propriétés insecticides de certaines plantes ont été testées sur les larves d'insectes. Nous citons par exemple les travaux de Kaushik et Saini (2008) qui ont testé l'activité larvicide de *Millingtonia hortensis* sur les larves d'*Anopheles*, et les travaux de Cheng *et al.* (2009) dans lesquels la toxicité de l'huile essentielle de *Cinnamomum osmopholeum* a été évaluée sur des larves de moustiques.

L'activité larvicide des extraits de deux plantes (*Lantana camara* et *Catharanthus roseus*) sur le vecteur *Aedes aegypti* a aussi été confirmée dans les travaux de Remia et Logaswamy (2010).

Par ailleurs, la protection des cultures contre les ravageurs par des extraits végétaux a été étudiée aussi sur *Lymantria dispar* par l'utilisation du laurier rose comme insecticide (Kerris *et al.*, 2009).

Au vu des travaux réalisés de par le monde sur l'effet insecticide de plantes, nous proposons d'apporter notre contribution dans la recherche de substances naturelles à pouvoir larvicide contre les moustiques, particulièrement *Culex pipiens* L. La présente étude est une succession aux travaux relatifs à l'utilisation d'insecticides extraits d'autres plantes aromatiques sur les larves de l'espèce *Culex pipiens*.

Cette étude comporte quatre chapitres d'égales importances, le premier chapitre est une introduction dans laquelle nous donnons un aperçu général sur les Culicidés, leurs nuisances, leur rôle vectoriel et les méthodes de lutte utilisées.

Le deuxième chapitre est réservé au matériel et méthodes sur les différentes étapes expérimentales.

Ce chapitre traite de l'élevage de *Culex pipiens*, de la préparation des extraits aqueux des différentes plantes à tester, de tests de toxicité, sur les coupes histologiques de l'intestin des larves traitées et témoins et sur la biométrie des larves après traitement.

Dans ce chapitre 2, les résultats sont soumis à des analyses statistiques en l'occurrence de les mieux comprendre et modéliser.

Le troisième chapitre est consacré aux résultats obtenus de ces expérimentations, soumis à des analyses statistiques pour essayer de répondre aux objectifs fixés au préalable.

Dans le dernier chapitre, une discussion est rédigée en référence à des travaux réalisés par d'autres auteurs. Le travail se termine par une conclusion et des perspectives.

# CHAPITRE 1. DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES

## 1.1. Présentation du moustique *Culex pipiens* Linnée, 1758

### 1.1.1. Position systématique et la notion de complexe *Culex pipiens*

Le moustique commun paléarctique, défini sous le nom de moustique rural *Culex pipiens*, est un antennate appartenant à la classe des Insectes de l'embranchement des arthropodes. Il possède trois paires d'appendices locomoteurs. Il appartient à l'ordre des diptères (holométaboles) caractérisés par une seule paire d'ailes (mésothoracique) bien développées (Aouati, 2016). Au sous ordre des nématocères : la famille des Culicidés et la sous famille des Culicines (Resseguier, 2011). Les larves de quatrième stade et les adultes fournissent le maximum de caractères systématiques (Rioux, 1958). Ce moustique est situé dans ce qu'on appelle le complexe du *pipiens* grâce à certain nombre de caractéristiques biologiques tels que : l'absence de pouvoir autogène, une ornithophilie essentielle et l'existence d'une longue diapause ovarienne accompagnée par un développement externe du corps gras (Roubaud, 1957).

En 1937 Marshall et Staley ont déclaré que l'ancien *Culex pipiens* L. doit être représenté par deux espèces ou biotypes, comme les a définies Roubaud (1929). Une espèce de *Culex* autogène, homodyname et sténogame. La deuxième est *Culex* dit anautogène, ayant besoin d'un repas sanguin pour la maturité des œufs.

En 1951, il a été conclu que le complexe *Culex pipiens* aurait mieux été traité comme une seule espèce polytypique. Depuis, des observations sur les aspects biologiques et morphologiques ont consolidé cette conclusion (Mattingly, 1967). Dans ce complexe, on peut distinguer plusieurs nominations : *Culex quinquefasciatus* Say, 1823, *Culex molestus* Forskal et *Culex pipiens* Linnée, 1758. Avec ces nominations, on a avancé d'un pas vers la taxonomie de ce groupe important (Ralph *et al.*, 1985).

La position systématique, prise en considération actuellement, est celle émise par Linnée qui classe *Culex* comme suit:

## Classification de *Culex pipiens*

Règne : Animalia

Sous-règne : Metazoa

Embranchement : Arthropoda

Sous-embranchement : Hexapoda

Super-classe : Protostomia

Classe : Insecta

Sous-classe : Pterygota

Infra-classe : Neoptera

Super-ordre : Endopterygota

Ordre : Diptera

Sous-ordre : Nematocera

Infra-ordre : Culicomorpha

Famille : Culicidae (Meigen, 1818)

Sous famille : Culicinae

Genre : *Culex* (Linné ,1758)

Espèces : *Culex pipiens* (Linné, 1758)

### **1.1.2. Bio écologie et cycle de développement de *Culex pipiens***

Le mâle se nourrit exclusivement de suc et de nectar, extrait de plantes, et meurt après la copulation.

La femelle peut vivre de 3 semaines à 3 mois selon la température et la qualité du gîte. Elle se nourrit du suc des plantes et est en plus hématophage, ce qui est indispensable à la formation des œufs. Les adultes s'éloignent peu des gîtes larvaires après l'éclosion (Resseguier, 2011).

L'accouplement se produit dans les 48 heures suivant l'émergence des femelles et avant le premier repas sanguin.

Les mâles de certaines espèces, dites sténogames, recherchent les femelles fixées sur un support (*Culex pipiens* autogène), d'autres sont eurygames et s'accouplent au vol (anautogène) (Moulinier, 2003). Le moustique est un insecte plus monogame que polygame, il agit par deux mécanismes pour empêcher l'insémination multiple.

Le premier est la formation d'un amas nucoïde (un plug) secrété par le mâle. Dans le cas de double insémination par un deuxième mâle, l'efficacité de ce plug serait incomplète.

Le deuxième mécanisme, plus efficace, est représenté par la glande phéromone accessoire (matrone). Ce mécanisme empêche une seconde insémination quelques temps après la copulation chez les *Culex pipiens* (Benkalfate, 1991).

Après l'accouplement, la femelle part à la recherche d'un hôte pour se nourrir de sang nécessaire à la maturation des ovules. Elle est dotée de biocapteurs lui permettant de détecter la température, le CO<sub>2</sub> et certaines odeurs, et ainsi repérer ses proies. Elle semble également, dans certaines circonstances, attirée par la lumière. La ponte a lieu environ 5 jours après le dernier repas. *Culex pipiens pipiens* est de plus une espèce autogène, c'est-à-dire que la femelle est capable de pondre des œufs sans repas sanguin préalable (Benkalfate, 1991).

En automne, lorsque les journées commencent à raccourcir et que les températures baissent, les femelles cherchent un gîte de repos et y passent plusieurs mois sans se nourrir : c'est la diapause. Elles sont capables de survivre grâce aux réserves lipidiques accumulées à partir des sucres végétaux. Elles sortiront pour déposer leurs pontes dans les gîtes dès les premières chaleurs du printemps (Metge, 1986).

Après quelques jours ou quelques heures, suivant la température de l'eau, les œufs pondus éclosent et libèrent le premier stade larvaire. Les larves de moustiques aquatiques se trouvent au repos à la surface de l'eau.

La larve respire l'air atmosphérique à travers des spiracles qui s'ouvrent à l'extrémité du siphon respiratoire (Carnevale *et al.*, 2009). Elle utilise également l'oxygène dissous dans l'eau grâce aux branchies qui terminent l'abdomen. Au cours de sa vie, la larve passe par trois mues et représente donc quatre stades larvaires.

Au niveau de la biologie larvaire, trois éléments fondamentaux sont à retenir :

- La durée de vie larvaire est variable selon les espèces et les conditions de température.

-Les larves (et les nymphes) vivent dans l'eau mais ont une respiration aérienne. Une particularité biologique utilisée dans la stratégie de lutte anti larvaire qui vise à empêcher les larves et les nymphes d'atteindre la surface et de respirer, ce qui entraîne alors leur asphyxie (Carnevale *et al.*, 2009).

-Les eaux polluées ne sont pas un obstacle au développement des larves. Il semble même, d'après une observation récente, qu'il existe une corrélation positive entre le taux de pollution et l'agressivité de *Culex pipiens* (Coutin, 1988).

Les larves du moustique sont très mobiles, lorsqu'elles se sentent menacées ou pour la recherche de la nourriture, elles plongent en profondeur. Elles sont détritiphages et se nourrissent près de la surface de l'eau (MouchetetCarnevale, 1991). Leur nourriture est constituée dans la nature de débris organiques et de microorganismes contenus dans l'eau (Bregueset *al.*, 1979).

La vie larvaire dure de 8 à 12 jours, lorsque les conditions de température sont favorables, les larves subissent quatre mues en passant de 2 à 12mm de long. Ces dernières sont sous la dépendance d'un contrôle neuroendocrinien permanent dont deux principales hormones de croissance interviennent au cours du développement larvaire, l'hormone de mue ou ecdysone et l'hormone juvénile (Fournet, 1988).

A chaque mue, une exuvie du stade précédent (tégument externe) est abandonnée dans l'eau, à la dernière mue, la larve du 4<sup>ème</sup> stade se transforme en nymphe.

Contrairement à la larve, la nymphe ne s'alimente pas toute la durée de ce stade (2 à 5 jours). Elle respire l'air atmosphérique à travers ses deux trompes respiratoires. La nymphe présente une transition au métabolisme extrêmement actif. Au cours de ce stade, le moustique subit de très profondes transformations morphologiques et physiologiques pour passer de la forme aquatique à la forme adulte aérienne.

L'adulte dégage successivement son thorax, sa tête, ses pattes et son abdomen par une ouverture longitudinale sur le dos de la nymphe à la fin du stade nymphale. Ce phénomène de l'émergence dure environ 15mn (Rodhain et Perez, 1985).

Le moustique couvre les régions tempérées; la densité atteint son maximum au mois d'août, là où la production est favorable surtout quand l'été est pluvieux et frais (Tardif *et al.*, 2003);

la femelle pond dans des milieux, obligatoirement, contenant de l'eau qui est nécessaire pour la vie des larves.

Ces milieux peuvent être naturels comme les marécages (Self *et al.*, 1973), les barrages et les fossés (fig.1) ou même artificiels présentés par les pneus, les jardins, les barboteuses et les objets qui servent de récipients (fig.2), ces milieux sont dits gîtes larvaires (Tardif *et al.*, 2003; Ouedraougou *et al.*, 2005); ces derniers colonisés par les larves de *Culex pipiens* sont urbains ou périurbain, exactement là où il y'a des eaux stagnantes riches en matière organique, selon ces deux biotopes, cette espèce est subdivisée en deux biotypes : le premier urbain autogène (*Culex pipiens autogenicus*), l'autre hiberne à l'état adulte et occupe les biotopes périurbains ou ruraux (Singer *et al.*, 1976).



**Figure 1. Gîte larvaire naturel (photo originale)**



**Figure 2. Gîte larvaire artificiel (Bouattour, 2013)**



Ce genre d'insecte préfère la chaleur, sans qu'elle soit très élevée; on a distingué que les œufs ne donnent pas de larves au temps glaciaire (Gashen, 1932 in Roman, 1960), mais aussi n'éclosent pas lorsque la température monte à plus de 30° (Roman, 1960).

Le genre *Culex* est largement répandu sur le continent africain (Larivière et Abonnenc, 1953). On peut le trouver également dans le centre, l'est et le nord de l'Europe (Thomas *et al.*, 2014), en Asie non tropicale et en régions tempérées de l'Amérique du Nord et du Sud (Harbach *et al.*, 1985; Vinogradova, 2000; Vinogradova, 2003), au Japon, en Corée du Sud et en Australie (Vinogradova, 2000).

En Algérie, l'espèce *Culex pipiens* a été répertoriée dans plusieurs régions, citons : Tlemcen (Benkalfate-El Hassar, 1991), Constantine (Berchi, 2000), Annaba (Bendali *et al.*, 2001), Tizi ouzou (Lounaci *et al.*, 2010), Tebessa (Bouabida *et al.*, 2012) et Mila (Messai *et al.*, 2010).

#### **1.1.2.1. Facteurs de développement**

Différents facteurs influent sur le degré d'humidité, et jouent ainsi un rôle dans le développement des *Culex*. On trouve :

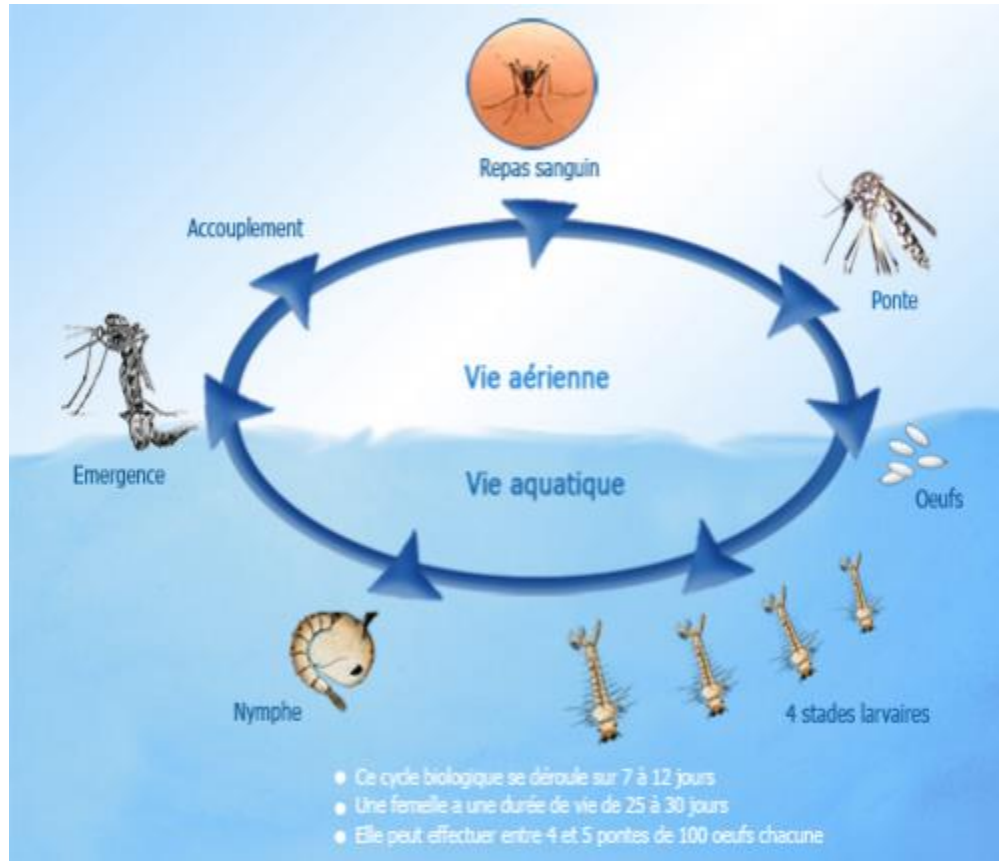
- Les facteurs naturels : la fréquence des précipitations ainsi que leur quantité, des orages dont les dégâts peuvent causer des crues, la résurgence des nappes phréatiques. Ce type de facteurs dépend essentiellement de la région et il est difficile pour l'homme de les contrôler (Ripert, 2007 ; Subra et Hebrard, 1975).
- Les facteurs artificiels : les systèmes d'irrigation par gravité tels que les rivières, les zones d'élevage piscicoles et d'aquaculture, les stations d'épuration, les barrages et les lacs artificiels. Ces facteurs sont plus facilement contrôlables car créés par l'homme (Ripert, 2007 ; Subra et Hebrard, 1975).

Pour ce qui est du rôle de la température, de fortes chaleurs, notamment au début de l'été favorisent le développement de *Culex pipiens* (Resseguier, 2011).

#### **1.1.2.2. Cycle de développement de *Culex pipiens***

Les moustiques passent dans leur cycle de vie, qui dure environ douze à vingt jours (Carnevale *et al.*, 2009), par plusieurs stades de développement, en deux phases (Yeed *et al.*, 2004).

Les œufs, les larves et les nymphes sont aquatiques alors que, le stade adulte a une vie aérienne (Fig. 3).



**Figure 3. Cycle de développement de *Culex pipiens* (Alaoui, 2009)**

### 1.1.2.3. Morphologie des différents stades

#### 1.1.2.3.1. Les Œufs

Quelques jours après la fécondation, suivant les espèces, les œufs sont pondus par la femelle dans différents milieux. La ponte est perpendiculairement à la surface de l'eau, en nacelle (amas groupés) (Benkalfate, 1991), et souvent de l'ordre de 100 à 400 œufs et le stade ovulaire dure deux à trois jours dans les conditions de: température du milieu, pH de l'eau, nature et abondance de la végétation aquatique de même que la faune associée .

La taille d'un œuf est d'environ 0,5 mm, blanchâtres au moment de la ponte, les œufs s'assombrissent dans les heures qui suivent (Roth, 1980 ; Resseguier, 2011) (fig. 4).



**Figure 4. Nacelle d'œufs de *Culex pipiens* (Berchi, 2000)**

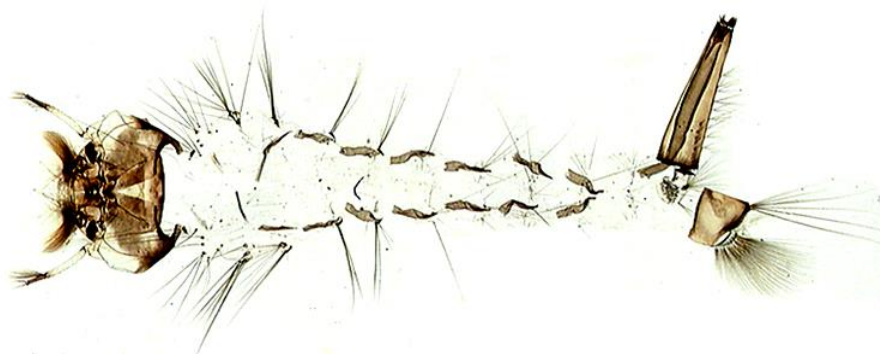
### **1.1.2.3.2. La larve**

Elle est disposée obliquement par rapport à la surface de l'eau et se déplace par mouvements saccadés (Balenghien, 2006). Son régime saprophyte est constitué de plancton et de particules organiques ingérés grâce à ses pièces buccales de type broyeur. Elle respire par un siphon. La larve évolue ainsi selon quatre stades pendant 8 à 12 jours, avant d'atteindre le stade nymphal.

Les larves des moustiques sont abondantes en été, dans les ruisseaux au cours très lent, dans l'eau des fossés, dans les mares.

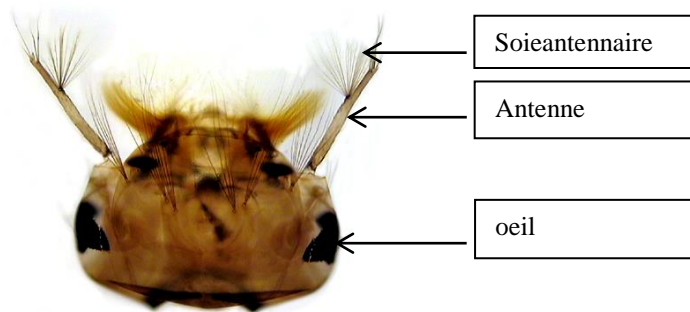
On les reconnaît à l'œil nu ; elles sont vermiformes et se déplacent dans l'eau par des mouvements saccadés dus à de brusques contractions de leur corps. Ces larves mangent sans arrêt des algues et des organiques microscopiques.

Au microscope on distingue nettement une tête, un thorax et un abdomen (Resseguier, 2011) (fig. 5).



**Figure 5. Morphologie générale d'une larve du IVe stade de *Culex pipiens* (Schaffner *et al.*, 2001)**

**La tête** est pourvue d'une paire des mandibules à pointes aiguës continuellement en activité et d'organes sensoriels : antennes, soies, palpes (fig. 5a).



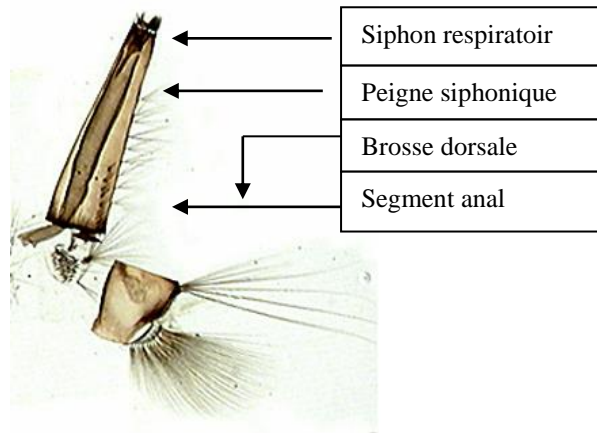
**Figure 5a. Aspect morphologique de la tête d'une larve de *Culex pipiens* (Berchi, 2000)**

**Le thorax** de forme trapue, est dépourvu d'appendices, il est formé de 3 segments (Robert, 1989) qui sont: le prothorax, le mésothorax et le métathorax.

**L'abdomen** plus souple que le thorax, porte sur le 8<sup>ème</sup> segment un siphon respiratoire, tube renfermant deux trachées et se terminant par une cupule non mouillable (fig. 5b). Lorsque la larve va respirer, elle remonte vers la surface et, la tête en bas, fait affleurer son siphon. Elle replonge ensuite après avoir fermé l'extrémité du siphon qui possède cinq valves.

L'abdomen se termine par des lames aplaties où se ramifient des vaisseaux sanguins et des trachées ; ces organes jouent le rôle des branchies et permettent une respiration aquatique partielle. Une touffe de longues soies forme un appareil natatoire.

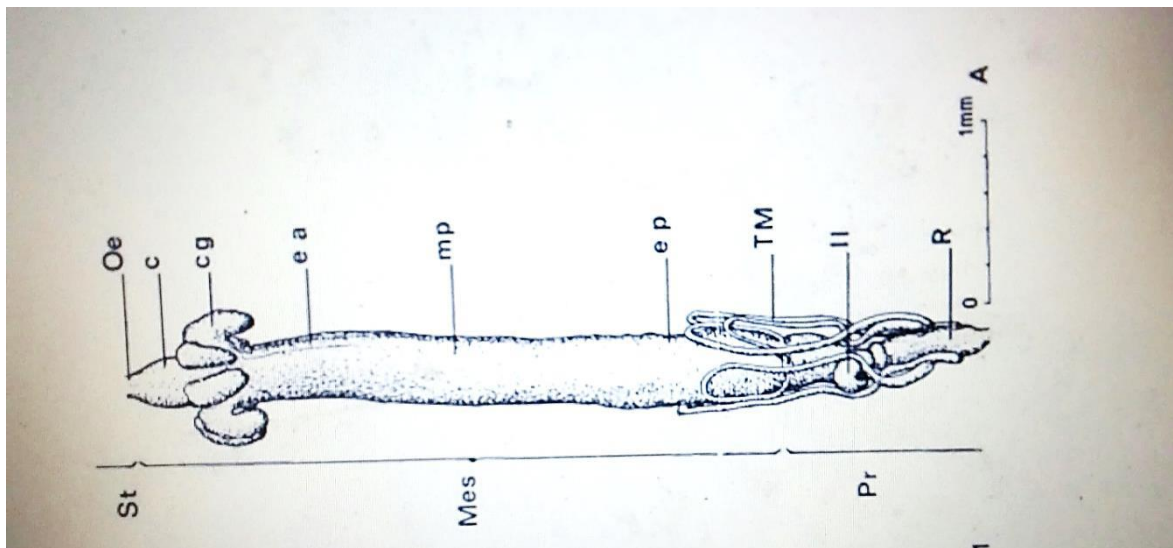
Donc, les larves respirent l'air atmosphérique et utilisent également l'oxygène dissous dans l'eau grâce aux branchies qui terminent l'abdomen. Au cours de leur vie, ces larves passent par trois mues et représentent donc quatre stades larvaires.



**Figure 5b. Aspect morphologique du siphon respiratoire (Berchi, 2000).**

### **Le canal alimentaire**

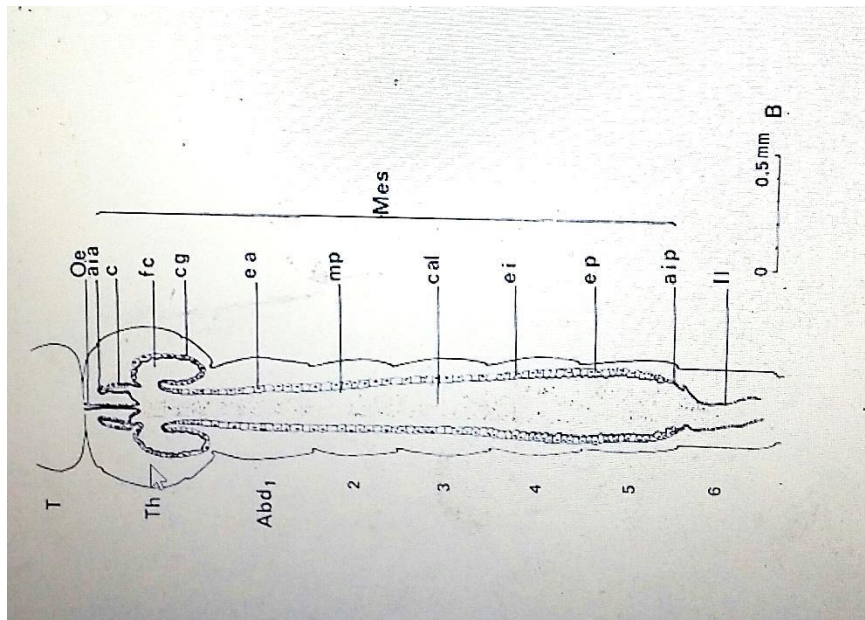
Le tube digestif chez les larves des moustiques est relativement simple et se compose des trois parties habituelles du tractus digestif des arthropodes, un stomodaeum ectodermique, un mésentère endodermique et un proctodaeum ectodermique (Fig.6).



**Figure 6: Tube digestif d'une larve de moustique au dernier stade larvaire (L4); organisation générale (Charle et De Barjac, 1981)**

**c** : cardia, **cg** : caecum gastrique, **e a** : estomac antérieur, **e p** : estomac postérieur, **Il** : Iléon, **Més** : Mésenteron, **mp** : membrane péri trophique, **Oe** : Oesophage, **Pr** : Proctodeum, **R** : Rectum, **St** : Stomodeum, **TM** : Tubes de Malpighi.

La première partie (stomodeum) commence dans la tête avec le pharynx, suivi par un œsophage étroit qui passe par le cou dans le thorax, où il pénètre dans la première partie du mésentéron (Snodgrass, 1959). L'intestin moyen des larves peut être divisé en quatre régions (à savoir le cardia, le caeca gastrique, l'intestin moyen antérieur et postérieur). Dans toutes ces régions, l'épithélium est composé d'une seule couche de cellules digestives constituée de microvillosités apicales, de cytoplasmes avec de nombreuses mitochondries et de noyaux avec des chromosomes polytènes. L'épithélium du mésogastre est bordé d'une matrice pérित्रophique bien développée qui le sépare des aliments ingérés (Clements, 1996; Boudko *et al.*, 2001) (Fig. 7).



**Figure 7. Coupe frontale d'une L4 : situation des différents types cellulaires du mésentéron(Charle et De Barjac, 1981)**

**abd** : segments abdominaux, **aia** : anneau imaginal antérieur, **aip** : anneau imaginal postérieur, **c** : cardia, **cal** : colonne alimentaire, **cg** : caeca gastrique, **ea** : estomac antérieur, **ei** : estomac intermédiaire, **ep** : estomac postérieur, **fc** : fluide colorable, **II** : Iléon, **Més** : Mésentéron, **mp** : membrane péri trophique, **Oe** : Oesophage, **Pr** : Proctodeum, **R** : Rectum, **St** : Stomodeum, **T** : Tête, **Th** : Thorax, **TM** : Tubes de Malpighi.

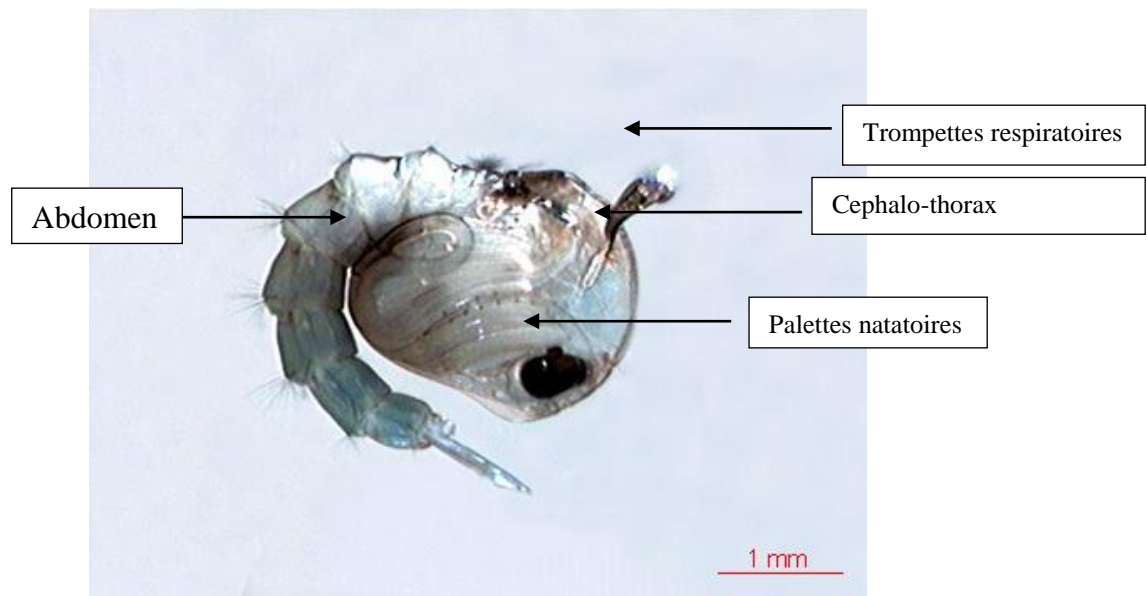
La masse sombre des particules alimentaires dans le ventricule est contenue dans une mince membrane pérित्रophique tubulaire, pour être sécrétée par les parois cellulaires du cardia entourant l'entonnoir stomodaeal. Le proctodaeum, ou intestin, se différencie en une partie antérieure courte, et une partie postérieure plus longue, ou rectum. L'intestin antérieur commence comme une expansion contre la fin du ventricule, puis se rétrécit à un tube qui fait une courbure en forme de S à l'agrandissement antérieur du rectum, qui se déroule finalement comme un tube étroit à l'anus (Snodgrass, 1959).

Pour la fonction digestive initiale des larves immatures de moustiques, la partie antérieure de leur intestin moyen (estomac), dont le pH luminal est de 10,5 à 11, est essentielle pour le métabolisme et la solubilité des protéines car ces derniers ne peuvent être solubles que si le pH est supérieur à 9,5 (Dadd, 1975; Dow, 1984; Zhuang *et al.*, 1999; Boudko *et al.*, 2001).

### 1.1.2.3.3. La nymphe

La nymphe a une forme de point d'interrogation et respire par des trompettes respiratoires situées sur le céphalothorax. Elle n'ingère par contre aucune nourriture.

Elle est extrêmement sensible et plonge dans l'eau au moindre mouvement perçu. *Culex pipiens pipiens* reste sous cette forme pendant 2 à 4 jours. A la fin de cette période, la nymphe donne un adulte mâle ou femelle. Cette étape a généralement lieu le matin (Resseguier, 2011) (fig. 8).



**Figure 8. Morphologie générale d'une nymphe de *Culex pipiens* (Berchi, 2000).**

### 1.1.2.3.4. L'adulte

Le corps du moustique adulte est composé de trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen (fig. 9). Les femelles se distinguent des mâles par des antennes glabres. Les mâles ont des antennes plumeuses, et une morphologie plus effilée (fig. 10).

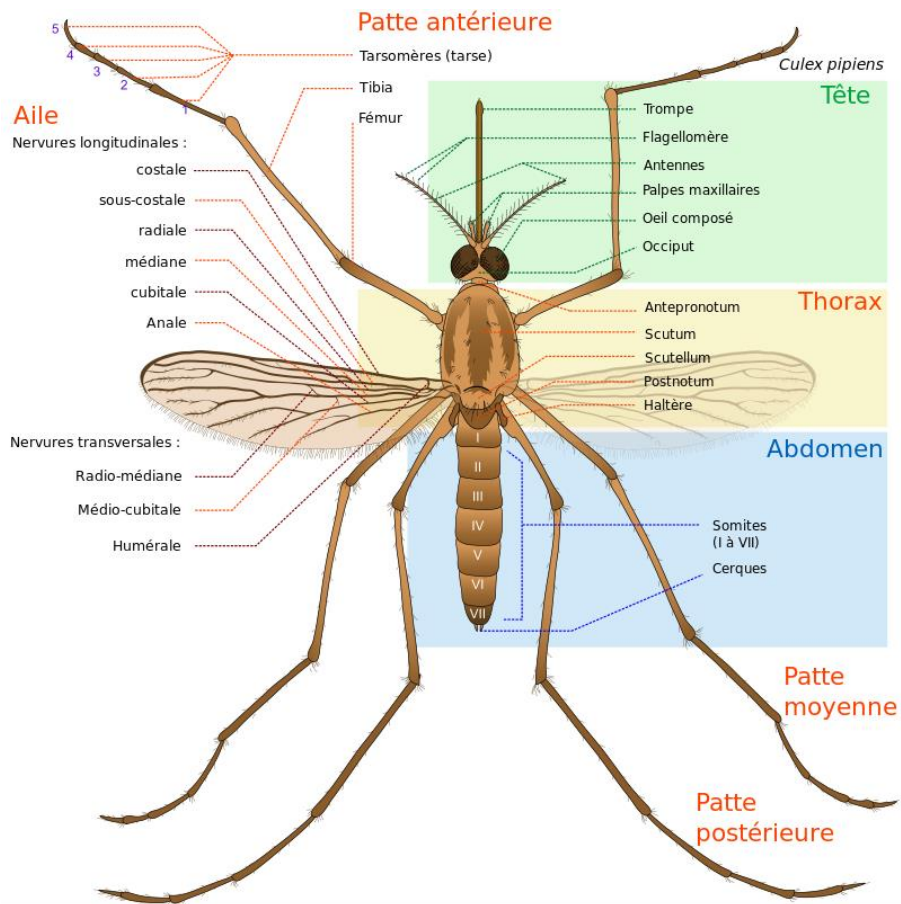


Figure 9. Morphologie générale d'un moustique adulte (Anonyme 2, 2018).

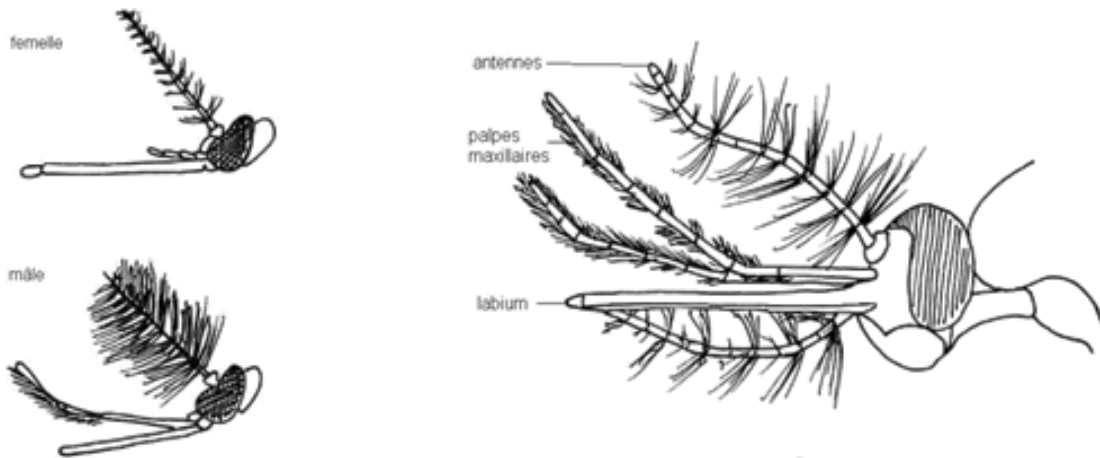


Figure 10. A gauche, tête de *Culex* mâle et femelle, A droite, tête de *Culex* mâle (Toral Y Caro, 2005)



## La tête

Une capsule formée de plusieurs pièces qui comporte les organes (les yeux, les antennes, et les pièces buccales).

Les yeux sont en position latérale, au nombre de deux, composés de nombreuses ommatidies. Les antennes sont composées de 15 articles chez le mâle (antennes plumeuses) et 16 articles chez la femelle (antennes glabres) (Brunhes, 1970).

Les pièces buccales constituent un ensemble appelé trompe ou proboscis, on y distingue deux mandibules, deux maxilles, l'hypopharynx et le labre qui forme un canal dans lequel remonte le sang (Rodhain *et al.*, 1985) (fig. 11).

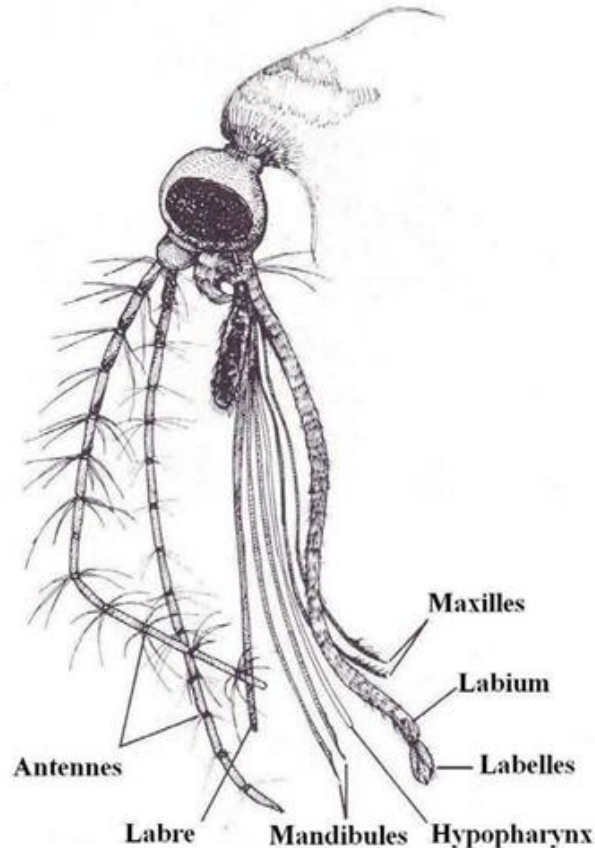


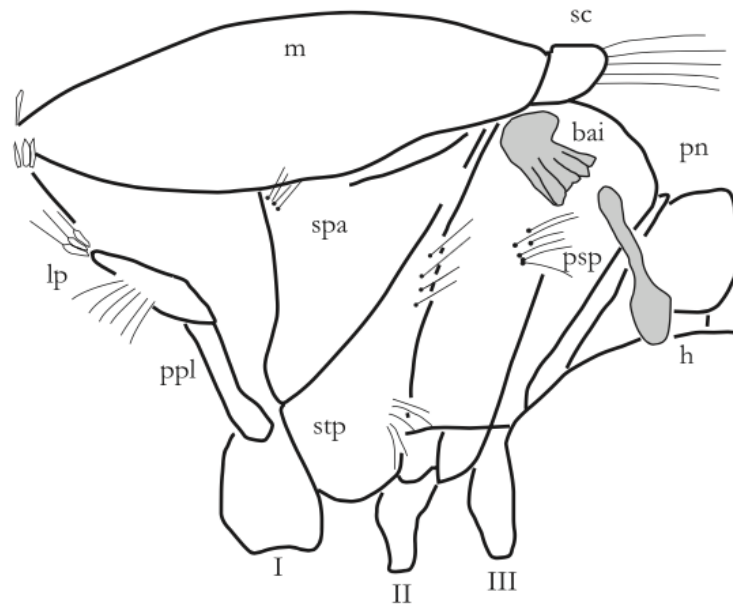
Figure 11. Morphologie schématique de la tête de *Culex pipiens* (Resseguier, 2011)

## Le thorax

Il est formé de trois métamères composés de plaques sclérifiées. Les plaques ventrales sont les sternites, les plaques latérales sont les pleurites et les plaques dorsales sont appelées tergites (Brunhes, 1970).

Le thorax porte Trois paires de pattes, une paire d'ailes et une paire d'haltères ou balanciers remplaçant la deuxième paire d'ailes. Les faces latérales du thorax sont occupées par des écailles et soies qui jouent un rôle important dans l'identification des espèces culicidiennes.

Le thorax se compose de trois parties notamment : le prothorax très réduit, et ne porte qu'une paire de pattes. Le mésothorax c'est le métamère le plus développé des trois, il porte; une paire d'ailes, une paire de pattes, et une paire de stigmates. Le métathorax est également très réduit, et porte; une paire de pattes, une paire d'haltères (homologues d'une paire d'ailes vestigiales) et une paire de stigmates (fig. 12).

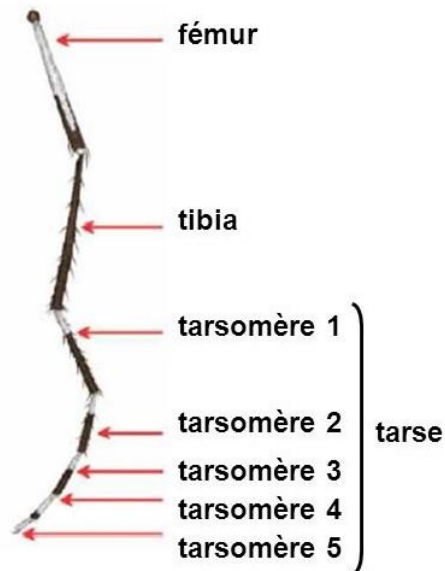


**Figure 12. Morphologie schématique et emplacement des soies du thorax en vue latérale (Gillies et De Meillon, 1968)**

**m** = mésonotum ou scutum ; **sc** = scutellum ; **lp** = lobe pronotal ; **spa** = spiracle antérieur ; **h** = haltères ou balanciers ; **stp** = sternopleure ; **psp** = spiracle postérieur ; **pn** = post-notum ; **ppl** = propleure ; **bai** = base des ailes ; I, II et III = base des pattes.

## Les pattes

Elles sont composées de 9 articles : le coxa, le trochanter, le fémur, le tibia et 5 tarsomères (tarse). Le tarse se termine par une paire de griffes, un empodium médian et une paire de pulvilles (fig. 13).



**Figure 13. Différentes parties d'une patte de *Culex pipiens* (Faye, 2018).**

## Les ailes

Les ailes sont tendues sur une armature de nervures recouvertes d'écailles. La présence ou non de certains caractères sur les nervures fait que celles-ci sont de plus en plus utilisées dans les clés de détermination des espèces (Brunhes, 1970)(fig. 14).

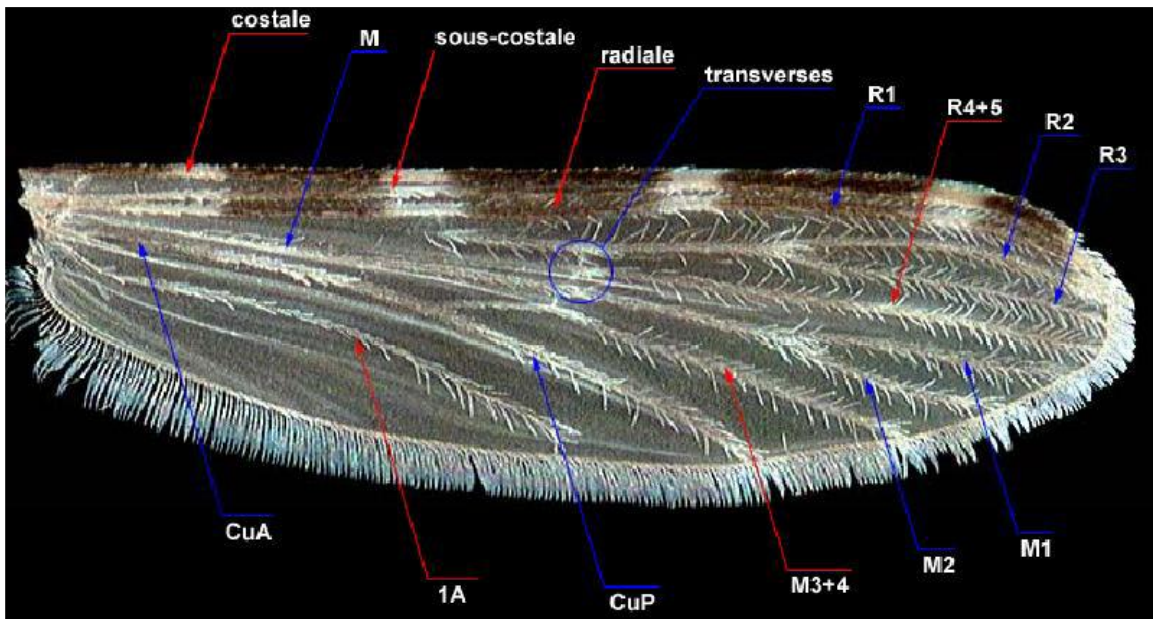


Figure 14. Morphologie des ailes de *Culex pipiens* (Guèye, 2013).

### L'abdomen

Constitué de 10 segments dont les sept premiers sont composés de tergite (plaque dorsale) et de sternite (plaque ventrale). Les trois autres sont peu distincts et portent les appendices génitaux (fig. 15).

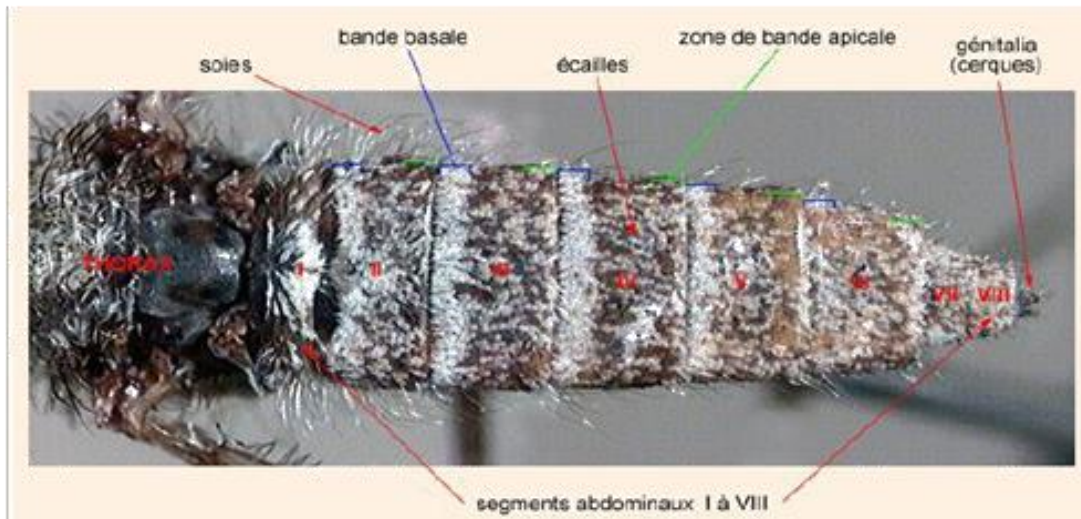


Figure 15. Morphologie de l'abdomen de *Culex pipiens*.

(Schaffner *et al.*, 2001)

## Les génitalia mâles

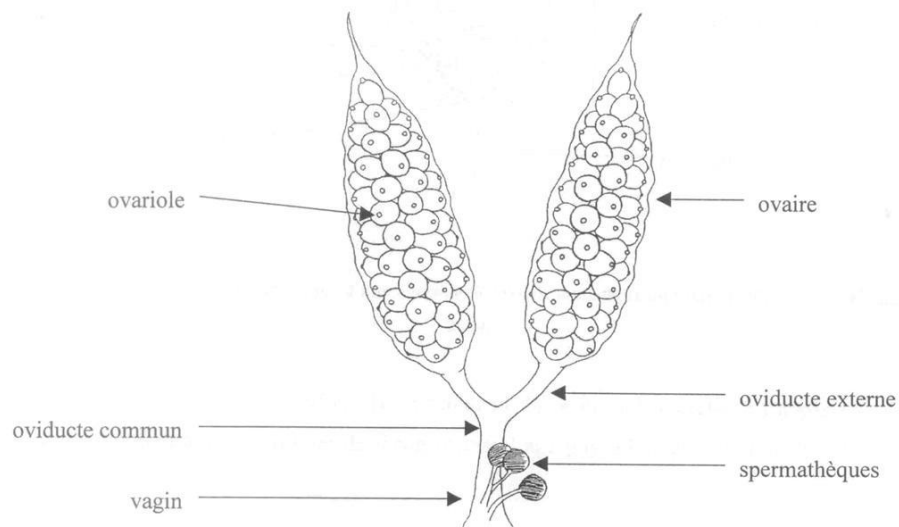
Le neuvième segment abdominal porteur de l'appareil génital mâle s'appelle (segment génital). Cet appareil subit de grandes modifications. Il est composé d'une paire de forcipules entourant le pénis.

Chaque forcipule commence par une pièce basale appelée gonocoxite. Ce dernier porte sur sa partie apicale une plaque munie de nombreuses épines (le lobe apical). Le gonocoxite est suivie par une pièce fine appelée style. Le pénis est en position ventrale par rapport à l'anus avant la rotation des génitalia mâles. Il se retrouve en position dorsale après la rotation.

## Les génitalia femelles

Chez les femelles, le huitième segment est bien développé par rapport au neuvième qui est très réduit. L'orifice vaginal, placé sur le ventre, est limité par deux lèvres qui en obstruent la lumière.

L'étude de l'appareil génitale femelle interne montre qu'il est formé de deux ovaires composés d'ovarioles. Dans chaque ovaire se situe un oviducte interne ou calice. La réunion des deux oviductes externes donne un oviducte commun qui est suivi d'un vagin dans lequel s'ouvrent les deux canaux des spermatheques (Mondet, 1993) (fig. 16).



**Figure 16. Morphologie schématique de l'appareil génital femelle (Eldridge et Edman, 2000).**

#### **1.1.2.4.Cycle gonotrophique des moustiques**

A cause de la nuisance de cette espèce et afin d'y trouver des solutions, il est primordial de connaître sa compétence et sa capacité vectorielle. Le cycle gonotrophique est un paramètre indispensable pour connaître la capacité vectorielle. Il correspond à l'intervalle qui sépare deux repas sanguins consécutifs. Il se divise en trois «phases de Backlemishev ». La première est la recherche de l'hôte pour prendre un repas du sang après la ponte, la deuxième correspond à la maturation vitriolaire et la troisième est la recherche d'un gîte convenable pour effectuer la ponte (Detinova, 1963 in Faraj *et al.*, 2006).

Pour donner une valeur la plus fiable possible, Faraj et ses collaborateurs (2006) ont fait une estimation au laboratoire, de cette durée sur *Culex pipiens*. Le résultat obtenu est compris entre 3 et 14 jours.

D'autres expériences ont donné un résultat proche de celui de ces chercheurs, une durée de 3 à 6 jours dans les conditions naturelles (Lee *et al.*, 1970).

#### **1.2. Aspect nuisance et rôle vectoriel de *Culex pipiens***

Les moustiques en étant des vecteurs d'agents pathogènes source de maladies sérieuses (Aouinty *et al.*, 2006; Kosone *et al.*, 2008), sont une source de nuisance pour l'homme.

En période de reproduction, les femelles, ont besoin de sang pour la maturation des œufs, c'est de cette façon que les agents pathogènes sont transmises (Aouinty *et al.*, 2006).

Parmi les maladies les plus isolées, c'est la fièvre du *Nil occidental*, causée par le virus *VNO* (Virus du Nile Occidental), que *Culex pipiens* et *Culex restuans* sont vecteurs et qui interviennent dans l'amplification du cycle de transmission du virus aux oiseaux (Tardif *et al.*, 2003); en plus du VNO, les moustiques sont responsables d'autres maladies telles que : la *malaria*, *fièvre jaune*, *dengue*, *filariose* (Hamon et Mouchet, 1967) et certains types d'encéphalites (EL Kady *et al.*, 2008).

Comme nous l'avons mentionné, seules les femelles ont besoin de sang pour assurer le développement des œufs. Le mâle quant à lui est adapté uniquement à la consommation du nectar ou de la sève des plantes.

Une femelle peut prendre deux ou trois repas de sang et cette prise peut engendrer une démangeaison locale ou une petite bosse à l'endroit de la piqûre qu'on appelle érythème (Schaffner, 2001; Lacoursiere *et al.*, 2004 ).

Plusieurs facteurs peuvent affecter le rôle vectoriel des moustiques. Parmi ces facteurs, les plus importants sont la longévité et le déplacement d'un insecte hématophage. Pour étudier ces facteurs, les méthodes de marquage par les radio-isotopes ou divers colorants ont été envisagées (Subra, 1972). Les déplacements de *Culex pipiens* en milieu urbain sont peu importants, quelques centaines de mètres et s'effectuent de manière lente. En milieu rural au contraire, ils sont plus importants (quelques kilomètres) et plus rapide qu'en milieu urbain. Dans les deux cas les femelles parcourent des distances plus importantes que les mâles (Subra, 1972).

### **1.3. Moyens de lutte contre les moustiques**

L'homme cherche, depuis longtemps, à lutter contre les moustiques pour s'en débarrasser. Cet insecte, incriminé dans des maladies sérieuses comme le paludisme, est devenu un problème de santé publique.

Face à cette nuisance, l'OMS préconise la mise sur pied de nouvelles stratégies pour combattre ce fléau. La méthode, qui a donné une efficacité considérable, est celle qui consiste à contrôler les populations des vecteurs (larves et adultes). Pour cela, plusieurs méthodes ont été utilisées ; passives ou actives, biologiques ou chimiques selon les différents stades de développement de ces insectes (Fontenille *et al.*, 2006).

#### **Lutte physique**

L'approche initiale consiste à la protection personnelle, en portant des vêtements amples à manches longues et de couleurs pâles. Les moustiquaires imprégnées et les pulvérisations intra domiciliaires d'insecticides de synthèse sont également précinisées.

Dans les années 60, la lutte était essentiellement basée sur l'élimination mécanique des gîtes larvaires potentiels, malgré l'efficacité de ce procédé, il a été dépassé par l'urbanisation (Hamon et Mouchet, 1967; Brown, 1967).

## Lutte chimique

Les produits chimiques jouent dans la lutte contre les vecteurs, un rôle secondaire par rapport aux mesures d'aménagement de l'environnement. On distingue 3 catégories d'insecticides chimiques :

- Les organochlorés (DDT) sont la première génération.
- Une deuxième génération présentée par les organophosphorés (le parathion, le malathion, le diazinon.....).
- Les pyréthrinoides, insecticides de 3<sup>ème</sup> génération (Aligon *et al.*, 2010).

Donc plusieurs produits ont été utilisés comme insecticides, citons comme exemple le Malathion, c'est un insecticide organophosphaté à large spectre, il a été employé pour lutter contre la poussée épidémique du virus du Nil occidental à New York à l'automne 1999 (Hoerner *et al.*, 2017).

Il y a également le méthoprene qui est une molécule de synthèse. Son effet est de limiter l'activité des hormones juvéniles responsables de la régulation de la croissance et la métamorphose des insectes. Ce produit a une efficacité remarquable sur un grand nombre d'insectes, particulièrement contre les moustiques. Cependant plusieurs facteurs peuvent affecter grandement l'efficacité du méthoprene; citons par exemple : le comportement alimentaire des larves, le stade larvaire sur lequel on l'a appliqué, la formulation utilisée ainsi que les facteurs environnementaux.

Les insecticides considérés parmi les premiers produits utilisés dans la lutte anti-vectoriel sont les organochlorés. c'est le cas du DDT (Dichloro-Diphényle-Trichloroéthane) synthétisé la première fois en 1873. Il agit au niveau des cellules nerveuses en perturbant les équilibres cationiques  $K^+/Na^+$ , cela cause des convulsions, des paralysies puis la mort de l'insecte (Boyer, 2006).

Les pyréthroides et les organophosphorés sont également, largement utilisés dans le contrôle des vecteurs d'agents pathogènes, Ces produits chimiques ont sauvé des vies par l'élimination de certains vecteurs, mais la réussite du programme, mis en place afin d'éradiquer les problèmes de nuisance de ces derniers avec ces produits, s'est trouvé face à un problème majeur. En effet,



chez les vecteurs on a vu apparaître une résistance pour toutes les classes d'insecticides utilisés (Al sarar, 2010).

En plus des résistances observées chez les insectes cibles, d'autres problèmes sont liés à l'utilisation des produits chimiques de synthèse, dont le coût est extrêmement élevé dans les pays en voie de développement. Ils peuvent par ailleurs engendrer divers problèmes environnementaux (Aouinty *et al.*, 2006). Les pays en voie de développement déplorent la majorité des intoxications provoquées par ces insecticides (Koua *et al.*, 1998).

Les effets négatifs des produits chimiques ont même touché les écosystèmes agricoles. A cause de l'usage continu, sans limites, de pesticides à base de chlore, précisément le DDT (Morner *et al.*, 2002).

Le constat d'échec vis-à-vis de ces produits a permis à la recherche agrochimique et sanitaire de s'orienter vers l'utilisation d'outils de remplacement tels des molécules naturelles biodégradables (Rageau *et al.*, 1980). Cette orientation a mené vers une nouvelle méthode pour contrôler les insectes nuisibles, une méthode moins chère et plus efficace, qui est la lutte biologique.

### **Lutte biologique**

Un ennemi biologique, largement utilisé dans ce qu'on appelle la lutte bactérienne, a montré une efficacité contre les moustiques vecteurs, c'est le *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti). Ce dernier a monopolisé 95% du marché mondiale des agents microbiens pour la lutte contre les insectes dans les années 2000 (Kowang-Bo *et al.*, 2000). Depuis 1982 on utilise efficacement cette bactérie qui vit naturellement dans le sol, partout dans le monde.

Son activité larvicide provient de la structure cristalline (Lacoursiere et Boisvert, 2004) et exclusivement toxique par ingestion donc, c'est un poison stomacal. Par ailleurs, il s'est avéré très efficace vis-à-vis les larves des moustiques et des simulies.

L'avantage de cette bactérie est son innocuité envers la faune non ciblée et les mammifères (Debarjac *et al.*, 1980; Shaddock, 1980 in Magni et Coz, 1985); c'est surtout le sérotype H14 du Bti variété israelensis qui a une situation privilégiée parmi les autres sérotypes (Larget et Debarjac, 1981).

Son efficacité diffère selon le stade larvaire, par exemple, les travaux de Magni et Coz réalisés en 1985 ont montré que la DL<sub>50</sub> des L<sub>4</sub> jeunes ou L<sub>3</sub> âgées est plus élevée que les larves plus jeunes. Pour la plupart des autres variétés du Bti, elles sont connues comme des pathogènes aux lépidoptères (Larget et Debarjac, 1981) sauf le *Bacillus sphaericus* qui a une notable activité sur les moustiques (Dagnago et Coz, 1980).

D'autres études ont fait une comparaison entre deux différentes formes de la bactérie. Il s'agit d'une poudre primaire préparée par *stauffer chemicals* et une culture de la même souche réalisée à l'institut Pasteur de Paris; il en a résulté que la poudre a été abandonnée à cause de ses effets faibles contrairement à la culture de Pasteur qui a donné une mortalité considérable (Dagnago et Coz, 1980).

À côté de la lutte bactérienne, nous avons les extraits de plantes, que ce soit la poudre obtenue par le broyage des feuilles séchées ou les huiles essentielles. Certaines plantes contiennent des substances insecticides hormonomimétiques qui peuvent agir de manière efficace pour lutter contre les moustiques.

D'après Rageau et Delaveau (1980) les plantes peuvent agir de deux manières :

- La première, larvicide, cause une mortalité appréciable des larves en 1 à 12 jours.
- Une action juvénile mimétique de l'hormone juvénile, avec allongement de la durée de la vie larvaire qui cause une inhibition de la nymphose; en outre, l'apparition des nymphes anormales et une mortalité au moment de la nymphose et l'imaginose.

Une expérience faite par Koua *et al* (1998), sur des larves d'*Anopheles gambiae* soumises à un traitement d'extraits aqueux de *persea americana* présentent d'importantes lésions au niveau de leur intestin moyen.

Les feuilles de cette plante, originaire de l'Amérique tropicale, agissent sur les cellules gastriques. Cela est traduit par une hypertrophie cellulaire après une heure d'exposition à l'extrait. Après deux heures de traitement, les formes cellulaires ne sont presque plus perceptibles. Parmi d'autres plantes qui servent d'insecticides, nous avons le ricin (*Ricinus communis*) L et le Thuya (*Tetrachinis articulata*). Ces deux plantes présentent une certaine toxicité sur les larves des moustiques, et sont utilisées comme biocide naturel dans le cadre de lutte anti-vectoriel (Aouinty *et al.*, 2006).

Une étude préliminaire réalisée par AL Khazraji et Mustafa (2008), a montré l'effet insecticide de 3 plantes particulièrement sur les stades larvaires. Il s'agit du margousier (*Azadirachta excelsa*) (Jack), du cléome épineux (*Cleome glaucescens*) et du chêne à galles (*Quercus infectoria*), ces espèces causent 100% de mortalité des larves avec une concentration de 200µg/ml après 3jours de traitement.

Une autre étude menée par Kaushik et Saini (2008) et consolidée par d'autres chercheurs a montré une activité larvicide des feuilles de Chêne-liège Indien (*Millingtonia hortensis*). Cette plante agirait de façon rapide sur les larves des moustiques. Cela est interprété par des changements dans le comportement général des larves. Ces dernières deviennent inactives après juste quelques heures de traitement. Ce qui fait de cette plante un insecticide biologique, naturel et prometteur.

En l'Algérie, des tests ont été réalisés sur des larves et des nymphes de *Culex pipiens* avec des extraits de neem (*Azadirachta indica*) Juss, 1980 dans les conditions de laboratoire. Il a été observé un taux de mortalité considérable avec une DL<sub>50</sub> sur les larves de 0,35 mg/l et de 0,42 mg/l sur les nymphes. Ces tests ont également provoqué une diminution remarquable de la fécondité des adultes et par conséquent une augmentation de la stérilité. Les effets de cette plante sur *Culex pipiens* ouvre des perspectives intéressantes comme bioinsecticide (Alouani *et al.*, 2009). Un autre exemple est donné par la toxicité de deux plantes *Lantana camara* et *Catharantus roseus*, les résultats révèlent des changements de comportement des larves (Remia et Logaswamy, 2010). Le premier changement observé après 30mn d'exposition, est l'incapacité des larves à monter à la surface et un déséquilibre conduisant à la mort.

Ces effets sont probablement dues à la présence des substances neurotoxiques dans les composants des deux plantes.

Rahuman *et al.* (2009) ont étudié 6 plantes pour examiner leur activité larvicide sur les moustiques vecteurs, ces plantes sont *Calotropis procera* (Ait), *Canna indica* L, *Hibiscus rosa-sinensis* Linn, *Ipomoea carnea* Jack., *Fistulosa choisy* et *Sarcostemma bervistigma* Wight. Ces auteurs ont réalisé des tests en utilisant l'acétone, le chloroforme, l'eau chaude, le méthanol, le pétrole et l'éther. Les six plantes ont montré une certaine efficacité mais en comparant les solutions selon le solvant, le pétrole et l'éther s'avèrent plus puissants que les autres produits.

## 2. Présentation des plantes

Nous avons choisis pour notre recherche 8 plantes différentes à savoir l'eucalyptus, le basilic, le myrte, la sauge, le laurier rose, la marjolaine, le tabac et le jasmin ont été collectées aux alentours de la région de Constantine (Chelghoum L'Aid, Tajanet, Oued athmania et Ain smara). Notre choix a été basé sur une recherche bibliographique sur la toxicité de ces plantes sur les insectes.

### 2. 1. *Eucalyptus globulus* Labill 1800 (kalytous)

L'eucalyptus (du grec eu : bien et caluptos : couvert) est un arbre de la famille des mirtaceae originaire de l'Australie et introduit par les français en Algérie depuis 1863, avec l'*E. camaldulensis* Dehn. Comme espèce pionnière. Mais, la plantation massive de ces arbres a eu lieu, entre 1865 et 1963 (Faudil-Cherif, 1991).

Au début, les eucalyptus ont été plantés à titre exceptionnel pour l'assèchement des marais (Abdel in Mehani, 2006). L'espèce *Eucalyptus globulus* Labill. (du nom de Labillardière le voyageur français qui le découvrit en 1800 lors d'un voyage en Australie) fait partie des espèces les plus répandues dans la région méditerranéenne, grâce à sa facilité d'adaptation (Boudy, 1952).

En Algérie, le reboisement à base d'eucalyptus a commencé Vers les années 1960 et 1970 à l'est (El-Kala, Annaba, Skikda) au centre (Tizi-ouzou et Bai nem) et à l'ouest (Mostaganem) avec environ 130 espèces (Meziane, 1996 in Mehani, 2006).

L'eucalyptus est un arbre qui peut pousser jusqu'à 30 mètres. Il possède un tronc droit, grisâtre, avec des rameaux dressés (Metro, 1955). Les feuilles, bleutées, ont une curieuse caractéristique: sur les jeunes arbres, elles sont en effet opposées, sessiles, ovales et glauques. Quand l'arbre grandit, elles deviennent alternes, pétiolées, très allongées, parfois un peu courbées et d'un vert luisant. Les fleurs sont très variées. Elles ont de très nombreuses étamines qui peuvent être de couleur blanche, crème, jaune, rose ou rouge (Kesbi, 2011).

L'eucalyptus renferme plusieurs substances actives ayant des propriétés expectorantes et fluidifiantes du mucus, mais aussi des propriétés antimicrobiennes, antifongiques et antivirales (Benazzeddine, 2010 in Aouati, 2016).



**Figure 19. Aspect morphologique d'*Eucalyptus globulus* Labill, 1800.**

## **2. 2. Le tabac (tabgh, *Nicotiana tabacum* L. 1753)**

Le tabac représente, en Algérie, une production végétale qui souffre de nombreux problèmes comme la faible productivité. Il existe plusieurs types locaux dont certains sont cultivés, malgré les faibles rendements (Berrekia et Aissa, 1989).

*Nicotiana tabacum* fait partie de la famille des solanacées, c'est une plante annuelle herbacée atteignant de 1,50 à 2 m de haut. Ses feuilles entières peuvent mesurer 80 cm de long sur 40 cm de large. Les fleurs sont vert-jaunâtre, blanches ou rosées selon la variété, avec un calice réduit de 1 à 2 cm et une corolle pubescente, à cinq lobes ovales, atteignant 5 cm de long. C'est l'extrémité de la corolle qui est coloré, le tube restant toujours verdâtre (Fig. 20).

Depuis plus de 2000 ans, les amérindiens utilisent le tabac dans les rituels religieux ou pour ses vertus médicinales, il a été utilisé pour la guérison de diverses affections, comme par exemple : les maux d'oreilles, les morsures de serpents, les coupures, les brûlures et la prévention des éclairs et des orages (Djebbar, 2008).

La plante contient un alcaloïde très toxique : la nicotine (dose mortelle entre 30 et 60 mg) qui est un insecticide très puissant (50 fois plus toxique que le DDT). Les récolteurs de feuilles de tabac sont parfois intoxiqués car la nicotine passe à travers la peau (maladie du tabac vert) (Anonyme 1,2017).



**Figure 20. Le tabac (*Nicotiana tabacum* L. 1753)**

### **2. 3. Le basilic (hbak, *Ocimum basilicum* L)**

Le basilic appartient au genre *Ocimum* de la famille des labiées. C'est une plante annuelle, originaire d'Asie et d'Inde, de 20 à 60 cm de haut, à feuilles ovales-lancéolées, atteignant 2 à 3 cm. Les feuilles sont vert pâle à vert foncé, parfois pourpre violet chez certaines variétés (fig. 21). Les tiges dressées, ramifiées, ont une section carrée comme beaucoup de labiées, elles ont tendance à devenir ligneuses et touffues. Les fleurs, bilabiées, petites et blanches, ont la lèvre supérieure découpée en quatre lobes. Elles sont de petite taille et groupées en longs épis tubulaires, en forme de grappes allongées. Les graines fines, oblongues, sont noires. La culture du basilic nécessite un climat chaud et ensoleillé, méditerranéen ou tropical.

Le genre *Ocimum* est composé de plusieurs espèces. En Algérie seules deux variétés de basilic sont cultivées, le Grand vert (*Ocimum basilicum* L. *gratissimum*) et le nain compact (*Ocimum basilicum* L. *minimum*) (Benzid et Litim, 2016).



**Figure 21. *Ocimum basilicum* L., 1753**

#### **2. 4. Le Myrte (Rayhan, *Myrtus communis* Linnée 1753)**

*Myrtus communis* Linn., 1753 est une espèce appartenant à la Famille des Myrtacées. C'est un arbuste pérenne ou un petit arbre, de 1,8 à 2,4 m de hauteur avec un faible feuillage et une écorce fissurée profonde. Sa tige est verticale, de 2 à 3 m de haut et ramifiée ; ses branches forment une tête étroite, recouverte de feuilles vertes et brillantes de 2,5 à 3 cm de long.

Le myrte commun a des fleurs blanches axillaires sur des pédoncules minces, de taille moyenne d'environ 2 cm. Les pétales sont blanches légèrement recouvertes de poils. Elles émettent une odeur parfumée et douce. Le fruit développé est vert pâle, puis devient rouge foncé et finalement devient indigo sombre lorsqu'il est complètement mûr (Franceschini, 2016) (fig. 22).

C'est une plante commune des régions méditerranéennes (Touaibia et Chaouch, 2013), poussant à l'état sauvage, associée aux forêts de chênes et de pin d'Alep du Tell et du littoral algérien.

En Algérie, les rameaux de myrte sont utilisés, en tradition populaire, et sont déposés sur les tombes les jours de recueillement.



**Figure 22. *Myrtus communis* Linnée 1753**

### **2. 5. La marjolaine (mardoche, *Origanum majorana* L., 1753)**

Le genre *Origanum*, appartenant à la famille des Lamiacées, comporte 38 espèces qui sont largement répandues dans les régions euro-sibérienne et irano-sibérienne. Cependant, la plupart des espèces, environ 75 %, sont concentrées dans le pourtour méditerranéen, en particulier dans les régions méditerranéennes de l'Est. Elle est considérée essentiellement comme une plante médicinale réchauffante et relaxante, avec des propriétés antiseptiques, à prendre en infusion pour soigner états d'anxiété, de nervosité, insomnie, migraines, rhumes et affections des bronches. Elle jouit d'une grande faveur populaire en Algérie et en Tunisie comme remède contre la toux et les affections respiratoires.

C'est une plante vivace, de 60 cm de haut ses feuilles opposées, vert grisâtre, de forme ovale entière, de 1 à 2 cm de long avec de petites fleurs blanches ou mauves, groupées en groupes serrés à l'aisselle des feuilles avec deux bractées en forme de cuillère (Bekhechi *et al.*, 2008) (fig. 23).





**Figure 23. *Origanum majorana* L., 1753**

#### **2. 6. Laurier-rose (defla, *Nerium oleander* L., 1753)**

Le nom latin *Nerium* de cette plante vient du grec *nerion* signifiant « humide », indiquant la prédilection de cette plante pour les zones humides. Le laurier-rose originaire d'Afrique du Nord, est commun dans toute l'Algérie (Delille, 2007), où des buissons fleuris se retrouvent sur le parcours des oueds et même en bordures des oueds.

C'est un arbuste ornemental de 2 à 4 m de haut, fleurissant de juin à septembre, à fleurs roses, parfois rouges ou blanches, et à feuilles allongées de couleur verte (fig. 24).

Le laurier rose est considéré comme une plante toxique. Il contient des hétérosides toxiques qui entraînent notamment des troubles cardiaques, tant chez les herbivores que chez d'autres consommateurs occasionnels tels que les chiens, rongeurs, oiseaux... et même l'homme (Bezaze, 2011).



**Figure 24. Laurier-rose (*Nerium oleander* L., 1753).**

### **2. 7. La sauge (m'rimiya, *Salvia officinalis* L., 1753)**

La sauge est une plante annuelle et biannuelle d'origine méditerranéenne de la famille des labiées (Djerroumi, 2004). Il existe environ 900 espèces identifiées autour du monde (Maksinovic *et al.*, 2007 ; Longaray *et al.*, 2007). En Algérie, les espèces identifiées sont de l'ordre d'une trentaine (Madi, 2010).

La sauge officinale (*Salvia officinalis*, Linnée, 1753) est un sous-arbrisseau souvent cultivé dans les jardins comme plante condimentaire et officinale ou tout simplement pour la beauté de son feuillage et de ses fleurs. On l'appelle aussi *herbe sacrée* ou *thé d'Europe*.

C'est une plante très ramifiée, aux tiges de section carrée, à la base lignifiée. Les feuilles pétiolées sont vert-pâle, veloutées, oblongues. Les fleurs, sur des hampes florales érigées, sont regroupées en petits glomérules. La racine de la sauge est brunâtre et fibreuse. La tige mesure de 20 à 30 centimètres et est très rameuse. Les feuilles, opposées, elliptiques, inférieures pétiolées, rugueuses, à bord dentelé, réticulées, molles, à dessus blanchâtre, persistent l'hiver grâce au revêtement de poils laineux qui les protège.

Les fleurs, bleu-rose lilas, visibles de mai à août, sont grandes, groupées à la base des feuilles supérieures, l'ensemble forme de grands épis (fig. 25). Les grecs, les romains et les arabes ont utilisé la sauge comme tonique, et en compresse contre les morsures de serpent. Au 18<sup>ème</sup> siècle, les feuilles de la sauge ont été roulées comme des cigarettes pour les fumer contre l'asthme, surtout au printemps (hans 2007 in Madi, 2010).



**Figure 25. *Salvia officinalis* L., 1753**

### **2.8. Le jasmin (yasmine, *Jasminum polyanthum*)**

C'est un arbrisseau buissonnant et grimpant pouvant atteindre plus de trois mètres de hauteur. Malgré son aspect gracile et frêle, il est relativement résistant aux influences extérieures sauf au froid (Gilly, 1997). Ses tiges striées, anguleuses et d'un vert foncé portent des feuilles caduques ou semipersistantes, opposées à sept ou neuf folioles (figure 26). Leur longueur est de 1 à 6 cm et leur largeur est de 0,5 à 2,5 cm, elles sont aigües ou acuminées. La foliole terminale est la plus grande et est pétiolée, les latérales étant sessiles (Gilly, 1997). Le jasmin possède de grandes fleurs à aspect étoilé composées de cinq pétales d'un blanc éclatant, pur, gras et luisant. A la base, on remarquera une teinte légèrement rosée, qui s'avère être un vestige de la couleur du bouton floral. Ces fleurs sont disposées en cymes terminales de trois à cinq fleurs chacune (Messein, 2010).



**Figure 26. *Jasminum polyanthum* L. 1753.**

## CHAPITRE 2. MATERIEL ET METHODES

La mise en évidence de l'activité larvicide des extraits aqueux des plantes sur les formes larvaires de *Culex pipiens* (Linnée, 1758) nécessite une production de larves par un élevage, la maîtrise des techniques d'extraction à partir de plantes et celle des bios essais.

Les techniques suivies dans cette étude sont inspirées de celles préconisées par l'OMS.

### 2.1. Matériel animal

Les larves de *Culex pipiens* utilisées pour l'élevage ont été collectées dans des gîtes non traités représentés par un fossé situé sur le campus de l'université de Constantine 1. La récolte est faite dans des bacs en plastique à l'aide d'une passoire afin de réduire la quantité d'eau lors du prélèvement des larves.

Les larves, contenues dans les bacs, sont ensuite transvasées dans des bouteilles de 1,5 litre et transportées au laboratoire pour être renversées dans des bacs propres. A l'aide d'une pipette compte gouttes, les larves sont déposées dans des nouveaux bacs contenant de l'eau de source. Le tri se fait ensuite selon le stade du développement (fig. 17) et les bacs contenant les larves sont recouverts d'un morceau de tulle moustiquaire, pour éviter des pontes éventuelles d'autres moustiques (Koua, 1994).

La nourriture des larves est composée d'une mixture, de biscuits (75%) et de levure (25%), réduite finement en farine et tamisée car la levure permet un apport de protéines, de glucides et de vitamine B (Andrean *et al.*, 1981).



**Figure 17. Tri des moustiques selon le stade de développement au laboratoire.**

## Suivi de l'élevage

Nous avons procédé à des observations journalières des larves jusqu'à l'obtention des nymphes. Ces dernières sont placées dans des cages cubiques (40x40x40 cm) recouvertes d'un tulle avec une ouverture fermée par une épingle pour faciliter le retrait des bacs. Sur les cages nous avons placé un repas sucré pour les mâles (raisin sec) et un repas sanguin pour les femelles à une quantité, d'environ 5 ml de sang mélangé à de l'héparine (pour éviter la coagulation du contenu sanguin). Le sang hépariné est déposée dans une petite boîte de pétri en verre recouverte d'un film plastique alimentaire que l'on étire (fig. 18). Cette boîte de pétri est alors placée sur la face supérieure de la cage, de manière à ce que le film alimentaire soit au contact du tulle. Ce procédé décrit par Enserink (2006) permet aux femelles de piquer le film afin de s'y alimenter. Par ailleurs, des pondoires sont placés à l'intérieur des cages pour l'incubation des œufs en prenant soin de changer régulièrement l'eau tous les trois jours.



**Figure 18. Présentation d'une cage d'élevage surmontée d'une boîte de pétri contenant du sang pour le repas des femelles.**

## 2.2. Matériel végétal

### 2.2.1. Préparation des extraits de plantes

Les extraits de plantes concernent l'utilisation des feuilles. Nous avons récolté les plantes que nous avons ramené au laboratoire pour ensuite les trier et les couper les tiges pour ne laisser que les feuilles. Nous avons ensuite lavé les feuilles à l'eau et séchées à l'air libre pendant 24h. Elles ont été ensuite placées dans une étuve pendant 4 jours (96h) à 40°C pour se débarrasser de l'eau (Aouinty *et al.*, 2006).

Elles sont ensuite broyées à l'aide d'un mixeur électrique pour en obtenir une poudre fine. La poudre obtenue est placée dans un extracteur de type soxhlet. Une quantité de poudre de chaque plantes est pesée sur une balance de précision pour avoir 100 g. Les 100g de poudre de chacune des plantes sont introduits dans une cartouche en papier filtre que l'on place dans un appareil Soxhlet surmonté d'un réfrigérant. L'utilisation de la vapeur de méthanol remplis dans le ballon et chauffé à l'aide d'une chauffe ballon, permet d'en extraire la matière active. La colonne de distillation génère des vapeurs de solvant qui sont condensées. Ce solvant pur et chaud alimente la cartouche contenant la plante broyée (Penchev, 2010). Lorsque la cartouche est pleine, la solution obtenue se vide automatiquement par lixiviation puis retourne dans le bouilleur où le solvant est de nouveau porté à ébullition (Penchev, 2010). Chaque plante passe par plusieurs cycle d'extraction jusqu'à 8, à ce que le liquide entourant la cartouche devienne clair. Cette couleur indique que la matière active est extraite complètement de la plante (fig. 27).



**Figure 27. Photographie représentant un dispositif reliant deux Soxhlet sur leurs chauffes ballons à un Cryothermostats à circulation.**

La solution obtenue (méthanol et matière active) est ensuite passée dans un Rotavapor (fig. 28) pour se débarrasser du méthanol et obtenir la matière active sèche. Des expériences préliminaires ont permis de sélectionner une gamme de concentrations à partir de la matière sèche obtenue préalablement. Les concentrations sont les suivantes : 0.5g/l, 2g/l, 5g/l et 8g/l.

Toutes les solutions (témoins et essais) ont été préparées avec de l'eau distillée.



**Figure 28. Photographie représentant un appareil Rotavapor.**

### **2.3. Réalisation des tests biologiques**

La méthodologie des bioessais ainsi que les formules utilisées pour calculer le pourcentage de mortalité est inspirée de la technique des tests de sensibilité normale utilisée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 1963).

Les larves testées sont celles du 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> stade et pour ce faire, elles sont préalablement séparés des autres dans un bac contenant l'eau distillée. Pour chaque concentration nous avons utilisés des gobelets (250ml) contenant 99ml de l'eau de source et 1ml des concentrations préparées. Dans chaque gobelet, sont introduites 25 larves n'ayant surtout aucun traitement préalable. Pour chaque concentration, nous avons préconisé 4 répétitions (fig. 29).

Pour chacune des concentrations, un gobelet témoin est préparé avec 100ml de l'eau de source. Le taux de mortalité dans chacun des gobelets est déterminé après 24h, 48h et 72h.





**Figure 29. Photographie représentant la technique des bioessais.**

#### **2.4. Analyses statistiques.**

Afin de mieux appréhender et modéliser les résultats obtenus ; ces derniers sont soumis à différentes analyses statistiques.

Les mortalités sont exprimées en pourcentage par la formule suivante :

$$(1) \text{ pourcentage de mortalité} = \frac{\text{Nombre des larves mortes}}{\text{Nombre des larves introduites}} \times 100$$

Si le taux de mortalité des témoins est compris entre 5 et 20%, une correction est effectuée grâce à la formule d'Abbott (1925) in l'OMS (1963) :

$$(2) \text{ pourcentage de mortalité} = \frac{\text{Mortalité des larves traitées\%} - \text{mortalité des témoins}}{100 - \% \text{ mortalité des témoins}} \times 100$$

Pour évaluer la mortalité en fonction de la dose d'insecticide utilisée, nous avons réalisé une regression lineaire simple afin d'établir une droite de regression.

Les données normalisées font l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à un seul critère de classification (la dose de l'insecticide) équilibré puisque le nombre de répétitions est le même pour les différentes doses utilisées. Par l'ANOVA nous avons tenté de déterminer s'il existe une différence significative entre les différentes doses d'insecticides utilisées, et si tel est le cas, quel est la dose la plus efficace en termes de mortalité.

D'après Dagnélie, (1970), l'analyse de la variance permet la comparaison des moyennes à partir de la variabilité des échantillons. Elle permet suivant le niveau de la signification de déterminer l'influence des facteurs étudiés ou des interactions entre les facteurs. La probabilité inférieure à 0,01 donne un effet hautement significatif; à 0,05, un effet significatif et pour une probabilité supérieure à 0,05 on considère que l'effet n'est pas significatif (Laouira, 2014).

Afin de mieux caractériser la toxicité des extraits de plantes à l'égard des larves L4 de *Culex pipiens*, il est nécessaire d'estimer les concentrations létales (CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub>). Les pourcentages de mortalité observés sont corrigés par la formule d'Abbott (1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle et de connaître la toxicité réelle du pesticide, par l'analyse des probits (Finney, 1971). Les mortalités corrigées obtenues permettent d'établir une courbe de probits en fonction des logarithmes décimaux des doses. Les pourcentages corrigés se convertissent en leurs probits (Fisher et Yates, 1957). Les logarithmes des concentrations létales (CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub>) sont déterminés à partir d'une droite de régression selon le procédé mathématique de Finney (1971). La méthode de Swaroop *et al.* (1966) précise l'intervalle de confiance avec une probabilité de 95%.

## **2.5. Etude histologique**

Dans le but de préciser le mode d'action des extraits aqueux de plantes au niveau de l'épithélium intestinal des moustiques, une étude histologique a été réalisée sur des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens*. Les larves sont mises en contact avec l'extrait aqueux qui nous a donné le plus grand taux de mortalité des larves, celui de *Eucalyptus globulus* à la concentration de 27g/l (concentration létale après 24h). Elles sont ensuite systématiquement prélevées après des intervalles de temps donnés :

2h, 4h, 6h, 12h et 24h, pour être immédiatement fixées dans du Bouin alcoolique. Des larves témoins, placées dans l'eau distillée, sont également prélevées à ces mêmes intervalles de temps et ont également fixées.

Avant de commencer les étapes de la technique histologique, les têtes et les siphons respiratoires sont coupés à l'aide d'une lame bistouri.

Les pièces sont ensuite déshydratées afin d'enlever l'eau intra et extra cellulaire, cette étape se fait en plaçant les pièces dans des cassettes qui passent successivement dans 7 bains d'alcool éthylique de 70° à 100°. Ensuite, dans le but d'éliminer les traces de l'éthanol et d'éclaircir les pièces, elles sont plongées dans trois bacs de xylène.

Une fois déshydratées, les pièces sont incluses dans la paraffine. Il s'agit de faire pénétrer aussi intimement que possible, dans le tissu à étudier, la paraffine qui est considérée comme une substance homogène, solidifiable et neutre chimiquement. L'imprégnation de la paraffine se déroule dans une étuve à une température entre 58° et 60°. Les blocs sont ensuite confectionnés puis coupés, à l'aide d'un microtome pour obtenir des coupes d'une épaisseur de 5µ. Ces derniers sont ensuite colorés avec de l'hématoxyline, fixés entre lame et lamelle et observés sous microscope optique (grossissement  $\times 400$ ) pour définir morphologiquement les différentes étapes d'intoxication des cellules mésentériques des larves de *Culex pipiens*.

## **2.6. Etude biométrique**

Les larves de *Culex pipiens* ayant survécues aux tests biologiques sont mises en élevage dans les cages. Des larves témoins sont élevées au même temps. Après l'émergence, les adultes sont sacrifiés, et étalés entre lame et lamelle avec une goutte de gomme arabique. Dans le but de déceler les différences morphologiques des imagos issues des larves traitées par rapport aux adultes témoins, une étude morphométrique a été réalisée. Pour cette étude nous avons retenu plusieurs critères morphologiques notamment, la longueur et la largeur alaire, la longueur et la largeur abdominale, la longueur des antennes du fémur, du tibia et des 5 tarsi.

Cette étude vise à évaluer l'effet des extraits de plantes sur le développement des moustiques. Les adultes sont observés sous loupe binoculaire étalonnée, les différentes parties à étudier sont ensuite mesurées à l'aide d'un micromètre préalablement intégré à une loupe. L'étude biométrique est réalisée sur un groupe de 15 mâles et 15 femelles.

Les résultats obtenus sont exprimés par la moyenne, l'écart-type et l'analyse de la variance multivarié MANOVA dans le but de mettre en évidence les différences entre les mensurations des différents critères pour les adultes témoins et ceux traités avec l'extrait.

L'analyse de variance multivariée (MANOVA) utilise le même cadre conceptuel que l'ANOVA. Il s'agit d'une extension de l'ANOVA permettant de prendre en compte une combinaison de variables dépendantes plutôt qu'une variable dépendante unique.

## CHAPITRE 3. RESULTATS

Dans le but de connaitre l'effet larvicide des extraits des 8 plantes testées à savoir ; l'Eucalyptus, le laurier rose, le myrte, le jasmin, le basilic, la sauge, la marjolaine et le tabac, des essais toxicologiques sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* ont été réalisés, les résultats sont présentés dans l'ensemble des figures et tableaux ci -dessous.

### 3.1. Etude de la toxicité des extraits aqueux de plantes sur les larves L4 de *Culex pipiens*.

#### 3.1.1. Toxicité de l'extrait de *Eucalyptus globulus* sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

Le tableau 1 représente la variation du pourcentage de mortalité des larves de *Culex pipiens* en fonction des 4 concentrations utilisées (0.5g /l, 2g/l, 5g/l et 8g/l) et ceci après 24h, 48 h et 72h d'exposition.

Après 24 heures de contact avec l'insecticide; la mortalité atteint (16%) pour la dose de 8g / l contre 0% pour la dose de 0.5g / l. Après 48 heures d'exposition, la dose de 8g/l donne 32% de mortalité et enfin une mortalité avoisinant les 100% a été enregistrée (82%) après 72 heures d'exposition à une dose de 8g / l.

Tableau1: Toxicité de *Eucalyptus globulus* sur *Culex pipiens*

Temps d'exposition	(Concentrations)			
	0.5g/l	2g/l	5g/l % Mortalité	8g/l
24h	0%	4%	8%	16%
48h	8%	20%	24%	32%
72h	28%	44%	48%	82%

#### 3.1.1.2.La régression linéaire de *Eucalyptus globulus* de 24h, 48h et 72 heures

Les figures 30, 31 et 32 montrent les données de la droite de régression, et les deux intervalles de confiance. On observe ainsi une tendance linéaire montrant une corrélation entre l'augmentation de la concentration des extraits et le prolongement du temps d'exposition.

Les coefficients de détermination  $R^2$  sur les 3 figures (0.981, 0.879 et 0.902) respectivement, révèlent une liaison positive forte entre les probits et le logarithme des concentrations testées.

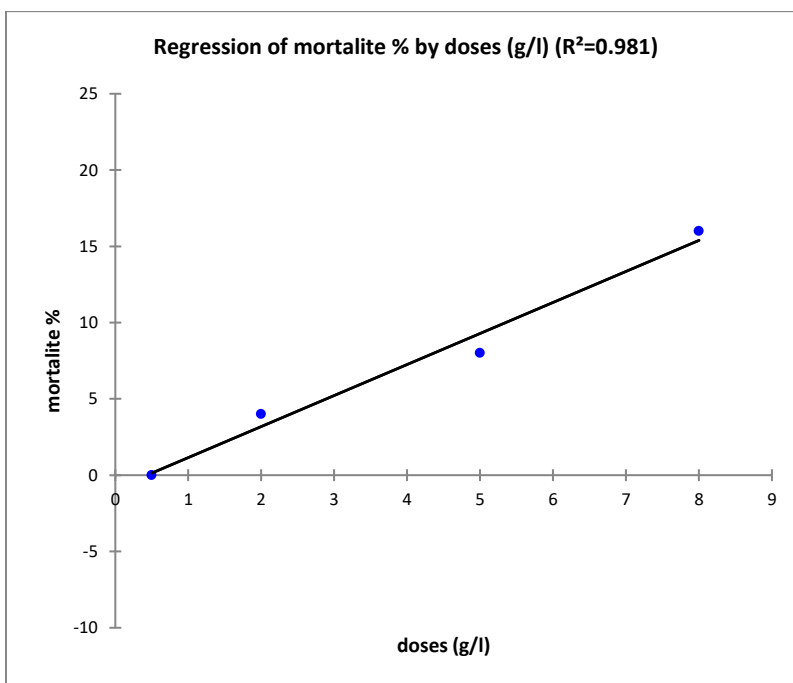


Figure 30: Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Eucalyptus globulus* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 24h d'exposition.

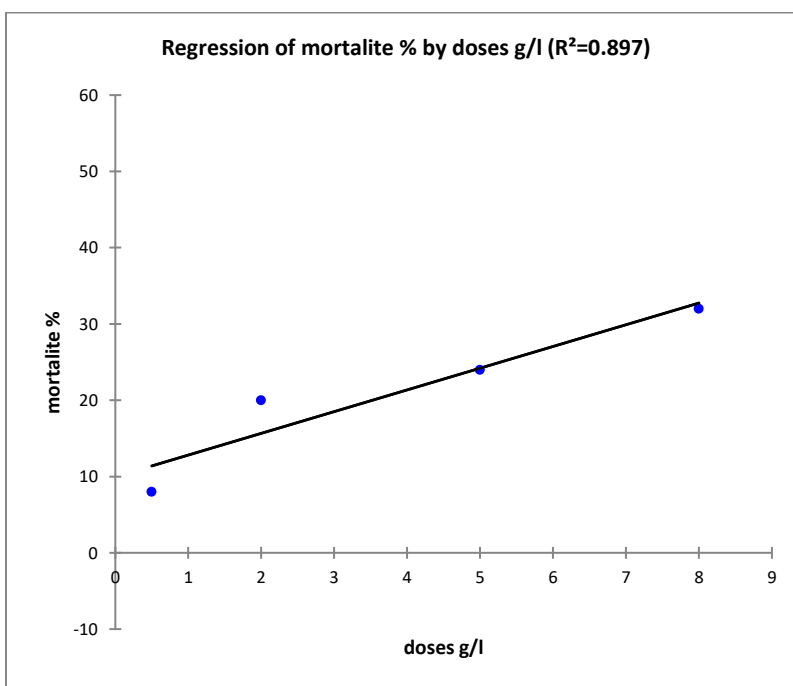
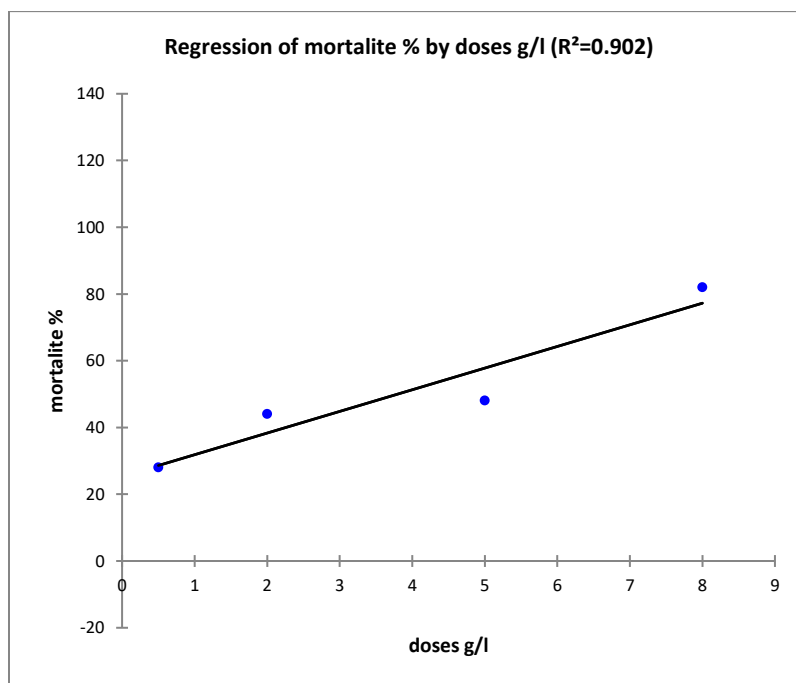


Figure 31: Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Eucalyptus globulus* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 48h d'exposition.



**Figure 32 : Droite de régression des concentrations de l' *Eucalyptus globulus* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 72h d'exposition.**

### 3.1.1.3. Etude comparative des doses utilisées de l' *Eucalyptus globulus* sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p = 0,01$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les quatre concentrations de *Eucalyptus globulus* utilisées après 24h d'exposition avec un  $F = 101.25$  (Tableau 2).

**Tableau 2: Effet dose de l' *Eucalyptus globulus* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 24h d'exposition. (ANOVA)**

Source de variations	DDL	SCE	CM	F <sub>obs</sub>	P
Factorielle	1	137.288	137.288	101.250	0.010
Résiduelle	2	2.712	1.356		
Totale	3	140.000			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose significatif ( $p = 0,053$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les quatre concentrations de *Eucalyptus globulus* utilisées après 48h d'exposition avec un  $F = 17,408$  (Tableau 3).

**Tableau 3 : Effet dose de *Eucalyptus globulus* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 48h d'exposition. (ANOVA)**

Source de variations	DDL	SCE	CM	F <sub>obs</sub>	P
Factorielle	1	269.085	269.085	17.408	0.053
Résiduelle	2	30.915	15.458		
Total	3	300.000			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrés entre les groupes; **CM** : moyenne des carrés; **F** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p = 0,05$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les quatre concentrations de *Eucalyptus globulus* utilisées après 72h d'exposition avec un  $F = 18,5$ (Tableau 4).

**Tableau 4: Effet dose de *Eucalyptus globulus* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 72h d'exposition. (ANOVA)**

Source de variations	DDL	SCE	CM	F <sub>obs</sub>	P
Factorielle	1	1396.085	1396.085	18.502	0.050
Résiduelle	2	150.915	75.458		
Total	3	1547.000			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrés entre les groupes; **CM** : moyenne des carrés; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

### 3.1.1.4 Etude des paramètres toxicologiques de *Eucalyptus globulus* pendant 24h, 48h et 72h d'exposition

Les Larves du 4<sup>ème</sup> stades de *Culex pipiens* exposés pendant 24h, 48h et 72h à l'extrait de présentent des moyennes de mortalités corrélées aux doses utilisées.



La droite de régression après une exposition de 24h est de la forme :  $Y=2.03x-0.88$ , avec un  $R^2 = 0,98$ , son  $DL_{50}$  est de 27.6g/l et son  $DL_{90}$  est de 52.1g/l.

En ce qui concerne les résultats après 48h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=2.84x+9.06$ ,  $R^2 = 0.89$ , son  $DL_{50}$  est de 13.45g/l et son  $DL_{90}$  est de 27.7g/l, et enfin pour les résultats après 72h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=6.48x+25.36$ ,  $R^2 = 0.90$ , son  $DL_{50}$  est de 3.57g/l et son  $DL_{90}$  est de 10.39g/l (Tableau 5).

**Tableau 5 : Activité larvicide de l'*Eucalyptus globulus* à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre *Culex pipiens*.**

Temps d'exposition	DL <sub>50</sub> (g/l)	limite fiduciale 95% (mg/l)		DL <sub>95</sub> (g/l)	R <sup>2</sup>	Equation de regression
		Lower	Upper			
24h	27.6	0.56	1.41	52.1	0.98	$Y=2.03x-0.88$
48h	13.45	-0.03	1.92	27.7	0.89	$Y=2.84x+9.06$
72h	3.57	0	1.9	10.39	0.90	$Y=6.48x+25.36$

### 3.1.2. Toxicité de l'extrait de *Myrtus communis* sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

Le tableau 6 représente la variation du pourcentage de mortalité des larves de *Culex pipiens* en fonction des 4 concentrations utilisées (0.5g/l, 2g/l, 5g/l, 8g/l) et ceci après 24h, 48 h et 72h d'exposition.

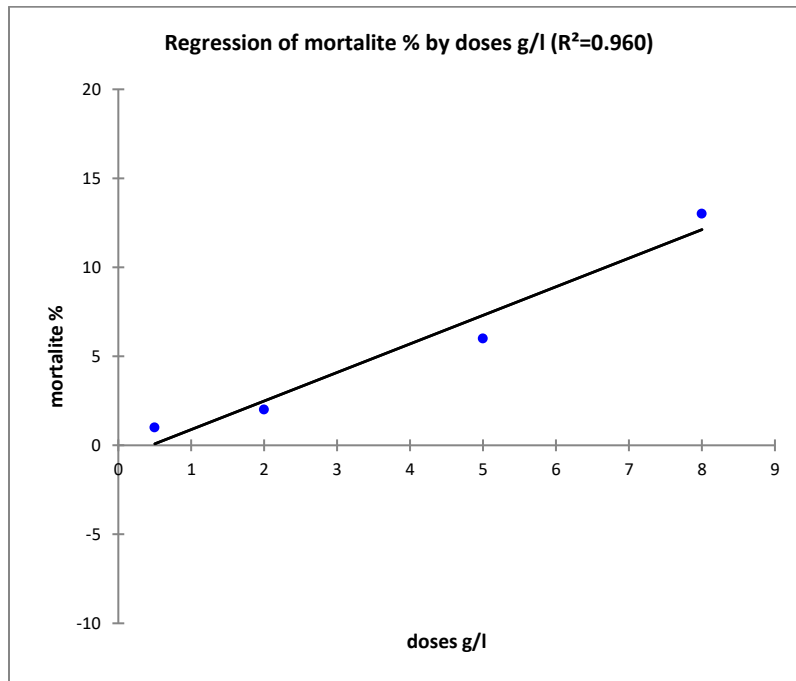
**Tableau 6: Toxicité de *Myrtus communis* sur *Culex pipiens***

Temps d'exposition	(Concentrations)			
	0.5g/l	2g/l	5g/l %	8g/l
Mortalité				
24h	1%	2 %	6 %	13%
48h	3%	6%	7%	9%
72h	5%	6%	12%	18%

### 3.1.2.1. La régression linéaire de *Myrtus communis* de 24h, 48h et 72heures

Les figures 33, 34 et 35 montrent les données de la droite de régression, et les deux intervalles de confiance. On observe ainsi une tendance linéaire montrant une corrélation entre l'augmentation de la concentration des extraits et le prolongement du temps d'exposition.

Les coefficients de détermination  $R^2$ , sur les 3 figures (0.960, 0.897 et 0.985) respectivement, révèlent une liaison positive forte entre les probits et le logarithme des concentrations testées.



**Figure 33 : Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Myrtus communis* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 24h d'exposition**

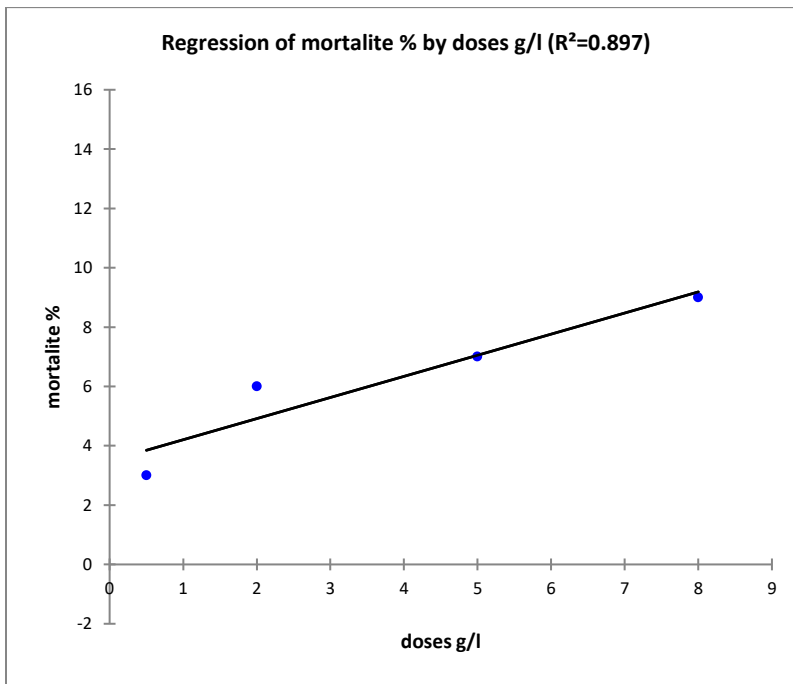


Figure 34: Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Myrtus communis* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 48h d'exposition

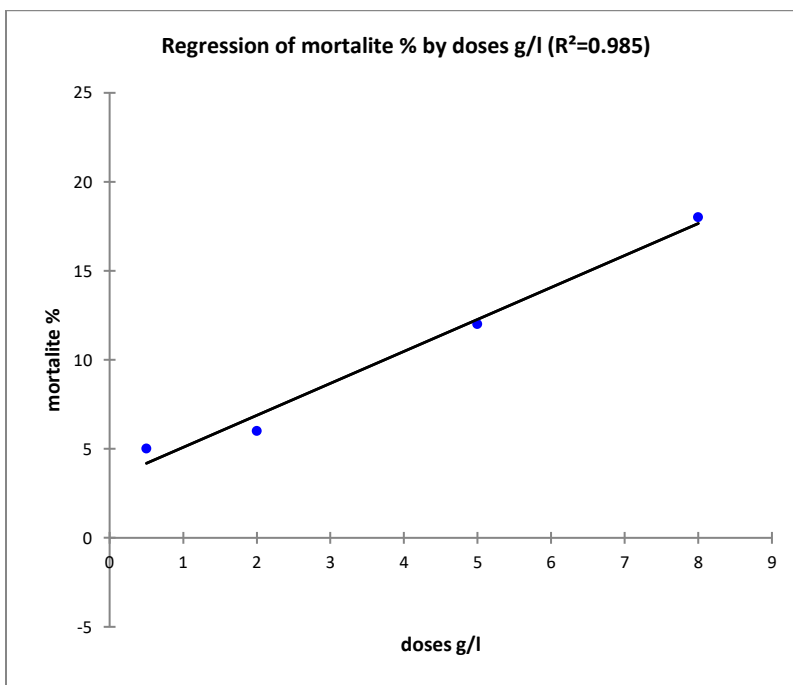


Figure 35 : Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Myrtus communis* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 72h d'exposition

### 3.1.2.2. Etude comparative des doses utilisées de *Myrtus communis* sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose hautement significatif ( $p = 0,02$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations de *Myrtus communis* utilisées après 24h d'exposition avec un  $F=48.01$  (Tableau 7).

**Tableau 7: Effet dose de *Myrtus communis* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 24h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	85.441	85.441	48.010	0.020
Résiduelle	2	3.559	1.780		
Totale	3	89.000			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p = 0,05$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations de *Myrtus communis* utilisées après 48h d'exposition avec un  $F=17.408$  (Tableau 8).

**Tableau 8 : Effet dose de *Myrtus communis* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup>stade de *Culex pipiens* après 48h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	16.818	16.818	17.408	0.053
Résiduelle	2	1.932	0.966		
Totale	3	18.750			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p = 0,008$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de

mortalité entre les trois concentrations de *Myrtus communis* utilisées après 72h d'exposition avec un  $F=131.67$ (Tableau 9).

**Tableau 9: Effet dose de *Myrtus communis* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 72h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	107.123	107.123	131.672	0.008
Résiduelle	2	1.627	0.814		
Totale	3	108.750			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

### 3.1.2.3. Etude des paramètres toxicologiques de *Myrtus communis* pendant 24h, 48h et 72h d'exposition

Les Larves du 4<sup>ème</sup> stades de *Culex pipiens* exposés pendant 24h, 48h et 72h à l'extrait de présentent des moyennes de mortalités corrélées aux doses utilisées.

La droite de régression après une exposition de 24h est de la forme :  $Y=1.6x-0.71$ , avec un  $R^2=0.96$ , son  $DL_{50}$  est de 67.221g/l et son  $DL_{90}$  est de 726.6g/l.

En ce qui concerne les résultats après 48h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=0.71x+3.49$ ,  $R^2 = 0.89$ , son  $DL_{50}$  est de 6097g/l et son  $DL_{90}$  est de 24234g/l, et enfin pour les résultats après 72h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=1.79x+3.28$ ,  $R^2 = 0.98$ , son  $DL_{50}$  est de 105.5g/l et son  $DL_{90}$  est de 3455g/l (Tableau 10).

**Tableau 10 : Activité larvicide de *Myrtus communis* à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre *Culex pipiens*.**

Temps d'exposition	$DL_{50}$ (g/l)	95% limite fiduciale (mg/l)		$DL_{95}$ (g/l)	$R^2$	Equation de regression
		Lower	Upper			
24h	67.221	0.37	1.58	726.6	0.96	$Y=1.6x-0.71$
48h	6097	-0.03	1.92	24234	0.89	$Y=0.71x+3.49$
72h	105.5	0.62	1.36	3455	0.98	$Y=1.79x+3.28$

### 3.1.3. Toxicité de l'extrait de *Nerium oleander* sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

Le tableau 11 représente la variation du pourcentage de mortalité des larves de *Culex pipiens* en fonction des 4 concentrations utilisées (0.5g/l, 2g/l, 5g/l et 8g/l) et ceci après 24h, 48 h et 72h d'exposition. En effet après 24 heures de contact avec l'insecticide; la mortalité atteint (12%) pour la dose de 8g/l contre 4% pour la dose de 0.5g/l. Après 48 heures d'exposition, la dose de 8g/l donne 35% de mortalité et enfin une mortalité de 49% a été enregistrée après 72 heures d'exposition à une dose de 8g/l.

**Tableau 11: Toxicité de *Nerium oleander* sur *Culex pipiens***

Temps d'exposition	(Concentrations)			
	0.5g/l	2g/l	5g/l %	8g/l
24h	4%	5%	9%	12%
48h	9%	16%	23%	35%
72h	34%	39%	48%	72%

#### 3.1.3.1. La régression linéaire de *Nerium oleander* de 24h, 48h et 72heures

Les figures 36, 37 et 38 montrent les données de la droite de régression, et les deux intervalles de confiance. On observe ainsi une tendance linéaire montrant une corrélation entre l'augmentation de la concentration des extraits et le prolongement du temps d'exposition. Les coefficients de détermination  $R^2$ , sur les 3 figures (0.960, 0.897 et 0.985) respectivement, révèlent une liaison positive forte entre les probits et le logarithme des concentrations testées.

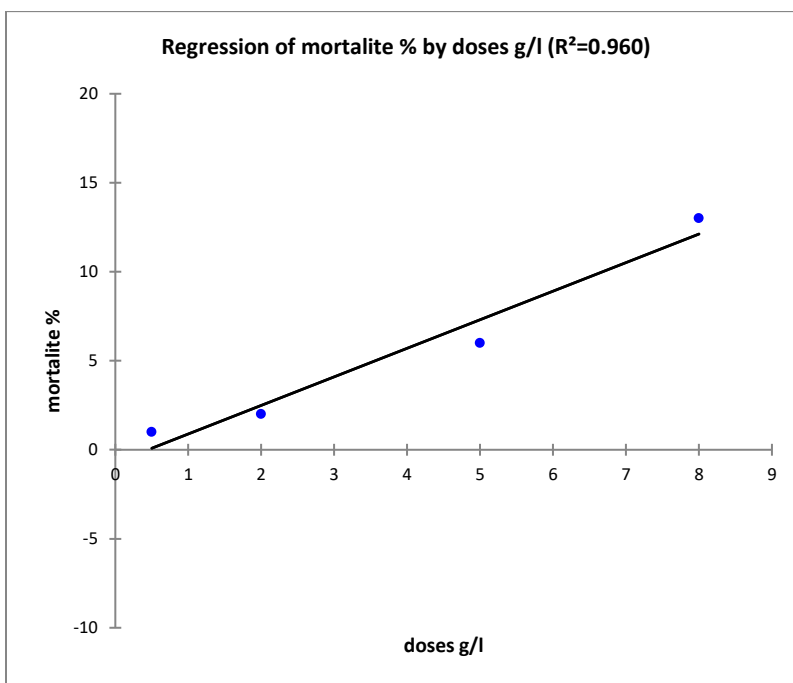


Figure 36 : Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Nerium oleander* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 24h d'exposition.

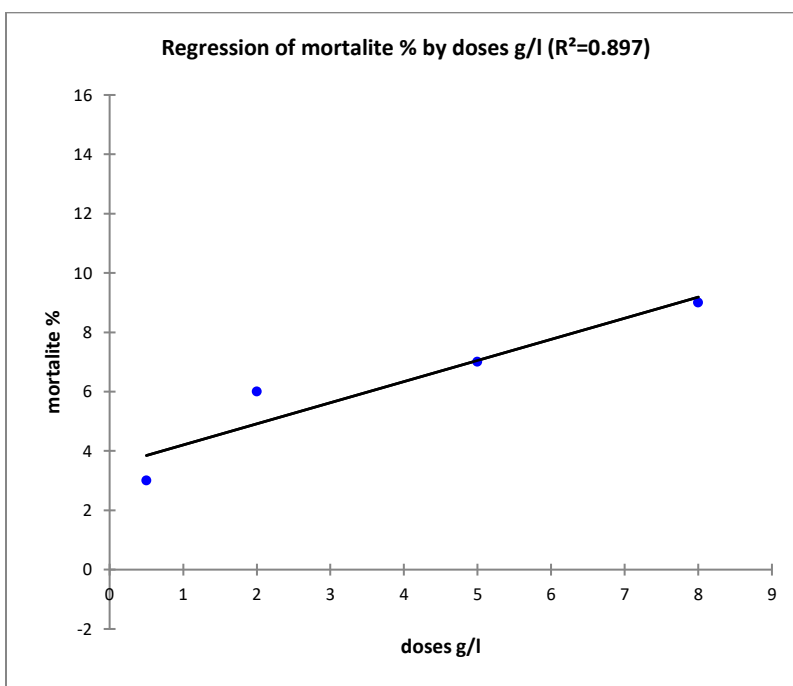
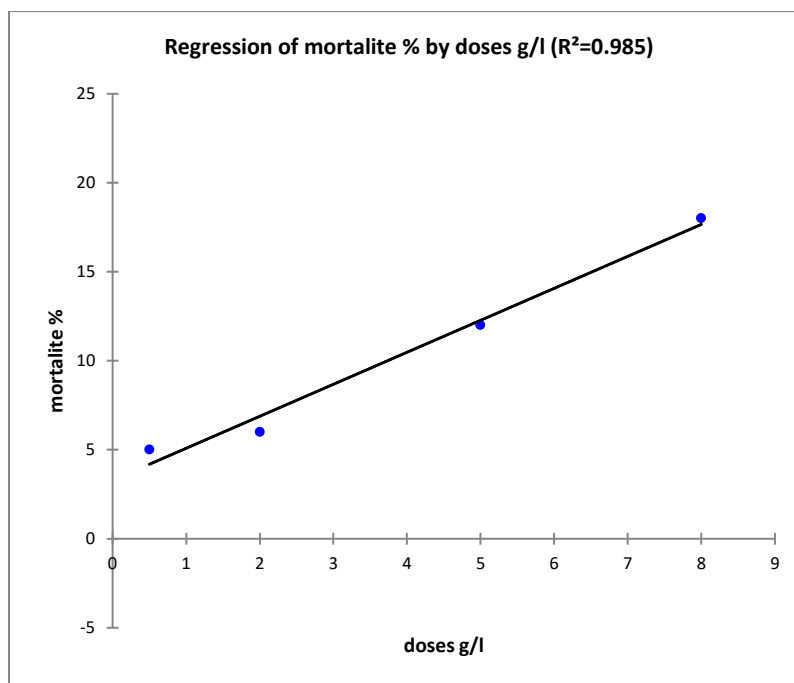


Figure 37 : Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Nerium oleander* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 48h d'exposition



**Figure 38 : Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Nerium oleander* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 72h d'exposition.**

### 3.1.3.2. Etude comparative des doses utilisées de *Nerium oleander* sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose hautement significatif ( $p = 0,02$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations de *Nerium oleander* utilisées après 24h d'exposition avec un  $F=48,010$  (Tableau 12).

**Tableau 12 : Effet dose de *Nerium oleander* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 24h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	85.441	85.441	48.010	0.020
Résiduelle	2	3.559	1.780		
Totale	3	89.000			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.



L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose significatif ( $p = 0,053$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations de *Nerium oleander* utilisées après 24h d'exposition avec un  $F=17,408$  (Tableau 13).

**Tableau 13 : Effet dose de *Nerium oleander* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 48h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	16.818	16.818	17.408	0.053
Résiduelle	2	1.932	0.966		
Totale	3	18.750			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p =0,008$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations de *Nerium oleander* utilisées après 24h d'exposition avec un  $F=131,672$  (Tableau 14).

**Tableau 14 : Effet dose de *Nerium oleander* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 72h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	107.123	107.123	131.672	0.008
Résiduelle	2	1.627	0.814		
Totale	3	108.750			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

### 3.1.3.3. Etude des paramètres toxicologiques de *Nerium oleander* pendant 24h, 48h et 72h d'exposition

Les Larves du 4<sup>ème</sup> stades de *Culex pipiens* exposés pendant 24h, 48h et 72h à l'extrait de présentent des moyennes de mortalités corrélées aux doses utilisées.

La droite de régression après une exposition de 24h est de la forme :  $Y=1.6x-0.71$ , avec un  $R^2 = 0.96$ , son  $DL_{50}$  est de 346.1g/l et son  $DL_{90}$  est de 2405.8g/l. En ce qui concerne les résultats après 48h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=0.71x+3.28$ ,  $R^2 = 0.89$ , son  $DL_{50}$  est de 264.8g/l et son  $DL_{90}$  est de 35403g/l, et enfin pour les résultats après 72h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=1.79x+3.28$ ,  $R^2 = 0.98$ , son  $DL_{50}$  est de 18.4g/l et son  $DL_{90}$  est de 46.6g/l (Tableau 15).

**Tableau 15 : Activité larvicide de *Nerium oleander* à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre *Culex pipiens*.**

Temps d'exposition	DL <sub>50</sub> (g/l)	95% limite fiduciale (mg/l)		DL <sub>90</sub> (g/l)	R <sup>2</sup>	Equation de regression
		Lower	Upper			
24h	346.1	0.37	1.58	2405.8	0.96	$Y=1.6x-0.7$
48h	264.8	-0.03	1.92	35403	0.89	$Y=0.7x+3.28$
72h	18.4	0.62	1.36	46.6	0.98	$Y=1.8x+3.3$

### 3.1.4. Toxicité de l'extrait d'*Ocimum basilicum* sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

Le tableau 16 représente la variation du pourcentage de mortalité des larves de *Culex pipiens* en fonction des 4 concentrations utilisées (0.5g/l, 2g/l, 5g/l et 8g/l) et ceci après 24h, 48 h et 72h d'exposition. En effet après 24 heures de contact avec l'insecticide; la mortalité atteint (8%) pour la dose de 8g/l contre 0% pour la dose de 0.5g/l. Après 48 heures d'exposition, la dose de 8g/l donne un peu plus de 12% de mortalité et enfin une mortalité de 20% a été enregistrée après 72 heures d'exposition à une dose de 8g/l.

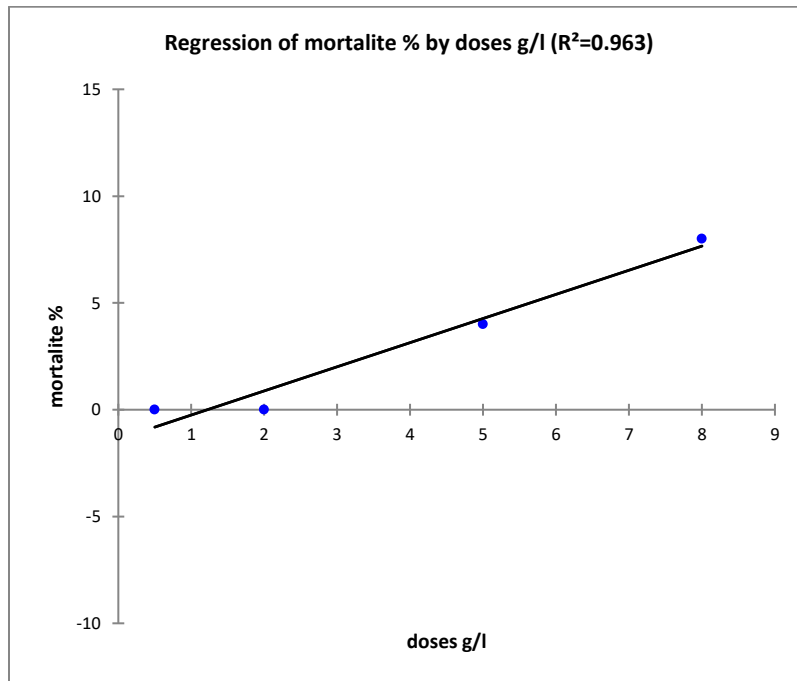
**Tableau 16: Toxicité d'*Ocimum basilicum* sur *Culex pipiens***

Temps d'exposition	(Concentrations)			
	0.5g/l	2g/l	5g/l %	8g/l
Mortalité				
24h	0%	0%	4%	8%
48h	4%	4%	8%	12%
72h	4%	8%	16%	20%

### 3.1.4.1. La régression linéaire d'*Ocimum basilicum* de 24h, 48h et 72heures

Les figures 39, 40 et 41 montrent les données de la droite de régression, et les deux intervalles de confiance. On observe ainsi une tendance linéaire montrant une corrélation entre l'augmentation de la concentration des extraits et le prolongement du temps d'exposition.

Les coefficients de détermination  $R^2$ , sur les 3 figures (0.963, 0.963 et 0.976) respectivement, révèlent une liaison positive forte entre les probits et le logarithme des concentrations testées.



**Figure 39 : Droite de régression des concentrations de l'extrait d'*Ocimum basilicum* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 24h d'exposition**

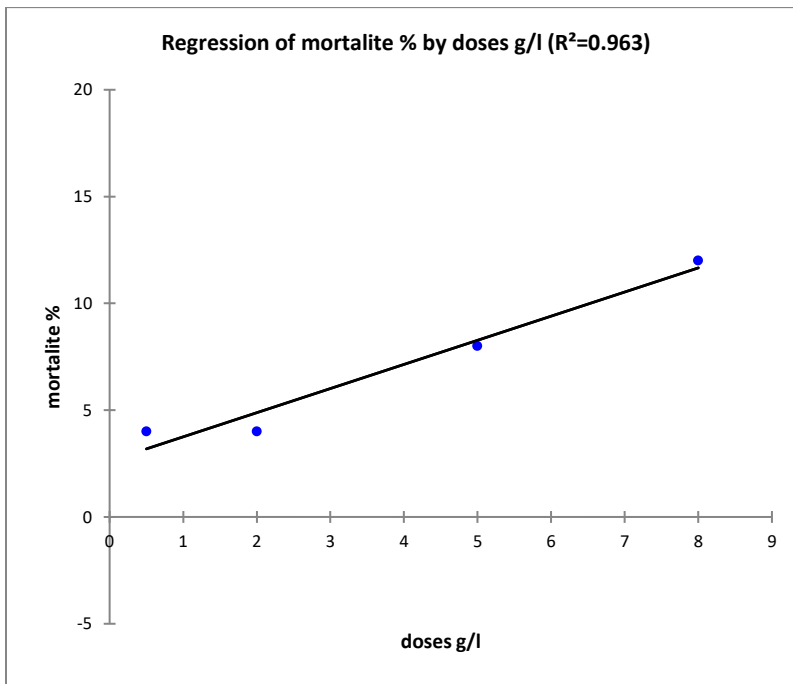


Figure 40: Droite de régression des concentrations de l'extrait d'*Ocimum basilicum* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 48h d'exposition

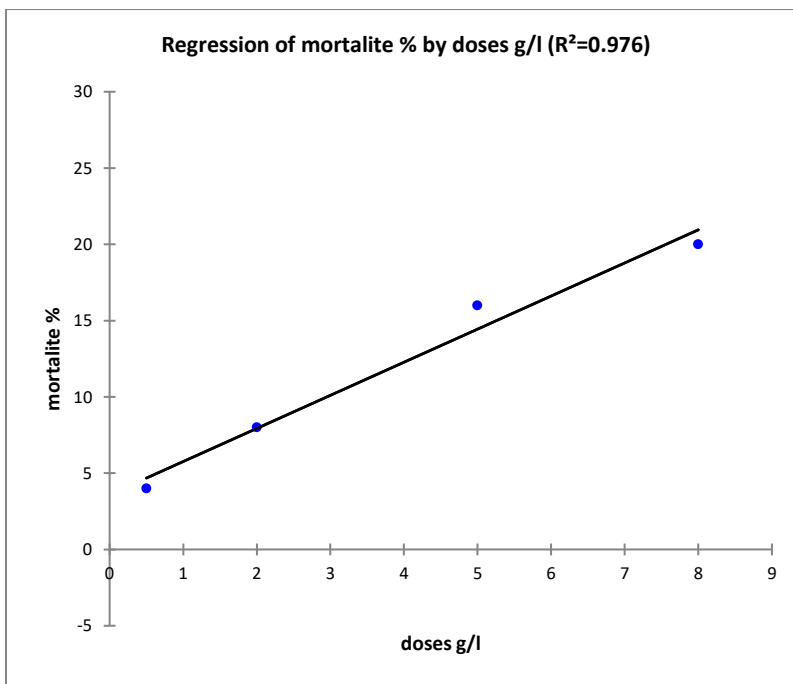


Figure 41: Droite de régression des concentrations de l'extrait d'*Ocimum basilicum* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 72h d'exposition

### 3.1.4.2. Etude comparative des doses utilisées d'*Ocimum basilicum* sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose hautement significatif ( $p = 0,019$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations de d'*Ocimum basilicum* utilisées après 24h d'exposition avec un  $F=52,083$  (Tableau 17).

**Tableau 17 : Effet dose d'*Ocimum basilicum* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 24h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	42.373	42.373	52.083	0.019
Résiduelle	2	1.627	0.814		
Totale	3	44.000			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose hautement significatif ( $p =0,024$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations de d'*Ocimum basilicum* utilisées après 48h d'exposition avec un  $F=4.508$  (Tableau 18).

**Tableau 18 : Effet dose d'*Ocimum basilicum* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 48h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	3	17.187	5.729	4.508	0.024
Résiduelle	12	15.25	1.270		
Totale	15	32.437			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p = 0,012$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de

mortalité entre les trois concentrations de d'*Ocimum basilicum* utilisées après 72h d'exposition avec un F=82,286 (Tableau 19).

**Tableau 19 : Effet dose d'*Ocimum basilicum* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 72h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	156.203	156.203	82.286	0.012
Résiduelle	2	3.797	1.898		
Totale	3	160.000			

### 3.1.4.3. Etude des paramètres toxicologiques d'*Ocimum basilicum* pendant 24h, 48h et 72h d'exposition

Les Larves du 4<sup>ème</sup> stades de *Culex pipiens* exposés pendant 24h, 48h et 72h à l'extrait de présentent des moyennes de mortalités corrélées aux doses utilisées.

La droite de régression après une exposition de 24h est de la forme :  $Y=1.12x-1.37$ , avec un  $R^2 = 0.96$ , son  $DL_{50}$  est de 28.4g/l et son  $DL_{90}$  est de 93.8g/l.

En ce qui concerne les résultats après 48h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=1.1x+2.62$ ,  $R^2 = 0.96$ , son  $DL_{50}$  est de 2331g/l et son  $DL_{90}$  est de 24829g/l, et enfin pour les résultats après 72h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=2.16x+3.59$ ,  $R^2 = 0.97$ , son  $DL_{50}$  est de 94g/l et son  $DL_{90}$  est de 3927g/l (Tableau 20).

**Tableau 20 : Activité larvicide d'*Ocimum basilicum* à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre *Culex pipiens*.**

Temps d'exposition	$DL_{50}$ (g/l)	95% limite fiduciale (mg/l)		$DL_{90}$ (g/l)	$R^2$	Equation de regression
		Lower	Upper			
24h	28.4	0.39	1.56	93.8	0.96	$Y=1.12x-1.37$
48h	2331	0.4	1.56	24829	0.96	$Y=1.12x+2.62$
72h	94	0.51	1.45	3927	0.97	$Y=2.16x+3.59$

### 3.1.5.Toxicité de l'extrait de *Jasminum polyanthum* sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

Le tableau 21 représente la variation du pourcentage de mortalité des larves de *Culex pipiens* en fonction des 4 concentrations utilisées (0.5g/l, 2g/l, 5g/l et 8g/l) et ceci après 24h, 48 h et 72h d'exposition. En effet après 24 heures de contact avec l'insecticide; la mortalité atteint (12%) pour la dose de 8g/l contre 4% pour la dose de 0.5g/l. Après 48 heures d'exposition, la dose de 8g/l donne un peu plus de 16% de mortalité et enfin une mortalité de 20% a été enregistrée après 72 heures d'exposition à une dose de 8g/l.

**Tableau 21: Toxicité de *Jasminum polyanthum* sur *Culex pipiens***

Temps d'exposition	(Concentrations)			
	0.5g/l	2g/l	5g/l	8g/l
24h	4%	4 %	8%	12%
48h	6%	9 %	12%	16%
72h	8%	9%	12%	20%

#### 3.1.5.1.La régression linéaire de *Jasminum plyanthum* de 24h, 48h et 72heures

Les figures 42, 43 et 44 montrent les données de la droite de régression, et les deux intervalles de confiance. On observe ainsi une tendance linéaire montrant une corrélation entre l'augmentation de la concentration des extraits et le prolongement du temps d'exposition. Les coefficients de détermination  $R^2$ , sur les 3 figures (0.963, 0.988 et 0.922) respectivement, révèlent une liaison positive forte entre les probits et le logarithme des concentrations testées.

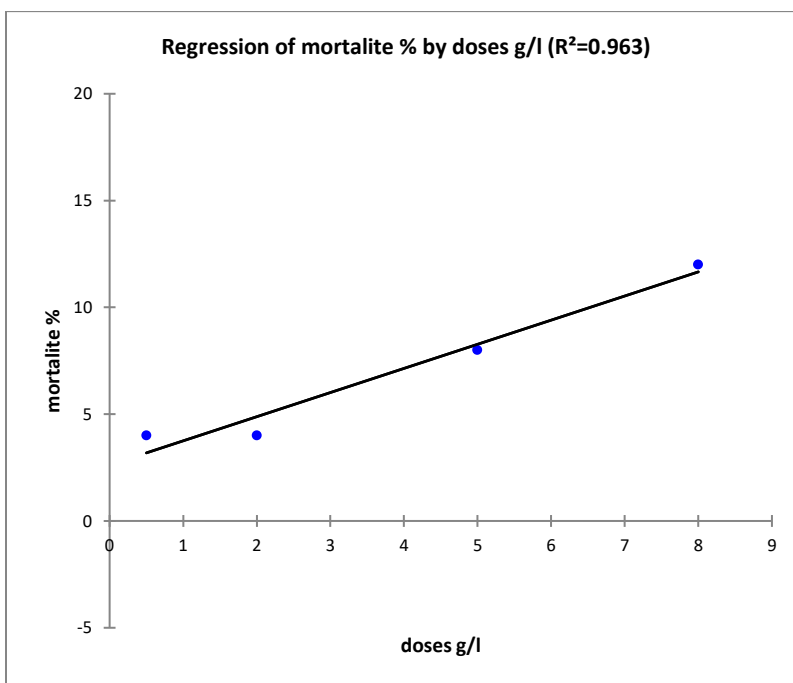


Figure 42: Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Jasminum polyanthum* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 24h d'exposition

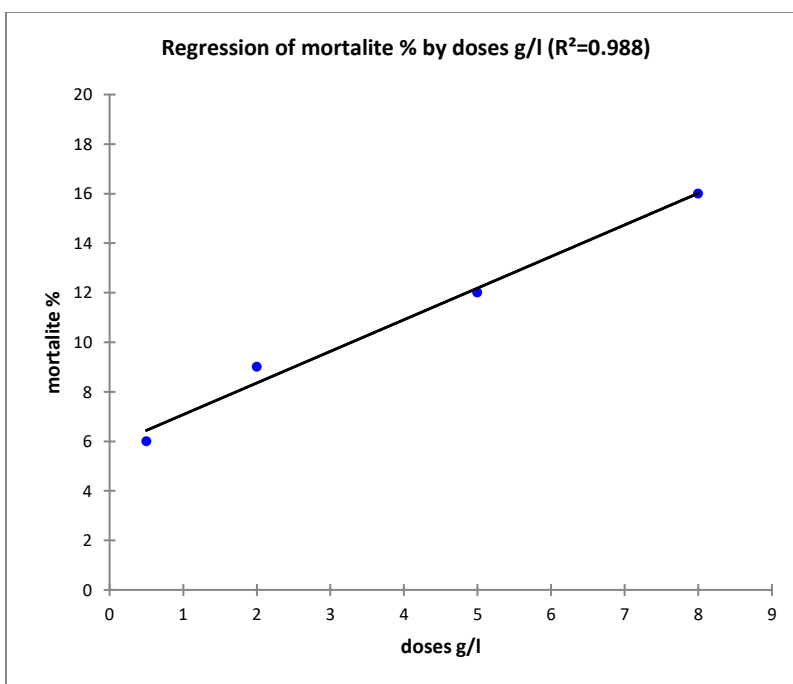
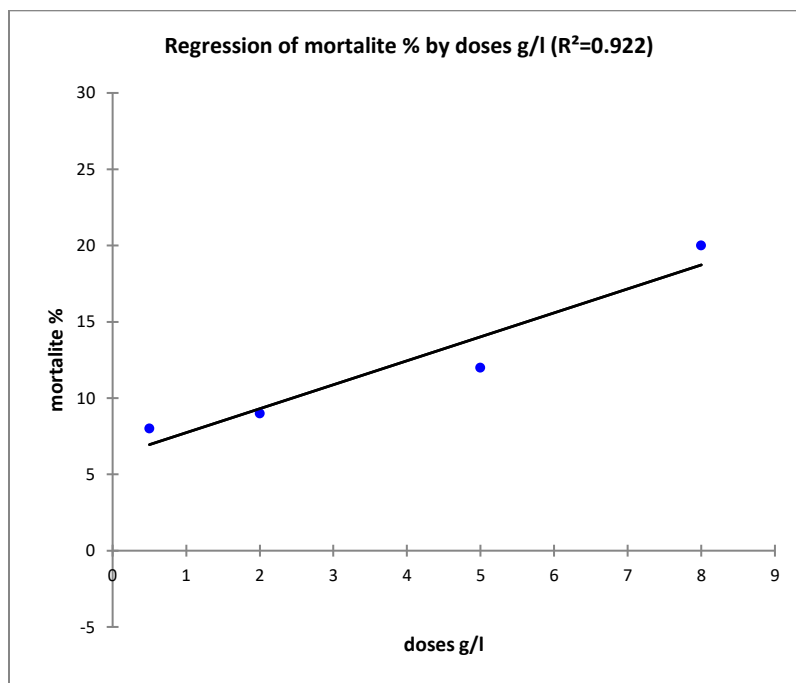


Figure 43 : Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Jasminum polyanthum* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 48h d'exposition





**Figure 44 : Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Jasminum polyanthum* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 72h d'exposition.**

### 3.1.5.2. Etude comparative des doses utilisées de *Jasminum polyanthum* sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose hautement significatif ( $p = 0,019$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations de de *Jasminum polyanthum* utilisées après 24h d'exposition avec un  $F=52,083$  (Tableau 22).

**Tableau 22 : Effet dose de *Jasminum polyanthum* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 24h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	42.373	42.373	52.083	0.019
Résiduelle	2	1.627	0.814		
Totale	3	44.000			

**DDL** : degrés de liberté; **SCE** : somme des carrés entre les groupes; **CM** : moyenne des carrés; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p = 0,006$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations de de *Jasminum polyanthum* utilisées après 48h d'exposition avec un  $F=168,013$  (Tableau 23).

**Tableau 23 : Effet dose de *Jasminum polyanthum* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 48h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	54.106	54.106	168.013	0.006
Résiduelle	2	0.644	0.322		
Totale	3	54.750			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose hautement significatif ( $p = 0,04$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations de de *Jasminum polyanthum* utilisées après 72h d'exposition avec un  $F=23,794$  (Tableau 24).

**Tableau 24 : Effet dose de *Jasminum polyanthum* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 72h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	81.869	81.869	23.794	0.040
Résiduelle	2	6.881	3.441		
Totale	3	88.750			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

### **3.1.5.3. Etude des paramètres toxicologiques de *Jasminum polyanthum* pendant 24h, 48h et 72h d'exposition**

Les Larves du 4<sup>ème</sup> stades de *Culex pipiens* exposés pendant 24h, 48h et 72h à l'extrait de présentent des moyennes de mortalités corrélées aux doses utilisées.

La droite de régression après une exposition de 24h est de la forme :  $Y=1.1x+2.62$ , avec un  $R^2=0,96$ , son  $DL_{50}$  est de 2331g/l et son  $DL_{90}$  est de 24829g/l. En ce qui concerne les résultats après 48h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=1.27x+5.8$ ,  $R^2 = 0.98$ , son  $DL_{50}$  est de 346g/l et son  $DL_{90}$  est de 39529g/l, et enfin pour les résultats après 72h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=1.57x+6.16$ ,  $R^2 = 0.92$ , son  $DL_{50}$  est de 1079g/l et son  $DL_{90}$  est de 15260g/l (Tableau 25).

**Tableau 25 : Activité larvicide de *Jasminum polyanthum* à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre *Culex pipiens*.**

Temps d'exposition	DL <sub>50</sub> (g/l)	95% limite fiduciale (mg/l)		DL <sub>90</sub> (g/l)	R <sup>2</sup>	Equation de regression
		Lower	Upper			
24h	2331	0.39	1.56	24829	0.96	Y=1.12x+2.62
48h	346	0.66	1.32	39529	0.98	Y=1.27x+5.8
72h	1079	0.11	1.8	15260	0.92	Y=1.57x+6.16

### 3.1.6. Toxicité de l'extrait d'*Origanum majorana* sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

Le tableau 26 représente la variation du pourcentage de mortalité des larves de *Culex pipiens* en fonction des 4 concentrations utilisées (0.5g/l, 2g/l, 5g/l et 8g/l) et ceci après 24h, 48h et 72h d'exposition.

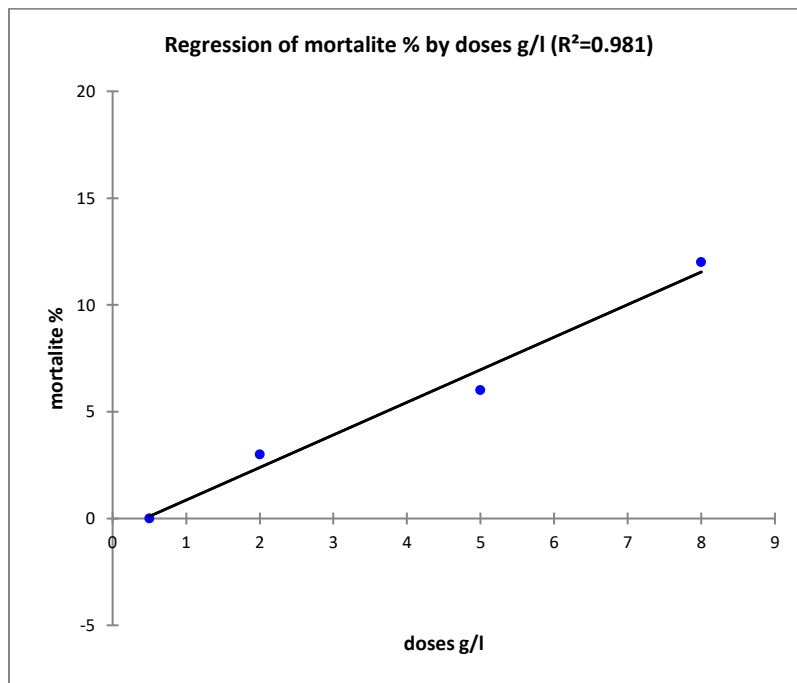
En effet après 24 heures de contact avec l'insecticide; la mortalité atteint (12%) pour la dose de 8g/l contre 0% pour la dose de 0.5g/l. Après 48 heures d'exposition, la dose de 8g/l donne un peu plus de 16% de mortalité et enfin une mortalité de 24% a été enregistrée après 72 heures d'exposition à une dose de 8g/l.

**Tableau 26: Toxicité d'*Origanum majorana* sur *Culex pipiens***

Temps d'exposition	(Concentrations)			
	0.5g/l	2g/l	5g/l	8g/l
	Mortalité%			
24h	0%	3%	6%	12%
48h	2%	6%	10%	16%
72h	5%	8%	13%	24%

### 3.1.6.1. La régression linéaire d'*Origanum majorana* de 24h, 48h et 72heures

Les figures 45, 46 et 48 montrent les données de la droite de régression, et les deux intervalles de confiance. On observe ainsi une tendance linéaire montrant une corrélation entre l'augmentation de la concentration des extraits et le prolongement du temps d'exposition. Les coefficients de détermination  $R^2$ , sur les 3 figures (0.981, 0.989 et 0.964) respectivement, révèlent une liaison positive forte entre les probits et le logarithme des concentrations testées.



**Figure 45 : Droite de régression des concentrations de l'extrait d'*Origanum majorana* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 24h d'exposition**

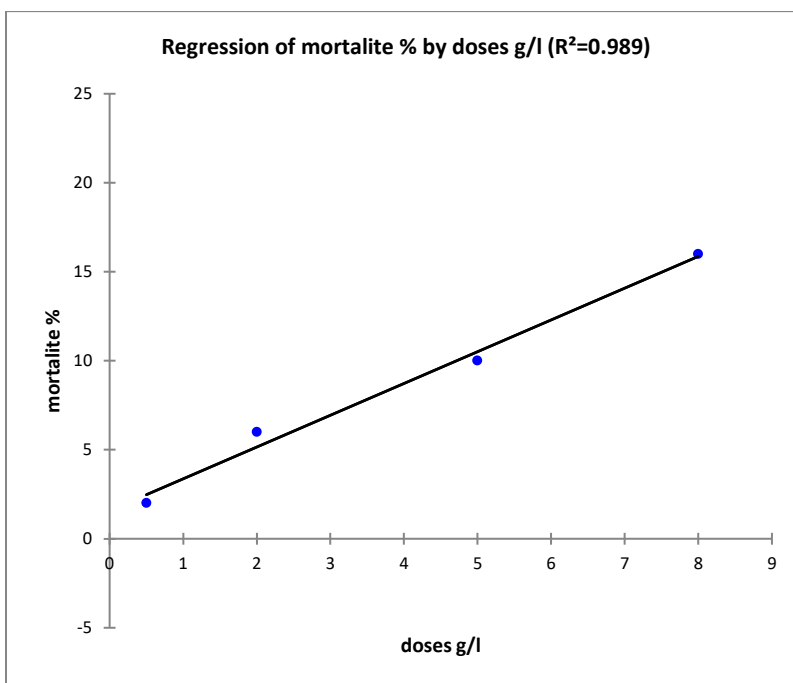


Figure 46 : Droite de régression des concentrations de l'extrait d'*Origanum majorana* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 48h d'exposition

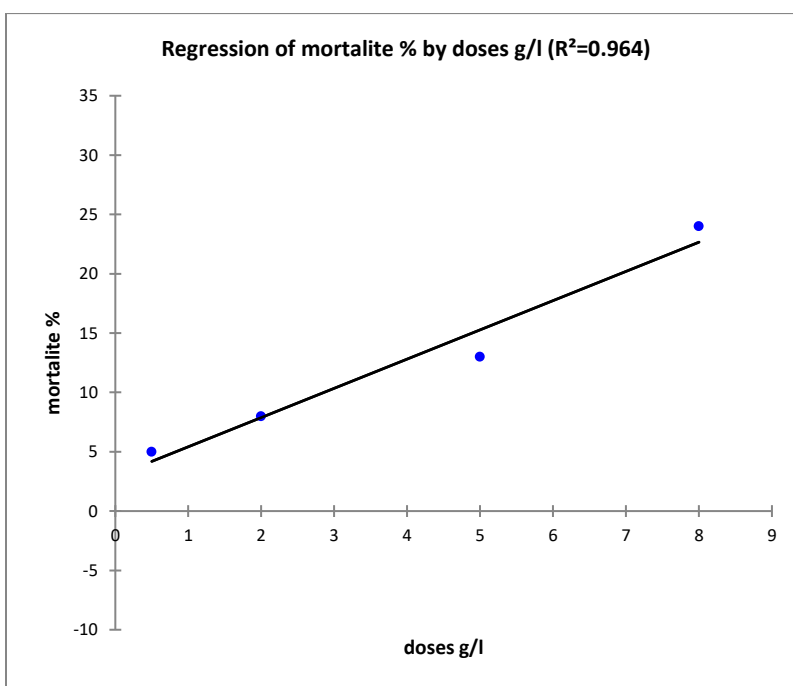


Figure 47 : Droite de régression des concentrations de l'extrait d'*Origanum majorana* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 72h d'exposition

### 3.1.6.2. Etude comparative des doses d'*Origanum majorana* utilisées sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p = 0,01$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations d'*Origanum majorana* utilisées après 24h d'exposition avec un  $F=101,25$  (Tableau 27).

**Tableau 27 : Effet dose d'*Origanum majorana* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 24h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	77.225	77.225	101.250	0.010
Résiduelle	2	1.525	0.763		
Totale	3	78.750			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p = 0,006$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations d'*Origanum majorana* utilisées après 48h d'exposition avec un  $F= 173,361$ (Tableau 28).

**Tableau 28 : Effet dose d'*Origanum majorana* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 48h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	105.780	105.780	173.361	0.006
Résiduelle	2	1.220	0.610		
Totale	3	107.000			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p = 0,018$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de

mortalité entre les trois concentrations d'*Origanum majorana* utilisées après 72h d'exposition avec un F=52,804 (Tableau 29).

**Tableau 29 : Effet dose d'*Origanum majorana* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 72h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	201.373	201.373	52.804	0.018
Résiduelle	2	7.627	3.814		
Totale	3	209.000			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

### 3.1.6.3. Etude des paramètres toxicologiques d'*Origanum majorana* pendant 24h, 48h et 72h d'exposition

Les Larves du 4<sup>ème</sup> stades de *Culex pipiens* exposés pendant 24h, 48h et 72h à l'extrait de présentent des moyennes de mortalités corrélées aux doses utilisées.

La droite de régression après une exposition de 24h est de la forme :  $Y=1.52x-0.66$ , avec un  $R^2=0.98$ , son  $DL_{50}$  est de 84.8g/l et son  $DL_{90}$ est de 957.3g/l.

En ce qui concerne les résultats après 48h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=1.78x+1.58$ ,  $R^2 = 0.98$ , son  $DL_{50}$  est de 67g/l et son  $DL_{90}$  est de 1013g/l, et enfin pour les résultats après 72h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=2.46x+2.95$ ,  $R^2 = 0.96$ , son  $DL_{50}$  est de 74.8g/l et son  $DL_{90}$  est de 2347g/l (Tableau 30).

**Tableau 30 : Activité larvicide d'*Origanum majorana* à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre *Culex pipiens*.**

Temps d'exposition	DL <sub>50</sub> (g/l)	95% limite fiduciale (mg/l)		DL <sub>90</sub> (g/l)	R <sup>2</sup>	Equation de regression
		Lower	Upper			
24h	84.8	0.56	1.41	957.3	0.98	$Y=1.52x-0.66$
48h	67	0.66	1.31	1013	0.98	$Y=1.78x+1.58$
72h	74.8	0.4	1.56	2347	0.96	$Y=2.46x+2.95$

### 3.1.7. Toxicité de l'extrait de *Nicotiana tabacum* sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

Le tableau 31 représente la variation du pourcentage de mortalité des larves de *Culex pipiens* en fonction des 4 concentrations utilisées (0.5g/l, 2g/l, 5g/l et 8g/l) et ceci après 24h, 48h et 72h d'exposition. En effet après 24 heures de contact avec l'insecticide; la mortalité atteint (27%) pour la dose de 8g/l contre 0% pour la dose de 0.5g/l. Après 48 heures d'exposition, la dose de 8g/l donne un peu plus de 30% de mortalité et enfin une mortalité de 38% a été enregistrée après 72 heures d'exposition à une dose de 8g/l.

**Tableau 31: Toxicité de *Nicotiana tabacum* sur *Culex pipiens***

Temps d'exposition	(Concentrations)			
	0.5g/l	2g/l	5g/l	8g/l
24h	0%	5%	14%	27%
48h	5%	10%	17%	30%
72h	13%	19%	26%	38%

#### 3.1.7.1. La régression linéaire de *Nicotiana tabacum* 24h, 48h et 72heures

Les figures 48, 49 et 50 montrent les données de la droite de régression, et les deux intervalles de confiance. On observe ainsi une tendance linéaire montrant une corrélation entre l'augmentation de la concentration des extraits et le prolongement du temps d'exposition. Les coefficients de détermination  $R^2$ , sur les 3 figures (0.988, 0.982 et 0.988) respectivement, révèlent une liaison positive forte entre les probits et le logarithme des concentrations testées.



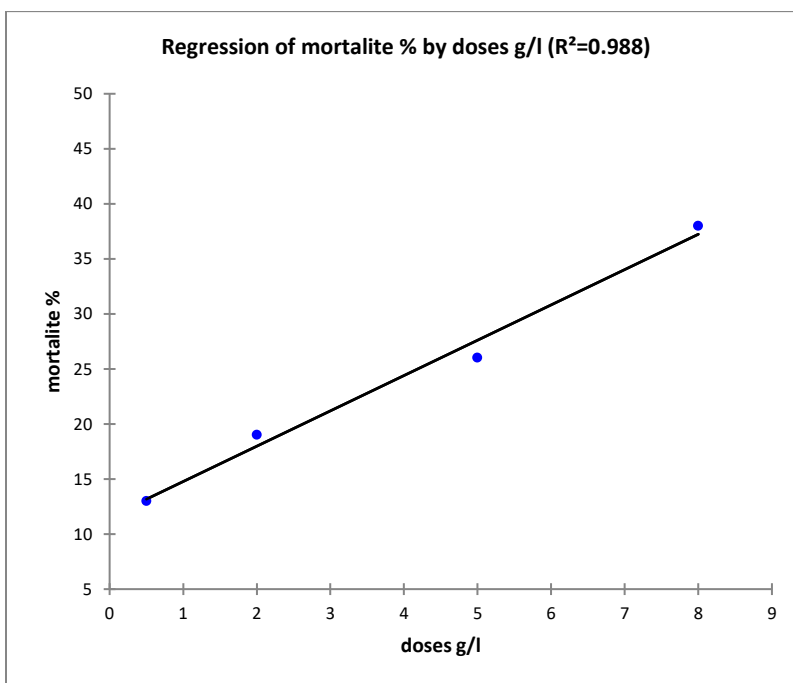


Figure 48 : Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Nicotiana tabacum* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 24h d'exposition

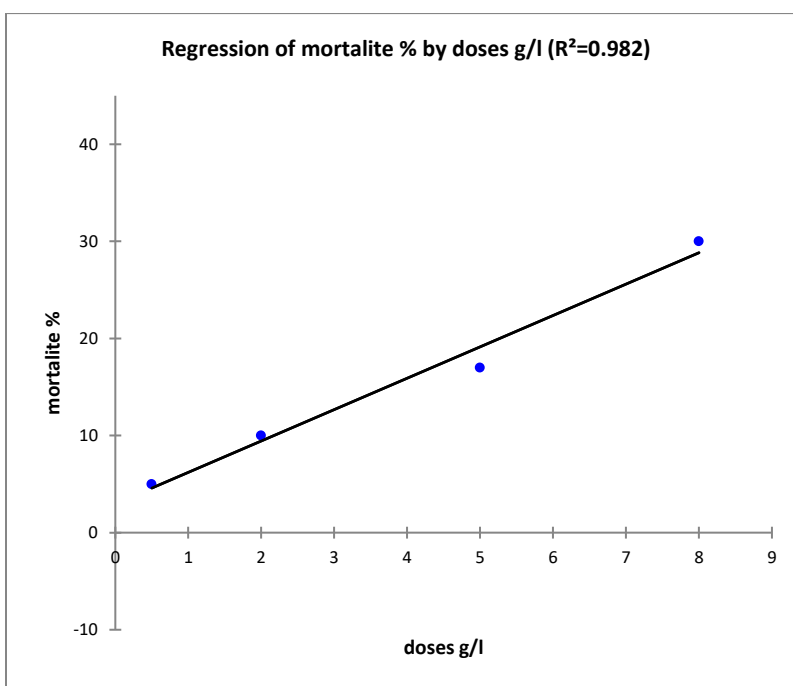
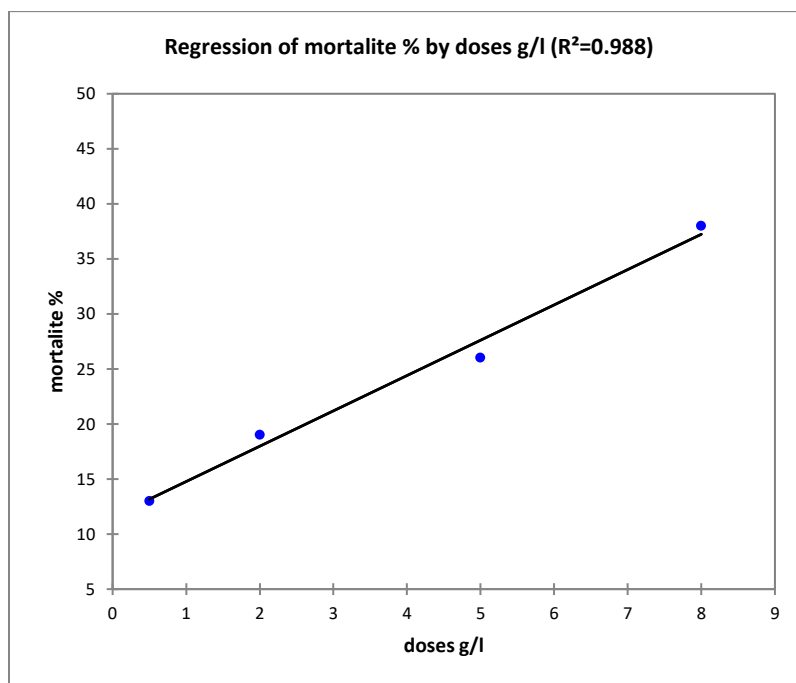


Figure 49 : Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Nicotiana tabacum* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 48h d'exposition



**Figure 50 : Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Nicotiana tabacum* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 72h d'exposition**

### 3.1.7.2. Etude comparative des doses de *Nicotiana tabacum* utilisées sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p = 0,006$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations de *Nicotiana tabacum* utilisées après 24h d'exposition avec un  $F=161,312$ .

**Tableau 32 : Effet dose de *Nicotiana tabacum* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 24h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	341.763	341.763	161.312	0.006
Résiduelle	2	4.237	2.119		
Totale	3	346.000			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p = 0,009$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations de *Nicotiana tabacum* utilisées après 48h d'exposition avec un  $F = 108,196$ .

**Tableau 33 : Effet dose de *Nicotiana tabacum* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 48h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	346.593	346.593	108.196	0.009
Résiduelle	2	6.407	3.203		
Totale	3	353.000			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p = 0,006$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations de *Nicotiana tabacum* utilisées après 72h d'exposition avec un  $F = 161,312$  (Tableau 34).

**Tableau 34: Effet dose de *Nicotiana tabacum* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 72h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	341.763	341.763	161.312	0.006
Résiduelle	2	4.237	2.119		
Totale	3	346.000			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

### **3.1.7.3. Etude des paramètres toxicologiques de *Nicotiana tabacum* pendant 24h, 48h et 72h d'exposition**

Les Larves du 4<sup>ème</sup> stades de *Culex pipiens* exposés pendant 24h, 48h et 72h à l'extrait de présentent des moyennes de mortalités corrélées aux doses utilisées.

La droite de régression après une exposition de 24h est de la forme :  $Y=3.2x+11.56$ , avec un  $R^2 = 0.98$ , son  $DL_{50}$  est de 16.2g/l et son  $DL_{90}$  est de 67.9g/l. En ce qui concerne les résultats après 48h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=3.23x+2.97$ ,  $R^2 = 0.98$ , son  $DL_{50}$  est de 38.4g/l et son  $DL_{90}$  est de 724g/l, et enfin pour les résultats après 72h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=3.2x+11.56$ ,  $R^2 = 0.98$ , son  $DL_{50}$  est de 28g/l et son  $DL_{90}$  est de 455.4g/l (Tableau 35).

**Tableau 35 : Activité larvicide de *Nicotiana tabacum* à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre *Culex pipiens*.**

Temps d'exposition	DL <sub>50</sub> (g/l)	95% limite fiduciale (mg/l)		DL <sub>90</sub> (g/l)	R <sup>2</sup>	Equation de regression
		Lower	Upper			
24h	16.2	0.65	1.33	67.9	0.988	$Y=3.2x+11.56$
48h	38.4	0.58	1.5	724	0.982	$Y=3.23x+2.97$
72h	28	0.65	1.3	455.4	0.988	$Y=3.2x+11.56$

### 3.1.8. Toxicité de l'extrait de *Salvia officinalis* sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

Le tableau 36 représente la variation du pourcentage de mortalité des larves de *Culex pipiens* en fonction des 4 concentrations utilisées (0.5g/l, 2g/l, 5g/l et 8g/l) et ceci après 24h, 48h et 72h d'exposition.

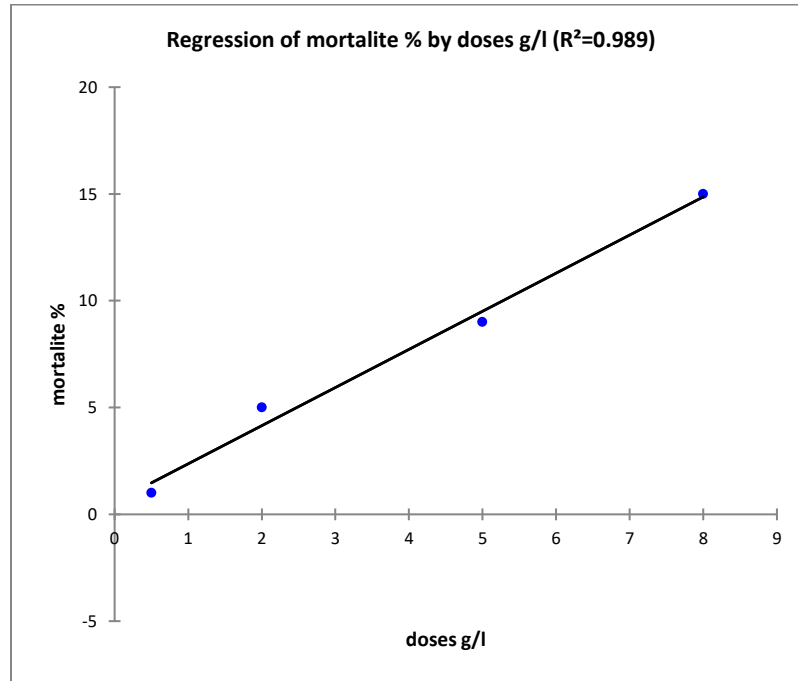
En effet après 24 heures de contact avec l'insecticide; la mortalité atteint (15%) pour la dose de 8g/l contre 1% pour la dose de 0.5g/l. Après 48 heures d'exposition, la dose de 8g/l donne 20% de mortalité et enfin une mortalité de 28% a été enregistrée après 72 heures d'exposition à une dose de 8g/l.

**Tableau 36: Toxicité de *Salvia officinalis* sur *Culex pipiens***

Temps d'exposition	(Concentrations)			
	0.5g/l	2g/l	5g/l	8g/l
Mortalité%				
24h	1%	5%	9%	15%
48h	4%	8%	14%	20%
72h	10%	14%	22%	28%

### 3.1.8.1. La régression linéaire de *Salvia officinalis* 24h, 48h et 72heures

Les figures 51, 52 et 53 montrent les données de la droite de régression, et les deux intervalles de confiance. On observe ainsi une tendance linéaire montrant une corrélation entre l'augmentation de la concentration des extraits et le prolongement du temps d'exposition. Les coefficients de détermination  $R^2$ , sur les 3 figures (0.989, 0.997 et 0.995) respectivement, révèlent une liaison positive forte entre les probits et le logarithme des concentrations testées.



**Figure 51 : Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Salvia officinalis* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 24h d'exposition**

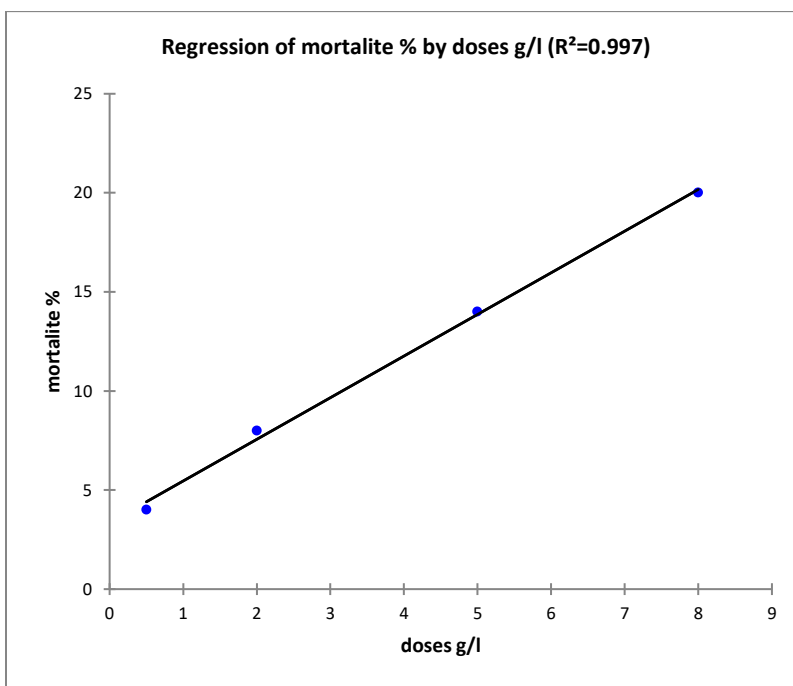


Figure 52 : Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Salvia officinalis* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 48h d'exposition

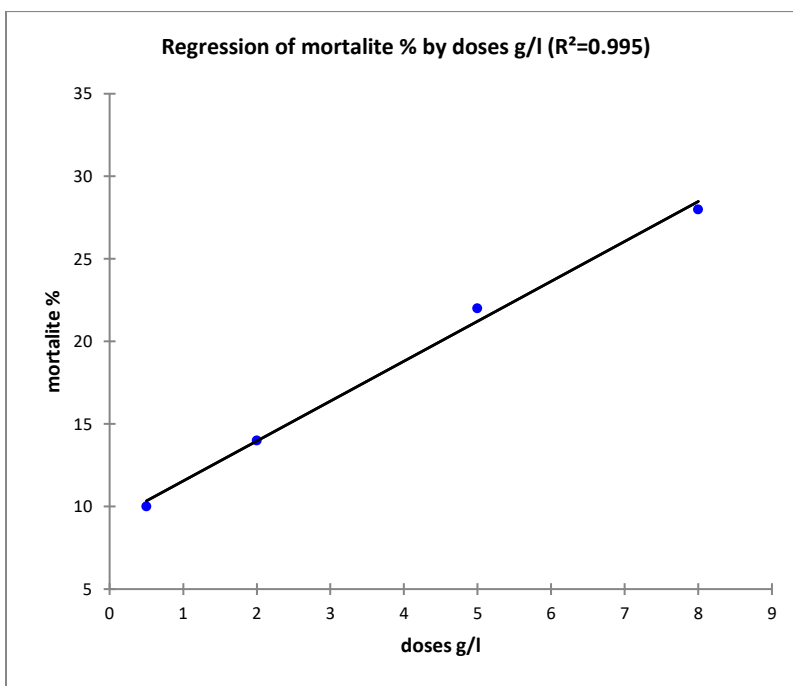


Figure 53 : Droite de régression des concentrations de l'extrait de *Salvia officinalis* en fonction de la mortalité des larves de *Culex pipiens* après 72h d'exposition

### 3.1.8.1. Etude comparative des doses de *Salvia officinalis* utilisées sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p = 0,006$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations de *Salvia officinalis* utilisées après 24h d'exposition avec un  $F=173,361$  (Tableau 37).

**Tableau 37 : Effet dose de *Salvia officinalis* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 24h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	105.780	105.780	173.361	0.006
Résiduelle	2	1.220	0.610		
Totale	3	107.000			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p = 0,001$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de mortalité entre les trois concentrations de *Salvia officinalis* utilisées après 48h d'exposition avec un  $F= 720,750$  (Tableau 38).

**Tableau 38: Effet dose de *Salvia officinalis* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 48h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	146.593	146.593	720.750	0.001
Résiduelle	2	0.407	0.203		
Totale	3	147.000			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

L'analyse de la variance de la mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* montre un effet dose très hautement significatif ( $p =0,002$ ) révélant ainsi, des différences d'action en terme de

mortalité entre les trois concentrations de *Salvia officinalis* utilisées après 72h d'exposition avec un F=408,893 (Tableau 39).

**Tableau 39 : Effet dose de *Salvia officinalis* appliqué sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* après 72h d'exposition. (ANOVA)**

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	194.051	194.051	408.893	0.002
Résiduelle	2	0.949	0.475		
Totale	3	195.000			

**DDL** :degrès de liberté; **SCE** : somme des carrès entre les groupes; **CM** : moyenne des carrès; **Fobs** : valeur de Fisher observée; **P** : valeur de probabilité.

### 3.1.8.2. Etude des paramètres toxicologiques de *Salvia officinalis* pendant 24h, 48h et 72h d'exposition

Les Larves du 4<sup>ème</sup> stades de *Culex pipiens* exposés pendant 24h, 48h et 72h à l'extrait de présentent des moyennes de mortalités corrélées aux doses utilisées.

La droite de régression après une exposition de 24h est de la forme :  $Y=1.78x+0.58$ , avec un  $R^2=0.98$ , son  $DL_{50}$  est de 39.6g/l et son  $DL_{90}$  est de 297g/l. En ce qui concerne les résultats après 48h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=2.1x+3.35$ ,  $R^2 = 0.99$ , son  $DL_{50}$  est de 139.1g/l et son  $DL_{90}$  est de 738g/l, et enfin pour les résultats après 72h de traitement, la droite de régression est de la forme :  $Y=2.41x+9.12$ ,  $R^2 = 0.99$ , son  $DL_{50}$  est de 70.1g/l et son  $DL_{90}$  est de 4943g/l (Tableau 40).

**Tableau 40 : Activité larvicide de *Salvia officinalis* à différentes concentrations, appliquée pendant 24, 48 et 72h contre *Culex pipiens*.**

Temps d'exposition	DL <sub>50</sub> (g/l)	95% limite fiduciale (mg/l)		DL <sub>90</sub> (g/l)	R <sup>2</sup>	Equation de regression
		Lower	Upper			
24h	39.6	0.66	1.31	297	0.989	$Y=1.78x+0.58$
48h	139.1	0.83	1.15	738	0.997	$Y=2.1x+3.35$
72h	70.1	0.78	1.21	4943	0.995	$Y=2.41x+9.12$



Pour une lecture plus aisée, les deux tableaux récapitulatifs suivants sont proposés. Ils mettent en évidence la toxicité des extraits de plantes sur les larves de *Culex pipiens* et l'étude des paramètres toxicologiques pendant 24h, 48h et 72h.

**41. Toxicité des extraits des plantes sur les larves de *culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition**

Plantes testées	Temps d'exposition	(Concentrations)			
		0.5g/l	2g/l	5g/l % Mortalité	8g/l
<i>Eucalyptus globulus</i>	24h	0%	4%	8%	16%
	48h	8%	20%	24%	32%
	72h	28%	44%	48%	82%
<i>Myrtus communis</i>	24h	1%	2 %	6 %	13%
	48h	3%	6%	7%	9%
	72h	5%	6%	12%	18%
<i>Nerium oleander</i>	24h	4%	5%	9%	12%
	48h	9%	16%	23%	35%
	72h	34%	39%	48%	72%
<i>Ocimum basilicum</i>	24h	0%	0%	4%	8%
	48h	4%	4%	8%	12%
	72h	4%	8%	16%	20%
<i>Jasminum polyanthum</i>	24h	4%	4 %	8%	12%
	48h	6%	9 %	12%	16%
	72h	8%	9%	12%	20%
<i>Origanum majorana</i>	24h	0%	3%	6%	12%
	48h	2%	6%	10%	16%
	72h	5%	8%	13%	24%
<i>Nicotiana tabacum</i>	24h	0%	5%	14%	27%
	48h	5%	10%	17%	30%
	72h	13%	19%	26%	38%
<i>Salvia officinalis</i>	24h	1%	5%	9%	15%
	48h	4%	8%	14%	20%
	72h	10%	14%	22%	28%

**42. Étude des paramètres toxicologiques des extraits des plantes pendant 24h, 48h et 72h d'exposition**

Plantes	Temps d'exposition	DL <sub>50</sub> (g/l)	95% limite fiduciale (mg/l)		DL <sub>95</sub> (g/l)	R <sup>2</sup>	Equation de regression
			Lower	Upper			
Eucalyptus globulus	24h	27.6g/l	0.567	1.414	52.1g/l	0.981	Y=2.03x-0.88
	48h	13.45g/l	-0.030	1.924	27.69g/l	0.897	Y=2.84x+9.06
	72h	3.57g/l	0	1.900	10.39g/l	0.902	Y=6.48+25.36
Myrtus communis	24h	67.2g/l	0.37	1.58	21.12g/l	0.960	Y=1.6x-0.71
	48h	609.7gl	-0.03	1.92	38.33g/l	0.897	Y=0.71x+3.49
	72h	105g/l	0.62	1.36	18g/l	0.985	Y=1.79x+3.28
Nerium oleander	24h	364.1g/l	0.37	1.58	83.85g/l	0.960	Y=1.6x-0.71
	48h	264.8g/l	-0.03	1.92	26.83g/l	0.897	Y=0.71x+3.28
	72h	18.4g/l	0.62	1.36	20.7g/l	0.985	Y=1.79x+3.28
Ocimum basilicum	24h	28.4g/l	0.39	1.56	42.31g/l	0.963	Y=1.12x-1.37
	48h	233.1g/l	0.4	1.56	28.66g/l	0.960	Y=1.12x+2.62
	72h	94g/l	0.51	1.45	15.18g/l	0.976	Y=2.16x+3.59
Jasminum polyanthum	24h	16.97g/l	0.39	1.56	27.17g/l	0.963	Y=1.12x+2.62
	48h	18.6g/l	0.66	1.32	30.06g/l	0.988	Y=1.27x+5.8
	72h	16.07g/l	0.11	1.8	26.78g/l	0.922	Y=1.57x+6.16
Origanum majorana	24h	84.8g/l	0.56	1.41	62.93g/l	0.980	Y=1.52x-0.66
	48h	67g/l	0.66	1.31	52.48g/l	0.989	Y=1.78x+1.58
	72h	74.8g/l	0.4	1.56	37.41g/l	0.964	Y=2.46x+2.95
Nicotiana tabacum	24h	16.2g/l	0.65	1.33	26.07g/l	0.988	Y=3.2x+11.56
	48h	38.4g/l	0.58	1.5	28.49g/l	0.982	Y=3.23x+2.97
	72h	28g/l	0.65	1.33	26g/l	0.988	Y=3.2x+11.56
Salvia officinalis	24h	39.6g/l	0.66	1.31	53.04g/l	0.989	Y=1.78x+0.58
	48h	139.1g/l	0.83	1.15	43.64g/l	0.997	Y=2.1x+3.35
	72h	70.1g/l	0.78	1.21	35.63g/l	0.995	Y=2.41x+9.12

### 3.2. Etude histologique des larves traitées avec l'extrait de *Eucalyptus globulus*

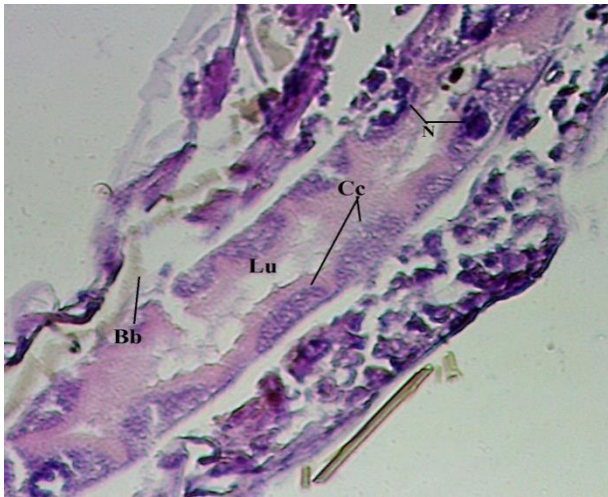
L'organisation générale d'une portion du tube digestif d'une larve témoin de stade 4 de *Culex pipiens* est donnée par la figure 6 (Cf chapitre 1).

Nous limiterons la présentation de l'histologie à deux régions, l'intestin moyen (mésentéron), qui est en effet le siège majeur de l'absorption, et les caeca gastriques des larves de stade 4.

#### 3.2.1. Examen histologie d'une larve témoin (non traitée)

L'histologie des caeca gastriques d'une larve témoin, met en évidence les cellules des caeca gastriques lesquelles sont de forme variable avec une bordure en brosse (fig.54) (grossissement  $\times 400$ )

L'intestin moyen d'une larve du 4<sup>ème</sup> stade larvaire non traitée, est constitué de tissus épithéliaux avec noyau en position centrale (fig.55) (grossissement  $\times 400$ ).



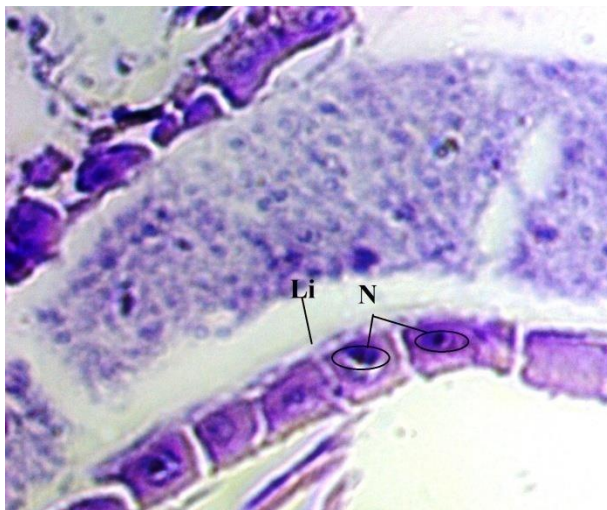
**Fig 54: Coupe longitudinale des cellules des caeca gastriques d'une larve témoin de *Culex pipiens***

**Bb:** Bordures en brosse.

**Lu:** Lumière des caeca gastriques

**Cc:** Cellules des caeca gastriques

**N:** Noyau.



**Fig 55: Coupe longitudinale des cellules de l'intestin moyen D'une larve témoin de *Culex pipiens***

**Li:** Lumière intestinale

**N:** Noyau

### 3.2.2. Examen histologique des larves traitées à l'extrait aqueux de *Eucalyptus globulus*

L'étude des modifications histologiques observées au cours des différentes étapes du processus entraînant la mort des larves de *Culex pipiens* nous a permis de voir que seul l'intestin moyen et les caeca gastriques ont subi de profonds changements.

#### 3.2.2.1. Les caeca gastriques

Après 2h d'exposition des larves de *Culex pipiens* à la DL<sub>50</sub> l'extrait aqueux de *Eucalyptus globulus*, les cellules des caeca gastriques ont subi une hypertrophie cellulaire légère (fig.56).



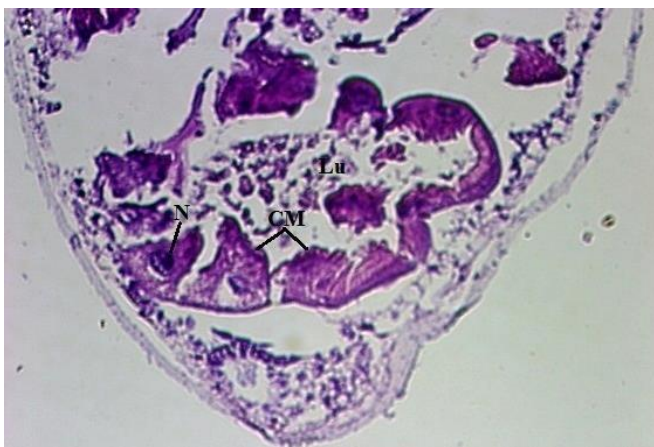
**Fig 56: Coupe longitudinale des cellules des caeca gastriques après 2h d'exposition. ×400**

**Ch:** Cellules hypertrophiées ;

**Lu:** Lumière des caeca gastriques ;

**N:** Noyau.

Les cellules de cette région sont morphologiquement modifiées et complètement désorganisées après 4h de contact (fig.57).



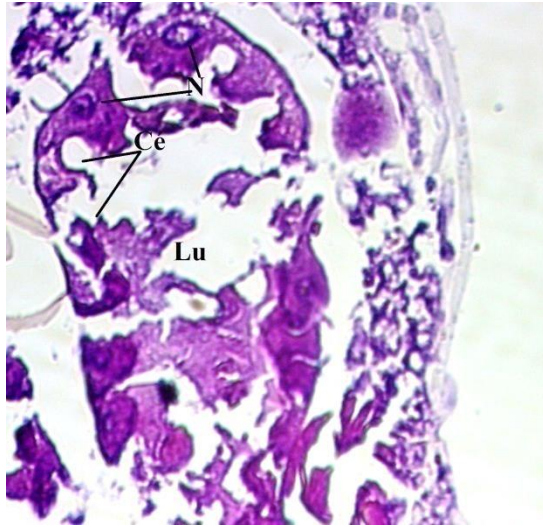
**Fig57: Coupe longitudinale des cellules des caeca gastriques après 4h d'exposition.×400**

**Cm:** Cellules malformées ;

**Lu:** Lumière des caeca gastriques ;

**N:** Noyau.

Après 6h de traitement, les cellules des caeca gastriques éclatent, et des rejets des débris cytoplasmiques dans la lumière des caecagastriques sont observés (fig.58).



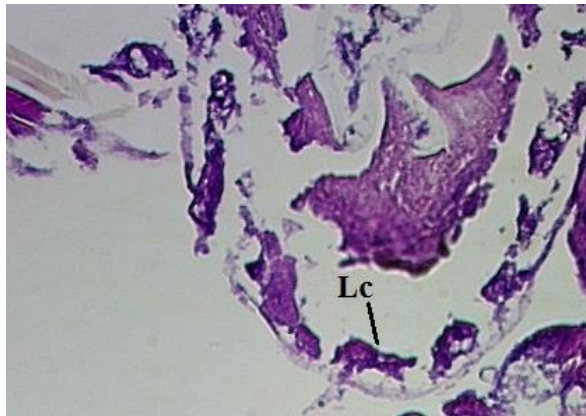
**Fig 58: Coupe longitudinale des cellules des caecae gastriques après 6h d'exposition. ×400**

**Lu:**Lumière des caeca gastriques ;

**Ce:** Cellules éclatées ;

**N:** Noyau.

Les cellules commencent à dégénérer après 12h d'exposition à l'extrait aqueux (fig.59), jusqu'à leur destruction presque complète après 24h (fig.60).



**Fig 59: Coupe longitudinale des cellules des caeca gastriques après 12h d'exposition.×400**

**Lc:**Lyse cellulaire.



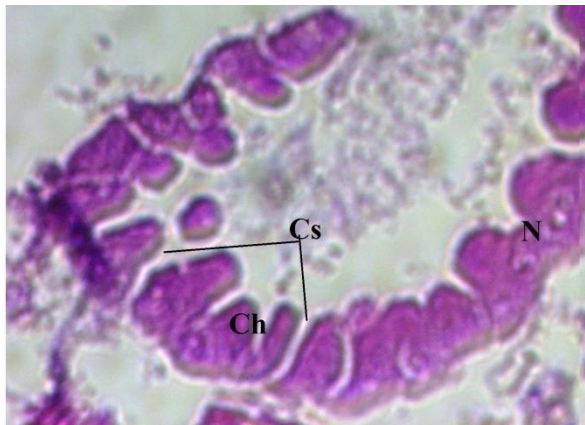
**Fig 60: Coupe longitudinale des cellules des caeca gastriques après 24h d'exposition.×400**

**Lu:** Lumière des caeca gastriques ;

**Cd:** Cellules détruites.

### 3.2.2.2. L'intestin moyen des larves

Les premières modifications s'observent après 4h d'exposition à l'extrait aqueux de l'Eucalyptus. On constate une hypertrophie des cellules intestinales lesquelles commencent à se détacher les unes des autres (fig.61). Cela s'explique par le fait que les liaisons intercellulaires « jonctions » sont rompus.



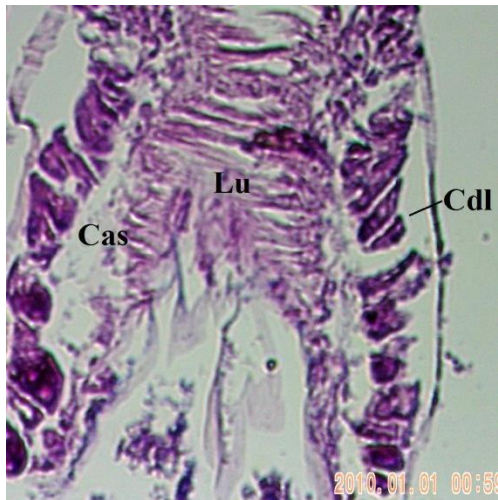
**Fig 61: Coupe longitudinale des cellules de l'intestin moyen de larves de *Culex pipiens* après 4h d'exposition.×400**

**Ch:** Cellules hypertrophiées ;

**Cs:** Cellules séparées ;

**N:** Noyau.

Après 6h de traitement, les cellules sont bien séparées, et prennent une forme allongée. On remarque également qu'elles sont détachées de leur lame basale (fig.62).



**Fig 62: Coupe longitudinale des cellules intestinales de *Culex pipiens* après 6h d'exposition.×400**

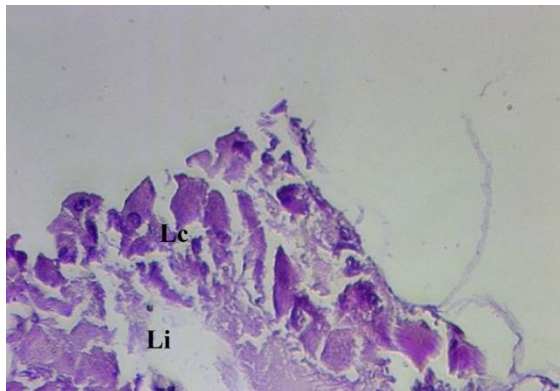
**Cas:**Cellules allongées et séparées ;

**Lu:** Lumière intestinale ;

**Cdl:**Cellules détachées de la lame basale.

La figure 63, montre l'état des cellules intestinales des larves après 12h d'exposition. Une lyse cellulaire est observée avec un rejet des débris cytoplasmiques dans la lumière intestinale.

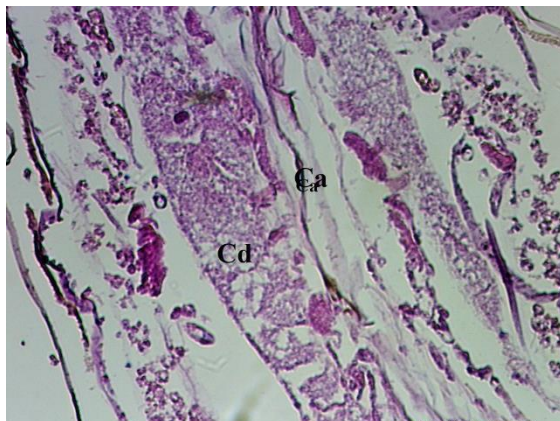
Après 24h toutes les cellules de cette région sont détruites (fig.64).



**Fig 63: Coupe longitudinale des cellules de l'intestin moyen d'une larve de *Culex pipiens* après 12h d'exposition.×400**

**Lc:** Lyse cellulaire.

**Li:** Lumière intestinale.



**Fig 64: Coupe longitudinale des cellules de l'intestin moyen d'une larve de *Culex pipiens* après 24h d'exposition.×400**

**Cd:** Cellules détruites

**Ca:** Canal alimentaire

### 3.3. Etude biométrique des adultes

Dans le but de démontrer l'influence des extraits aqueux des plantes sur le développement morphologique des moustiques *Culex pipiens*, une étude biométrique a été réalisée sur plusieurs critères morphologiques des adultes, issus des larves traitées avec les extraits des plantes par rapport aux adultes témoins.

#### 3.3.1. Etude biométrique des adultes mâles

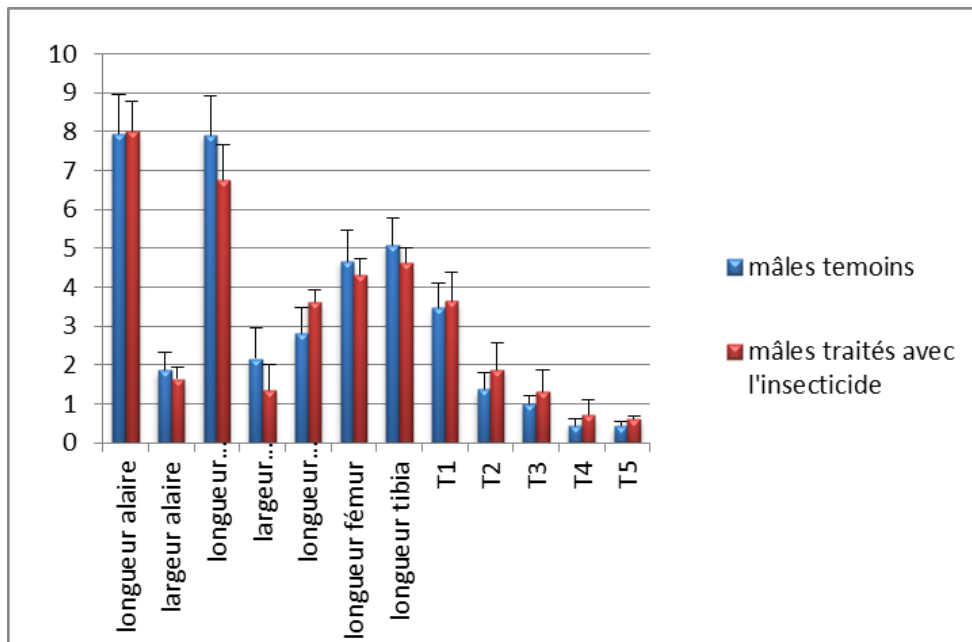
Les mensurations des critères descriptifs sélectionnés pour les mâles issus des larves exposées aux insecticides et les mâles témoins sont dans le tableau 43 ci-dessous.

**Tableau 43 : mensurations moyennes des critères des mâles témoins et traités (mm)**

<b>Critères descriptifs</b>	<b>Moyenne (mâles exposés) (mm)</b>	<b>Ecart type (mâles exposés)</b>	<b>Moyenne (mâles témoins) (mm)</b>	<b>Ecart Type (mâles témoins)</b>
long ailes	3.04	0.78	3.021	1
larg ailes	0.62472	0.304	0.70908	0.44
long abd	2.56272	0.9	3.00808	1
larg abd	0.51566	0.66	0.82308	0.79
long ant	1.37864	0.287	1.064	0.67
Long fémure	1.63856	0.405	1.77308	0.81
long tibia	1.75256	0.412	1.93154	0.69
T1	1.38206	0.74	1.31708	0.63
T2	0.7163	0.684	0.52554	0.4
T3	0.49932	0.558	0.38	0.21
T4	0.27132	0.401	0.171	0.15
T5	0.23332	0.07	0.16454	0.1

**Long** : longueur; **larg** : largeur; **abd** : abdomén; **ant** : antennes; **T** : tarses.





**Figure 65 : Représentation des mensurations moyennes des adultes mâles.**

La figure 65 illustre une représentation en histogramme des mensurations moyennes des critères descriptifs sélectionnés sur les adultes mâles. Les mensurations ont été réalisées sur les mâles issus des larves traitées et sur les mâles issus des larves témoins. La comparaison entre les valeurs moyennes indique que les séries témoins et les séries traitées présentent des différences légères.

Ces résultats, mettent en évidence les différences entre les mensurations des mâles exposés aux insecticides et des mâles témoins par rapport à la plupart des critères choisis.

Pour mieux évaluer cette étude nous avons réalisé une analyse de variance multivariée (MANOVA).

### 3.3.1.1. Etude de l'effet des extraits de plantes sur le développement morphologique des moustiques mâles *Culex pipiens*

	Q1
<b>Lambda</b>	0.009
<b>F(Valeurs observées)</b>	18.639
<b>DDL1</b>	12
<b>DDL2</b>	2
<b>F(Valeur critique)</b>	19.413
<b>p-value</b>	0.052

**F** : valeur de Fisher; **DDL** : degrés de liberté; **P** : valeur de la probabilité.

La valeur de p calculée (0.052) est supérieure au niveau de signification (0,05), ce qui signifie que l'extrait aqueux testé n'a pas d'effet significatif sur les critères étudiés et alors sur le développement des larves mâles du moustique.

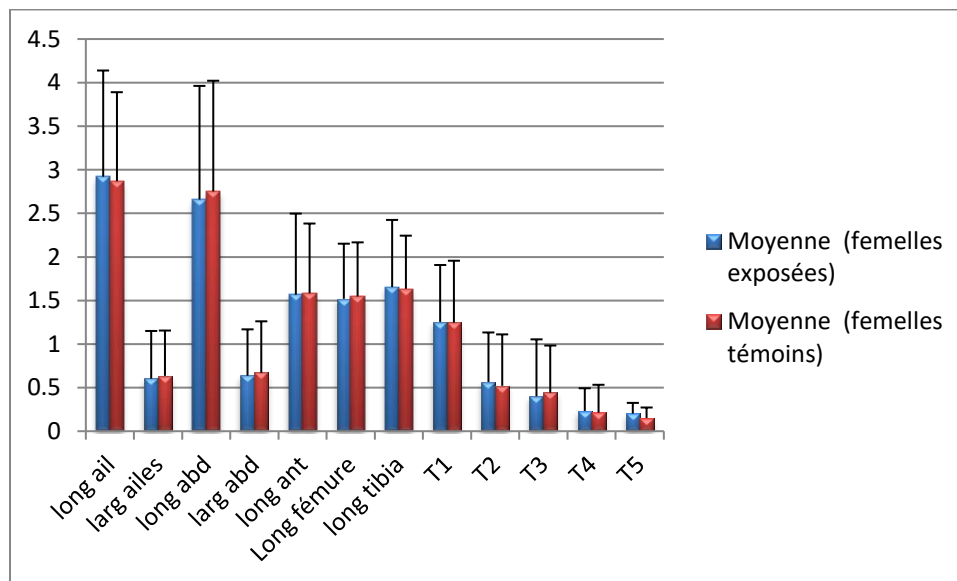
### 3.3.2. Etude biométrique des adultes femelles

Les mensurations moyennes des critères pour les femelles traitées et celles témoins sont mentionnées dans le tableau 44

**Tableau 42 : mensurations moyennes des critères des femelles témoins et traités (mm)**

Critères Descriptifs	Moyenne (femellesexposées) (mm)	Ecart type (femellesexposées)	Moyenne (femellestémoins)(mm)	Ecart Type (femelles témoins)
long ail	2.92144	0.78	2.87014	1
larg ailes	0.60344	0.304	0.63498	0.44
long abd	2.66	0.9	2.75196	1
larg abd	0.63726	0.66	0.67108	0.79
long ant	1.56636	0.287	1.58308	0.67
Long fémure	1.52	0.405	1.54698	0.81
long tibia	1.6549	0.412	1.634	0.69
T1	1.254	0.74	1.2464	0.63
T2	0.56544	0.684	0.52098	0.4
T3	0.4009	0.558	0.44308	0.21
T4	0.23218	0.401	0.2128	0.15
T5	0.20254	0.07	0.152	0.1

Long : longueur; larg : largeur; abd : abdomén; ant : antennes; T : tarses.



**Figure 66 : Histogramme représentant les mensurations moyennes des femelles témoins et traitées.**

La figure 66 illustre une représentation en histogramme des mensurations moyennes des critères descriptifs sélectionnés sur les adultes femelles. Les mensurations ont été réalisées sur les femelles issues des larves traitées et sur les femelles issues des larves témoins. La comparaison entre les valeurs moyennes indique que les séries témoins et les séries traitées présentent des différences légères.

### 3.3.2.1. Etude de l'effet des extraits de plantes sur le développement morphologique des moustiques femelles *Culex pipiens*

	<b>Q1</b>
<b>Lambda</b>	0.579
<b>F (Valeurs observées)</b>	0.121
<b>DDL1</b>	12
<b>DDL2</b>	2
<b>F (Valeur critique)</b>	19.413
<b>p-value</b>	0.994

**F** : valeur de Fisher; **DDL** : degrés de liberté; **P** : valeur de la probabilité.

La valeur de p calculée (0.994) est supérieure au niveau de signification (0,05), ce qui signifie que l'extrait aqueux testé n'a pas d'effet significatif sur les critères étudiés et alors sur le développement des larves femelles du moustique.

## CHAPITRE 4. DISCUSSION

### 4.1. Activité larvicide des plantes sur les larves L4 de *Culex pipiens*

Pour pallier aux inconvénients des insecticides chimiques et leur impact nocif sur la santé et l'environnement, les chercheurs ont eu recours à des alternatives naturels remplissant le même rôle et présentant des avantages écologiques et économiques. Il s'agit principalement des extraits de plantes aromatiques et médicinales, qui ont depuis toujours occupé une place importante dans la vie des peuples.

Ainsi l'étude de l'activité biologique et biotechnologique de ces extraits n'a jamais cessé de se développer.

Elle a souvent abouti à affirmer les propriétés toxiques antivirale, antibactérienne ou antifongique de ces plantes dans leur intégralité (feuilles, fruits, fleurs, racines et l'écorce) (Tennyson *et al.*, 2012).

Dans notre étude, nous avons évalué l'activité larvicide sur les larves de *Culex pipiens* de 8 plantes à savoir : *Eucalyptus globulus*, *Nerium oleander* (laurier-rose), le basilic (*Ocimum basilicum*), le Myrte (*Myrtus communis*), la marjolaine (*Origanum majorana*), la sauge (*Salvia officinalis*), le tabac (*Nicotiana tabacum*) et le jasmin (*Jasminum polyanthum*).

Nos résultats révèlent une relation directe entre le taux de mortalité des larves et la dose à laquelle elles ont été exposées, comme le confirme El banna (2006) dans ses études. L'auteur a aussi montré une relation directe entre la mortalité et le temps d'exposition, où la mortalité augmente de la première heure jusqu'à la dernière.

Ce même résultat concorde parfaitement avec les explications apportées dans l'étude de Seye *et al.*, (2006). Les auteurs stipulent dans leur étude toxicologique, portant sur l'effet de la poudre de neem testée à l'égard des stades préimaginaux de *Culex quinquefasciatus*, que les substances actives contenues dans l'extrait sont libérées lentement induisant une mortalité progressive.

Ce qui a été également rapportés dans l'étude de Koua, (1994) portant sur l'effet de l'extrait aqueux de *Persea americana* sur différents stades larvaires d'*Anopheles gambiaes*, en effet, l'auteur précise que tous les stades larvaires d'*Anopheles gambiaes* sont sensibles à l'extrait aqueux de *Persea Americana* et que cette sensibilité augmente avec la concentration et la durée

de contact larve-insecticide. Ce qui est expliqué par une chronologie d'action de la toxine présente dans l'extrait aqueux de *Persea americana*.

Pour mieux présenter l'efficacité d'un insecticide, nous avons calculé les concentrations létales ( $DL_{50}$ ) pour chaque extrait de plante. Nous avons constaté que les doses létales diminuent quand on prolonge la durée d'exposition.

Ainsi, de tous les extraits, nous avons constaté que le plus grand taux de mortalité est engendré par l'*Eucalyptus globulus* avec une mortalité de 82% pour la dose de 8g/l après 72h d'exposition. C'est également l'extrait qui agit à des concentrations relativement faibles ( $DL_{50}$ = 3.75g/l après 72 h d'exposition). L'extrait du *Nerium oleander* agit également à des concentrations relativement faibles ( $DL_{50}$ =18,7 g/l après 72h d'exposition) suivi par le tabac (*Nicotiana tabacum*) qui engendre, après 72h de contact avec les larves, une mortalité de 38% pour la concentration de 8g/l. la dose létale calculée pour cet extrait après 72h est égale à 28.82 g/l.

Vient par la suite les extraits du basilic (*Ocimum basilicum*), la marjolaine (*Origanum majorana*), la sauge (*Salvia officinalis*) et le jasmin (*Jasminumpolyanthum*). Ils engendrent une mortalité entre 20% et 28% des larves traitées. Une mortalité de 20% des larves traitées est marquée pour les extraits du basilic et du jasmin, ainsi nous avons déterminé une  $DL_{50}$  = 94.9g/l et 1079.6g/l respectivement après 72h d'exposition. En ce qui concerne la marjolaine, on observe un taux de mortalité de 24% et une  $DL_{50}$  = 74.8 g/l après 72h d'exposition. Enfin l'extrait aqueux de la sauge a causé une mortalité de 28% des larves traitées après 72h et une  $DL_{50}$ = 70.1 g/l.

Finalement, l'extrait ayant entraîné le taux de mortalité le plus faible (18%) est le myrte, dont la  $DL_{50}$  marquée pour cette plante est égale à 105.5 g/l après 72h de traitement.

Les résultats de notre étude sur la toxicité de l'*Eucalyptus* sont en accord avec les expérimentations d'El banna (2006) et Tennyson et son équipe (2012) sur l'utilisation de l'*Eucalyptus* sur les larves des moustiques *Culex pipiens* et *Aedes aegypti* respectivement. Un effet toxique est observé sur les larves du 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> stades larvaires. Les auteurs suggèrent qu'il y a présence des composants toxiques dans cette plante à l'égard des larves des moustiques.

Cette toxicité est également rapportée sur d'autres diptères. Citons par exemple *Lutzomyia longipalpis* (Psychodidae) (Maciel, 2010), *Musca domestica* et *Chrysomia megacephala* (mouches) (Sukontason *et al.*, 2007). Par ailleurs, l'*Eucalyptus* est cité par Batish (2008) pour

son activité insecticide sur *Tribolium confusum* (coléoptère). Le même auteur a mentionné l'activité antimicrobienne que possède *Eucalyptus camaldulensis* sur plusieurs bactéries comme *Penicillium digitatum*, *colletotrichum graminicola*, *Phoma sorghina*.

L'espèce *Nerium oleander* qui a engendrée une mortalité de 72% au bout de 72h d'exposition sur les larves de *Culex pipiens* est également citée dans plusieurs expérimentations comme étant un bon larvicide. Citons l'exemple de Aouinty *et al.* (2006) ainsi que Alaoui (2009) et Raveen *et al.* (2014) rapportent dans leurs essais une activité larvicide de cette plante sur les larves de stade 4 de *Culex pipiens*.

La troisième plante classée en termes de toxicité est le tabac (*Nicotiana tabacum*) avec 38% de mortalité. Cette plante a la particularité de dégager une odeur répulsive des moustiques qui devient plus forte le soir. Parmi les auteurs qui ont utilisé le tabac pour son effet insecticide, citons Ogbalu *et al.* (2014), qui ont évalué son activité insecticide à l'égard du troisième stade larvaire des mouches *Musca domestica* L. il en est de même pour Boulogne (2011) qui a montré le potentiel insecticide et antifongique du tabac.

La plante qui suit le tabac en termes de toxicité est la sauge (*Salvia officinalis*), l'extrait de cette plante a engendré 28% de mortalité sur les larves de *Culex pipiens*. L'huile de cette plante a été isolée et élucidée par Abou-Elnaga (2014). La myristicine était le composé bioactif avec l'effet larvicide le plus élevé contre les larves de *Culex pipiens* et *Aedes Aegypti*, après 24 h de traitement. Ali *et al.* (2015) ont fait le même travail sur *Aedes aegypti* et *Anopheles quadrimaculatus*.

Une autre variété de sauge à savoir *Salvia sclarea* est aussi impliquée dans la toxicité sur les larves du moustique *Culex pipiens* (Cetin *et al.* 2006) en Turquie, l'extrait éthanolique de la plante a réagi avec une dose létale égale à 62.7ppm après 24h d'exposition.

En dehors des moustiques, la sauge a été identifiée pour son effet toxique sur d'autres insectes citons comme exemple le ver du cotonnier (*Spodoptera littoralis*) (Souguir *et al.*, 2013) et le vecteur majeur de l'agent pathogène responsable de la fièvre de la côte Est, *Rhipicephalus appendiculatus* (Nyabayo *et al.*, 2015).

Concernant la marjolaine (*Origanum majorana*) a engendré un taux de mortalité égal à 24% des larves traitées. Cette plante a fait l'objet de plusieurs études, son huile essentielle est composée principalement de monoterpène. Elle a été testée sur les larves de *Culex pipiens* au Maroc par El-Akhal *et al.* (2014). Les auteurs ont observé une activité larvicide considérable en fonction de la concentration, avec une LC<sub>50</sub> de l'ordre de 258.71mg/l.

Cetin et Yanikoglu (2006) ont étudié l'activité des huiles essentielles isolées de deux espèces d'*Origanum* (*Origanum onites* L. et *Origanum minutiflorum*) sur les larves des 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> stades du moustique *Culex pipiens* L. (Diptera : Culicidae). Les résultats obtenus par les auteurs révèlent des valeurs de 24,8 et 61,3 ppm, et 73,8 et 118,9 ppm pour les LC<sub>50</sub> et LC<sub>90</sub> respectivement.

Cette plante a aussi montré une efficacité contre d'autres espèces différentes tel que le ver du cotonnier (*Spodoptera littoralis*) (Souguir *et al.*, 2013) et le crustacés *Artemia salina* (Djamae *et al.*, 2015).

En ce qui concerne le basilic qui a causé 20% de la mortalité des larves, nos résultats sont en accord avec les travaux de Prajapati et Tripathi (2005) qui ont étudié l'effet insecticide, larvicide et ovoïcide de l'huile essentielle de l'*Ocimum basilicum* sur les espèces, *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* et *Culex quinquefasciatus*. L'huile essentielle du basilic a montré une activité larvicide intéressante et un effet répulsif sur les adultes. Ntonifor *et al.* (2006) ont mené une étude dans une localité rurale du Cameroun, pour documenter et évaluer l'efficacité de traitement insecticide avec deux plantes dont *Ocimum basilicum*. La plante a donné des résultats positifs comme insecticide, et était utilisée de manière importante par les populations locales pour lutter contre les piqûres de moustiques. Les huiles essentielles obtenus par l'hydrodistillation des feuilles de deux espèces de basilic (*Ocimum basilicum* et *Ocimum canum*) ont été analysées et leur efficacité sur les adultes d'*Anopheles funestus* du Cameroun est rapportée par Ntonga *et al.* (2012).

Les tests biologiques effectués ont révélé que ces huiles possèdent de remarquables propriétés insecticides. Elles induisent 100% de mortalité des adultes d'*Anopheles funestus* à 200 ppm de concentration pour *Ocimum canum* et 250 ppm de concentration pour *Ocimum basilicum*.



Murugan *et al.* (2007) ont obtenu des résultats similaires dans leur étude sur l'effet larvicide et répulsif d'*Ocimum basilicum* sur le vecteur de la dengue, *Aedes aegypti*. Les mêmes résultats ont été obtenus au Brésil par Cavalcanti *et al.* (2004). D'autres auteurs comme Muse (2002) ont étudié l'effet de 16 plantes dont *Ocimum gratissimum* sur le développement larvaire du moustique *Aedes aegypti*. Le pourcentage de larves vivantes après 5 jours d'exposition s'est révélé significativement inférieur au pourcentage de larves vivantes du lot témoin.

Par ailleurs, l'effet de certaines plantes sur la mortalité larvaire, la biologie et les paramètres biochimiques d'*Anopheles stephensis* a été étudié par Vinayagam *et al.* (2008). Sur dix plantes, une mortalité de 100% a été observée après 24h de traitement chez quatre plantes dont l'*Ocimum sanctum*.

Bekele et Hassanali (2001) ont également étudié l'effet du camphre, constituant majeur d'une variété de basilic (*Ocimum kilimandsharicum*) sur plusieurs espèces des coléoptères. Leurs résultats ont initié de nombreuses recherches sur l'utilisation potentielle de produits dérivés du basilic dans la lutte contre les insectes ravageurs de cultures dans de nombreux pays en développement.

Quant à l'extrait du jasmin, nos résultats montrent une efficacité proche de celle du basilic avec 20% de mortalité. Une étude similaire réalisée par Raveen *et al.* (2015) impliquant les extraits des fleurs de trois variétés du jasmin (*Jasminum auriculatum*, *Jasminum grandiflorum* et *Jasminum officinale*) pour leur efficacité larvicide contre les larves du troisième stade de *Culex quinquefasciatus* à différentes concentrations. Parmi les extraits testés, on a constaté que celui de *Jasminum grandiflorum* était efficace avec une mortalité de 100% à 500 mg / L et une valeur de CL<sub>50</sub> de 212,10 mg / L après 48 h.

Nos résultats sont proches de ceux trouvés par Haji, (2013), qui a montré l'effet insecticide des extraits des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae), *Nerium oleander* (apocynaceae) et *Myrtus communis* (Myrtaceae) sur le ravageur des fruits à noyau " *Hyalopterus Pruni* " avec respectivement quatre concentrations (4, 6, 8 et 10%).

Les taux de mortalité obtenus varient de 92,6 à 40,4% respectivement chez l'extrait des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* et *Nerium oleander* après 48h d'exposition à la dose de 10%.

Par contre l'extrait de *Myrtus communis* atteint une mortalité maximum de 11,1% après 48h pour la même dose.

#### **4.2. Etude histologique sur les larves de *Culex pipiens* exposées au extrait aqueux de l'*Eucalyptus globulus***

L'étude histologique sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens* traitées avec l'extrait aqueux des feuilles de l'*Eucalyptus globulus* montre des modifications différentes et progressives des tissus intestinaux des larves. C'est le mélange du contenu des cellules du tube digestif avec l'hémolymph qui serait responsable de la mortalité larvaire. Selon Raccaud (1980) les changements observés dans les cellules des caeca gastriques et de l'intestin moyen, s'expliquent par le fait que cette portion du tube digestif qui est la partie responsable de la digestion chez les insectes est en contact directe avec les éléments toxiques entraînant alors la mort. En effet selon Waterhouse *et al.* (1953) dans leur étude, des larves de moustiques affamées sont nourries avec du fructose et du glucose; et après quelques heures, un dépôt massif de glycogène apparaît à l'intérieur des cellules de la partie postérieure de l'intestin moyen, indiquant que c'est le site majeur de l'absorption.

Les cellules des caeca gastriques hypertrophiées sont morphologiquement modifiées et désorganisées après 4h de contact.

Après 6h, les cellules éclatent et les débris cytoplasmiques sont rejetés dans la lumière des caeca gastriques. Ces observations coïncident avec celles de Seye (2006) qui a constaté dans une étude faite sur des larves de *Culex quinquefasciatus* exposées à la poudre du neem (*Azadirachta indica*) que ses coupes montrent une désorganisation des cellules intestinales. Le neem a été testé également sur des larves d'*Aedes aegypti*, par Raymond (2007) qui a observé que les signes d'intoxication apparaissent en premier lieu au niveau des caeca gastriques présentée par des dommages morphologiques graves des cellules épithéliales de cette région.

Les modifications observées après 12h sont une lyse cellulaire progressive, avec un rejet des débris cytoplasmiques dans la lumière des caeca gastrique qui aboutit à la destruction complète des cellules après 24h.

L'extrait aqueux des feuilles de l'*Eucalyptus* agit sur les larves de *Culex pipiens* de la même manière que celui de *Persea americana* sur les larves d'*Anopheles gambiae* mais plus lentement.

Selon Koua (1998), les cellules des larves d'*Anopheles gambiae* traitées avec l'extrait de *Persea americana* sont détruites après seulement 16h d'exposition. Par rapport aux larves témoin traitées avec l'eau, l'intestin moyen des larves traitées est la partie la plus affecté. En effet, cette portion est la première à présenter de profondes modifications à la suite de l'intoxication des larves avec l'extrait aqueux de *Eucalyptus globulus*. Ces modifications commencent à apparaître après 4h d'exposition, les cellules intestinales se révèlent hypertrophiées d'une façon remarquable. Tout en se détachant les unes des autres. Après 6h de traitement, les cellules sont bien séparées et prennent une forme allongé. On remarque également qu'elles sont détachées de leur lame basale.

Après 12h d'exposition, une lyse cellulaire est observée avec un rejet des débris cytoplasmiques dans la lumière intestinale. Les cellules de cette région sont détruites totalement après 24h.

Ces constats sont également rapportés par Sahar (2010) qui a étudié les effets histopathologiques de fenugrec (*Trigonella foenumgraceum*) sur les larves de *Culex quinquefasciatus*. Al Mehmadi et Al Khalef (2010) ont déclaré que chaque région du mésenteron absorbe des substances de nature diverse. Par exemple, les cellules de la partie antérieure de l'estomac chez les moustiques, absorbent les graisses, alors que celles de la partie postérieure, absorbent majoritairement les éléments toxiques, ce qui laisse penser qu'elles sont les premières à être endommagées.

Dans le même contexte, les résultats rapportés par Zayed (2009), sur l'effet des huiles de *Citrus limon* et *Alium sativum* à l'égard des larves de *Culex pipiens*, révèlent qu'il a des dommages clairs dans les cellules épithéliales de l'intestin moyen. Les tissus de l'intestin, les muscles et la cuticule sont les plus gravement endommagés par le traitement, ainsi que la séparation des cellules de l'intestin moyen de leur membrane basale.

Notre étude se rapproche de celle réalisée par Al Mehmadi et Al Khalef (2010). Ces auteurs ont évalué l'effet histopathologique de l'extrait de *Melia Azederach* à l'égard des larves de *Culex quinquefasciatus*.

Aussi, leurs résultats révèlent que comme l'extrait de l'eucalyptus, *Melia azederach* agit sur les larves de *Culex* par la destruction progressive des cellules mésentériques, causant le passage du contenu cytoplasmique dans la lumière de l'intestin moyen, et donc la mort des larves, mais plus

lentement car les cellules des larves de *Culex quinquefasciatus* traitées par l'extrait de *Melia azederach* se dégénèrent après une durée de 48h.

Nos résultats présentent des similitudes également avec ceux de Karch et Coz (1983) lors de leur recherche sur le mode d'action de la bactérie *Bacillus sphaericus* vis-à-vis le tube digestif des larves de *Culex pipiens*. Selon ces auteurs les premières modifications sont observées au niveau de l'intestin moyen. De même, Zayed *et al* (2009), concluent lors de l'étude histologique suite à l'action de *Bacillus thuringiensis* sur les larves de *Culex pipiens*, que les premières modifications du mésenteron, concernent tout d'abord les caeca gastriques et l'estomac postérieure. ce que Charle et De Barjac (1981) ont confirmé dans leur étude sur Les modifications histopathologiques de l'intestin moyen d'*Ae. aegypti* après ingestion des cristaux de *B. thuringiensis* var. israelensis

D'après les travaux de Lecadet (1965) sur les lépidoptères, il semble que le mécanisme d'intoxication est semblable à celui des diptères. Cet auteur a observé que les premières cellules cibles de la  $\alpha$ -endotoxine paraissent être celles du mésenteron.

#### **4.3. Biometrie des adultes mâles et femelles**

Dans le but de démontrer l'influence des extraits aqueux des plantes sur le développement morphologique des moustiques *Culex pipiens*, une étude biométrique a été réalisée sur plusieurs critères morphologiques des adultes. Cette étude biométrique a été réalisée sur des adultes issus des larves traitées avec les extraits des plantes par rapport aux adultes témoins.

Les résultats des mensurations des groupes de femelles et mâles exposés aux insecticides sont comparés aux mensurations des groupes témoins et reflètent une variabilité faible entre les tailles des différents critères sélectionnés chez les individus (mâles et femelles) traités par rapport aux individus témoins.

D'après l'analyse de la variance MANOVA l'extrait aqueux de l'*Eucalyptus globulus* n'a pas un effet sur le développement des moustiques. Cela est montré par la valeur de p calculée (0.052 et 0.994) pour les deux sexes mâles et femelles respectivement.

Certaines substances peuvent avoir un impact sur la morphologie des insectes. Ainsi, Haq *et al*(2012) rapportent dans leur travaux, l'influence du plomb sur la morphologie de *Musca domestica*.

Les résultats obtenus par ces auteurs révèlent qu'en plus des anomalies et des malformations des larves, des changements morphologiques chez les adultes sont observés tels que des ailes allongées et déformées et des pattes allongées et pliées. D'autres anomalies structurelles des larves et des nymphes ont également été observées.

Dans le but d'évaluer l'effet morphométrique des plantes sur les moustiques, Boudherhem (2014) a réalisé des mensurations sur des larves de *Culex pipiens* et *Culiseta* traitées avec l'huile essentielle du *Laurus nobilis*. Les résultats montrent que le traitement par la *Laurus nobilis* (DL<sub>50</sub>) des stades larvaires de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*, cause une réduction de divers paramètres biométriques comme; le poids et la largeur du thorax des larves 4<sup>ème</sup> stade par rapport aux témoins. Selon, ces résultats les huiles essentielles auraient un impact plus fort que les extraits aqueux que nous avons utilisé.

Une étude réalisée par Bouziane (2012) sur la toxicité des extraits foliaires de deux plantes du Sahara septentrional est Algérien, à savoir *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. (Euphorbiaceae) et de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) ainsi que l'effet de ces extraits sur la croissance des larves L<sub>5</sub> et adultes de *Schistocerca gregaria* est rapportée. Ils ressort un retard de croissance et une absence totale de mue chez les larves nourries aux feuilles traitées à l'extrait foliaire d'*E. guyoniana* se remarquent. Des difficultés au cours de la mue sont constatées chez les traités par les extraits foliaires de *P. harmala*. Par ailleurs, le même auteur a examiné l'effet des extraits végétaux sur le développement ovarien. Il constate que chez les femelles des lots traités, la taille moyenne des ovarioles est significativement plus faible que celles enregistrées chez les femelles des lots témoins.

Dans le même concept, Hmaidia (2014) a réalisé des tests dans le but de déterminer l'effet du kinoprène sur des paramètres métriques des gonades des adultes (mâle et femelle) afin d'apprécier ces effets sur la reproduction

Le kinoprène n'avait aucun effet sur la longueur des testicules des mâles, issus des larves traitées, nouvellement émergés et âgés de 2 jours ( $p > 0,05$ ).

Concernant la largeur des testicules, les résultats obtenus montrent que le kinoprène a causé une diminution significative de ce paramètre dans les mâles âgés de 4 jours (CL<sub>50</sub> :  $p = 0,013$ ) par rapport aux témoins.

Le kinoprène a diminué significativement la longueur des ovaires des femelles dans tous les âges considérés avec la  $CL_{90}$  uniquement (0j:  $p = 0,023$  ; 2j:  $p = 0,034$  et 4j:  $p = 0,042$ ).

Concernant la largeur des ovaires, le traitement n'a pas affecté ce paramètre qu'après application de la plus forte dose, et cela chez les femelles âgées de 2<sup>ème</sup> ( $p = 0,041$ ) et le 4<sup>ème</sup> jour ( $p = 0,036$ ).

Il existe d'autres études qui utilisent la biométrie pour traiter la taxonomie, citons celle faite par Suzzoni et Lauga (1999) qui ont montré une corrélation positive entre la longueur des ailes et la taille du corps chez les moustiques. Il concluent que l'on peut prendre la longueur de l'aile comme mesure de 1972, Makyiala grandeur totale du corps de l'adulte. Van Thiel (1927) confirme ces résultats et déclare que la taille du moustique peut être jugée d'après celle de l'aile.

En a effectué une biométrie des organes sexuels du mâle et les ommatidies de la femelle dans le but de faire la différenciation des espèces jumelles du complexe pipiens.

Une étude similaire réalisée par Tine-Djebbar (2011), vise à déterminer deux aspects différents de certaines espèces de moustiques, inventoriées dans la région de Tébessa, d'importance médicale ou vétérinaire L'aspect morphométrique a pu mettre en évidence une augmentation significative du volume corporel et une diminution du poids corporel des individus au cours des stades testés.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les arthropodes d'importance médicale ont toujours éveillé l'intérêt des entomologistes et des médecins à orientation naturaliste. Ces arthropodes sont nombreux et variés grâce à des conditions très favorables à leur développement, notamment la température élevée et la forte humidité.

Quelques arthropodes sont connus pour leur action nocive. Les plus dangereux sont les vecteurs, se sont le plus souvent des insectes piqueurs qui inoculent directement l'agent pathogène dans le sang.

En Algérie, les culicidés constituent les insectes piqueurs les plus nuisibles aux populations. Certaines espèces peuvent transmettre des agents pathogènes responsable de maladies infectieuses. L'élimination de ces maladies repose en grande partie sur la lutte contre le vecteur. Les moyens envisagés et adoptés se sont appuyés dans les premiers temps sur l'utilisation des produits chimiques. Cependant, en raison des problèmes liés à l'utilisation de ces produits et leur impact nocif sur l'environnement, il s'avère nécessaire d'avoir recours à des alternatives naturelles ayant le même rôle et présentant des avantages écologiques et économiques. Il s'agit notamment celle relative à l'utilisation des extraits de plantes. Ce qui est la préoccupation première de notre étude, dans laquelle, nous avons choisis les extraits méthanoliques de neuf plantes pour évaluer leur activité larvicide sur les larves du moustique *Culex pipiens*.

Les résultats obtenus révèlent un effet variable des plantes sur les larves, ce qui est traduit par les taux de mortalité variant de très faibles à très élevés. Les résultats indiquent également que l'évolution de la mortalité des larves dépend de la concentration des extraits d'une part et de la durée d'exposition d'autre part.

Il ressort de cette étude que l'*Eucalyptus globulus* est la plante la plus efficace avec un taux de mortalité de 82% des larves. Au vu de cette efficacité, nous avons procédé à une étude histologique sur des larves de *Culex pipiens* soumises à la DL<sub>50</sub> de l'extrait de cette plante et ce dans le but de déterminer l'action des plantes aux niveaux intestinal des larves. L'étude révèle que les cellules de l'intestin moyen ont subi les modifications les plus significatives, indiquant ainsi que la pathologie évolue par étapes jusqu'à l'éclosion et la dégénérescence totale des cellules.

Ces résultats permettent de déduire que l'extrait agit comme un poison qui agit par ingestion sur le système digestif des larves du moustique.

D'après notre étude morphométrique, nous avons remarqué des différences entre les critères des adultes issus des larves traitées, par rapport à ceux des larves témoins (mâles et femelles). Nous avons pu émettre l'hypothèse que l'action de cet extrait pourrait s'exercer au niveau hormonal qui contrôle le développement de l'insecte.

Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour l'application des extraits aqueux des poudres végétales dans la production des biocides. D'autres études doivent être envisagées afin de préciser la nature des composés responsables de l'effet toxique. Un essai « terrain » semble nécessaire pour étudier cette même efficacité dans des conditions naturelles.



## Résumé

Des larves du 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> stade larvaire du moustique *Culex pipiens* L. Ont été exposées aux extraits aqueux de huit plantes à différentes doses, dans les conditions de laboratoire, afin d'évaluer leur effet larvicide. Les résultats montrent une sensibilité variable des larves, qui est encore plus élevée avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. Par ailleurs, la toxicité est bien marquée lorsque la durée d'exposition des larves est plus longue.

Dans l'ensemble des tests par contacte l'eucalyptus et le laurier semblent être les plus efficaces dans la lutte contre ce moustique.

Au niveau intestinal nous avons mis en évidence les modes d'actions histologiques des éléments toxiques des extraits sur l'intestin moyen des larves traitées. En effet, les observations faites au microscope sur des larves traitées à intervalle de temps (2 h, 6 h, 12 h, 24 h et 48 h) révèlent des modifications profondes au cours du temps tel, qu'après 24 h les cellules éclatent et le contenu cytoplasmique passe dans la lumière intestinale, entraînant la mort.

Différents paramètres morphométrique ont été considérés, à savoir : la longueur et la largeur des ailes, la longueur et la largeur de l'abdomen, la longueur des antennes, du fémur, du tibia et des 5 tarsi des adultes de *Culex pipiens*, traitées avec les extraits de plantes. L'analyse des données montre que les extraits aqueux de plantes provoquent des différences faibles par rapport aux paramètres des témoins.

## Mots clés

*Culex pipiens*, extraits méthanoliques, effet larvicide, DL<sub>50</sub>, histologie, tube digestif, morphométrie.

## Summary

Third and fourth instar larvae of *Culex pipiens* L. mosquitoes have been exposed, in laboratory conditions, to aqueous extracts from eight plants in different concentrations in order to evaluate their larvicidal effect.

The results indicate variable sensibility levels of larvae, which are relatively higher when extract concentration is raised. However, the toxicity is well observed when the larvae are exposed for extended periods of time. Of all the extracts tested, Eucalyptus and Oleander seem to be more efficient in the fight against these mosquitoes.

As for intestinal study, we have determined the several histological modes of action of toxic elements of extracts on the intestinal tissue of the treated larvae.

Effectively, the microscopic observations on the treated larvae on time intervals of 2h, 6h, 12h, 24h, reveal radical modifications as time goes. Such as, after 24h the cells explode and the cytoplasmic content passes through the intestinal lumen, which lead to death.

Different morphometric parameters have been considered, such as: length and width of wings, length and width of the abdomen, length of antennae, femur, tibia and the 5 tarsi of adult *Culex pipiens* that were treated with plant extracts.

Data analysis shows that aqueous extracts of plants induce some differences in comparison to the control's parameters.

Key words: *Culex pipiens*, methanolic extracts, larvicidal effect, DL<sub>50</sub>, histology, midgut.

## ملخص

تعرضت يرقات المرحلتين الثالثة و الرابعة من بعوض *Culex pipiens* إلى المستخلصات المائية لثمانية نباتات و ذلك بتركيز مختلفة في ظروف مخبرية لتقييم سميتها.

أظهرت النتائج حساسية متغيرة لليرقات و التي تزداد مع زيادة تركيز المستخلص. من جهة ثانية يتم ملاحظة ان درجة السمية تكون مرتفعة عندما تكون مدة تعرض اليرقات للمستخلص أطول.

بين مجموع الاختبارات لوحظ أن مستخلصات الكافور و الغار كانت الأكثر فعالية في مكافحة هذا البعوض. على مستوى الأمعاء أثبتت الدراسة النسيجية مسارات عمل العناصر السامة المكونة للمستخلصات على مستوى الجهاز الهضمي لليرقات. الملاحظات المجهرية لليرقات المتعرضة للمستخلص عبر فترات زمنية (2سا, 4سا, 6سا, 12سا و 24سا) تكشف عن تغيرات عميقة حيث انه بعد 24 ساعة انفجرت الخلايا و المحتوى السيتوبلازمي تسرب في تجويف الأمعاء مما تسبب في موت اليرقات. تم النظر في مقاييس مورفولوجية مختلفة طول و عرض الأجنحة, طول و عرض البطن, طول قرون الاستشعار, عظم الفخذ الساق و رسغ الساق، لبالغين ذكور و إناث من بعوض *Culex pipiens* تعرضت للمستخلصات النباتية و يظهر تحليل البيانات ان المستخلصات المائية للنباتات تسبب اختلافات ولكنها طيفة للمقاييس المورفولوجية للبعوض

## كلمات البحث

*Culex pipiens*، مستخلصات مائية ، تأثير السمية ، LD<sub>50</sub>، الأنسجة ، الجهاز الهضمي ، بيومتري.

## RÉFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### A

**Abbot W. S., 1925** - A method of computing the effectiveness of an insecticide. *JEcon Entomol*18(2), 65-66.

**Abdel-Hamid Y. M., Soliman M. I. and Allam K. M., 2009-** Spatial distribution and abundance of culicine mosquitoes in relation to the risk of filariasis transmission in El Sharqiya Governorate, Egypt. *Egypt Acad J Biolog Sci*, 1, 39-48.

**Abdel-Hamid Y. M., Soliman M. I. and Kenawy M. A., 2011-** Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in relation to the risk of disease transmission in El Ismailia governorate, Egypt. *J Egypt Soc Parasitol*,41, 109-118.

**Abou-Elnaga Z. S. H. 2014-** Insecticidal bioactivity of eco-friendly plant origin chemicals against *Culex pipiens* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2 (6), 340-347.

**Aïssaoui L. et Boudjelida H., 2014-** Larvicidal activity and influence of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac G), on longevity and fecundity of mosquito species. *Euro. J. Exp. Bio.*, 4 (1), 104-109.

**Akono Ntonga P. A., Baldovini N., Mouray E., Mambu L., Belong P., and Grellier P., 2014-** Activity of *Ocimum basilicum*, *Ocimum canum*, and *Cymbopogon citratus* essential oils against *Plasmodium falciparum* and mature-stage larvae of *Anopheles funestus*. *Parasite*, 21-33.

**AL Khazraji A. and Mustafa M. A., 2008-** Effect of some plant extracts on the *Culex pipiens molestus*. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*22(1).

**Alaoui Boukhris M., 2009-** Activités larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires. *These de master de la faculté des sciences et techniques, Univ de Fès*.

**Ali A., Tabanca N., Demirci B., Blythe E. K., Ali Z., Baser K. H. and Khan I. A., 2015-** Chemical composition and biological activity of four salvia essential oils and individual compounds against two species of mosquitoes. *Jurnal of agricultural and food chemistry*, 63(2), 447-56.

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

**Al-Mehmadi R. M and Al-Khalaf A. A., 2010-** Larvicidal, histological effects of *Melia azedarach* extract on *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). *Journal of King Saud University (Science)*, 22, 77-85.

**Alouani A., Rehim N. and Soltani N., 2009-** larvicidal activity of a Neem tree extra (Azadirachtin) against mosquito larvae in the republic of Algeria. *Jordan journal of biological sciences*, (2), 15-22.

**Al-Sarar., 2010-** Insecticide resistance of *Culex pipiens* (L) populations (Diptera : Culicidae) from Riyadh city, Saudi Arabia: status and overcome. *Saudi journal of biological sciences*, (17), 95-100.

**Andrean J., Gilbert L., Régine F., 1981-** Dictionnaire de biochimie alimentaire et de nutrition technique et documentation, 21p.

**Anonyme 1, 2017-** [https://fr.wikipedia.org/wiki/Nicotiana\\_tabacum](https://fr.wikipedia.org/wiki/Nicotiana_tabacum).

**Anonyme 2, 2018-** <https://fr.wikipedia.org/wiki/Moustique>.

**Aouati A., 2016-** Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *culex pipiens* (Diptera, Culicidae). *These en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en sciences spécialité : entomologie. Université Des Freres Mentouri faculté des sciences de la nature et de la vie, département de Biologie Animale*, 129p.

**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)) 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.

**Aubry p. et Gaüzère B. A., 2013-** La lutte antivectorielle. *Medecine Tropicale, Diplôme de Medecine Tropicale des Pays de L`Ocean Indien.*

## B

**Balenghien T., 2006-** Identification des vecteurs du virus West Nile à la modélisation du risque d'infection en Camargue. *Thèse d'Université en ligne à <http://tel.archives-ouvertes.fr>*

**Barr A. R., 1982-** Symbiot control of reproduction in *Culex pipiens* : in Recent Development in the Genetics of Insect Disease Vectors. *Stipes publishing, Champaign*,153-158.

**Batish R., Harminder P., Ravinder K. and Shalinder K., 2008-** Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*,(256), 2166-2174.

**Bekele J. and Hassanali A., 2001-** Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post-harvest insect pests. *Phytochemistry*, 57, 385 - 391.

**Bekhechi C., Atik-Bekkara F. et Abdelouahid D. E., 2008-** Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie*(6) 3, 153–159.

**Belanger A. et Musabyimana T., 2005-** Le Neem contre les insectes et les maladies. *Centre de recherche et développement en horticulture, 430 Boul. Gouin, Saint-Jean-sur-Richelieu, Québec*,138, 346.

**Belkin J.N., 1968-** Mosquito studies (Diptera, Culicidae). The Culicidae of New Zealand. *Contributions of the American Entomological Institute*,3(1), 1-182.

**Bendali F., 2006** - Etude bioécologique, systématique et biochimique des Culicidae (Diptera : Nematocera) de la région d'Annaba. Lutte biologique anticulicidienne. *Thèse de doctorat en biologie animale. Université d'Annaba*, 176p.

**Bendali F., Djebbar F. et Soltani N., 2001**- Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* (L.) dans des conditions de laboratoire. *Parasitica*, 57(4), 255-265.

**Benhamou N. et Carole M., 2006**- À l'heure des extraits de plante. *Université Laval*.

**Benkalfate-El Hassar C., 1991**- Cartographie ecologique de *Culex Pipiens* (Diptère, Culicidae) en milieu urbain (ville de Tlemcen, Algérie) recherche de causalités de la dynamique démographique des stades pré imaginaires.

**Benzid A. et Litim N., 2016**-Etude comparative de l'activité antioxydante de deux variétés d'*Ocimum basilicum* L. cultivées dans plusieurs régions d'Algérie. *Mémoire Master Académique, Université Kasdi Merbah-Ouargla*.

**Berchi S., 2000**- Bio écologie de *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de lutte. *Thèse Doc. Es. Scien. Univ. Constantine*, 133p.

**Berrekia R. et Aissa K., 1989**- Essai d'obtention de plants de tabac (*Nicotiana tabacum*) par culture de tissus " in vitro". *Ann. Inst. Nat. Agron. El-Harrach*, 13(1), 203 - 320.

**Bezaze G., 2011**- Effet du laurier rose (*Nerium oleander*) sur le criquet migrateur (*Locusta migratoria*) (Acrididae, Oediponidae). *Thèse en vue de l'obtention de magister en sciences agronomiques. ENSA El Harrach*.

**Bouabida H., Djebbar F. et Soltani N., 2012**- Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). *Entomologie faunistique – Faunistic Entomology*, 65, 99-103.

**Bouattour A., 2013**- Bio-Ecologie des moustiques vecteurs du virus West-Nile en Tunisie. *Atelier surveillance et lutte contre le virus West-Nile en Tunisie état des lieux et perspectives*.

**Bouderhem A., 2014**-Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta*

*longiarealata*). Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master académique, Université Echahid Hamma Lakhdar D'el-Oued.

**Boudjelida H., Bouaziz A., Soin T., Smaghe G. and Soltani N., 2005-** Effects of ecdysone agonist halofenozide against *Culex pipiens*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 83, 115-123.

**Boudko D. Y., Moroz L. L., Linser P. J., Trimarchi J. R., Smith P. J. S. And Harvey W. R., 2001-** In situ analysis of pH gradients in mosquito larvae using noninvasive, self-referencing, pH-sensitive microelectrodes. *The Journal of Experimental Biology*, (204) 691–699.

**Boudy, 1952-** guide du forestier en Afrique du nord. Ed. *La maison rustique*, Paris, 211-222.

**Boulogne I., 2011-** Evaluation du potentiel insecticide et antifongique sur *Acromyrmex octospinosus* (Reich) d'une sélection de plantes à usages ethnopharmacologiques TRAMIL. *These pour obtenir le grade de Docteur de l'Université des Antilles et de la Guyane Discipline. Spécialité : Biologie.*

**Bouziane N., 2012-**Toxicité comparée des extraits d'*Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. (Euphorbiaceae) et de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) récoltés au Sahara Septentrional Est algérien sur les larves et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). *Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Magister en Sciences Agronomiques, Université Kasdi Merbah-Ouargla.*

**Boyer S., 2006-** Résistance métabolique des larves de moustiques aux insecticides : conséquences environnementales. *These pour l'obtention du titre de docteur de l'université Joseph Fourier – Grenoble I Spécialité : Biologie.*

**Brengues J., Brunhes J., Hervy J. P., 1979-**La filariose de Bancroft en Afrique, à Madagascar et dans les îles voisines. éd. et publ. des pères jésuites le Caire. 85p.

**Brown A. W. A., 1967-** The present status of control of *Culex pipiens fatigans*. *Bull. Org. Mond. Santé*, (37), 297-299.

**Brunhes J., 1970-** *Les Culicidae: morphologie et systématique.*

## C



**Carnevale P., Robert V., Manguin S., Corbel V., Fontenille D., Garros C R. et Ogier C., 2009-** Les anophèles, Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. *IRD éditions institut de recherche pour le développement Marseille.*

**Cavalcanti E. S., Morais S. M., Lima M. A. and Santana E. W.,2004-** Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz.* 99(5),541-4.

**Cetin H., Cinbilgel I., Yanikoglu A. and Gokceoglu M., 2006-** Larvicidal activity of somme labiatae (lamiaceae) plant extracts from Turkey. *Phytotherapy research*, 20(12), 1088-1090.

**Charles L. F. et De Barjac H., 1981-**histopathologie de l'action de la t5-endotoxine de bacillus tl-iuringiensis var- israelensis sur les larves d'aedes aegypti (Dip. : Culicidae). *entomophaga*26 (2).203-212.

**Cheng S. S. et al., 2009-**insecticidal activity of leaf essential oils from *Cinnamomum osmophloeum* against three mosquito species. *Bioresource technology*, (100), 457-464.

**Christine T. Nyabayo L., Josphat C., Matasyoh L. and Mwendia C., 2015-** Chemical composition and acaricidal activity of *Salvia nilotica* essential oil against *Rhipicephalus appendiculatus*. *Advancement in Medicinal Plant Research*. Vol. 3(2), 46-54.

**Clement A. N., 1996-** The biology of mosquitoes. Vol. 1.

**Coutin R., 1988-** Les moustiques: des insectes nuisibles présents partout. Biologie des espèces.

**Crosby D.G., 1966 -** Natural pest control Agents. *Adv. Chem. Ser.*(53), 1-16.

## D

**Dadd R. H., 1975-**Alkalinity within the midgut of mosquito larvae with alkaline-active digestive enzymes. *J. Insect Physiol.*, (21),1847–1853.

**Dagnélie P., 1970-**Théorie et méthodes statistiques :applications agronomiques. *Gembloux, Pesses agronomiques*,451p.

**Dagnogo M. et Coz J., 1980-** activité de *Bacillus sphaericus* sur différentes espèces et souches de moustiques. *Rapport n°11 office de la recherche scientifique et technique outre-mer.* (283), 1-5.

**David J. P., Rey D., Pautou M. P. and Meyran J. C., 2000-** Differential toxicity of leaf litter to Dipteran larvae of mosquito developmental sites. *J. Invertebr. Pathol.* 75,9–18.

**Delille L., 2007-** Plantes médicinales d'Algérie. *Ed. Berti. Alger*, 141-142.

**Djamae L. Manzanares L., Jane G., Morilla, Anzhira D., Malawani, Nickel Jean S., Lagare, Liza R. Abrenica-Adamat, 2015-** Effects of oregano (*Origanum vulgare*) leaf extract on early life stages of *Artemia salina*. *Advances in Environmental Sciences. International Journal of the Bioflux Society*, 7(3), 468-474.

**Djebbar A., 2008-** Histoire du tabac: de l'antiquité à ce jour. *17 èmes Journées Nationales de la SAPP – Oran.*

**Djerroumi A., et Nacef M. 2004-** 100 plantes médicinales d'Algérie. *Ed Palais du livre.*, 135 - 131.

**Dow J. A. T., 1984-** Extremely high pH in biological systems; a model for carbonate transport. *Am. J. Physiol.* 246, 633–635.

## E

**Elbanna S M., 2006-** Larvecidal effects of eucalyptus extract on the larvae of *Culex pipiens* mosquito. *International journal of agriculture and biology*, 896–897.

**El kady G A., Kamal N H., Mosleh Y and Bahgat I M., 2008-** Comparative toxicity of two bioinsecticides (Spinotoram and Vertemic) compared with methomyl against *Culex pipiens* and *Anopheles multicolor*. *World journal of agricultural sciences*, 4(2), 198-205.

**El ouard J. M., 1974-** Etude bibliographique comparative de trois complexes d'especes chez les Culicides d'intérêt medical. *Eleve O, R, S, T, O, K, en Entomologie Médicale.*

**El-akhal F., Greche H., Ouazzanichahdi F., Guemmouh R. et El oualilalami A., 2014-** Composition chimique et activité larvicide sur *Culex pipiens* d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivées au Maroc. *J. Mater. Environ. Sci.*, 6 (1), 214-219.

**Eldridge B. F. and Edman J. D., 2000-** Medical Entomology. *Kluwer Academic Publisher.*

**Eliningaya J. Kweka, Franklin W. Moshia, Asanterabi Lowassa, Aneth M. Mahande, Michael J. Mahande, Charles P. Massenga, Filemoni Tenu, Ester E. Lyatuu, Michael A. Mboya and Emmanuel A. Temu, 2008-** Longitudinal evaluation of Ocimum and other plants effects on the feeding behavioral response of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the field in Tanzania. *Parasites and Vectors*, 1(42), 1-8.

**Enserink M., 2006 -** Bone Disease Gene Finally Found. (312) , 514p.

## F

**Faraj C., Elkohli M. and Lyagoubi M., 2006-** Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. *Bull Soc Pathol Exot*, 119-121.

**Faudil-Cherif Y., 1991-** etude comparative des huiles essentielles Algeriennes d'*Eucalyptus globulus* Labill. et *Camaldulensis*. *Universite des sciences et de la technologie Houari Boumediene, USTHB, Alger.*

**Faye O., 2018-** Les moustiques, morphologie, biologie, et role vecteur. *Laboratoire Ecologie Vectorielle et parasitaire Faculté des sciences et techniques Université C. A. D., Dakar.*

**Finney J.D., 1971-** Statistical method in biological assay. 2nd edition, London, Griffin, p :333.

**Fisher R. and Yates F., 1957-** Statistical Tables For Biological Agricultural And Medical Research. 5<sup>ème</sup> édition, Olivier et Boyd. London, 64-66.

**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.

**Fontenille D., Lochouarn L. et Guillet P., 2006-** Moustiques vecteurs et lutte anti-vectorielle. *Institut de Recherche pour le Développement (IRD) UR016 - LIN, Montpellier, France.*

**Fournet E., 1988-** Les mimétiques d'hormones de croissance et la lutte antivectorielle. *Rapport d'activité du laboratoire de lutte contre les insectes nuisibles. V: 1-3.*

**Franceschini P., 2016-** *Myrtus communis* L. en Corse et en Méditerranée : de sa composition chimique jusqu'à ses utilisations thérapeutiques. *Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Victor Segalen Bordeaux 2.*

## G

**Gad, A.M., Riad, I.B. and Farid, H.A. 1995-** Host feeding patterns of *Culex pipiens* and *Culex antennatus* (Diptera: Culicidae) from a village in Sharqiya governorate, Egypt. *J. Ent. USA, 32 (5), 573-577.*

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

**Georghiou, G. P. and Lagunes-Tejeda A., 1991-** The occurrence of resistance to pesticides in arthropods. An index of cases reported through to Baygon. *Bull. W.H.O., 35, 691-708.*

**Gillies M. T., De Meillon B., 1968-** The Anophelinae of Africa south of the Sahara (Ethiopian Zoogeographical Region). *Journal of Publications of the South African Institute for Medical Research. 54, 1-343.*

**Gilly G., 1997-** Les plantes à parfums et huiles essentielles à Grasse. *Editions L'Harmattan, 50-64.*

**Guarrera P. M., 1999 -** *J. Ethnopharmacology, 68, 183.*

**Guèye A., 2013-** Techniques de capture et d'identification des moustiques (Diptera : Culicidae) vecteurs de la fièvre de la vallée du Rift. *Support pédagogique, service de bio-écologie et pathologies parasitaires (BEPP). Institut Sénégalais de recherches agricoles laboratoire national d'élevage et de recherches vétérinaires.*

**Guyatt M. D., Jack Sinclair M., Deborah J. and Cook M. D., 1999-** For the evidence-based medicine working group and the Cochrane applicability methods working. *Group JAMA*, 281 (19), 1836-1843.

## H

**Haji G., 2013-** The Effect of Some Extracts on the Stone Fruit Aphid “*Hyalopterus Pruni*” in Duhok Region. *Int. J. Pure Appl. Sci. Technol.* 18(2),3944p.

**Hamaidia K., 2014-** Biodiversité des moustiques de la région de Souk-Ahras et lutte chimique : aspects écologique, morphométrique, biochimique et toxicologique. *Thèse en vue d’obtention du diplôme de doctorat en science, Université Badji Mokhtar – Annaba.*

**Hamon J. et Mouchet J., 1967-** La résistance aux insecticides chez *Culex pipiens fatigans* Wiedemann. *Bull. Org. Mond. Santé.* (37), 277-286.

**Haq R., Khan M. F. and Haq E., 2012-** Effects of Lead Acetate on Morphology of *Musca domestica* L. (Muscidae: Diptera). *Journal of Basic & Applied Sciences.*(8) 291-296.

**Harb M., Faris R., Gad A. M., Hafez O. N., Ramzi R. and Buck A. A., 1993-** The resurgence of lymphatic filariasis in the Nile Delta. *Bull WHO*, 71, 49-54.

**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.

**Hassain K., 2002-** Biogéographie et biotypologie des Culicidae (Diptère : Nématocera) de l’Afrique méditerranéenne. Bioécologie des espèces les plus vulnérantes (*ae- caspui*, *ae detritus*, *Ae mariae* et *Cx pipiens*) de la région occidentale Algérienne. *Thèse doc. D’état. Univ. Tlemcen.* 203 p.

**Hoerner C., Siginir G., Waddled L., 2017-** DDT, malathion et lutte contre le moustique : bénéfice – risque, quelchoix ?. *Polytech, Nice sophia. Département génie biologique,* (90).

**Hoogstraal H., Meegan J. M., Khalil G. M. and Adham F. K., 1979-** The Rift Valley fever epizootic in Egypt 1977-78. Ecological and entomological studies. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 73, 624-629.

**Huang Y. M and Ward A., 1981-** A Pictorial key for the identification of the mosquitoes associated with Yellow Fever in Africa. *Mosquito systematics*, 13, 138-149.

**Huseyin Cetin and Atila Yanikoglu, 2006-** A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey. *Journal of Vector Ecology*. 31(1), 118-122.

## K

**Karch S. et Coz J., 1983-** Histopathologie de *Culex pipiens* Linné (Diptera, Culicidae). soumis à l'activité larvicide de *Bacillus sphaericus* 1593-4. *Cah. O. R. S. T. O. M., sér. Ent. et Parasitol.* XXI,(4), 225-230.

**Kaushik R. and Saini P., 2008-** larvicidal activity of leaf extract of *Millingtonia hortensis* (family : Bignoniaceae) against *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*. *Vector. Born. dis.*(45), 66-69.

**Kerris T., Djebili Y., Amoura S., Bouguerra S., et Rouibah M., 2009-** Essai d'utilisation du Laurier rose *Nerium oleander* L. en lutte biologique contre le *Lymantria dispar*. *Entomologie forestière INRF Jijel*.

**Kesbi A., 2011-** Etude des propriétés physicochimiques et évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* dans la région de Ouargla. *Memoire de fin d'etudes en vue de l'obtention du diplôme de master en génie des procédés option: génie chimique. Université kasdi marbah ouargla*

**Kosone T., Takagi H., Horiguchi N., Kakizaki S. and Sato K., 2008-** Transforming growth factor-alpha accelerates hepatocyte repopulation after hepatocyte transplantation. *J. Gastro. Enterol. Hepatol.*, 23, 260-266.

**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.

**Koua K. H., 1994-** Mise en évidence de l'activité larvicide de *Persea Americana* sur *Anopheles Gambiae*, un moustique d'importance médicale. *Thèse de Doctorat. Université Nationale de Côte d'ivoire*. 133p.

**Koua H. K., Han S. H., et Almeida M. A., 1998-** Histopathologie d'*Anopheles gambiae* s. (Giles, 1902) (Diptera, Culicidae) soumis à l'activité larvicide de l'extrait aqueux de *Persea americana* (Miller, 1768) (Lauraceae). Entomologie médicale. *Bull. Soc. Path. Ex.* 91(3), 252–256.

**Kowang-Bo J. et Côté J. C., 2000-** une analyse des incidences environnementales de l'insecticide microbien *Bacillus thuringiensis*. *Bulletin technique*, 29p.

**Krida G., Bouattour A., Rodhain F. and Failloux A. B., 1998-** Variability among Tunisian populations of *Culex pipiens*: genetic structure and susceptibility to a filarial parasite, *Brugia pahangi*. *Parasitol Res.* 84, 139-142.

## L

**Lacoursiere J. O. et Boisvert J., 2004-** le *Bacillus thuringiensis israelensis* et le contrôle des insectes piqueurs au Québec. 1-101.

**Laouira S., 2014-** Contribution à l'Etude de l'Effet Insecticide et comportemental des Extraits de Quelques Plantes Médicinales sur *Drosophila melanogaster* et Essai de Lutte. *Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magistère en Sciences Agronomiques, Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach*.

**Larget I. and De Barjac H., 1981-** Specificity and active principle of *Bacillus thuringiensis*. *Bull. Soc. Pathol. Exotiq.* 74, 216 -227.

**Larivière M. et Abonnenc E., 1956-** Notes biologiques et morphologie de l'œuf ,de la larve et de l'adulte de *Culex antennatus* Becker 1903. *Bulletin de l'Institut Française d'Afrique Noire*,18, 1191-1199.

**Lecadet M. M., 1965-** Isolement et caractérisation de deux protéases des chenilles de *Pieris brassicae* L. et étude de leur action sur l'inclusion parasporale de *Bacillus thuringiensis*. - *Thèse Doct. en sciences*.

**Lee D. S., Yoon H. K., Kim H. S. and Lee K. W., 1970–** Studies on the life cycle of *Culex pipiens pallens* in Korea. *Kisaengchunghak Chapchi*, 8, 36-38.

**Longaray Delmare A.P., Ivete T.M.P., Liane A., Luciana A.S., et Sergio E., 2007-** Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* and *Salvia triloba* cultivated in south brazil. *Food chemistry.*, 100,603-608.

**Lounaci Z. et Doumandji S. E., 2010-**Biodiversité des Culicidae (Diptera, Nematocera) d'intérêt médical et vétérinaire du marais de Réghaia et Tizi Ouzou (Algérie). *Département agronomie, Faculté des Sciences biologiques et des Sciences Agronomiques, Univ. M. Mammeri Tizi-Ouzou. Algérie.*

## M

**Maciel M. V., Morais S. M., Bevilaqua C. M., Silva R. A., Barros R. S., Sousa R. N., Sousa L. C., Brito E. S. and Souza-Neto M. A., 2010-** Chemical composition of *Eucalyptus spp.* essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. *Veterinary Parasitology*167, 1-7.

**Madi A., 2010-**Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. *Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister, Université Mentouri Constantine.*

**Magni S. et Coz J., 1985-** activité toxique de *Bacillus thuringiensis* sérotype H14, une approche méthodologique. *Cah. O.R.S.T.O.M. sér. ent. méd. Et parasitol.* (4), 281-283.

**Maksimovic M. D., Anijela V., Mladen M., Marija E.S., Sabaheta A., et Sonja S.Y., 2007-** Effet of the environmental condition on essential oil profile in two dinaric *Salvia* species : *Salvia brachydon vandas* and *Salvia officinalis* L. *Biochemical Systematics and Ecology.* 35, 473-478.

**Makyia K. 1972-**Dynamique des populations de moustiques dans le district de Nagoya. Examen morphologique du complexed'adultes sauvages de *Culex pipiens* par utilisation d'une fonctiondiscriminante. *Jap. J. Sanit. Zool.*, (23), 89-99.

**Marshall J. F. et Stanley J., 1937-** Some notes regarding the morphological and biological differentiation of *Culex pipiens* an and *Culex molestus*. *Proc. Roy. Entom. Soc. London*, 12, 17-26.



**Mattingly P. F., 1967-** The systematics of the *Culex pipiens* complex. *Bull. org. moncl. santé.* 37, 257-261.

**Meegan J. M., Khalil G. M., Hoogstraal H. and Adham F. K., 1980-** Experimental transmission and field isolation studies implicating *Culex pipiens* as a vector of Rift Valley fever virus in Egypt. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 29, 1405-1410.

**Mehani M., 2006-**Diagnostic sur les essais d'introduction de quelques essences.

**Messai N., Berchi S., Boulknafd F. et Louadi K., 2010-** Inventaire systématique et diversité biologique de Culicidae (Diptera: Nematocera) dans la région de Mila (Algérie). *Entomologie faunistique – Faunistic Entomology* 63(3), 203-206.

**Messein F., 2010-**Le Jasmin : étude botanique, chimique, thérapeutique et cosmétologique. *Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université Henri Poincaré, Nancy I Faculté de pharmacie.*

**Metge G., 1986-** Etude des écosystèmes hydromorphes (Daya et Merjâ) de la Meseta occidentale Marocaine. Typologie et synthèse cartographique à objectif sanitaire appliquée aux populations *d'anopheles labranchiae* (Falleroni, 1926) (Diptera, Culicidae, Anophelinae). *Thèse d'Etat es-Sciences. Université de Marseille.* 280p.

**Metro A., 1955-** Eucalypts for planting. *FAO Forestry and Forest Products Studies II. Rome : FAO.*

**Mondet B., 1993-** Application de la méthode de Polovodova à la détermination de l'âge physiologique des *Aedes* (diptera : Culicidae) vecteurs de la fièvre jaune. *Ann Soc Entomol Fr.* 29, 61-76.

**Mörner J., Bos R. et Fredrix M., 2002-**réduire et éliminer l'usage des pesticides organiques persistants. *Solutions autres que les pesticides pop.* 1-94.

**Mouchet J. et Carnevale P., 1991-**Les vecteurs et la transmission. *In Paludisme. Ellipses.* Paris, 240p.

**Moulinier C., 2003-** Parasitologie et mycologie médicales, éléments de morphologie et de biologie. *Editions Médicales Internationales* (Paris), 796 p.

**Moutailler S., Krida G., Schaffner F., Vazeille M. and Failloux A. B., 2008-** Potential vectors of Rift Valley fever virus in the Mediterranean Region. *Vector Borne Zoonot Dis.*8, 749-753.

**Murugan K., Murugan P. and Noortheen A., 2007-** Larvicidal and repellent potential of *Albizia amara* Boivin and *Ocimum basilicum* Linn against dengue vector, *Aedes aegypti* (Insecta:Diptera:Culicidae). *Bioresour Technol.* 98(1), 198-201.

**Muse W. A., 2002-** Effect of some pulverized plant extracts on oviposition, hatching and development of larvae of *Aedes aegypti* (L.). *Environment and Ecology.* 20(4), 810-817.

**Mustafa M. A. and Al-Khazraji A., 2008-** Effect of some plant extracts on the *Culex pipiens molestus* Forskal larvae. *Iraqi. J. Vet. Sci.*, 22, 9-12.

## N

**Ntonga P. A.,1, Baldovini N. Mouray E., Mambu L., Belong P. and Grellier P., 2014-** Activity of *Ocimum basilicum*, *Ocimum canum*, and *Cymbopogon citratus* essential oils against *Plasmodium falciparum* and mature-stage larvae of *Anopheles funestus* s.s. *Parasite*(21).

**Ntonifor N. N., Ngufor C. A., Kimbi H. K. and Oben B. O., 2006-** Traditional use of indigenous mosquito-repellents to protect humans against mosquitoes and other insect bites in a rural community of Cameroon. *East Afr. Med. J.*83(10), 553-8.

**Nyabayo C. T., Matasyoh J. C. and Mwendia C., 2015-** Chemical composition and acaricidal activity of *Salvia nilotica* essential oil against *Rhipicephalus appendiculatus*. *Advancement in Medicinal Plant Research*, 3(2), 46-54.

## O

**Ogbalu O. K., Bobmanuel R. B. Membere O., 2014-** Larvicidal Effect of Aqueous Leaf Extract of Tobacco (*Nicotiana tabacum*) On the Third Instar Larvae of *Musca domestica* L. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science(IOSR-JAVS)* e-ISSN: 2319-2380, p-ISSN: 2319-2372. Volume 7,35-40.

**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.

**Ouedraougou T. D., Baldet T., Skovmand O., Kabre G. and Guiguemde T. R., 2005-** Susceptibility of *Culex quinquefasciatus* to insecticides in Bobo Dioulasso, Burkina Faso. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 98(5), 406-10.

**Ould el hadj M. D., Tankari Dan-Badjo A. et Halouane F., 2003-** Etude comparative de la toxicite de trois substances acridifuges sur les larves du cinquieme stade et sur les adultes de *schistocerca gregaria* forskål. *courrier du savoir*, (03), 81-86.

## P

**Patrick Akono Ntonga, Philippe Belong, François Tchoumboungang, Eric- Moïse Bakwo Fils, Henri Fankem, 2012-** Composition chimique et effets insecticides des huiles essentielles des feuilles fraîches d'*Ocimum canum* Sims et d'*Ocimum basilicum* L. sur les adultes d'*Anopheles funestus* ss, vecteur du paludisme au Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, 59, 4340– 4348.

**Penchev P.I., 2010 -** Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. *Thèse de doctorat. Université de Toulouse.* 239p.

**Poupardin R., 2011-** Interactions gènes –environnements chez les moustiques et leur impact sur la résistance aux insecticides. *Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Grenoble, Spécialité : Biodiversité, Ecologie et Environnement.* 275p.

**Prajapati S. and Tripathi B., 2005-** Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource Technologie* Vol 96(16), 1749-1757.

## R

**Raccaud J. S., 1980-** Les Insectes, physiologie, développement. *Masson, Paris.* 276p.

**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.

- Rahuman A. A., Bagavan A., Kamaraj C., Saravanan E., Zahir A. A., Elango G., 2009-** efficacy of larvicidal botanical extracts against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Parasitol.res.* (104)1365-1372.
- Ralph E. Harbach, Christine Dahl, And Graham B. White, 1985-***Culex (Culex) Pipiens* Linnaeus (Diptera: Culicidae): Concepts, Type Designations, And Description. *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 87, 1-24.
- Raveen R., Kamakshi .K. T., Deepa M., Arivoli S and Tennyson S., 2014-** Larvicidal activity of *Nerium oleander* L. (Apocynaceae) flower extracts against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *International Journal of Mosquito Research*, 1(1), 38-42.
- Raveen R., Samuel T., Arivoli S. and Madhanagopal R., 2015-** Evaluation of mosquito larvicidal activity of *Jasminum* species (Oleaceae) crude extracts against the filarial vector *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *American Journal of Essential Oils and Natural Products*; 3(1), 24-28.
- Raymond Demba Ndione, Omar Faye, Mady Ndiaye, Abdoulaye Dieye and José Marie Afoutou, 2007-** Toxic effects of neem products (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 larvae. *African Journal of Biotechnology.* 6(24), 2846-2854.
- Remia H. M. and Logaswamy S., 2010-** larvicidal efficacy of leaf extract of two botanicals against the mosquito vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Indian journal of natural products and resources.*1(2), 208-212.
- Resseguier P., 2011-** Contribution a l'étude du repas sanguin de *Culex pipiens pipiens*. thèse d'exercice, école nationale de Toulouse-ENTV ,80p.
- Rioux J. A., 1958-** Les Culicides du Midi méditerranéen. Etude systématique et écologique. Encyclopédie entomologique, XXXV. Editions P. Lechevalier, Paris, 303 p.
- Ripert C., 2007-** Epidemiologie des maladies parasitaires, affections provoquées ou transmises par les arthropodes. 581p.
- Robert V., 1989-**Biologie des Anophèles vecteurs de paludisme en Afrique Centrale. *Bull. liais. doc.*, 70-74.

**Rodhain F et Perez C., 1985-** Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. *S. A. Maloine, éditeur, Paris.*

**Rodhain F., Petter J. J., Albignac R., Coulanges P. and Hannoun C., 1985-** Arboviruses and lemurs in Madagascar: experimental infection of *Lemur fulvus* with yellow fever and West Nile viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 34, 816-822.

**Roman E., 1960-** élevage en série du moustique citadin *Culex pipiens fatigans* Wiedemann 1828 (Diptera, Culicidae) dans une zone urbaine de Savane Soudanienne ouest-africaine. Longévité et déplacement d'adultes marqué avec des poudres fluorescentes. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. ent. Med. Et parasitol.* (1), 3-36.

**Ronbaud E., 1957-** biologie des moustiques sur l'existence de deux entités biologiques distinctes dans la définition du moustique commun rural, *Culex pipiens pipiens*. *Comptes rendus des séances de l'académie des sciences.* (244), 3115-3116.

**Roth M., 1980-** Initiation à la morphologie, la systématique et la biologie des insectes. *Office de la recherche scientifique et technique outre-mer Paris* (23).

**Roubaud E., 1929 -** Cycle autogène d'atteinte et générations hivernales suractives inapparentes chez le moustique *Culex pipiens* L. *c. h. Acad. Sci.* 7375p.

## S

**Sahar A. B. F., 2010-** Histopathological Effects of Fenugreek (*Trigonella foenumgraceum*) Extracts on the larvae of the Mosquito *Culex quinquefasciatus*. *JASMR.* 5(2), 123-130.

**Schaffner E., Guy A., Geoffroy B., Hervy J. P., Rhaïem A. et Brunhes J., 2001-** Les moustiques d'Europe : logiciel d'identification et d'enseignement Paris (FRA) ; Montpellier. *IRD ; EID, ISBN 2-7099-1485-9.*

**Self L. S., Shin H. K., Lee K. W., Chow C. Y. and Hong H. K., 1973-** ecological studies on *Culex tritaeniorhynchus* as a vector of Japanese encephalitis. *Bull. Org. mond. Santé.* (49), 41-47.

**Seye F., Ndione R. et Ndiaye M., 2006-** Etude comparative de deux produits de neem (huile et poudre) sur les stades préimaginaux du moustique *Culex quinquefasciatus* (Diptera : Culicidae). *Afrique Science*, 02(2), 212–225.

**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.

**Snodgrass R. E., 1959-** the anatomical life of the mosquito. *smithsonian miscellaneous collections*, 139 (8).

**Souguir S., Chaieb I., Ben Cheikh Z. and Laarif A., 2013-** insecticidal activities of essential oils from some cultivated aromatic plants against *spodoptera littoralis* (boisd). *journal of plant protection research*, Vol. 53(4), 388-391.

**Subra R. et Hébrard G., 1975-** Ecologie larvaire de *Culex pipiens fatigans* (Wiedemann, 1828) (Diptera, Culicidae) dans une zone de haute endémie filarienne (Mayotte, archipel des Comores). *Tropen medizin und Parasitologie*, 26 (1), 48-59.

**Subra R., 1972-** Etudes ecologiques sur *Culex pipiens fatigans* Wiedemann, 1828 (Diptera, Culicidae) dans une zone urbaine de savane soudanienne ouest-africaine. Différenciation de diverses souches par leurs relations d'incompatibilité. *Cah. ORSTBM. ser. Ent. Med. et Parasitol*, 1, 37-45.

**Sukontason K., Buncho M., Klantawa B., Piangjai S., Rongsriyam Y. and Sukontason L., 2007-** Comparison between *Musca domestica* and *Chrysomya megacephala* as carriers of bacteria in northern Thailand. *In. South. east. Asian. Journal. Trop. Med. Public. Health.* 38, 38-44.

**Suzzoni J. et Lauga J., 1999-**Biométrie alaire de 3 espèces jumelles d'*Anopheles maculipennis* Meigen (Diptera : Culicidae) d'un gîte toulousain. *Annls Limnol.* 35 (3)193-198.

**Swaroop S., Gilroy A. B. and Uemura K., 1966-** Statistical methods in Malaria eradication. *World Health Organisation, Geneva.* 164p.

## T

**Tardif S. D., Smucny D. A., Abbott D. H., Mansfield K., Schultz-Darken N. and Yamamoto M. E., 2003-** Reproduction in captive common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Comp. Med.* 53, 364–368

**Tennyson S., Ravindran J. and Arivoli S., 2012-** Screening of twenty five plant extracts for larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *the Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* (12), 60372-4.

**Thomas Weitzel, Piotr Jawień, Katarzyna Rydzanicz, Elzbieta Lonc and Norbert Becker, 2014-** *Culex pipiens* s.l. and *Culex torrentium* (Culicidae) in Wrocław area (Poland): occurrence and breeding site preferences of mosquito vectors. *Parasitology Research*, ISSN 0932-0113.

**Tine-Djebbar F. et Soltani N., 2008-** Activité biologique d'un agoniste non stéroïdien de l'hormone de mue sur *Culiseta longiareolata*: analyses morphométrique, biochimique et énergétique. *Synthèse*, 18, 23-34.

**Tine-Djebbar F., 2009-** Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation de deux régulateurs de croissance (halofenozide et méthoxyfenozide) à l'égard de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*: toxicologie, morphométrie, biochimie et reproduction. *Thèse de doctorat, Faculté des sciences, Université d'Annaba, Algérie*, 168 p.

**Tine-Djebbar F., Larhem A. B. and Soltani N., 2011-** Enzyme immunoassay measurements of the molting hormone in different post-embryonic stages of two mosquito species, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *African Journal of Biotechnology* 10(67), 15195-15199.

**Toral Y Caro M. G., 2005-** Evaluation in vitro de l'efficacité du fipronil sur *Culex pipiens pipiens*. *Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. École nationale de vétérinaire, Toulouse.*

**Touaibia M., Chaouch F. Z., 2013-** Pouvoir antioxydant des extraits de *Myrtus communis* L. obtenus in situ et in vitro. *Sciences Agronomiques et Biologiques*, (10),03-08

**Traboulsi A. F., Taoubi K., El-Haj S., Bessiere J.M. and Rammal S., 2002-** Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Manag. Sci.*58, 491-495.

**Turell M. J., Presley S. M., Gad A. M., Cope S. E., Dohm D. J., Morill J. C. and Arthur R. R. 1996-** Vector competence of Egyptian mosquitoes for Rift Valley. *Amer. J. Trop. Med. Hyg. USA*,54 (2), 136-139.

## V

**Van Thiel R. H., 1927-**Sur l'origine des variations de taille de *l'Anopheles maculipennis* dans les Pays-Bas. *Bull. Soc. Path. exot.*, (20),366-390.

**Vinayagam A., Senthilkumar N. and Umamaheswari A., 2008-** Larvicidal activity of some medicinal plant extracts against malaria vector *Anopheles stephensi*. *Research journal of parasitology*, 3, 50-58.

**Vinogradova E. B., 2000-** Mosquitoes *Culex pipiens pipiens*: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control. *Pen. Soft, Sofia*. 280 p.

**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

**Waterhouse O. F. and Day M. F., 1953-** Function of the gut in absorption, excretion and intermediary metabolism. *In insect physiology*, 331-349.

**Weill M., Duron O., Labbé P., Berthomieu A. et Raymond M., 2003-** La résistance du moustique *Culex pipiens* aux insecticides. *Molecular clues to the insecticide. Médecine Sciences*, 19(12), 1190-1192.

## Y

**Yeed A., Kesavaraju B., and Juliano S. A., 2004-** Larval feeding behavior of three cooccurring species of container mosquitoes. *J. Vector Ecol.* 29(2), 315–322.

## Z

**Zayed A. A., Rokaya M. A., El Namaky H. A., Ismail H. M. and Mady H. Y., 2009-** Influence of *Allium sativum* and *Citrus limon* Oil Extracts and *Bacillus thuringiensis Israelensis*



on some Biological Aspects of *Culex pipiens* Larvae (Diptera:Culicidae). *World Journal of Zoology*. 4(2), 109-121.

**Zhuang Z., Linser P. J. and Harvey W. R., 1999-** Antibody to H<sup>+</sup> V-ATPase subunit E colocalizes with portosomes in alkaline larval midgut of a freshwater mosquito (*Aedes aegypti* L.). *J. Exp. Biol.* (202),2449–2460.

**Zoughailech. A. M., 2011-** Contribution à l'étude de l'activité larvicide des insecticides biologiques sur *Culex pipiens* (Linné., 1758). *Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master, univ. de Constantine, Algerie.*



## ANNEXES

### 1. Toxicité des extraits des plantes sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

Plantes testées	Temps d'exposition	(Concentrations)			
		0.5g/l	2g/l	5g/l %	8g/l
		Mortalité			
<i>Eucalyptus globulus</i>	24h	0%	4%	8%	16%
	48h	8%	20%	24%	32%
	72h	28%	44%	48%	82%
<i>Myrtus communis</i>	24h	1%	2 %	6 %	13%
	48h	3%	6%	7%	9%
	72h	5%	6%	12%	18%
<i>Nerium oleander</i>	24h	4%	5%	9%	12%
	48h	9%	16%	23%	35%
	72h	34%	39%	48%	72%
<i>Ocimum basilicum</i>	24h	0%	0%	4%	8%
	48h	4%	4%	8%	12%
	72h	4%	8%	16%	20%
<i>Jasminum polyanthum</i>	24h	4%	4 %	8%	12%
	48h	6%	9 %	12%	16%
	72h	8%	9%	12%	20%
<i>Origanum majorana</i>	24h	0%	3%	6%	12%
	48h	2%	6%	10%	16%
	72h	5%	8%	13%	24%
<i>Nicotiana tabacum</i>	24h	0%	5%	14%	27%
	48h	5%	10%	17%	30%
	72h	13%	19%	26%	38%
<i>Salvia officinalis</i>	24h	1%	5%	9%	15%
	48h	4%	8%	14%	20%
	72h	10%	14%	22%	28%

**2. Étude des paramètres toxicologiques des extraits des plantes pendant 24h, 48h et 72h d'exposition**

Plantes	Temps d'exposition	DL <sub>50</sub> (g/l)	95% limite fiduciale (mg/l)		DL <sub>95</sub> (g/l)	R <sup>2</sup>	Equation de regression
			Lower	Upper			
Eucalyptus globulus	24h	27.6g/l	0.567	1.414	52.1g/l	0.981	Y=2.03x-0.88
	48h	13.45g/l	-0.030	1.924	27.69g/l	0.897	Y=2.84x+9.06
	72h	3.57g/l	0	1.900	10.39g/l	0.902	Y=6.48+25.36
Myrtus communis	24h	67.2g/l	0.37	1.58	21.12g/l	0.960	Y=1.6x-0.71
	48h	609.7gl	-0.03	1.92	38.33g/l	0.897	Y=0.71x+3.49
	72h	105g/l	0.62	1.36	18g/l	0.985	Y=1.79x+3.28
Nerium oleander	24h	364.1g/l	0.37	1.58	83.85g/l	0.960	Y=1.6x-0.71
	48h	264.8g/l	-0.03	1.92	26.83g/l	0.897	Y=0.71x+3.28
	72h	18.4g/l	0.62	1.36	20.7g/l	0.985	Y=1.79x+3.28
Ocimum basilicum	24h	28.4g/l	0.39	1.56	42.31g/l	0.963	Y=1.12x-1.37
	48h	233.1g/l	0.4	1.56	28.66g/l	0.960	Y=1.12x+2.62
	72h	94g/l	0.51	1.45	15.18g/l	0.976	Y=2.16x+3.59
Jasminum polyanthum	24h	16.97g/l	0.39	1.56	27.17g/l	0.963	Y=1.12x+2.62
	48h	18.6g/l	0.66	1.32	30.06g/l	0.988	Y=1.27x+5.8
	72h	16.07g/l	0.11	1.8	26.78g/l	0.922	Y=1.57x+6.16
Origanum majorana	24h	84.8g/l	0.56	1.41	62.93g/l	0.980	Y=1.52x-0.66
	48h	67g/l	0.66	1.31	52.48g/l	0.989	Y=1.78x+1.58
	72h	74.8g/l	0.4	1.56	37.41g/l	0.964	Y=2.46x+2.95
Nicotiana tabacum	24h	16.2g/l	0.65	1.33	26.07g/l	0.988	Y=3.2x+11.56
	48h	38.4g/l	0.58	1.5	28.49g/l	0.982	Y=3.23x+2.97
	72h	28g/l	0.65	1.33	26g/l	0.988	Y=3.2x+11.56
Salvia officinalis	24h	39.6g/l	0.66	1.31	53.04g/l	0.989	Y=1.78x+0.58
	48h	139.1g/l	0.83	1.15	43.64g/l	0.997	Y=2.1x+3.35
	72h	70.1g/l	0.78	1.21	35.63g/l	0.995	Y=2.41x+9.12

**3. Analyse biométrique des différents critères adultes mâles et femelles témoins et traités avec les extraits de plantes**

	long aile	larg aile	long abd	larg abd	long ant	long femur	long tibia	T1	T2	T3	T4	T5
MT1	7.5	2	5	2.5	4.2	3.7	3.5	3.4	1.7	1.1	0.7	0.5
MT2	9	1.5	6	5.5	2.5	4.6	5	3.2	2.7	2	1.2	0.7
MT3	7.3	1.5	6.5	1	3.2	3.5	3.8	3	1.5	0.9	0.5	0.4
MT4	6.5	1.8	6.2	0.8	3.5	4	4.5	4.5	2.5	1.8	1	0.6
MT5	8	1	7.7	1	3.5	4.8	5	4.9	2.6	1.9	1.2	0.6
MT6	8.5	1.7	7.3	1.1	4	4.5	5	3.6	1.5	1	0.4	0.7
MT7	7.5	2	7.5	2.1	3.6	4.3	4.5	3.5	1.3	0.9	0.5	0.6
MT8	8.2	1.7	7.5	2.5	4	4.3	4.4	2.7	1.1	0.7	0.3	0.6
MT9	7.5	1.6	7	1	3.6	4.5	4.7	3.7	1.5	0.9	0.4	0.5
FT1	7	0.9	5.5	2.1	4	3.7	2.9	4.5	2.4	2	1.3	0.5
FT2	6.3	1	6.5	1.5	3	4	4.2	3	1.3	0.7	0.5	0.4
FT3	8.1	1.6	5.9	1.2	4.3	3.2	4.4	2.7	1	0.8	0.4	0.5
FT4	7.4	1.8	7	2.4	3.3	4.2	4.5	3.5	1.4	0.9	0.5	0.4
FT5	8.5	2	6.1	0.9	4.5	4	4.5	2.6	1	0.8	0.5	0.4
FT6	9.5	2	7	2	5.5	5	5	3.5	1.4	0.8	0.5	0.6
FT7	6.7	1.5	9	2	3.5	4.3	4.3	2.6	1	0.6	0.3	0.7
FT8	8.5	2.3	6.7	0.8	5	4.5	5	3	1.3	0.9	0.5	0.6
FT9	7.2	2	9	2.2	4	3	4.4	4.3	2.6	2	1	0.7
MNT1	7.2	1.7	8.5	1.8	3.5	4	4	2.5	1	0.6	0.3	0.5
MNT2	9.5	2.7	8.5	3.1	2	6	6.1	4.2	2	1.1	0.7	0.5
MNT3	8.5	1.6	8	3	3	5	5	4	1.7	1.1	0.5	0.5
MNT4	7.5	1.7	6	2.4	2	4	4.9	3.6	1.4	0.9	0.4	0.3
MNT5	7	1.5	8	1.2	2.8	4	5	3	1	1.2	0.5	0.3
MNT6	8	2	8.5	1.5	3.5	5	5.5	3.5	1.2	0.9	0.3	0.5
FNT1	7	0.9	5.5	2.1	4	3.7	2.9	4.5	2.4	2	1.3	0.5
FNT2	6.3	1	6.2	1.5	3	4	4.2	3	1.3	0.7	0.5	0.4

FNT3	8.1	1.6	5.9	1.2	4.3	3.2	4.4	2.7	1	0.8	0.4	0.5
FNT4	7.4	1	7	2.4	3.3	4.2	4.5	3.5	1.4	0.9	0.5	0.4
FNT5	8.5	2	6.1	0.9	4.5	4	4.5	2.6	1	0.8	0.5	0.4
FNT6	9.5	2	7	2	5.5	5	5	3.5	1.4	0.8	0.5	0.6
FNT7	6.7	1.5	9	2	3.5	4.3	4.3	2.6	1	0.6	0.3	0.7
FNT8	8.5	2.3	6.7	0.8	5	4.5	5	3	1.3	0.9	0.5	0.6
FNT9	7.2	2	9	2.2	4	3	4.4	4.3	2.6	2	1	0.7



E-ISSN: 2320-7078  
P-ISSN: 2349-6800  
JEZS 2017; 5(3): 759-765  
© 2017 JEZS  
Received: 17-03-2017  
Accepted: 18-04-2017

**Zerroug Sarra**

Biosystematics and Arthropods  
Ecology Laboratory, Faculty of  
Natural Sciences and Life -  
Department of Animal Biology -  
Mentouri Brothers University  
Constantine. Algeria

**Aouati Amel**

(A). Biosystematics and  
Arthropods Ecology Laboratory,  
Faculty of Natural Sciences and  
Life - Department of Animal  
Biology - Mentouri Brothers  
University Constantine. Algeria  
(B). Faculty of medicine-  
University Constantine 3.  
Algeria

**Berchi Selima**

(A). Biosystematics and  
Arthropods Ecology Laboratory,  
Faculty of Natural Sciences and  
Life - Department of Animal  
Biology - Mentouri Brothers  
University Constantine. Algeria  
(B). Higher National School of  
Biotechnology, Constantine.  
Algeria

**Correspondence****Zerroug Sarra**

Biosystematics and Arthropods  
Ecology Laboratory, Faculty of  
Natural Sciences and Life -  
Department of Animal Biology -  
Mentouri Brothers University  
Constantine. Algeria

## Histopathology of *Culex pipiens* (Linée, 1753) (Diptera, Culicidae) larvae exposed to the aqueous extract of *Eucalyptus globulus* l'Hér, 1789 (Myrtaceae)

Zerroug Sarra, Aouati Amel and Berchi Selima

**Abstract**

*Eucalyptus globulus* was tested for its larvicidal activity against the mosquito larvae *Culex pipiens*. The application of the aqueous extract at (0.5 g / l, 2 g / l, 5 g / l and 8 g / l) concentrations caused the remarkable mortality of 83% for the larvae that were treated at 8 g / l dosage and observed after 72 hours of contact. After calculating the LD<sub>50</sub> (27.6 g / l after 24hours, 13.45 g / l after 48 hours and 3.57 g / l after 72 hours of exposure).

Larvae of *Culex pipiens* treated with the aqueous extract of *Eucalyptus globulus* suffer important damages of midgut that occur over time.

After 24 hours, the cells burst and the cytoplasmic contents move to the intestinal lumen, leading to death.

**Keywords:** *Culex pipiens*, *Eucalyptus globulus*, LD<sub>50</sub>, Larvicidal effects, histology, digestive tract

**1. Introduction**

The Culicidae, commonly known as mosquitoes, have more than 3200 species today as well as forty genera spread out almost everywhere in the world [1]. Mosquitoes of the genus *Culex* are the most common, with 800 species. They develop in every continent except Antarctica [2]. The Culicidae insects are probably the best known and most feared because of the parasites they can inoculate during their blood meal, as well as the inconvenience and nuisance caused by their presence. [3]

In Constantine, northeast Algeria, the species *Culex pipiens* is considered the main source of nuisance in urban areas [4, 5]

*Culex pipiens* has the ability to adapt to all habitats and biotopes [6, 7] which gives it the role of a vector for several pathogens that cause life-threatening infectious diseases [8, 9, 10]

This species is one of the main vectors of encephalitis in St. Louis; it was also considered the main vector of the West Nile virus in Romania [11]. In Algeria, the West Nile virus has caused a major epidemic in the Timimoune region in 1994, isolated cases of encephalitis in humans with fatal cases were reported by [12].

For several years, the control methods used sporadically in Algeria consist of spraying chemicals [5]. However, the widespread use of these products was soon to know several difficulties such as the resistance phenomena, the ecosystems imbalance, the lack of specificity and the persistence effect for non-biodegradable insecticides, which are the most frequent.

To avoid these problems, research is oriented towards the discovery of new components [13]. The aqueous extracts, the powders and the essential oils of plants contain molecules that have insecticidal properties. According to [14], the insecticide that was known for centuries is pyrethrum, a powder obtained from *Chrysanthemum roseum* and *Chrysanthemum cinerariaefolium*.

Many studies have been carried out based on plant extracts. That is the case particularly for [15], who demonstrated the larvicidal activity of the aqueous extract of *Persea americana*'s leaves on *Anopheles gambiae*'s larvae. On the other hand, a study was conducted by [16] and his colleagues, who used the essential oil of the Laurel leaves *Laurus nobilis* against female adults of *Culex pipiens*, which showed excellent results. In 2009, [17] tested aqueous extracts of several medicinal plants, sage (*Salvia officinalis*), marjoram (*Origanum majorana*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on *Culex pipiens*, the mortality rate was very interesting.

Furthermore, studies by [18] have shown that *Thymus vulgaris* also has an insecticidal activity against *Anopheles* and *Aedes* due to the terpenes molecules.

Other plants are promising larvicides, in the fight against mosquitoes, such as Cypress (*Tetraclinis articulata*) Common Ricin (*Ricinus communis*), Oleander (*Nerium oleander*) and fenugreek (*Trigonella foenum*) which have been tested on *Culex pipiens* larvae by [19]. The results found by [20] confirm the larvicidal activity of the essential oils of *Citrus aurantium*, *Citrus sinensis* and *Pistacia lentiscus* which have been tested on *Culex pipiens* larvae. These results were confirmed in the same year in Morocco by [21], which found that *Citrus aurantium* has an interesting larvicidal activity against *Culex pipiens* compared to the essential oil of *Citrus sinensis*.

The myrtle family has 100 genera with about 3,000 species [22]. Eucalyptus is one of the most cultivated genera in the world; the species *Eucalyptus globulus* was introduced successfully in Algeria [23]. This tree is known for its anesthetic, antiseptic, inhaling fumigation, insects repellent, deworming and other therapeutic effects. Biological properties have already been assigned to the genus Eucalyptus, including larvicide and repellent activity against Culicidae mosquitoes, Insecticide effect on ground beetles and repellent action against *Phlebotomus papatasi* [22].

In the present work, we studied the larvicide power of *Eucalyptus globulus*. Therefore, after completing the bio tests to evaluate the larvicidal effect of this plant's aqueous extract on *Culex pipiens* larvae (L<sub>3</sub> and L<sub>4</sub>), that were reared in the Biosystematics and Arthropods ecology laboratory, we performed a histopathologic study on the midgut in order to specify the stages of intoxication in the larvae's mesenteric cells induced by this extract.

## 2. Materials and methods

### 2.1 Study period and area

This study was conducted in the summer season, from May 2015 to July 2015. It was carried between the laboratory of Biosystematics and Ecology of Arthropods, and the CHU Constantine hospital located in Constantine in the north east of Algeria (36°20'16.20"N; 6°37'33.32"E) at the altitude of 571 m.

### 2.2 Mosquitoes Breeding

The *Culex pipiens* Larvae used for breeding were collected in untreated sites located in the Constantine 1 University Campus. The collected larvae were transported to the laboratory for sorting according to the stages of development; their food is composed of a mixture of biscuits and yeast (75% and 25%). After transformation into pupae, they are placed in wooden cages covered in tulle where a blood meal is provided for the females. Nest boxes are introduced inside the cages for egg incubation, taking care to change the water every three days.

### 2.3 Preparation of the aqueous extract

*Eucalyptus globulus* is a species that belongs to the Myrtaceae family. This tree originated in Australia and is characterized by its blue-gray leaves in the juvenile stage, which join at the base forming a circular disc around the branch. The mature tree leaves are alternate, narrow, scythe-shaped and a shiny dark green. They grow on cylindrical rods and are 15 to 35 cm long. The buds are top-shaped, ribbed and covered with a flattened operculum bearing a central button. The cream colored flowers are solitary, in the axils of the leaves, and produce abundant nectar that bees transform into a deep

flavored honey. The ligneous fruits are 1.5 to 2.5 cm in diameter and have a very hard capsule. Many small seeds escape through valves that open up on top of the fruit.

The Eucalyptus leaves are harvested, washed, dried in the open air, placed in an oven for 3 days and then ground.

An amount of 100 g of the obtained powder is extracted using a Soxhlet extractor with methanol as the extraction solution. The resulting extraction solution goes through the Rotavapor to obtain the dry active material, from which 4 concentrations are prepared (0.5g / l, 2 g / l, 5 g / l, 8g / l).

### 2.4 Realization of the biological tests

The methodology and formulas used are inspired from standardized methods by the World Health Organization (WHO). The tests were done on the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> stages larvae, and for this, they were separated beforehand from the others, in a tank containing distilled water.

For each concentration, we used 4 cups (250ml), containing 99ml of spring water and 1ml of the prepared concentrations, in which 25 larvae were introduced. For each concentration, a series of 4 control cups was prepared. The mortality rate of *Culex pipiens* larvae in the cups was determined after 24, 48, and 72 hours.

### 2.5 Histological study

The methods followed in the histological study were inspired by those of [15]. The histological study was conducted on 4<sup>th</sup> stage *Culex pipiens* larvae, brought into contact with the aqueous extract of *Eucalyptus globulus* at a 27g / l concentration (LD<sub>50</sub>). They were then systematically sampled after the given time intervals: 2, 4, 6, 12 and 24 hours, to be immediately fixed in alcoholic Bouin solution. Control larvae, placed in distilled water, were sampled at the same time intervals and were also fixed.

Before initiating the histological technique steps, the heads and respiratory siphons were cut with a scalpel blade. The parts were then placed in little boxes which were then passed successively through seven ethanol baths of 70° to 100°, in order to dehydrate them, or in other words remove the intra- and extracellular water. They were then immersed in three xylene containers in order to remove traces of ethanol and lighten the parts. Once dehydrated, the parts were inclosed in paraffin. And that is to achieve permeation into the studied tissue, as complete as possible, of the paraffin that is considered a homogeneous substance, solidifying and chemically neutral. The impregnation of paraffin takes place in an oven at a temperature of 58° to 60°C.

The blocks were then prepared and then cut using a microtome in 5µ thickness. The obtained sections were stained, fixed between slide and cover slip and observed under an optical microscope to determine the various anomalies that may have appeared in the mesentery of the processed *Culex pipiens* larvae.

## 3. Results

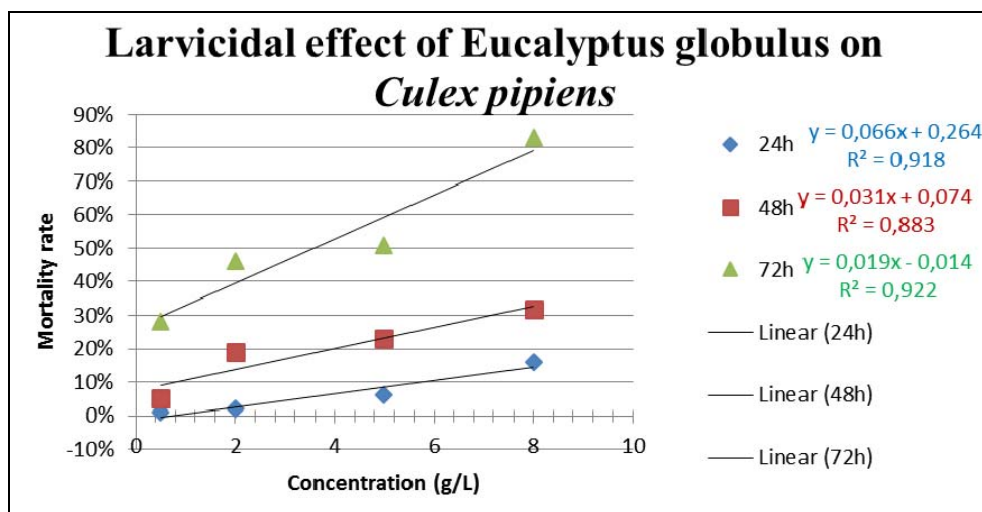
### 3.1 Study of the toxicity of the *Eucalyptus globulus* aqueous extracts on the *Culex pipiens* larvae

The mortality of *Culex pipiens* larvae exposed to different doses of *Eucalyptus globulus*, varied with the exposure time (Table 1). After 24 hours of contact with the extract, 16% of larval mortalities were obtained for the highest concentration (8g / l) compared to 1% dead larvae for 0.5g / l. After 48 hours of exposure, the concentration 8g / l gave 32% of larval mortalities. The highest mortalities rates (83%) were observed after 72 hours of exposure at a dose of 8 g / l.



**Table 1:** Toxic effect of *Eucalyptus globulus* on *Culex pipiens*

Exposure time	Concentrations			
	0.5g / l	2 g / l	5 g / l	8g / l
24h	1%	2%	6%	16%
48h	5%	19%	23%	32%
72h	28%	46%	51%	83%



**Fig 1:** Laboratory evaluation of the larvicidal activity of *Eucalyptus globulus* aqueous extract on *Culex pipiens* larvae.

The mortality rate of *Culex pipiens* larvae treated with *Eucalyptus globulus* extract is shown in Table 2 with the lethal doses LD<sub>50</sub> and LD<sub>95</sub>, which were 27.6g / l and 52.1g / l respectively after 24 hours of exposure. After 48 hours, the

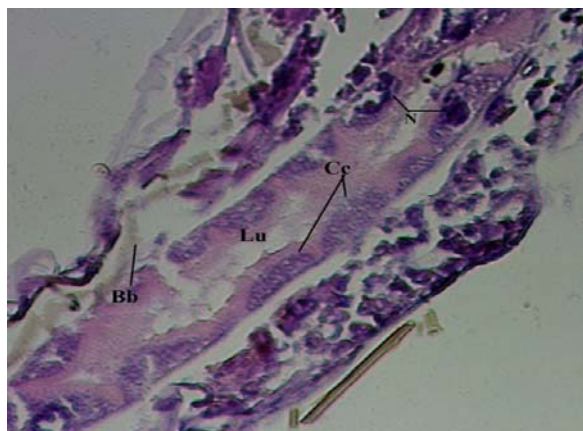
lethal dose LD<sub>50</sub> is 13.45g / l and the LD<sub>95</sub> equals 27.69g / l; after 72 hours the lethal doses LD<sub>50</sub> and LD<sub>95</sub> are lower with respectively 3.57g / l and 10.39g / l.

**Table 2:** Toxic effect of *Eucalyptus globulus* on *Culex pipiens*

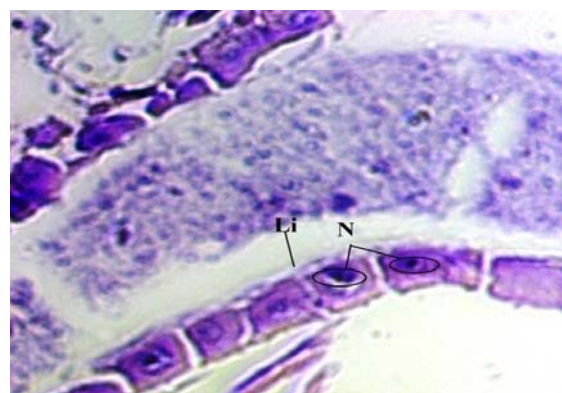
Exposure time	Regression line	LD <sub>50</sub>	LD <sub>95</sub>	Slope	R <sup>2</sup>	F(3,12)	P
24h	Y = 0.485x-0.382	27.6g / l	52.1g / l	0.485	0.882	16.71	0.00013
48h	Y= 0.793X+1.861	13.45g / l	27.69g / l	0.793	0.883	45.91	7.5E-07
72h	Y=4.25X+2.375	3.57g / l	10.39g / l	4.25	0.918	149.9	8.9E-10

**3.2 Histological examination of a control larva (untreated)**

The histology of a control larvae’s gastric caeca showed the gastric caeca’s cells which have variable shapes and a brush border (Fig. 2). The midgut of untreated 4th stage larvae consists of epithelial tissues with a nucleus in the central position (Fig. 3).



**Fig 2:** Longitudinal section of the gastric caeca cells of a control *Culex pipiens* larva. Abbreviations: Bb: Brush borders. Lu: Gastric caeca lumen. Cc: Gastric caeca cells. N: Nucleus.



**Fig 3:** Longitudinal section of control *Culex pipiens* larvae midgut cells. Abbreviations: Li: Intestinal Lumen. N: Nucleus

**3.3 Histological examination of the larvae treated with Eucalyptus globulus aqueous extract**

**3.3.1 Gastric caeca**

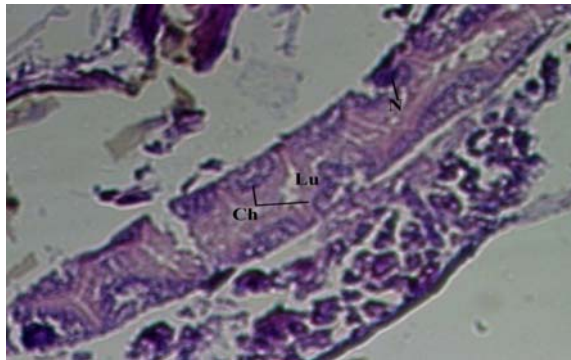
After 2 h exposure of the *Culex pipiens* larvae to the LD<sub>50</sub> dose of *Eucalyptus globulus* aqueous extract, the cells of the gastric caeca suffered a slight cell hypertrophy (Fig. 4). The cells of this area were morphologically altered and completely disorganized after 4 hours of contact (Fig. 5). After 6 hours of treatment, gastric caeca cells burst, and discharges of cytoplasmic debris in the gastric caeca lumen were observed

(Fig. 6). Cells started to degenerate after 12h of exposure to the aqueous extract (Fig. 7) until their almost complete destruction after 24 h (Fig. 8).

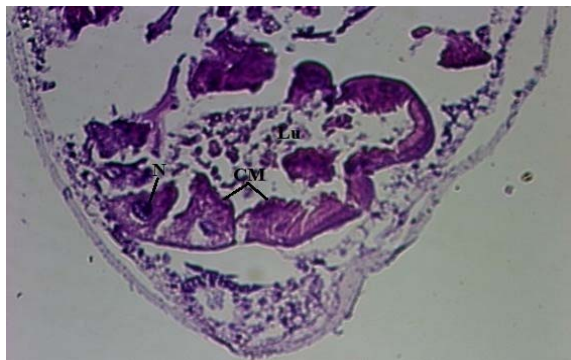
### 3.3.2 The larval midgut

The first changes were observed after 4 hours of exposure to the Eucalyptus aqueous extract. There was a hypertrophy of intestinal cells which began to pull away from each other (Fig.9). This is explained by the fact that the intercellular connections 'junctions' were broken.

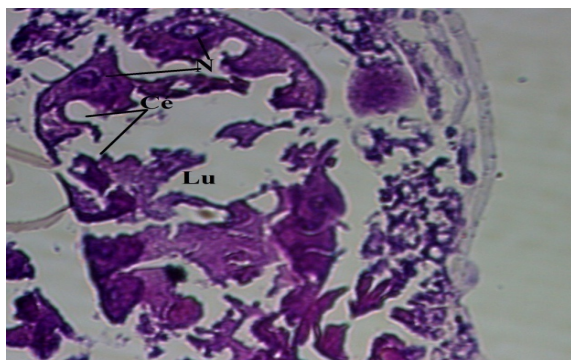
After 6 hours of treatment; the cells were separated, and took an elongated shape. We also observed that they were detached from their basal lamina (Fig. 10). Figure 11 shows the state of the larval intestinal cells after 12 hours of exposure. Cell lysis was observed with a cytoplasmic debris discharge in the intestinal lumen. After 24 hours all the cells of the area were destroyed (Fig. 12).



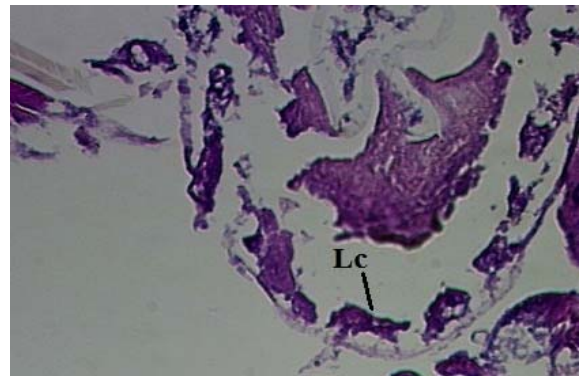
**Fig 4:** Longitudinal section of the gastric caeca cells after 2h of exposure. Abbreviations: Ch: Hypertrophied Cells; Lu: Gastric caeca lumen. N: Nucleus.



**Fig 5:** Longitudinal section of the gastric caeca cells after 4 h of exposure. Abbreviations: Cm: malformed cells; Lu: Gastric caeca lumen; N: Nucleus.



**Fig 6:** Longitudinal section of the gastric caeca cells after 6h of exposure. Abbreviations: Lu: Gastric caeca lumen; Ce: Broken cells; N: Nucleus.



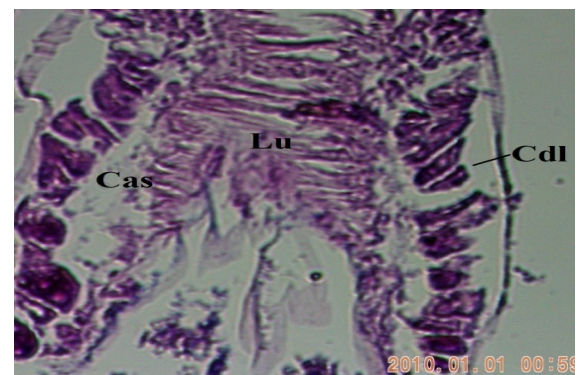
**Fig 7:** Longitudinal section of the gastric caeca cells after 12h of exposure. Abbreviations: Lc: cell lysis.



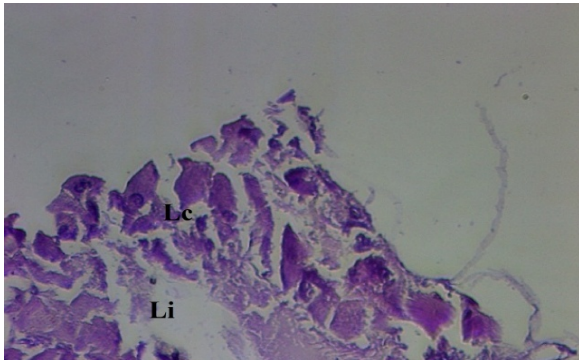
**Fig 8:** Longitudinal section of the gastric caeca cells after 24h of exposure. Abbreviations: Lu: Gastric caeca lumen; Cd: destroyed cells.



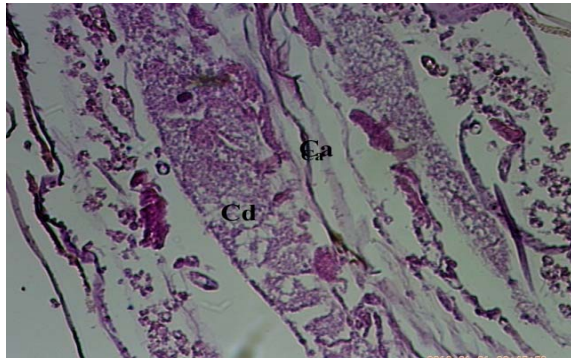
**Fig 9:** Longitudinal section of *Culex pipiens'* larvae midgut cells after 4h of exposure. Abbreviations: Ch: Hypertrophied Cells; Cs: separated cells; N: Nucleus.



**Fig 10:** Longitudinal section of *Culex pipiens'* larvae midgut cells after 6h of exposure. Abbreviations: Cas: elongated separated cells; Lu: Intestinal Lumen; Cdl: Detached cells from the basal lamina.



**Fig 11:** Longitudinal section of *Culex pipiens*' larvae midgut cells after 12h of exposure. Abbreviations: Lc: cell lysis. Li: Intestinal lumen.



**Fig 12:** Longitudinal section of *Culex pipiens* larvae midgut cells after 24h of exposure. Abbreviations: Cd: Destroyed cells; Ca: Food tract.

#### 4. Discussion

Plants (leaves, fruits, flowers, roots and bark) contain chemical complexes (active ingredients) that may have antiviral, anti-bacterial or anti-fungal properties [24]. Over 2 000 plant species have already been identified as having an insecticidal activity. A lot of work related to the use of plants as a larvicide against insects has been achieved. According to [17, 25] and [24], this larvicidal activity of aqueous extracts from plants can have a toxic effect, inhibit growth, have an effect on reproduction or even be a repellent.

Concerning the *Eucalyptus* leaves, which are the subject of our study, they contain a large amount of very diverse active substances such as eucalyptol, carbon hydrates, phytosterol, alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, cardiac glycosides and terpenoids [17, 23, 26].

These results clearly illustrate The interest of *Eucalyptus globulus*' aqueous extract in larva control. This was confirmed by [24], after having conducted a study to evaluate the larvicidal activity of a *Eucalyptus* based aqueous extract against *Aedes aegypti* mosquito larvae. The measured lethal dose (LD<sub>50</sub> and LD<sub>90</sub>) of 106.21ppm and 198.76ppm show a significant toxic effect of *Eucalyptus* leaves on larvae of the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> instar.

Our results also reveal a direct relationship between the mortality rate of larvae and the dose to which they were exposed, as confirmed by [23] in his studies. The same author also showed a direct relationship between mortality and exposure time, where mortality increases from the first hour to the last. This confirms our results, where the average mortality increases from 16% after 24 hours, to 32% in the following 48 hours, to reach 83% of dead larvae after 72 hours of exposure to the aqueous extract of *Eucalyptus*

*globulus* leaves, which is clearly shown in Figure 1.

Similarly, the results of [22] reveal a toxic effect of *Eucalyptus globulus* leaves extract against *Lutzomyia longipalpis* larvae. For his part, [27] showed a remarkable effectiveness of *Eucalyptus* against the larvae of the two fly species, *Musca domestica* and *Chrysomia megacephala*. Consequently, this plant reacts the same way against some Diptera (flies, mosquitoes and sandflies).

According to [22] the leaf extract acts by a neurotoxicity whose effect only appears after the development of the embryo's nervous system. For this, vector control is more effective against the larval stage.

Histological study on the 4<sup>th</sup> stage *Culex pipiens*' larvae treated with *Eucalyptus globulus* leaves aqueous extract shows different and progressive damage to the larvae's intestinal tissue, causing the mixing of gut cells content with hemolymph, which is responsible for larval mortality. The changes that were observed in the gastric caeca and midgut cells, are explained according to [28] by the fact that this portion of the digestive tract, which is responsible for digestion in insects, is in direct contact with the toxic elements and so causing death. The fact that this section is the major food absorption site in mosquitoes is confirmed by [29] in their study, where hungry mosquito larvae are fed with fructose and glucose; and after a few hours, massive glycogen deposits appear inside the cells of the midgut's posterior portion, indicating that it is the major absorption site.

The hypertrophied gastric caeca cells are morphologically altered and disorganized after 4 hours of contact (Fig.5).

This observation coincides with [30] who found in a study on the *Culex quiquefasciatus* larvae that were exposed to the Neem powder (*Azadirachta indica*), that his sections showed disorganization of intestinal cells. Neem was also tested on *Aedes aegypti* larvae by [31] who observed that the signs of intoxication first appear in the gastric caeca, showing severe morphological damage to the epithelial cells of this area.

After 6 hours, the cells burst and cytoplasmic debris are discharged into the gastric caeca lumen (Fig.6).

The observed changes, after 12 hours, are a progressive cell lysis (Fig.7), with a cytoplasmic debris discharge in the gastric caeca lumen which results in the complete destruction of the cells after 24 h (Fig.8). The aqueous extract of *Eucalyptus* leaves acts on *Culex pipiens* larvae in the same way as *Persea americana* on the *Anopheles gambiae* larvae, but more slowly.

According to [15], *Anopheles gambiae*'s larvae cells, treated with the extract of *Persea americana*, are destroyed after only 16h of exposure. Compared to control larvae treated with water, the midgut of the treated larvae is the most affected part.

Indeed, this portion is the first to present deep changes as a result of the larvae's intoxication with the *Eucalyptus globulus* aqueous extract. These changes begin to appear 4 hours after exposure, where intestinal cells appear hypertrophied in a remarkable way, while breaking away from one another (Fig.9). After 6 hours of treatment, the cells are well separated, and take an elongated shape. We observe also that they are detached from their basal lamina (Fig.10).

After 12h of exposure, cell lysis is observed with a discharge of cytoplasmic debris in the intestinal lumen. The cells in this area are totally destroyed after 24 hours (Fig. 12).

These findings were also made by [32] when he studied the histopathological effects of fenugreek (*Trigonella foenumgraceum*) on the *Culex quinquefasciatus* larvae. [33] reported that each region of the mesentery absorbs various

kinds of substances. For example, cells in the anterior part of the mosquitoes' stomach absorb fats, while the cells in the posterior portion predominantly absorb toxic elements, which suggest that they are the first to get damaged.

In the same context, the results reported by [34], on the effect of *Citrus limon* and *Allium sativum* oils against *Culex pipiens* larvae, reveal that there was clear damage to the epithelial cells of the midgut. Intestinal tissue, muscles and cuticle were the most severely damaged by the treatment, as well as the separation of the midgut cells from their basal membrane.

Our study is similar to that carried out by [30]. The authors evaluated the histopathological effect of the *Melia Azederach* extract against *Culex quinquefasciatus* larvae. Their results also revealed that, like the *eucalyptus* extract, *Melia azederach* acts on the *Culex* larvae by progressive destruction of mesenteric cells, causing the discharge of cytoplasmic contents into the midgut's lumen, and therefore the death of the larvae. But more slowly, because the cells of *Culex quinquefasciatus* larvae, treated with the extract of *Melia azederach*, degenerate after a 48 hour period.

Our results show similarities with those observed by [35] in their research on the mode of action of the *Bacillus sphaericus* bacteria against *Culex pipiens* larvae's digestive tract. The first changes are observed in the midgut. Similarly, [33] have concluded, after the histological study of *Bacillus thuringiensis* action on *Culex pipiens* larvae, that the first changes, in the mesentery, first concern the gastric caeca and posterior stomach.

## 5. Conclusion

The use of insecticide like plants extracts has been known to us for a longtime. The results presented in this work will lead us to believe that the aqueous extract of *Eucalyptus Globulus*, thanks to its larvicidal effects on *Culex pipiens*, should be considered among the natural components to be explored.

The effect on the mosquito's larvae (*Culex pipiens*) can be observed by: the destructions of the APICAL part of the stomach cells, the total destruction of stomach cells of mosquito's larvae with the rejection of some debris in the nutrition column, the relatively big distances between cells, a Hypertrophy or an intestinal cell augmentation. This would cause the death of the larvae's. This extract can be considered as a defense and control strategy against harmful insects, in fact, it is composed of many molecules that do not all apply to the larvicidal action.

A more developed study is in order to help us better understand the action's mechanism. We think that dissections and analyses of these total extracts will better explain the nature of the active molecules. This would form an interesting perspective of our research. It is also interesting to keep track of the impacts that these aqueous plants extracts have on the intestines of larva mosquitos.

## 6. References

1. Aouati A. Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). En vue de l'obtention du Diplôme De Doctorat en sciences. Université des frères Mentouri (Constantine). 2015.
2. Ressigui P. Contribution à l'étude du repas sanguin de *Culex pipiens pipiens*. Thèse d'exercice, école nationale de Toulouse-ENTV. 2011, 80.
3. Mouchet J, Golvan YJ. Lutte contre les vecteurs. In *Éléments de Parasitologie médicale*. Flammarion Médecine -Sciences édition Paris. 1983, 471-506.
4. Berchi S. Résistance de certaines populations de *Culex*

5. *pipiens* L. au malathion à Constantine (Algérie) (Diptera, Culicidae). Bulletin de la Société Entomologique de France. 2000; 105(2):125-129.
6. Berchi S, Louadi K. Caractérisation de la résistance de *Culex pipiens* L., 1758, au malathion (organophosphoré) et détection des gènes de résistance (Diptera, Culicidae). Bulletin de la Société Entomologique de France. 2007; 112(1):99-104.
7. Hassain K. Les Culicides (Diptera- Nematocera) de l'Afrique méditerranéenne. Bioécologie d'*Aedes caspius* et d'*Aedes detritus* des marais salés, d'*Aedes mariae* des rock-Pools littoraux et de *Culex pipiens* des zones urbaines de la région occidentale Algérienne. Thèse de doctorat d'état à l'université de Tlemcen, 2002, 203.
8. Faraj C, Elkohli M, Lyagoubi M. Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (Dipterae : Culicidae), vecteur potentiel du virus *West Nile*, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. Bulletin de Sociologie et Pathologie Exot, 2006, 119-121.
9. Aouinty B, Oufara S, Mellouki F, Mahari S. Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois du thuya (*Tetrachinis articulata* Mast.) sur les larves de quatre moustiques Culicidés. Biotechnologie. Agronomie. Sociologie. Environnement. 2006; 10(2):67-71.
10. Kosone K, Ito M, Kosuge K, et Kanayam A. Distribution of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) complex in Yokohama Japan. Proceeding of the sixth international conference on urban pests, 2008, 497.
11. Guyatt MD, Jack Sinclair M, Deborah J, Cook MD. For the evidence-based medicine working group and the Cochrane applicability methods working. Group JAMA. 1999; 281(19):1836-1843.
12. Savage HM, Ceianu C, Nicolescu G, Karabatsos N, Lanciotti R, Vladimirescu A *et al.* Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania in 1996, with serologic and molecular characterizations of a virus isolate from mosquitoes. Am. J Trop. Med. Hyg. 1999; 61:600-611.
13. Zientara S, Murgue B, Zeller H, Dufour B, Murri S, Labie J *et al.* Maladie a virus 'West Nile' en France. Epidemiol. et santé anim. 2001; 39:113-120.
14. Karch S. Etudes au laboratoire et dans les conditions naturelles de l'activité larvicide de *Bacillus sphaericus* neide, 1904, pour la lutte contre les moustiques. Thèse présentée pour obtenir le grade de docteur d'état en sciences (sciences naturelles). Université de Paris XL centre d'Orsay. 1987, 28-58.
15. Fournier J. Insecticides. In : Chimie des pesticides. Edition Des trois Moutiers, Vienne. 2003, 235-320.
16. Koua KH. Mise en évidence de l'activité larvicide de *Persea americana* sur *Anopheles gambiae*s.l., un moustique d'importance médicale. Thèse doctorat 3eme cycle, Université. Cocody Abidjan (Cote d'Ivoire). 1994, 123.
17. Ererle F, Ulug I, Yalcinkay B. Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*. Fitoterapia. 2006; 77:491-494.
18. Alaoui Boukhris M. Activités larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires. Faculté des sciences et techniques Fés- thèse de Master sciences et techniques, 2009.
19. Tchoumboungang F, Sameza ML, GabyN kouaya, Mbanjo N, Tiako F, Amvamp *et al.* Activité larvicide sur

- Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2009; 13(1):77-84.
19. Lokesh R, Barnabas L, Madhuri P, Saurav K, Sundar K. Larvicidal activity of *Trigonelle faenum* and *Nerium oleander* leaves against mosquito larvae found in Vellore city, India. *Current research journal of biological sciences.* 2010; 2(3):154-160.
  20. Sayah MY, El ouali Lalami EA, Greech H, Errachidi F, Rodi ElKandri Y, Ouazzani Chahdi F. Activité Larvicide des Extraits de Plantes Aromatiques sur les Larves de Moustiques Vecteurs de Maladies Parasitaires. *International Journal of Innovation and Applied Studies.* 2014; (7):832-842.
  21. El-akhal F, Greche H, Ouazzanichahdi F, Guemmouh R, El oualilalami A. Composition chimique et activité larvicide sur *Culex pipiens* d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivées au Maroc. *Journal Mater. Environ. Sci.* 2014; 6(1):214-219.
  22. Maciel MV. Chemical composition of *Eucalyptus spp.* Essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. *Veterinary parasitology.* 2010; (167):1-7.
  23. El banna SM. Larvicidal effects of Eucalyptus extract on the larvae of *Culex pipiens* mosquito. *International journal of agriculture and biology.* 2006; 08(6):896-897.
  24. Tennyson S, Ravindran J, Arivoli S. Screening of twenty five plant extracts for larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus* say (Diptera: Culicidae). *The Asian pacific journal of Tropical biomedicine.* doi. 2012; 10(12):4.
  25. Raveen R, Kamakshi KT, Deepa M, Arivoli S, Tennyson S. Larvicidal activity of *Nerium oleander* L. (Apocynaceae) flower extracts against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *International journal of mosquito research.* 2014; 1(1):38-42.
  26. Nait K. Etude de composition chimique des essences de quatre espèces d'Eucalyptus poussant dans la région de Tizi ouazou Algérie. Thèse de magister spécialité chimie appliqué. Algérie, 2012.
  27. Sukontason K, Buncho M, Klantawa B, Piangjai S, Rongsriyam Y, Sukontason L. Comparison between *Musca domestica* and *Chrysomya megacephala* as carriers of bacteria in northern Thailand. In *Southeast Asian Journal Trop Med Public Health.* 2007; 38:38-44.
  28. Raccaud JS. *Les Insectes, physiologie, développement.* Masson, Paris. 1980, 276
  29. Waterhouse OF, Day MF. Function of the gut in absorption, excretion and intermediary metabolism. In *insect physiology.* Edited by kenneth ooeoer. 1953, 331-349.
  30. Seye F, Ndione RD, Ndiaye M. Etude comparative de deux produits de neem (huile et poudre) sur les stades préimaginaux du moustique *Culex quinquefasciatus* (Diptera : Culicidae). *Afrique Science.* 2006; 02(2):212-225.
  31. Raymond Demba Ndione, Omar Faye, Mady Ndiaye, Abdoulaye Dieye, José Marie Afoutou. Toxic effects of neem products (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 larvae. *African Journal of Biotechnology.* 2007; 6(24):2846-2854.
  32. Sahar AB Fallatah. Histopathological Effects of Fenugreek (*Trigonella foenumgraceum*) Extracts on the larvae of the Mosquito *Culex quinquefasciatus*. *JASMR.* 2010; 5(2):123-130.
  33. Al-Mehmadi RM, Al-Khalaf AA, Larvicidal, histological effects of *Melia azedarach* extract on *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). *Journal of King Saud University (Science).* 2010; 22:77-85.
  34. Zayed AA, Rokaya MA, El Namaky HA, Ismail HM, Mady HY. Influence of *Allium sativum* and *Citrus limon* Oil Extracts and *Bacillus thuringiensis* *Israeensis* on some Biological Aspects of *Culex pipiens* Larvae (Diptera:Culicidae). *World Journal of Zoology.* 2009; 4(2):109-121.
  35. Karch S, Coz J. Histopathologie de *Culex pipiens* Linné (Diptera, Culicidae). soumis à l'activité larvicide de *Bacillus sphaericus* 1593-4. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. et Parasitol.* 1983; XXI(4):225-230.

Soutenue le : ...01/07/2018

ZERROUG Sarra

**Étude biométrique et histologique sur des larves de *Culex pipiens* exposées aux extraits de plantes**

**Résumé**

Des larves du 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> stade larvaire du moustique *Culex pipiens* L. ont été exposées aux extraits aqueux de huit plantes à différentes doses, dans les conditions de laboratoire, afin d'évaluer leur effet larvicide. Les résultats montrent une sensibilité variable des larves, qui est encore plus élevée avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. Par ailleurs, la toxicité est bien marquée lorsque la durée d'exposition des larves est plus longue.

Dans l'ensemble des plantes testées, l'eucalyptus et le laurier semblent être les plus efficaces dans la lutte contre ce moustique.

Au niveau intestinal nous avons mis en évidence les modes d'actions histologiques des éléments toxiques des extraits sur l'intestin moyen des larves traitées. En effet, les observations faites au microscope sur des larves traitées à intervalle de temps (2 h, 6 h, 12 h, 24 h et 48 h) révèlent des modifications profondes au cours du temps telles, qu'après 24 h les cellules éclatent et le contenu cytoplasmique passe dans la lumière intestinale, entraînant la mort.

Différents paramètres morphométrique ont été considérés, à savoir: la longueur et la largeur des ailes, la longueur et la largeur de l'abdomen, la longueur des antennes, du fémur, du tibia et des 5 tarsi des adultes de *Culex pipiens*, traitées avec les extraits de plantes. L'analyse des données montre que les extraits aqueux de plantes provoquent des différences par rapport aux mêmes paramètres chez les témoins.

**Mots clés**

*Culex pipiens*, extraits méthanoliques, effet larvicide, DL<sub>50</sub>, histologie, tube digestif, morphométrie.

**Directrice de thèse : Prof. Berchi Sélima**