

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement
Supérieur et de la
Recherche scientifique

وزارة التعليم العالي
والبحث العلمي

Université 20 août 1955
SKIKDA



جامعة 20 أوت 1955
سكيكدة

Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

Thème :

Etude de l'activité biocide de l'huile essentielle et de l'extrait brut
De *Lavandula stoechas L* sur le développement des larves
De *Culex pipiens* (Diptera Culicidae).

Réalisé par : TOUBAL Salah

Devant le Jury :

M^m. BENZAZIA Samia

MCB Présidente

Université 20 août 1955 Skikda

M^m.MELLAHI. Lamia

MAA Examinatrice

Université 20 août 1955 Skikda

M^r. BOULKENAFET Fouzi

MCA Directeur de mémoire

Université 20 août 1955 Skikda

Année universitaire 2022/2023

Résumé :

Dans le cadre de l'exploitation des plantes algérienne notre attention s'est portée sur l'étude de *Lavandula stoechas* qui est un genre herbacé vivace et très répandue dans la région de SKIKDA. Cette plante qui est récolté à RAMDANE DJAMEL a fournis un rendement en huile essentielle qui est égale à 0,66% et un rendement d'extrait brut qui est égale à 10,38%. L'évaluation de l'activité antioxydante de cette plante nous a permis déterminer la concentration d'inhibition IC50 % de l'extrait brut en outre l'estimation quantitative des polyphénols, flavonoïdes par la méthode colorimétrique a montré les valeurs (34,23 µg EAG/ mg E, 12,38 µg EQue/g E) respectivement. L'étude de l'activité larvicide de *Lavandula stoechas* sur des larves de *Culex pipiens* a permis d'établir des différentes concentrations létales au fils de temps: pour l'huile essentielle à 24h (3,572 PPM), à 48h (2,174 PPM) et 72h (1,482 PPM) et pour l'extrait éthanolique à 24h (0 PPM), à 48h (2114 PPM) et 72h (262,1 PPM) avec une relation dose-réponse.

Summary

Within the framework of the exploitation of the Algerian plants our attention focused on the study of *Lavandula stoechas* which is a perennial herbaceous genus and very widespread in the region of SKIKDA. This plant which is harvested at RAMDANE DJAMEL provided an essential oil yield which is equal to 0,66 % and a crude extract yield which is equal to 10,38%. The evaluation of the antioxidant activity of this plant allowed us to determine the concentration of inhibition IC50% of the crude extract in addition the quantitative estimate of polyphenols, flavonoids by the colorimetric method showed the values (34,23 µg EAG/ mg E, 12,38 µg EQue/g E) respectively. The study of *Lavandula stoechas* on larvae of *Culex pipiens* made it possible to establish different lethal concentrations over time for the essential oil at 24h (3,572 PPM), at 48h (2,174 PPM) and 72h (1,482 PPM), and for the ethanolic extract at 24h (0 PPM), at 48h (2114 PPM) and 72h (262,1 PPM) with a dose-response relationship.

Les mots clé : *L.stoechas*, huile essentielle, extrait éthanolique, *Culex pipiens*, toxicité, CL50, activité larvicide.

ملخص:

كجزء من استغلال النباتات الجزائرية، تم تركيز اهتمامنا على دراسة *Lavandula stoechas* وهو جنس عشبي معمر ومنتشر للغاية في منطقة SKIKDA. يوفر هذا النبات الذي تم حصاده في رمضان جمال محصول زيت عطري يساوي 0.66% وعائد مستخلص خام يساوي 10.38%. سمح لنا تقييم النشاط المضاد للأكسدة لهذا النبات بتحديد تركيز تثبيط IC50% من المستخلص الخام بالإضافة إلى أن التقدير الكمي لمركبات البوليفينول والفلافونويد بطريقة القياس اللوني أظهر القيم (34.23 ميكروغرام / EAG ملغ E ، (12.38 µg EQue / g E) على التوالي. مكنت دراسة نشاط مبيد اليرقات من نبات *Lavandula stoechas* على يرقات *Culex pipiens* من تحديد تركيزات مميتة مختلفة بمرور الوقت: للزيت العطري عند 24 ساعة (3.572 جزء في المليون)، في 48 ساعة (2.174 جزء في المليون) و 72 ساعة (1.482 جزء في المليون). وللمستخلص الإيثانولي عند 24 ساعة (0 جزء في المليون) ، 48 ساعة (2114 جزء في المليون) و 72 ساعة (262.1 جزء في المليون) مع علاقة الاستجابة للجرعة.

الكلمات المفتاحية: *L.stoechas* ، زيت عطري ، مستخلص إيثانولي ، *Culex pipiens* ، السمية ، CL50 ، نشاط

مبيد اليرقات.

Remerciement

Nous rendons grâce à dieu qui a donné l'aide, la patience et le courage pour accomplir ce travail.

*Nous vifs Remerciements pour notre directeur de mémoire **M^r, BOULKENAFET Fouzi**. A pour ces efforts, sa disponibilité et son suivi.*

*Nous remercions **M^m, BENZAZIA Samia** de nous avoir fait l'honneur de présider notre jury de soutenance.*

*Nos remerciements vont également à **M^m. MELLAHI Lamia** d'avoir accepté de juger notre travail.*

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance, à tous ceux qui d'une manière ou d'une autre ont participé la réalisation de notre travail.

Je tien enfin à remercier tout le corps d'enseignements qui ont participé à ma formation au cours de m'apprentissage.

Que nos remerciements aient aussi à nos collègues pour leur amitié et leur sympathie



TOUBAL Salah

Dédicace

Je dédie ce travail

À mes très chers parents, TOUBAL Hocine et ZOUITEN. F, pour leur amour infini, leurs encouragements et leur soutien. Que Dieu vous bénisse, vous garde en bonne santé pour moi.

À ma femme et mes enfants pour leurs sacrifices et leurs aides illimitées tout au long de mes études. Que dieu vous préserve longue vie et prospérité.

A monsieur l'ancien Directeur de la Santé Populaire de Skikda D^r TEBER Mohieddine qui m'a encouragé et aidé à poursuivre mon parcours universitaire et ce, compte tenu des circonstances de l'épidémie de COVID-19.

A le P^r DJIRROU Zohir est chargé de cours à l'université de 20 aout Skikda, faculté de science naturelle et de la vie, département de biochimie. Qui m'a encouragé tout au long de mon parcours universitaire et m'a appris les bases des sciences pharmaceutique, et c'est une partie importante de mon projet de fin d'études à l'université.

A D^r BRANCE Zidane, chef du département de biochimie de la faculté des sciences de l'université d'Annaba Badji-Mokhtar, qui m'a encouragé à poursuivre mes études et m'a facilité le transfert de dossier pour me motiver à étudier.

À mon amis BOUAFFAR Zaied pour nos souvenirs inoubliables. Que notre amitié dure à jamais.

À tous ceux qui pensent à moi et que je n'ai pas mentionné.

A toutes mes amies qui m'a accompagnée dans mon parcours universitaire



TOUBAL Salaf

Sommaire

Résumé

ملخص

Abstract

Liste des tableaux

Liste des figures

Abréviations

Introduction1

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

I- Présentation d'espèce végétale de *Lavandula Stoechas*3

I-1- *Lavandula stoechas*3

I-1-1-Répartition géographique3

I-1-2-Description botanique de *Lavandula stoechas*.....3

I-1-3-Taxonomie3

I-1-4-Utilisation de la plante5

I-1-4-1-Traditionnelle et thérapeutique5

I-1-4-2- Lutte anti-vectorielle.....6

I-1-5-Les maladies à transmission vectorielle (MTV).....6

I-2-Présentation d'espèce animale de Culicidae.....6

I-2-1- Présentation de l'espèce *Culex pipiens*.....6

I-2-1-1-Position systématique des *Culex pipiens*.....7

I-2-1-2- Cycle de développements de *Culex pipiens*7

I-2-1-3-Caractéristiques larvaire de *Culex pipiens*7

I-2-1-3- Caractéristiques larvaire de *Culex pipiens*8

I-2-1-4-Habitat larvaire.....8

I-2-1-5-Nutrition8

I-2-1-6-Rôle écologique de *Culex pipiens*.....10

I-2-2-L'Objectif de la lutte anti vectorielle10

I-2-2-1- Les stratégies de lutte contre les moustiques vecteurs10

I-3- Extraits botanique de *Lavandula stoechas*11

I-3-1- Mode d'extraction de composants botaniques.....11

I-3-1-1-L'hydrodistillation11

I-3-1-2-Extraction par solvants volatil.....11

I-3-2-Etude phytochimique sur l'espèce *Lavandula stoechas*.....12

I-3-2-1-Les huiles essentielles12

I-3-2-1-1- Origine et localisation des huiles essentielles12

I-3-2-1-2-Propriétés physico-chimiques12

Sommaire

I-3-2-1-2-1-Propriétés physiques	12
I-3-2-1-2-2-Propriétés chimiques	12
I-3-2-1-2-3-Propriété chimiques des huiles essentielles de <i>Lavendula stoechas</i>	13
I-3-2-2- Les extraits bruts.....	14
I-3-2-4-1- L'analyse quantitative des extraits bruts.....	14
Chapitre II : Matériel et méthodes	
II-1- Objectif.....	15
II-2-Situation géographique de la région de récolte	15
II-3-Matériels	15
II- 3-1- Matériels non biologique	15
II-3-2- Matériels biologique.....	16
II-3-2-1- Matériels végétal.....	16
II- 3-2-2- Matériels animal.....	16
II-4- Méthode	17
II-4-1- Préparation de la plante	17
II-4-1-1- Séchage	17
II-4-1-2-Broyage	17
II-4-2- Préparation d' huile essentielle de <i>L. stoechas</i>	17
II-4-2-1- Extraction par hydro-distillation	17
II- 4-2-2- Détermination du rendement.....	18
II-4-3-Préparation d'extraits brut.....	18
II-4-3-1- Détermination du rendement des extraits brut	20
II-4-3-2- L'analyse quantitative d'extrait brut	20
a) Dosages des polyphénols totaux.....	20
b) Dosages des flavonoïdes	21
c) l'activité antioxydant par la radicale libre DPPH.....	21
II-4-4- Montage et identification les larves au laboratoire.....	22
II-4-4-1- Conservation des larves	22
II-4-4-2- Préparation et le montage des larves	22
II- 4-4-3- Identification des larves de moustique	22
II-4-5- Tests de toxicité	22
II-4-5-1-Traitement des larves par des extraits bruts	23
II-4-5-2- Traitement des larves par l'huile essentiel	23
II-4-5-3- Détermination le taux de mortalité.....	24
II-4-5-4-Analyse statistique	24

Sommaire

Chapitre III : Résultats et discussion

III-1-Résultats

III-1-1- Détermination du rendement d'extraits de <i>Lavandula stoechas</i>	24
III-1-1-1-Rendement d' huile essentielle	25
III-1-1-2-Rendement d' extrait brut.....	25
III-1-2-Résultats d'analyse quantitative de l'extrait brut de <i>L. stoechas</i>	26
III-1-2-1-Evaluation des polyphénols totaux.....	26
III-1-2-2-Evaluation des flavonoïde.....	27
III-1-2-3-Activité antioxydant	27
III-1-3-L'identification des larves.....	28
III-1-3-1-Différents clés d'identification des larves de nos échantillons.....	28
III-1-4-Résultats des tests de toxicité larvaire.....	29
III-1-4-1- Etude de toxicité de l'huile essentielle de <i>L. stoechas</i> sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h , 48h et 72h d'exposition.....	29
III-1-4-2-Etude de toxicité d'extrait bruts de <i>Lavandula stoechas</i> sur les larves de <i>Culex pipiens</i> après 24h , 48h et 72h d'exposition.....	30
III-1-4-3-Etude comparative de la toxicité de l'huile essentielle de <i>L. stoechas</i> pendant 24h,48h et72h ..	32
III-1-4-4-Etude comparative de la toxicité d'extraits de <i>L. stoechas</i> pendant 24h, 48h et 72h	33
III-1-4-5- Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait brut et l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i>	34
III-2-Discussion	35
III-2-1- Rendement d'huiles essentielle de <i>Lavandula stoechas</i>	34
III-2-2-Rendement d'extrait brut de <i>Lavandula stoechas</i>	34
III-2-3- Evaluation des composants de l'extrait brut de <i>L. stoechas</i>	35
III-2-3-1- Les polyphénols.....	35
III-2-3-3- Les flavonoïdes	36
III-2-3-4- Evaluation de l'activité antioxydant.....	36
III-2-4- Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait brut et l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i>	36

Conclusion

Référence bibliographique

Annexe

Listes des tableaux

Tableau 1 : Taxonomie de <i>Lavandula stoechas</i>	4
Tableau 1 : Taxonomie de <i>Culex pipiens</i>	7
Tableau 3 : Principaux constituants d'H.Es de <i>Lavandula stoechas</i>	13
Tableau 4 : Caractéristiques organoleptiques de l'huile de <i>Lavandula stoechas</i>	25
Tableau 5 : Détermination de rendements de l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i> en %.....	25
Tableau 6 : Détermination de rendements de l'extrait brut de <i>Lavandula stoechas</i> en %.....	25
Tableau 7 : Résultats du dosage des polyphénols (en mg EAG/ μ g).....	26
Tableau 8 : Résultats du dosage des flavonoïdes.....	27
Tableau 9 : Evaluation l'activité antioxydant d'extrait brut étudiés et le standard de Vitamin-C.....	27
Tableau 10 : Analyse de la variance des moyennes de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> exposées à l'extrait brut du <i>Lavandula stoechas</i> au 24h.....	30
Tableau 11 : Analyse de la variance des moyennes de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> exposées à l'extrait brut du <i>Lavandula stoechas</i> au 48h.....	30
Tableau 12 : Analyse de la variance des moyennes de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> exposées à l'extrait brut du <i>Lavandula stoechas</i> au 72h.....	30
Tableau 13 : Analyse de la variance des moyennes de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> exposées de l'huile essentielle du <i>Lavandula stoechas</i> au 24h.....	31
Tableau 14 : Analyse de la variance des moyennes de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> exposées de l'huile essentielle du <i>Lavandula stoechas</i> au 48h.....	31
Tableau 15 : Analyse de la variance des moyennes de la mortalité des larves de <i>Culex pipiens</i> exposées de l'huile essentielles du <i>Lavandula stoechas</i> au 72h.....	31
Tableau 16 : Concentrations létales CL50 de l'extrait pâteux du <i>Lavandula stoechas</i> à l'égard des larves de <i>Culex pipiens</i>	32
Tableau 17 : Concentrations létaux CL50 l'huile essentielle du <i>Lavandula stoechas</i> à l'égard des larves de <i>Culex pipiens</i>	33
Tableau 18 : Concentrations létaux CL50 de l'extrait brut et l'huile essentielle du <i>Lavandula stoechas</i> à l'égard des larves de <i>Culex pipiens</i>	34

Liste des figures :

Figure 1 : Répartition géographique de <i>Lavandula stoechas</i>	4
Figure 2 : Présentation de <i>lavandula stoechas</i>	5
Figure 3 : Position systématique des Culicidae en Algérie.....	9
Figure 4 : Cycle biologique des Culicidae.....	9
Figure 5: Vue générale d'une exuvie larvaire (Culicinae).....	10
Figure 6 : Carte géographique de la région de récolte de la plante étudiée.....	15
Figure 7: La partie aérienne de <i>L. stoechas</i> de la région de Ramdane Djamel (DJENANE ELANABE).....	16
Figure 8 : Gites d'échantillonnage à Ramdane Djamel.....	16
Figure 9 : Etuve de séchage type sec	17
Figure 10 : Hydro-distillateur types Clevenger	18
Figure 11 : L'huile essentielle extraite de plante sèche de la <i>L. stoechas</i>	18
Figure 12 : Extracteur de SOXHLET.....	19
Figure 13: Solvant après extraction de <i>L. stoechas</i>	19
Figure 14 : Rota-vapeur soustraire d'éthanol	19
Figure 15 : Etuve sec « évaporation relative de l'eau ».....	20
Figure 16 : Procédures de montage des larves	22
Figure 17 : Traitement des larves par l'extrait brut	23
Figure 18 : Traitement des larves par l'huile essentielle	24
Figure 19: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour l'évaluation des polyphénols totaux.....	26
Figure 20 : Courbe d'étalonnage de quercétine pour l'évaluation des flavonoïdes.....	27
Figure 21: Différents critères d'identification larvaire	29
Figure 22: La mortalité corrigé dans différents concentration de l'huile essentielles avec le temps.....	31
Figure 23 : La mortalité corrigée dans différents concentration d'extraits aqueux avec le temps.....	33
Figure 24 : CL50 d'extraits brut du <i>L.stoechas</i>	34
Figure 25 : CL50 d'huile essentielle du <i>L.stoechas</i>	34

Liste d'abréviations

% : Pourcentage

°C : degré Celsius

µl : Microlitre

AG : Acide gallique

CM : Carré moyen

cm : centimètre

Ddl : Degrés de libertés

DPPH : 2,2, - diphényl – 1 - picrylhydrazyle

EAG : équivalent d'acide gallique

EC50 : Efficace concentration 50

EQue : Equivalent de quercétine

Fig : Figure

g : Gramme

h : Heure

IC50 : Concentration inhibitrice 50

IRS : indoor residuals spraying

INPN : Inventaire Nationale du Patrimoine Naturelle

ITNs : insecticide-treated nets

L. s : Lavandula stoechas

M : Masse en gramme de l'extrait brut

MTV : maladies à transmission vectorielle

m : Mètre

M0 : Masse en gramme de la poudre végétale utilisée

mg : Milligramme

min : Minute

R: Rendement

µg : Microgramme

Introduction

Introduction

Les moustiques (famille : Culicidae) sont au centre de la recherche entomologique mondiale en raison de leur importance en tant que vecteurs d'un large éventail de virus et de parasites débilissants animaux (**Korba et al., 2015**). Les maladies transmises par les moustiques touchent plus de 100 pays à travers le monde, infectant plus de 700 millions de personnes chaque année dans le monde (**Ghosh et al., 2012**). Dans l'ensemble, moins de 150 espèces appartenant aux genres *Anopheles*, *Aedes* et *Culex*, *Culiseta* sont la cause indirecte de la morbidité et de la mortalité chez les humains, plus que tout autre groupe d'organismes (**Benmenni, 2018**). En raison de leur grande répartition géographique, abondance et nocivité, *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* *Macquart* sont les deux espèces de moustiques les plus remarquables d'Algérie (**Tine Djebbar et al, 2011**). L'étude de l'écologie et de la répartition de la faune Culicidienne et l'impact des facteurs écologiques responsables de cette répartition est l'un des objectifs des écologistes Entomologiste depuis longtemps (**Gillett, 1971 ; Service, 1993**). *Culex pipiens* est le moustique le plus fréquemment rencontré dans notre pays. Membre de la famille des Culicidés, il se développe sur tous les continents excepté l'Antarctique, et cause de nombreuses nuisances. En plus des piqûres et de la spoliation sanguine, il est responsable de la transmission du virus West Nile, qui affecte les oiseaux et occasionnellement l'homme, de la dirofilariose, qui atteint principalement le chien et dans une moindre mesure l'homme, et enfin de la fièvre de la Vallée du Rift dont l'agent responsable est un Bunyaviridae. (**Resseguier. P, 1986**).

Pour prévenir la prolifération des maladies transmises par les moustiques et pour améliorer la qualité de l'environnement et de la santé publique. Le contrôle des moustiques est essentiel (**Helimi et Zoghلامي, 2017**). Plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées (**Philogène et al., 2008**), dont 344 espèces recensées ont un pouvoir anti Culicidien (**Sukumar et al., 1991**). Les Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Lauraceae et Canelleceae sont les principales familles les plus prometteuses comme source de bio-insecticides (**Benayad, 2008**). On sait que plusieurs plantes de la région méditerranéenne possèdent des propriétés insecticides (**Conti et al., 2010**), le genre *Lavandula* (lamiaceae) est une plante sauvage du bassin méditerranéenne qui comprend plus de 34 espèces et est bien connue pour ses effets insecticide (**Badreddine et al., 2015**). L'une des espèces de lavande les plus utilisées au monde est *Lavandula stoechas* (**Dadalioglu et Evrendilek, 2002**), Le pouvoir insecticide des extraits de plantes varie non seulement en fonction de l'espèce végétale, de l'espèce de moustiques, de la répartition géographique, mais aussi de la technique d'extraction adoptée et du solvant utilisé lors de l'extraction (**Ghosh et al., 2012 in Kouider, 2016**). L'objectif général de la lutte anti vectorielle est la réduction de la mortalité ou de la morbidité des maladies à transmission vectorielle. Les méthodes existantes ont recours à des procédés de type chimiques, biologiques, physiques, environnementaux et sociaux. (**Benmenni, 2018**). De ce fait, des méthodes alternatives plus accessibles, sélectives et non polluantes ont été développées telles que les insecticides d'origine végétale (encore appelés bio-insecticides) (**Kouider et Attia, 2016**). De nombreuses études démontre que les huiles essentielles extraites de ces plantes ont un effet répulsif, larvicide, adulticide, anti-oviposition ou inhibiteur

de croissance (**Bastien, 2008 in Kouider, 2016**). l'utilisation d'huiles essentielle et d'extraits de plantes comme agent de lutte contre insectes fait l'objet d'investigations intensives dans un certain nombre de pays en raison de l'efficacité de leurs effets insecticides et larvicides, qui ont des impacts environnementaux négligeables (**Liaqat et al., 2016 ; Chintalchere et al., 2020**).

Ces huiles contiennent des combinaisons de substances chimique qui sont toxique pour les insecte et la toxicité s'opère via un certain nombre de mécanismes, dont l'inhibition enzymatique et la dénaturation des protéines (**El-Akhal et al., 2014**). Dans ce cadre de la lutte biologique contre les moustiques, notre travail consiste à tester l'effet larvicide des huiles essentielles et des extraites aqueux d'une plante aromatique qui est connue par leurs pouvoir insectifuge refoulant les moustiques « *Lavandula stoechas* ». La lutte biologique reste la plus sûre, la plus sélective et celle qui se biodégrade le mieux. Elle se fait par l'utilisation des substances naturelles actives, non polluantes, moins nocives et plus raisonnés. La lutte biologique prend divers forme, par utilisation rationnelle de leurs ennemis naturels (**Gaidi et Goucem, 2017**).

Cette étude est articulée sur plusieurs chapitres, dont le 1^{er} est la synthés bibliographique, le 2^{ème} comprend le matériel et méthodes puis le 3^{ème} chapitre qui tourné vers les résultats et discussion et en fin on termine par une conclusion.



Chapitre I

Synthèse bibliographique

I- Présentation d'espèce végétale *Lavandula stoechas*

Le genre *Lavandula* est le plus important de la famille des *Lamiaceae* et se compose d'environ 28 espèces, qui sont dans la plupart d'origine méditerranéenne (Heinrichmarzell et al., 1970).

I-1- *Lavandula stoechas*

C'est un arbrisseau aux feuilles persistantes, qui fleurit au printemps. Dans leur habitat naturel, les lavandes vivent dans les sols calcaires ; en fait elles s'accommodent aux divers types de sols, sauf de ceux qui seraient exagérément humides. Elle support d'ailleurs la sécheresse, les sols pauvres et les grands vents. Mais elle préfère les sols siliceux et les terrains acides. Elle tolère le froid jusqu'à 5°C. La floraison est plus précoce que chez les autres lavandes, se déroule d'avril à mai puis en automne (Peter, 2004 ; Lim, 2014). Le nom lavande vient du latin « **lavare** », qui signifie laver (Ryley, 1998). Le terme *Stoechas* désigne en grec de lavande qui croissait abondamment dans les îles d'Hyères (France), lesquelles avaient reçu pour cette raison le nom d'îles *Stoechas* (Beniston, 1984).

Noms communs ; الخزامى - La lavande - Lavender - *Lavandula*

Nom vernaculaire : halhap (Dellile, 2007)

I-1-1- Répartition géographique

Lavandula stoechas est répartie sur trois continents (Afrique, Europe et Asie). Il se développe autour du bassin méditerranéen, On le trouve également en Arabie Saoudite et en Iran. (Tim et Stephen, 2002). (Figure 1)

I-1-2- Description botanique de *Lavandula stoechas*

Lavandula stoechas est une plante arbrisseau très aromatique, très ramifié, plus au moins blanc-gris feutré à feuillage dense, jusqu'à 01m de haut. Feuilles opposées parfois en touffes, plus au moins linéaires, 1-4cm de long, à bord enroulé, les deux faces à poils gris souples. Pseudo verticilles de 6-10 fleurs, en pseudo-épis de 2-3 cm de long denses, de coupe carré. Bractées 4-8 mm de long, en form de cœur-rhombiques, brun-violet, membraneuses, gris feutré, sur 4rangé, les supérieures grossies de façon marquante, sans fleurs aux aisselles, 1-5 cm de long. Ovoides, pourpre à bleu-violet. Calice 4-6mm de long, à 13nervures, à 5 dents, en formes de cœur inversé. Corelle violet foncé, 6-8 mm de long, peut nettement bilabiée, à 5 lobes. 4 étamines dont 2 plus courtes. La touffe feuillue colorée set à attirer les insectes (Figure 2) (Bayer et al., 2023).

I-1-3-Taxonomie

Le genre *Lavandula*, affilié à la sous-famille des Népétoïdées (Dupont et Guignard, 2012). L'histoire taxonomique du genre *Lavandula stoechas* a été particulièrement bien décrite par (Upson et Andrews, 2004). La systématique de cette espèce est dressée dans le (Tableau 1) suivant :

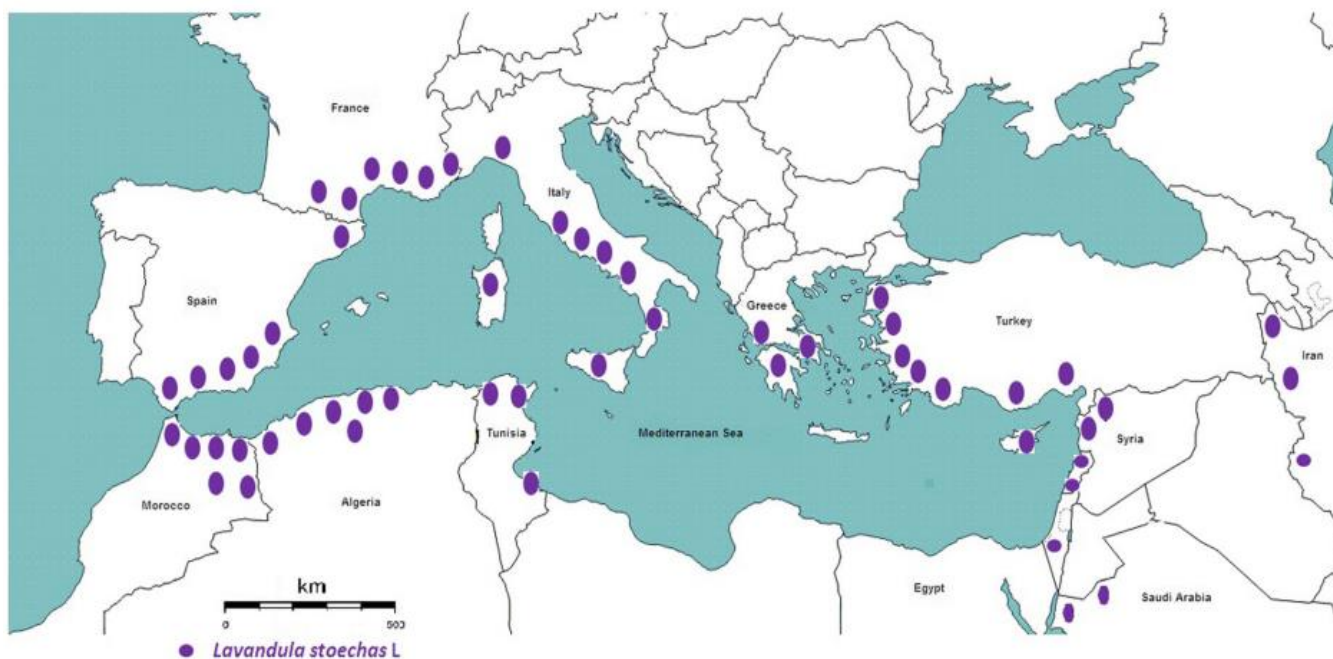


Figure 1 : Répartition géographique de *L. stoechas* (Zoubi et al., 2020)

Tableau 1 : Taxonomie de *L. stoechas* (Quezel et Santa, 1963)

REGNE	PLANTE
Sous règne	Plante vasculaire
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous famille	Nepetoideae
Genre	Lavendula
Espèce	<i>Lavandula stoechas</i> L

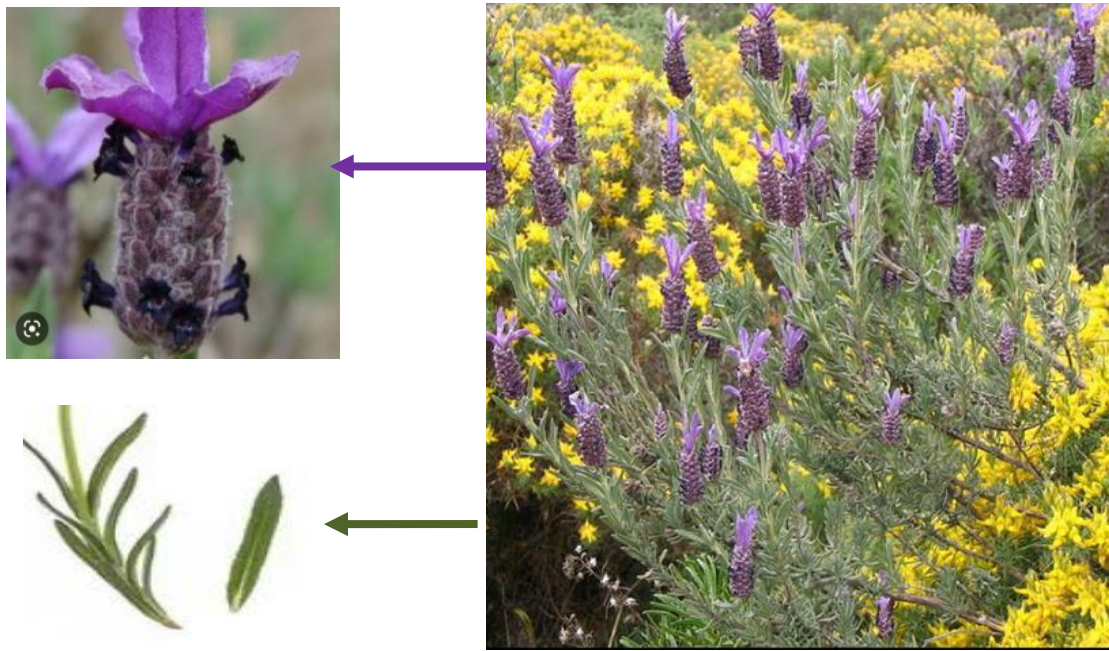


Figure 2 : Présentation de *Lavandula stoechas* (Ezzoubi, 2020)

I-1-4-Utilisation de la plante

I-1-4-1- Traditionnelle et thérapeutique

Il y a six mille ans, plusieurs civilisation anciennes de l’Egypte, de la chine et de l’Inde actuelles ont commencé à utiliser des plantes aromatiques et médicinales pour traiter des maladies et à des fins spirituelles (Krishna et al., 1996 ; Dhayalan et al., 2013). Dans la médecine populaire algérienne, les parties aériennes, surtout les inflorescences, sont utilisées comme un agent antiseptique et stimulant (Mahmoudi, 1982). La lavande française dit-il est efficace contre les maux de tête et toutes les maladies qui résultent du rhume. Elle peut donc être mélangée à des médicaments contre les maux de tête persistants depuis un certain temps, l’apoplexie, l’épilepsie et les maladies assimilées (Gerard, 2002). *Lavandula stoechas* sert à désinfecter abcès et plaies (Robert, 2013). Ce remède à base de plantes a montré une valeur considérable dans le traitement des maladies à l’aide d’extraits de plantes aromatiques et médicinales, y compris les huiles essentielles, les extraits alcooliques et hydroliques et les jus de fruits et les extraits distillés à partir de résines (Steven, 2009 ; Dunning, 2013). L’association entre la lavande et le lavage serait alors une hypothèse secondaire (Ben Abdelkader, 2012).

I-1-4-2-Lutte anti-vectorielle

De nombreuses familles de plantes (*Rutacées, Méliacées, Astéracées, Labiatiées, Pipéracées, Verbénacées et Annonacées*) sont utilisées comme pesticides botaniques (Isman, 1995).

Leur toxicité s'exprime de différentes manières : Activités ovicide, larvicide (Keïta et al., 2000 ; Pavela., 2004b), perturbation de la croissance des insectes (Pavela, 2004b), Diminution de la fécondité et de la fertilité (Pavela, 2005). Ils peuvent agir aussi comme des fumigeant (Jayakumar et al., 2017 ; Kheloul et al., 2020), des insecticides de contact (Aryani et Auamcharoen, 2016) et des répulsifs (Ebrahimi et al., 2020).

I-1-5- Les maladies à transmission vectorielle (MTV)

Les moustiques sont des insectes nuisibles et vecteurs de plusieurs maladies telles que le virus West Nile (Krida et al., 2011), la fièvre de la vallée du Rift (Moutailler et al., 2008) de la filariose (Abdelhamid et al., 2011) et de l'éléphantiasis (Gad et al., 1996), Les *Culicidae* sont des Diptères Nématocères qui transmettent divers affection animales et humaine (Nassima et al., 2011). Ils sont vecteurs de trois groupes d'agents pathogènes pour l'être humain : Plasmodium, filaires ainsi de nombreux arbovirus (Slimani et al., 1999 ; Adja et al., 2011). Les moustiques du genre *Anopheles* sont responsables de la transmission de Plasmodium, *Anopheles gambiae sl* constitue le vecteur majeur du paludisme. Les régions tropicales et subtropicales sont les principaux foyers de contamination (Gba Christabelle et al., 2021). Le genre *Aedes* est vecteur de nombreux arbovirus tels que le virus de la dengue, du Chikungunya, et le virus Zika ; le genre *Culex* est responsable de la transmission du virus de la fièvre du Nil Occidental, ou encore de l'encéphalite japonaise (Mulatier, 2018).

- **Les Vecteurs** interviennent de manière indispensable dans le cycle des pathogènes. La distribution des maladies à transmission vectorielle est ainsi restreinte à la distribution spatiale des vecteurs et des hôtes (Kitron, 1998).

I-2- Présentation d'espèce animale de *Culicidae*

La famille des *Culicidae*, synonyme du terme courant « moustique » (Carnevale et al., 2009). Les *culicidae* font partie de l'ordre des Diptères et la sous famille de Nématocères. Selon (Seguy, 1951), les moustiques se distinguent des autres Nématocères piqueuses par leur trompe longue et la présence d'écaille sur les nervures alaires. La famille des *Culicidae* se divise en trois sous famille, les *Toxorhynchitinae*, les *Anophelinae* et les *Culicinae* ; la sous familles des *Toxorhynchitinae* qui est formée d'un seul genre n'est pas représenté en Europe occidentale (Matile, 1993) ni en Afrique méditerranéenne (Brunhes et al., 1999). (Figure 3). En Algérie seules les deux sous-familles *Culicinae* et *Anophelinae* sont représentées (Berchi, 2000), avec six genres répartis comme suit : la sous famille d'*Anophelinae* comprend un seul genre uniquement qui est le genre *Anophèles* (Meigen, 1818). Dans la sous famille du *Culicinae*, on compte cinq genres : *Culex* (Linne, 1758), *Aedes* (Meigen, 1818), *Culiseta* (Lemaire, 1902), *Orthopodomyia* (Theobald, 1904) et *Uranotaenia* (Lynch, 1904).

1-2-1- Présentation de l'espèce *Culex pipiens*

C'est un moustique capable de coloniser différents biotopes, grâce à sa forte capacité d'adaptation (**Savage et Miller, 1995**). Cette espèce est très abondante pendant les mois d'été et d'automne, les imagos femelles hivernent dans les caves, étables, grottes et autres abris naturels. *Culex pipiens* est souvent appelé : moustique domestique. Les diptères du genre *Culex* sont des agents nuisant et des vecteurs compétents pour plusieurs agents pathogènes affectant l'homme et les animaux, tel est le cas du virus du Nil occidental et de la fièvre de la Vallée du Rift (**Moutailler et al., 2008; Krida et al., 2011; Reusken et al., 2011**). Le fonctionnement des écosystèmes détermine en effet en grande partie le déroulement du cycle biologique des différentes espèces : dates et lieux de ponte, dates et durées du développement larvo-nymphal, développement de la faune prédatrice et de la végétation des gîtes larvaires, émergence des adultes, prise du repas sanguin, ovogénèse, durée du cycle trophogonique, accouplement etc .., (**Philippe, 1984**).

I-2-1-1- Position systématique des *Culex pipiens*

Tableau 2 : Taxonomie de *Culex pipiens* (**Linné ,1758**)

REGNE	ANIMALE
Règne	Animalia
Embranchement	Arthropoda
Classe	Insecta
Ordre	Diptera
Famille	Culicidae
Sous famille	Culicinae
Genre	<i>Culex</i>
Espèce	<i>Culex pipiens</i>

I-2-1-2- Cycle de développements de *Culex pipiens*

Le cycle de développement des moustiques dure environ douze (12) à vingt (20) jours (**Adisso et Alia, 2005**). Il se déroule entre le milieu aquatique stagnant (œuf, larve, nymphe) et le milieu aérien (imago). Suivant les espèces, les femelles pondent leurs œufs isolément (*Aedes, Anopheles*) ou en amas flottant (*Culex*). (**Kettle, 1995**).

Le développement des larves à ce stade est exclusivement aquatique, leur déplacement est assuré par des mouvements frétilants caractéristiques, et leur évolution comporte quatre stades, de taille variant de 2mm à 12mm (**Boulkenafet, 2006**).

Ils possèdent une respiration aérienne, elles plongent en profondeur en cas de menace ou pour la recherche de nourriture. Les larves vivent environ 10 jours. La rapidité du développement des larves dépend de la quantité de nourriture contenue dans l'eau du gîte (Peterson, 1980 in Helimi et Zoghliami, 2017)

Le développement embryonnaire donne naissance à une larve qui va subir trois mues avant de se transformer en nymphe également aquatique. Les stades larvaires ont une durée variable en fonction du milieu et des saisons. Ils se définissent à partir des mensurations des parties chitineuses, en particulier la largeur de la capsule céphalique (Figure 4) (Himmi, 1991).

I-2-1-3- caractéristiques larvaire de *Culex pipiens*

La larve est vermiforme, cylindro-conique est apode, a une taille d'environ 2 à 12 mm, son corps est divisé en trois régions : la tête, le thorax et l'abdomen (Figure 5) (Robert, 1989).

La tête est la partie du corps fortement chitineuse légèrement allongée, et plus au moins aplatie dorso-ventralement, elle porte une paire d'antennes, deux paires d'yeux composées (tâches oculaires), des palpes maxillaires et des pièces buccales (mandibules, maxilles, brosse) (Himmi, 2007).

Le thorax est plus large que la tête et l'abdomen. Sa forme est grossièrement quadrangulaire ; il est formé de trois segments soudés : le prothorax, le mésothorax et le métathorax. Les faces ventrales et dorsales sont ornementées de soies. L'abdomen est allongé, sub-cylindrique, composé de neuf segments individualisés dont le huitième possède un intérêt majeur en taxonomie et où se détache le siphon respiratoire caractérisant la sous-famille des *Culicinae* (Sinegre, 1974).

I-2-1-4-Habitat larvaire

La durée de développement larvaire correspond au temps moyen entre la mise en eau des œufs et la dernière nymphose (Gba Christabelle et al., 2021). Les gîtes larvaires conditionnent la répartition des moustiques. Certaines espèces sont par exemple très abondantes dans les zones côtières car leurs gîtes sont préférentiellement l'eau salée ou saumâtre (anophèles), d'autres sont retrouvés à l'embouchure de fleuves car leurs développement se déroule dans les eaux saumâtres (certaines espèces d'*Aedes*). (Kettle, 1995). C'est en effet à la femelle pondreuse que revient le choix du gîte. Ce dernier se différencie selon l'importance de sa couverture, en biotope ombragé (sciaphile) ou ensoleillé (héliophile), selon les caractéristiques chimiques de l'eau douce (dulçaquicole) ou salée (halophile) et selon la taille du gîte, grande dimension (rivage de lac, de grand fleuve) ou très petite taille (creux d'arbre, empreinte de pas, petits récipients artificiel (Rodhain et Perez, 1985).

Culex pipiens développent dans les eaux claires et propres ; alors que *Culex quiquefasciatusse* développe dans les eaux très polluées et sales (toilettes publiques, égouts etc.) (Rodhaine et Perez, 1985 ; Kettle, 1995).

I-2-1-5-Nutrition

Les moustiques femelles ont un régime essentiellement hématophage, le repas de sang conditionne la ponte ; les mâles se nourrissent de sucs d'origine végétale.

Les larves se déplacent de façon active par cascade à la surface de l'eau ou au fond de l'habitat larvaire se nourrissent de micro-organisme, d'algue, de protozoaire, d'invertébrés et de détritux (Clements, 2000 ; Becker et al.,2010).

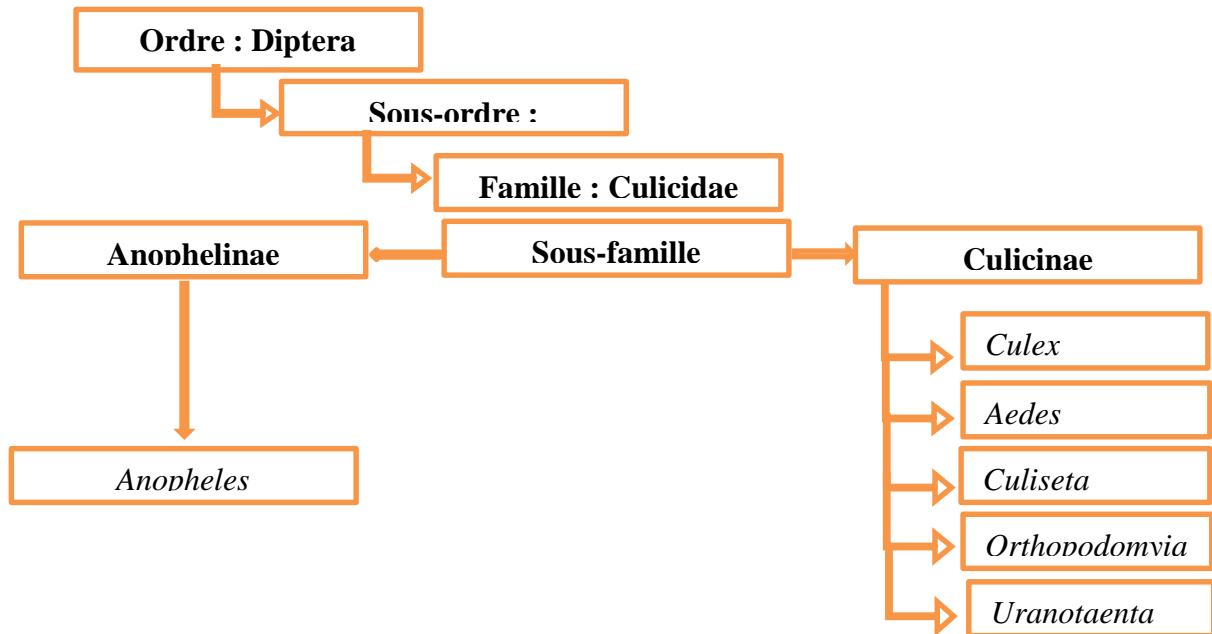


Figure 3 : Position systématique des Culicidae en Algérie (Berchi, 2000).

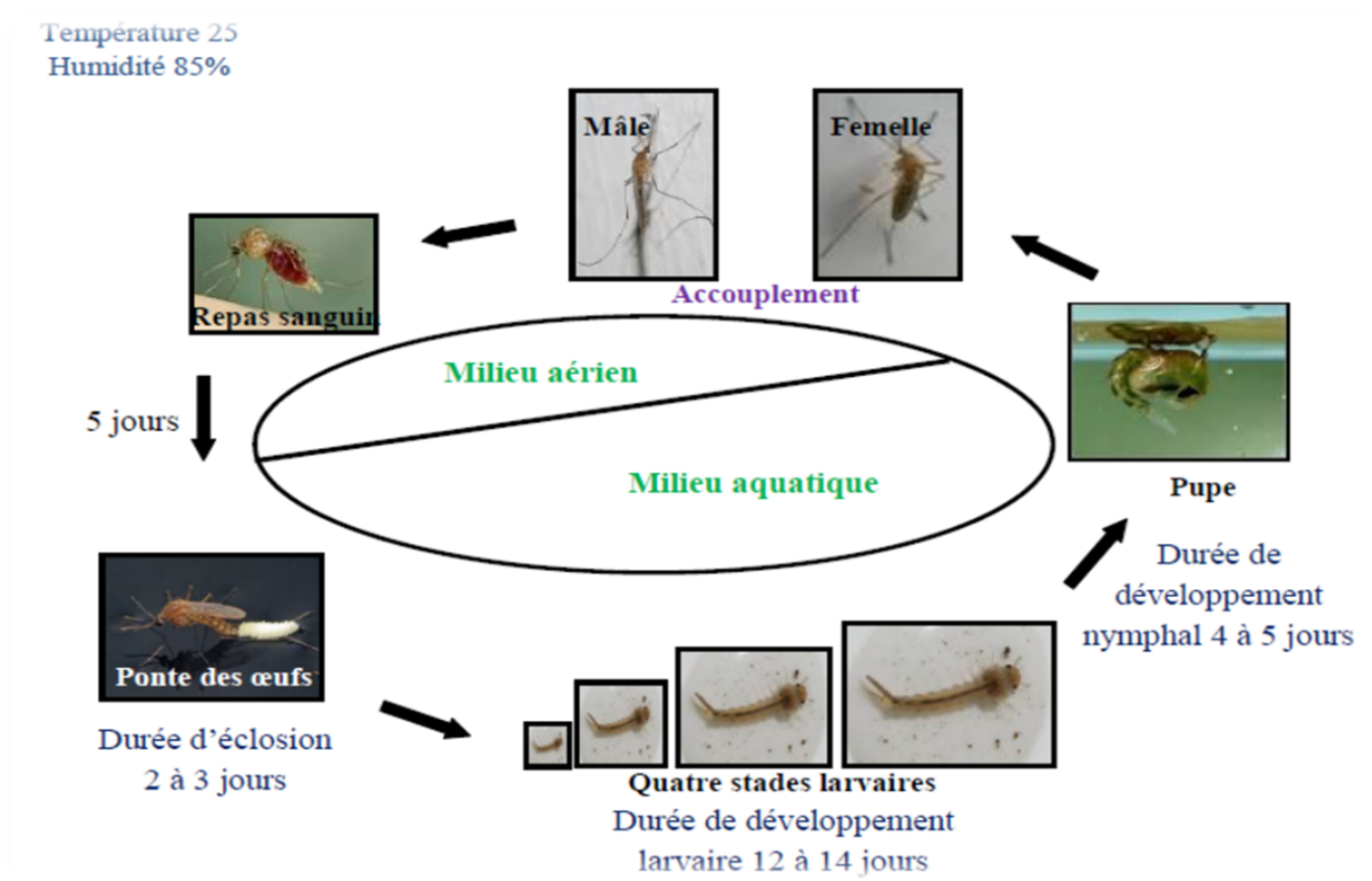


Figure 4 : Cycle biologique des *Culex pipiens* (Resseguier, 2011).

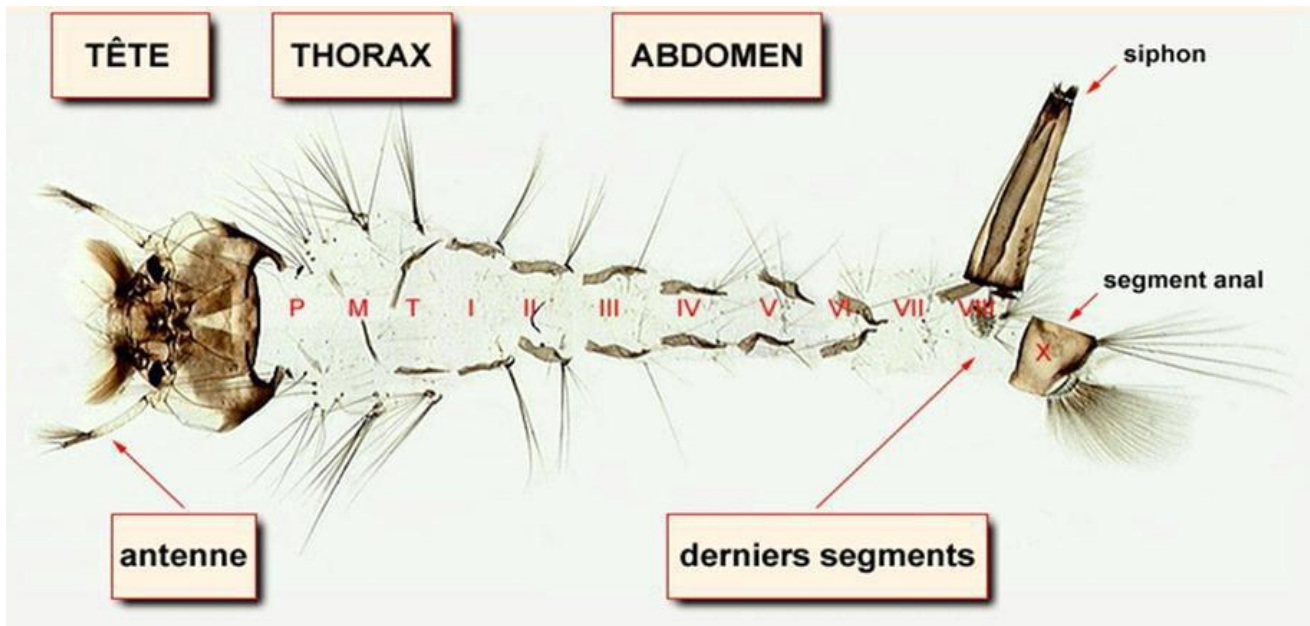


Figure 5: Vue générale d'une exuvie larvaire (Culicinae) (Brunhes et al., 2000).

I-2-1-6-Rôle écologique de *Culex pipiens*

Les moustiques, soit à l'état larvaire ou à l'état adulte, font partie de plusieurs chaînes alimentaires. Ils forment une abondante source d'énergie pour de nombreuses espèces de prédateurs tant en milieu aquatique que terrestre. Dans l'eau, les stades immatures sont mangés par des insectes (larves de libellules, de dytiques) et des poissons. Les adultes sont des proies d'insectes, de batraciens, de reptiles, d'oiseaux et de chauves-souris (Benyoub, 2007). Les larves des moustiques s'alimentent de très petites particules de matière organique morte, dans les eaux stagnantes puis se transforment en moustiques adultes qui sont dévorés par divers prédateurs terrestres, ce sont des détritivores qui interviennent dans la chaîne des saprophages et jouent aussi un rôle considérable dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques d'eau stagnante (Bourassa, 2000 ; Coldrey et Bernard, 1999).

I-2-2-L'Objectif de la lutte anti vectorielle

La diminution de la morbidité et de la mortalité palustre grâce à l'abaissement du taux d'inoculation entomologique. L'inoculation nécessitant la présence du vecteur infecté, les méthodes actuelles visent principalement la réduction du contact homme vecteur, la densité du vecteur et la durée de vie du vecteur adulte (OMS, 2004).

I-2-2-1- Les stratégies de lutte contre les moustiques vecteurs

Les méthodes de lutte conventionnelles contre les moustiques vecteurs reposent sur l'utilisation des insecticides qui permettent de lutter à la fois contre les larves et les adultes.

Plusieurs moyens de luttés ont été appliqués à l'égard de ces insectes hématophages, soit biologique, physique ou chimique par l'utilisation des insecticides conventionnels (**Casida et Quistad, 1998**).

Ces insecticides peuvent-être appliqués dans les gîtes larvaires, En pulvérisation intra-domiciliaire (I.R.S), Sur des moustiquaires : les moustiquaires conventionnelles (I.T.Ns).

Sur les vêtements (**Mulatier, 2018**). D'autres méthodes de lutte peuvent venir appuyer l'utilisation d'insecticides : Les méthodes biologiques, qui consistent à utiliser des organismes auxiliaires afin de diminuer les populations de moustiques. Elles peuvent impliquer des organismes larvivores (poissons, copépodes) (**Nam et al., 1998 ; Seng et al., 2008**), Les méthodes de stérilisation. Elles consistent à produire des mâles stériles qui sont relâchés dans l'environnement, la stérilisation peut être génétique ou par irradiation aux rayons gamma (**Lees et al., 2015**).

Les méthodes de modification environnementale, elles sont indispensables et consistent à créer un environnement imperméable aux moustiques (**Atieli et al., 2009**). Les méthodes push-pull, elle consiste à exploiter les connaissances que nous avons sur l'écologie sensorielle des moustiques, pour combiner à la fois l'utilisation de répulsif et de pièges olfactifs (**Cook et al., 2007, Menger et al., 2014**).

I-3- Extraits botaniques de *Lavandula stoechas*

I-3-1- Mode d'extraction de composants botaniques

En générale le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composés (par exemple, les flavonoïdes, les H.Es, les tanins), le rendement en huile et la fragilité de certains constituant des huiles aux températures élevées , et des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction (**Samat, 2001**).

I-3-1-1-L'hydrodistillation :

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger (**Clevenger, 1928**). La matière végétale est immergée directement dans un alambic rempli d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est suite porté) l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'H.Es se sépare de l'hydrolysate par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, elle surnage au-dessus de l'hydrolysate. Cependant, l'hydrodistillation possède des limites.

En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatique (**Lucchesi, 2005**).

I-3-1-2-Extraction par solvants volatil

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. (**Brian, 1995**). Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont : L'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone (**Kim et Chrom, 2002**). Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite.

L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool.

L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants. Un autre désavantage de cette extraction par les solvants est leur manque de sélectivité ; de ce fait, de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, Phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc.) peuvent se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une purification ultérieure (Brian, 1995).

I-3-2-Etude phytochimique sur l'espèce *Lavandula stoechas*

L'étude phytochimique sur l'espèce *L. stoechas* permet de détecter la présence des différentes familles chimiques. (Mayer, 2012)

I-3-2-1-Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont définies comme étant des extraits volatils et odorants, que l'on extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau, pressage ou incision des végétaux qu'ils les contiennent. Il s'agit d'un extrait pur et naturel provenant des plantes aromatiques (Roulier, 1990 ; Wegrzyn, 2005).

Le terme essentiel fait référence au parfum, à l'odeur plus au moins fort dégagée par la plante (Teusher et al., 2005). Selon Bakkali (2008), Toutefois, la grande majorité de ces études portaient sur les moustiques, que ce soit sur l'effet répulsif des huiles essentielles ou sur leur effet larvicide (Ntonifor et al., 2006). Le mode d'action des huiles essentielles est relativement peu connu chez les insectes (Bekele et Hassanali, 2001 ; Isman, 2000).

I-3-2-1-1- Origine et localisation des huiles essentielles

Les huiles volatiles peuvent être considérées comme des résidus du métabolisme végétal. Suite à la photosynthèse au niveau des chloroplastes, l'énergie produite (sous forme des glucides, NADPH et d'ATP) contribue au développement de la plante et indirectement à la biosynthèse de multiples composés secondaires parmi elles les huiles essentielles (Narishetty et Panchagnula, 2004 in Ouibrahim, 2015). L'accumulation de ces H.Es peut être dans toutes les parties de la plante : sommités fleuries (*Lavande*). (Ouibrahim, 2015).

I-3-2-1-2-Propriétés physico-chimiques

I-3-2-1-2-1-Propriétés physiques

Les propriétés physiques des huiles essentielles se résument en leurs indices, pouvoir rotatoire, viscosité, densité, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation. Généralement incolores ou jaune pâle, les essences sont liquides à température ambiante. Les H.Es sont extrêmement volatiles et sensibles à l'oxydation (Baser et Buchbauer, 2010).

I-3-2-1-2-2-Propriétés chimiques

Les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes (Buchanan et al., 2000). Ces substances sont des molécules très volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes, les monoterpènes et les sesquiterpènes (Croteau et al., 2000). Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettent en jeu des constituants non volatils (Bruneton, 1999). Les polyterpènes $(C_5 H_8)_n$ ou n peut être de 9 à 30 (Hernandez-Ochoa, 2005).

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3), ou composés phénoliques s'agissant le plus fréquemment de propénylphénols (aldéhydes). La biosynthèse par voie phenylpropanoïdes débute par des arômes qui sont la phénylalanine et la tyrosine, Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle (**Bruneton, 1999 in Ouibrahim, 2015**).

I-3-2-1-2-3-Propriétés chimiques des huiles essentielles de *Lavandula stoechas*

Les compositions chimiques de nombreuse huile essentielle de *Lavandula stoechas* ont été déterminées dans différent pays méditerranéens (Algérie, Grèce, Espagne, Corse, Turquie, Maroc, Tunisie, ..) avec des résultats variables (**Tableau 03**).

Tableau 03 : Principaux constituants d'HEs de *Lavandula stoechas* (**Benabdelkader, 2012**).

Genre	Espèce	Origine	Organe	Principes constituants %	Références
<i>Lavandula</i>	<i>L.stoechas</i>	Crosse (France)	-	<i>Fenchone</i> (14-75) <i>Champhre</i> (2-56) <i>1,8-cinéol</i> (3-14) <i>Acétate de mytényle</i> (1-4)	Ristorcelli et al, 1998
		Crète	Feuilles et fleurs	<i>Fenchone</i> (44-48) <i>Champhre</i> (5-16) <i>1,8-cinéol</i> (4-6) <i>Acétate de mytényle</i> (2-9)	Skoula et al,1996
		Cherchel (Algérie)	Feuilles et fleurs	<i>Fenchon</i> (31) <i>Cambre</i> (22) <i>p-cyméne</i> (6)	Dob et al.,2006
		Cagliari (Italie)	Feuilles, fleurs et tiges	<i>Fenchone</i> (59-72) <i>Champhre</i> (9-15) <i>Acétate de mytényle</i> (3-5)	Angioni et al.,2006
		Australie	-	<i>Fenchone</i> (21) <i>Champhre</i> (48) <i>1,8-cinéol</i> (9)	Moon et al., 2007
		Kairouane (Tunisie)	feuilles	<i>Fenchone</i> (68.2) <i>Champhre</i> (11.2) <i>1,8-cinéol +limonéne</i> (4.9)	Bouzouita et al., 2005

La présence et la concentration de certains constituants chimiques fluctuent également selon la saison et la maturation de la plante (**Chu et Kemper, 2001**).

Les composés de *fenchone*, de *camphre* et de *1,8-cinéole* sont les composés majeurs les plus couramment identifiés (**Benabdelkader, 2011 ; Zoubi et al., 2020**)

Elle varie en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte (**Burt, 2004 ; Oussou et al., 2008**). Les huiles essentielles de *Lavandula stoechas* en Algérie a été étudiée la première fois par chromatographie en phase gazeuse (GC) et chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (GC/MS). Une comparaison avec des huiles d'autres *Lavandula stoechas* dans la littérature montre des différences qualitatives et quantitatives (**Dob et al., 2006**).

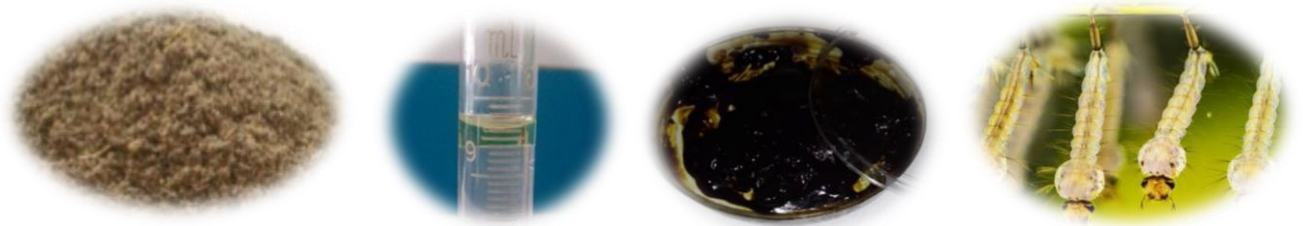
I-3-2-2- Les extraits bruts

I-3-2-2-1- L'analyse quantitative des extraits bruts

Selon **Harbone (1989)**, les polyphénols peuvent être divisés en au moins 10 classes différents. Les polyphénols ont été déterminés par la méthode du Folin Ciocalteu, décrite par (**Vermerius et al., 2006**), Les tests ont été effectués trois fois pour une fiabilité des résultats. La quantification des polyphénols totaux a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage, réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations et dans les mêmes conditions que les échantillons. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait (**Lamiaie et al., 2016**).

Selon leurs structures chimiques, les polyphénols sont divisés en 4 classes majeures : Phénols, acide phénoliques, flavonoïde, tanine (**Anders, 2002**). Les flavonoïdes principaux de *L. stoechas* : apigénine 7-glucoside, lutéoline 7-glucoside, lutéoline 7- Glucoronique (**Upson et al., 2000**). Le dosage des flavonoïdes totaux a été effectué par la méthode du trichlorure d'Aluminium (AlCl₃) décrite par **Bahorum et al., (1996)** en utilisant le quercétine comme étalon. La détermination du taux de flavonoïdes totaux de l'extrait a été réalisée par le protocole modifié de (**Kumaran et Karunakaran, 2005**), Les tannins sont des polyphénols polaires d'origine végétales (**Berthod et al., 1999**). Les tanins condensés ont été déterminés en milieu acide, par la méthode de la vanilline, décrite par (**Ba et al., 2010**).

En fin, la révélation des oses et holosides est réalisée par l'éthanol saturé avec du thymol et celle des mucilages, par l'éthanol absolu uniquement. (**Lamiaie et al., 2016**). La détermination de l'activité antioxydant par la méthode de DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) des extraits de différentes variétés de feuilles de figuier a été réalisée selon le protocole décrit par (**Koh et al., 2012**) en apportant quelques modifications



Chapitre II

Matériel et méthodes

Chapitre II : Matériel et méthodes

II-1-Objectif

Le travail de notre projet consiste à évaluer l'effet bio-larvicide des extraits de la plante *Lavandula stoechas*, récoltée dans une région de Skikda à Ramdane Djamel et d'extraire son huile essentielle par hydro-distillateur et son constituant aqueux non huileux obtenues par le soxhlet, après l'avoir extrait, sous forme en pâte dans le but de déterminer ses composants chimiques, à l'égard de *Culicinae* agent de nuisance l'aspect qui a été étudié ; la toxicité chez les larves dans une des étapes de leur vie 3^{ème} et 4^{ème} stades larvaire, nous les traitons dans des gobelets pour déterminer la valeur CL 50 en comparant l'efficacité de ses composants comme des larvicides naturels.

II-2- Situation géographique de la région de récolte

Nous avons récolté *Lavandula stoechas* au mois d'avril 2023, de la région Daïra de Ramdane Djamel, dans la station de DJENANE ELANABE, ce dernier est localisée au Nord-Est de la wilaya de Skikda en Algérie, un climat chauds à partir du mois de juillet jusqu'à septembre et plus froide au début du mois de janvier jusqu'à la fin de mars. Elle est située à 17 km du centre de la ville de SKIKDA traversée par RN3 à une altitude de 40 M. (Figure 6)



Figure 6 : Carte géographique de la région de récolte de la plante étudiée (Google Earth,2023)

II-3- Matériel :

II-3-1- Matériel non biologique

Durant de la partie expérimentale, nous avons utilisé :

- **Les appareille :** l'hydro-distillateur, le soxhlet, le rota-vapeur, Agitateur, Spectrophotométrie, Balance de précision et Mixeur électrique.
- **Les outils :** Ballon, Papier filtre, Entonnoir, Becher, Barreau magnétique, Boîtes pétries en verre, Pipete pasteur, Micro pipette, Ambots jaune et bleu, Spatule, Papier aluminium, Flacon, Tube à essai,

Portoir, Épine d'ouvre, Eprouvette graduée, Lame et lamelle, Erlenmeyer, Boîtes en plastique, Des pinceaux fins, seringue, cartouche de filtre en papier, Seau, Récipient, Bouteille en plastique, gants et les gobelets.

- **Les produits** : Méthanol, KOH, Tween 80%, Eau distille, Vitamine C, Eau de robinet, DPPH, Folin-Ciocalteu, $ALCL_3$, Quercétine, Acide gallique et NA_2CO_3 .

II-3-2- Matériel biologique

II-3-2-1- Matériel végétal

La plante a été récoltée le 17 Avril 2023. C'est la partie aérienne qui a fait l'objet de ce travail (feuilles, fleurs, tige). La plante doit passer par deux étapes avant de passer aux analyses biochimiques. Il s'agit du séchage, du broyage et de la conservation. (**Figure 7**)



Figure 7 : La partie aérienne : *L. stoechas* de la région de Ramdane Djamel (DJENANE ELANABE)
(Photo originale)

II-3-2-2-Matériel animal

Le plan d'échantillonnage adopté consiste à réaliser des pêches larvaires en prospectant dans des collectes d'eau naturelle ou artificielle, des marres et aussi dans des gites artificiels volontairement installés à Ramdane djamel (**Figure 8**). La collecte des larves est réalisée à l'aide de louches d'une contenance suffisante et cohérente avec la surface et la profondeur de gite, en diversifiant le plus possible les points de prélèvement, le contenu de la louche est versé à chaque fois dans des récipients (bouteille en plastique), qui seront par la suite transporté soigneusement au laboratoire.



Figure 8 : Gites d'échantillonnage à Ramdane Djamel (photo originale)
A (Lighbaysh) : Gite naturelle
B (Sonatiba) : Gite artificielle

II-4-Méthodes

II-4-1- Préparation de la plante

II-4-1-1- Séchage

Le séchage est un procédé consistant à abaisser la teneur en eau contenue dans l'espèce végétale. Notre plante fraîche est séchée dans une étuve à 80°C pendant 48 h (**Figure 9**) où bien dans une cave à l'abri de la lumière, à une température d'environ de 25°C pendant une semaine pour préserver au maximum l'intégrité des molécules, en évitant les altérations. Les feuilles et les fleurs sont ensuite séparées puis a été ensuite pesées en coupant des petites parties pour augmenter la surface de contact avec l'eau et récupérées dans des sacs afin de les conserver jusqu'au moment de l'extraction.



Figure 9 : Etuve de séchage type sec (photo originale)

II-4-1-2-Broyage

Cette opération a été faite après le séchage de la partie aérienne de la plante, une quantité de la plante a été concassées pour l'extraction des huiles essentielles ensuite broyées dans un broyeur électrique se transforme en poudre fine pour l'extraction des extraits bruts.

II-4-2- Préparation d'huile essentielle de *L. stoechas*

II-4-2-1- Extraction par hydro-distillation

Les huiles essentielles ont été isolées par hydrodistillation à partir des feuilles, des fleurs de l'espèce de *L. stoechas*. En utilisant l'hydrodistillateur (**Figure 10**).

L'extraction a duré 2 à 3 heures pour un mélange de 50g de matière végétal sèche de *L. stoechas*, avec 100 ml d'eau distillée, chacune des préparations est ensuite porté à ébullition dans un ballon de 1000 ml reliée à un réfrigérant. Les vapeurs chargées d'huile et qui traversent le réfrigérant se condensent et chutent dans un erlenmeyer pour décanter. L'eau et l'huile se séparent par différence de densité Les huiles essentielles recueillies par décantation à la fin de la distillation et l'huile essentielle de *L.stoechas*, sera par la suite récupérées et stockées à 4° C à l'obscurité dans des tubes en verre approprié, hermétiquement fermés et couverts d'une feuille d'aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière. Les quantités d'essence obtenues sont pesées pour le calcul du rendement.



Figure 10 : Hydro-distillateur types Clevenger (photo originale).

II-4-2-2- Détermination du rendement

Le rendement des huiles essentielles est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante, (**Figure 11**) il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R = P_B / P_A * 100$$

R: Rendement en HE en %.

P_B: Poids d'HE en g.

P_A: Poids de matière sèche de la plante en g



Figure 11 : l'huile essentielle extraite de plante sèche de la *L. stoechas*. (Photo originale)

II- 4-3-Préparation d'extrait brut

En utilisant l'extracteur de Soxhlet (**Figure 12**) qui compose d'un corps en verre dans lequel est placée une cartouche en papier filtre en forme d'un bâtonnet, que l'on remplit avec 40 g de la plante sèche de *L. stoechas*, et remplissez le ballon de 500 ml avec l'éthanol dilué. Ensuite, nous faisons fonctionner le chauffe ballon a température entre 60 C° et 80 C°, en attendant après environ de trois heures obtenir un extrait vert de la plante étudiée.



Figure 12 : Extracteur de SOXHLET (photo originale)

Le solvant est récupéré dans un ballon de 500 ml (Figure 13).



Figure 13 : solvant après l'extraction de *L. stoechas* (photo originale).

On utilise le rota-vapeur pour éliminer l'éthanol et le teneur d'eau dans le solvant a récupéré

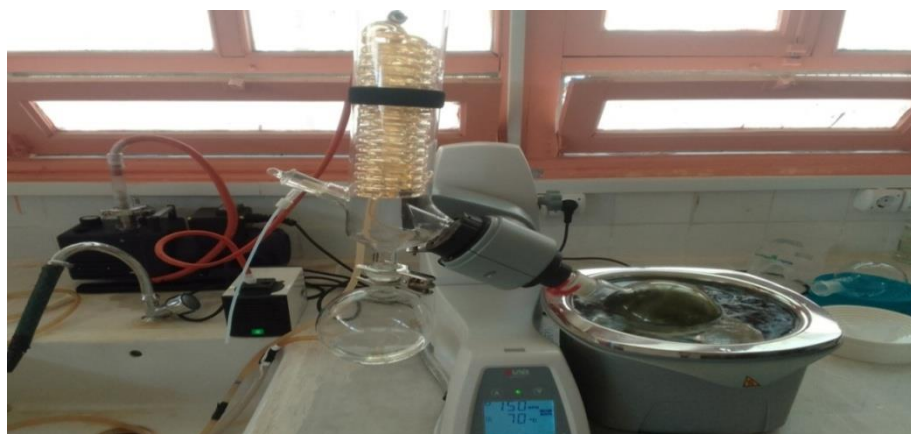


Figure 14 : Rota-vapeur soustraire d'éthanol (photo originale)



Figure 15 : Etuve sec « évaporation relative de l'eau » (photo originale)

II-4-3-1- Détermination du rendement de l'extrait brut

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après le séchage, et exprimé en pourcentage (%). Il est calculé suivant la formule présentée ci-dessous (Aberrane, 2019) :

$$R(\%) = [M/M_0] \times 100$$

R : rendement en (%)

M : masse en gramme de l'extrait brut

M₀ : masse en gramme de la poudre végétale utilisée.

II-4-3-2- L'analyse quantitative d'extrait brut

On a réalisé le dosage pour rechercher les métabolites secondaires de notre plante exemple les polyphénols les flavonoïdes, DPPH et Vitamine-C.

a) Dosages des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait brut de la plante *L. stoechas* est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu.

➤ Mode opératoire

Mettre **200** µl d'extrait (On met 0,5 mg d'extraits avec 1 ml de méthanol) de *Lavendula stoechas* dans des tubes à essais ; ajouter **01**ml de réactif de Folin-Ciocalteu ; agiter vigoureusement puis laisser agir **4** min avant d'ajouter **800** µl de carbonate de sodium à **7.5%**. Après **2** heures d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible (Spectrum SP-UV 2005) à 765 nm. Toutes les mesures sont réalisées en triplicata.

Les concentrations des polyphénols totaux contenus dans les extraits de *L. stoechas* sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard.

➤ Préparation de la gamme étalon d'acide gallique :

Une gamme de **06** concentration d'acide gallique (05 mg/25ml d'éthanol) a été préparé à partir d'une solution mère de sa concentration **200** µg/ml.

b) Dosages des flavonoïdes :**➤ Mode opératoire****• Prépare les réactifs de travail**

- On mettre 5 mg d'extraits avec 10 ml de méthanol
- On préparer AlCl₃ (trichlorure d'Aluminium) concentré 2% : prendre de 01g avec 50 ml d'éthanol.

• Procédures de dosage

Mettre de 01 ml d'extrait de *L. stoechas* déjà diluée par le méthanol dans des tubes à essais ; on ajoute 01 ml d' AlCl₃ en agitant vigoureusement puis laisser agir 10 min à l'abri de la lumière, lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible (Spectrum SP-UV 2005) à 765 nm contre le blanc de réactif qui comprend de 01 ml de méthanol avec 01 ml d' AlCl₃.

c) Activité anti-oxydante par le radicale libre DPPH :

C'est une activité du balayage des radicaux libres qui a été mesurée en employant le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH : C₁₈H₁₂N₅O₆) c'est l'un des Principaux essais employés pour explorer l'utilisation des extraits d'herbe comme Antioxydants (**Markowicz et al.,2007**).

➤ Principe

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH 2.2 diphenyl 1 picryle hydrazyl de couleur violette se réduit en 2.2 diphenyl 1 picrylhydrazine de couleur jaune (**Maataoui et al.,2006**) Selon (**Turkmen et al., 2005**) 2 mL de DPPH (0,15 mmol / L) sont mélangés avec 1 mL de chaque extrait. L'ensemble est mélangé à l'aide d'un vortex pendant 30 s, puis porté à l'obscurité à température du laboratoire pendant 20 min. Après cette durée, l'absorbance est Mesurée à 517 nm.

➤ Mode opératoire :

Préparation de la DPPH : Dissoudre 4 mg de DPPH dans un volume de 100 mL de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et conservé à -20°C dans l'obscurité. L'absorbance mesurée par spectrophotométrie est de 0,5 nm à une longueur d'onde de 517 nm.

➤ Procédure :

Dans notre étude on a suivi la procédure comme elle est décrite en dessous : 400ul de chaque solution méthanolique des extraits à mélangé à 1600 µl d'une solution méthanolique du DPPH. Après agitation, les tubes ont été placés à l'obscurité à une température ambiante, et incubés pendant 30 minutes, puis on a mesuré l'absorbance à 517 nm. Le banc contient 400ul du méthanol et 1600ul de DPPH et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon (**Blois, 1958**).

L'activité anti-radicalaire est exprimée en pourcentage d'inhibition de DPPH selon l'équation suivante :

$$\% \text{ inhibition} = [(\text{Abs Contrôle négatif} - \text{Abs Echantillon}) / \text{Abs Contrôle négatif} \times 100.$$

II-4-4- Montage et identification les larves au laboratoire

II-4-4-1- Conservation des larves

Après avoir les larves dans un récipient (bouteille de 5L) à leur milieu aquatique naturel, on les conserve dans un milieu éthanolique pour leur maintenir et arrêter leur croissance.

II-4-4-2- Préparation et le montage des larves

Les larves traitées rapidement par le KAOH 10%, pendant 5 min, sont portées à ébullition sur une platine chauffante dans une solution de potassium 10% et y demeurent jusqu'à un niveau d'éclaircissement suffisamment. Cela revient à éliminer tout son contenu préservant la coquille et détruire le tissu interne, nous visons à clarifier l'observation au microscope. Les indications de la date et du lieu de la récolte doivent être mentionnés sur lame. L'identification se fait à l'aide d'un microscope photonique. (**Figure 16**).

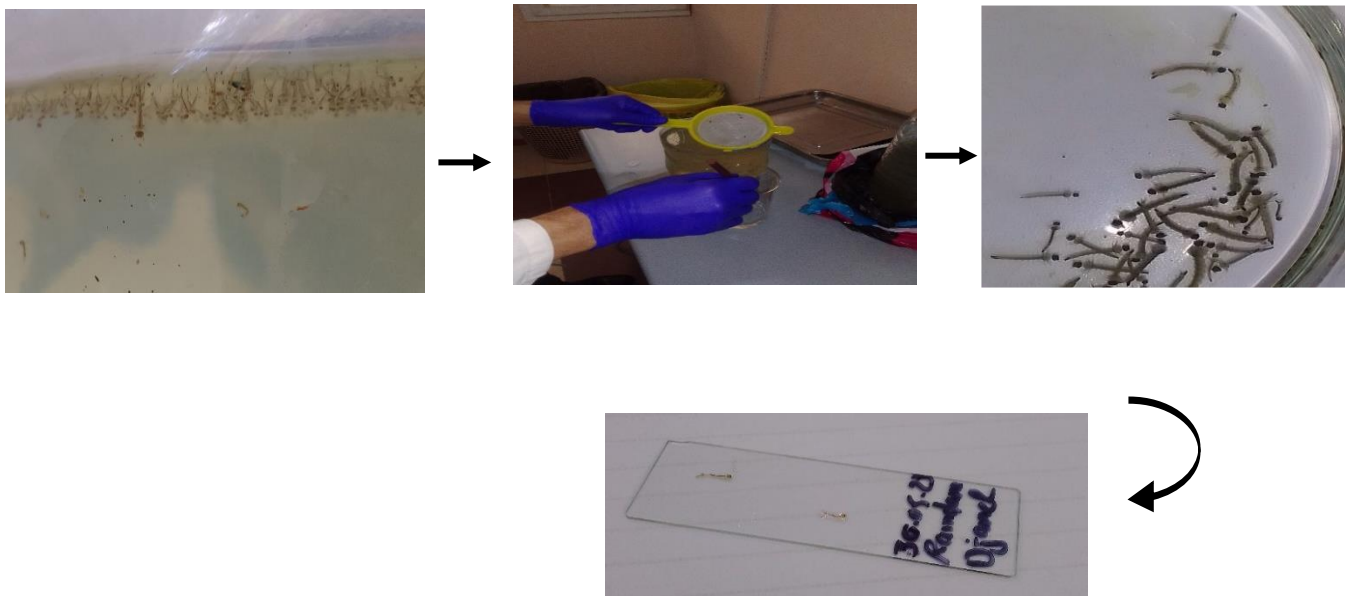


Figure 16 : Procédures de montage des larves (**Photo original**)

II-4-4-3- Identification des larves de moustique

Les larves issues des captures ont été à l'aide des clés d'identification morphologiques. Dans ce but nous nous sommes référés à la clé d'identification des *Culicidae* de l'Afrique méditerranéenne (**Bruhune et al., 1999**).

II-4-5- Tests de toxicité

Les tests toxicologiques ont été appliqués conformément aux tests de sensibilité normalisés par l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS, 1963**) adoptée pour tester la sensibilité des larves.

Afin de caractériser l'effet toxique des huiles essentielles et l'extrait brute du *L. stoechas* à l'égard des larves L4 et L3 nouvellement exuvies, il est nécessaire d'estimer les concentrations létales (CL50).

II-4-5-1-Traitement des larves par d'extrait brut

Différents doses d'extrait brute de la plante de *L. stoechas* (40 mg/L, 60 mg/L, 80 mg/L et 100 mg/L) Ce traitement a appliquée dans des gobelets contient plus de 100 ml.

Ainsi pour chaque concentration d'extrait nous avons préparées 04 répétitions avec deux témoins l'un contrôle positives comprend 100ml d'eau distillée avec 20 larves plus 200 µl de l'éthanol et l'autre contrôle négative contient 100ml d'eau distillée avec 20 larves. On préfère utiliser des larves de troisièmes et quatrièmes stade nouvellement exuvies. Le nombre de mortalité est ensuite noté après 24h, 48h, 72h d'exposition. (Figure 17)



Figure 17 : Traitement des larves par l'extrait brut (Photo originale).

II-4-5-2- Traitement des larves par l'huile essentielle

On suivre le même protocole de traitement auparavant, nous avons préparées différents doses de l'huile de la plante étudiée (2,5µl, 5µl, 7,5µl, 10µl) pour 04 lots, ont été appliquées dans des gobelets content chacun 100 ml d'eau distillé, 20 larves et 50 µl de TWEEN 80%, avec deux contrôles :

- Contrôle positive ; contient de 100ml d'eau distillée avec 20 larves.
- Contrôle négative ; contient de 100ml d'eau distillée avec 20 larves en ajoutant 50 µl de TWEEN 80%.

Le nombre de mortalité est ensuite noté après 24h, 48h, 72h d'exposition (Figure 18).



Figure 18 : Traitement des larves par l’huile essentielle (**Photo originale**).

II-4-5-3- Détermination du taux de mortalité

Les mortalités sont soumises à différentes analyses statistiques. La mortalité est le premier critère de jugement de l’efficacité d’un traitement chimique ou biologique. Afin de caractériser l’effet toxicologique d’extrait de *Lavandula stoechas* à l’égard des larves L3 et L4 de *Culex pipiens*, la mortalité observée chez ces larves est calculé par la formule (**Abdel-azeem et al.,2023**):

$$\text{Mortalité observé \%} = \frac{\text{Nombre de morte}}{\text{Nombre totale d'individu}} \times 100$$

Les mortalités observées sont corrigés par la formule **d’Abbott (1925)** qui permet d’éliminer la mortalité naturelle

$$\text{Mortalité corrigé \%} = \frac{(\% \text{ MO chez les traies} - \% \text{ MO de control positif})}{(100 - \% \text{ MO de control positif})} \times 100$$

II-4-5-4-Analyse statistique

Après la transformation des donnés an pourcentage de mortalité. L’analyse statistique des moyennes est réalisée à l’aide l’analyse de la variance ANOVA 2. Les concentrations létales CL50 sont déterminées après 24h, 48h et 72h d’exposition, elles sont calculées à l’aide du logiciel GraphPad Prism 8.



Chapitre III

Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

III-1-Résultats :

III-1-1-Détermination du rendement des extraits de *Lavandula stoechas* :

Le rendement d'extraits bruts de la plante étudiée calculé par la formule d'Aberrane en 2019 ;

III-1-1-1-Rendement d'huile essentielle

L'huile essentielle obtenue par hydro-distillation de la plante entière de *L. stoechas* pour une quantité de 50 g, présente des différentes caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) de son essence ont été notées et présentés (Tableau 4).

Tableau 4 : Caractéristiques organoleptiques de l'huile de *L. stoechas*

Couleur	Aspecte	Odeur	Solubilité
Jaune pale	liquide, mobile, limpide	forte agréable et propre à la plante	Liposoluble

A l'issue de l'hydro-distillation, l'huile essentielle de *L. stoechas* obtenue de la partie aérienne de la lavande a l'aspect d'un liquide mobile limpide de couleur jaune avec odeur aromatique très puissante et pénétrante est fortement influencée par le mélange complexe de composés volatils et la viscosité peuvent aussi être pertinente pour juger la qualité d'une huile. Son odeur caractéristique est agréable parfumée. Ces propriétés sont liées aux conditions climatiques et édaphiques de la région d'étude et de l'état de la plante.

Tableau 5 : Détermination de rendement de l'huile essentielle de *L. stoechas* en %

P _A	P _B	R(%)
50g	0,33g	0,66 %

La quantité de l'huile essentielle a obtenu 330 µL est converti en g

Le rendement des différents extraits sont définis comme étant les rapports de la quantité des substances végétales extraites sur la quantité de la matière végétale utilisée. Le calcul de rendement en huile essentielles par rapport au poids total de la partie aérienne de *L. stoechas* a donné un pourcentage de 0,66 %.

III-1-1-2- Rendement d'extrait brut

Le rendement d'extrait brut pour une quantité 2000 ml des extraits aqueux de *L. stoechas* marque le taux présent dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Détermination de rendement de l'extrait brut de *L. stoechas* en %

M _o	M	R(%)
200 g	20,77g	10.38 %

Extraction éthanolique qui s’effectue à l’aide l’extracteur SOXHLET est considéré comme une série de macération successive, mais cette technique ne nécessite pas un grand nombre d’opération et pour le même genre de la *L.stoechas* dans notre expérimentation montre un rendement de 10,38%.

III-1-2-Résultats d’analyse quantitative des composants de l’extrait brut de *L. stoechas* :

La concentration des composants polyphénols et flavonoïde est déterminée par l’équation linéaire de la courbe de référence à la fois en acide gallique et en quercétine dans cette ordre.

III-1-2-1-Evaluation des polyphénols totaux :

L’acide gallique (20-200µg/ml) est le standard utilisé pour établir la courbe d’étalonnage (figure 19) à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux des extraits est calculée. Le résultat est exprimé en µg d’équivalent d’acide gallique par milligramme d’extraits (Tableau 7).

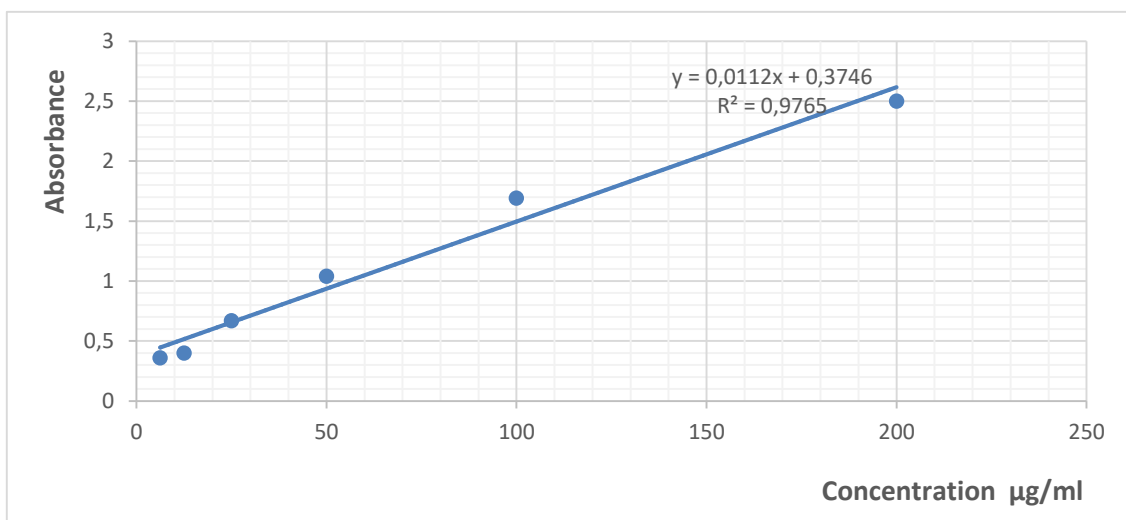


Figure 19 : Courbe d’étalonnage de l’acide gallique pour l’évaluation des polyphénols totaux.

Le résultat a obtenu à partir le courbe d’étalonnage (Figure 19), ayant l’équation $y=0,0112x+0,3746$ $R^2=0,9765$. Détermination le teneur en polyphénol (µg EAG/ mg E) d’extrait bruts du *L. stoechas* indiqué dans le tableau suivant :

Tableau 7 : Résultats du dosage des polyphénols (en µg EAG/ mg E) :

Extrait brut	Quantité des polyphénols (en µg EAG/ mg E)
<i>Lavendula stoechas</i>	34,23

AG : Acide gallique, EAG : équivalent d’acide gallique, E ; extraits

En présence des polyphénols, le complexe Folin-ciocalteu voit sa couleur passer du jaune au bleu, ce qui permet mesurer l’intensité de la couleur à la longueur d’onde de 765 nm.

Le résultat de dosage quantitatives de polyphénoles de l’extrait brute de *L. stoechas*, montre une teneur de 34,23µg EAG /mg.

III-1-2-2-Evaluation des flavonoïdes:

Les taux des flavonoïdes des extraits ont été calculés à partir de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant la quercétine comme standard (Figure 20), ayant l'équation de formule : $y=0,0136x+0,1096$ avec un coefficient de corrélation $R^2=0,9782$. Le résultat est exprimé en termes de mg EQ/g ES et mg EQ/ μ g (Tableau 8).

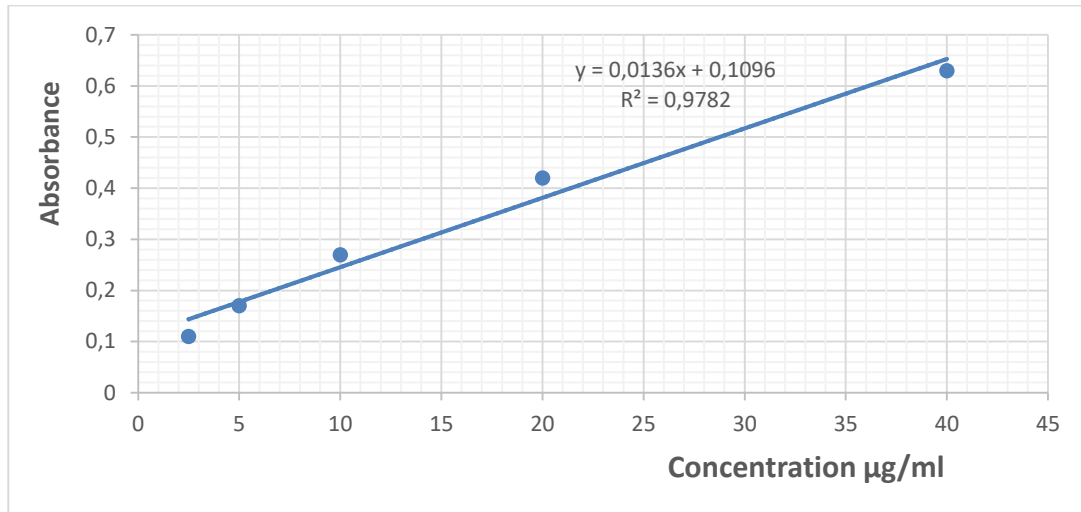


Figure 20 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour l'évaluation des flavonoïdes

Le teneur en flavonoïdes (μ g EQue/g E) de l'extrait brut du *L. stoechas* représente sur le tableau ci-dessous :

Tableau 8 : Résultats du dosage des flavonoïdes

Extraits	Quantité des flavonoïdes (en μ g EQue/g E)
<i>L. stoechas</i>	12,38

Que : quercétine, **EQue :** équivalent de quercétine

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colométrique, la quercétine considérée comme témoin positif. Les résultats du dosage quantitatif des flavonoïdes révèlent que l'extrait méthanolique de la lavande contient 12,38 μ g EQue/g E.

III-1-2-3-Activité antioxydant :

L'activité antioxydant des différents extraits est mesurée par IC50 qui est la concentration d'extrait qui réduit 50% de radical libre DPPH ; une faible valeur d'implique une activité antioxydant plus élevée (**Didi, 2019**). IC50 (aussi appelée EC50 pour Efficient concentration 50). Grâce à la formule donnée, nous avons pu exprimer nos résultats en calculant IC50, le résultat est représenté dans le tableau ci-dessous :

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radicale libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'extrait ou soit pour la vitamine-C.

Le pourcentage d'activité anti radicalaire nous a permis de déterminer l'IC50, est inversement lié à la capacité anti oxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour déterminer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur des IC50 pour l'extrait de la vitamine-C sont indiquées dans le tableau suivant :

Tableau 9 : Evaluation l'activité antioxydant d'extrait brut étudiés et le standard de vitamine-C

Activité anti-oxydent	IC50 (PPm)
Extrait	164,51
Vit-C	20

L'activité anti radicalaire réalisée par la méthode du radical DPPH. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant. Les concentrations correspondant à IC50 pour chacune de la Vit-C et DPPH ont été déterminées par la courbe ci-dessus.

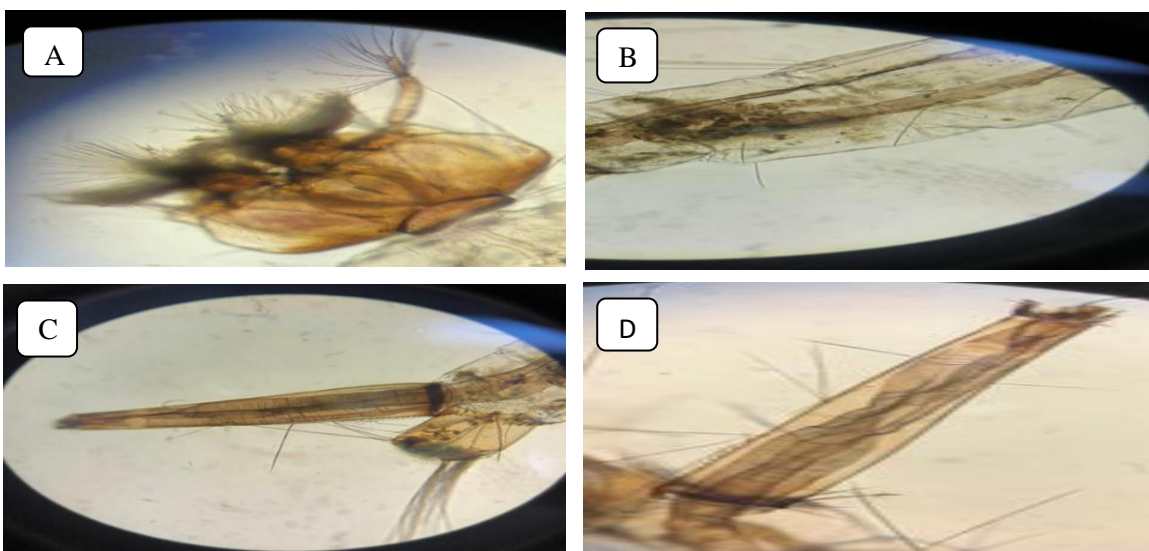
III-1-3-L'identification des larves :

III-1-3-1-Différents clés d'identification des larves de nos échantillons

A partir de notre montage larvaire nous avons porté des différentes parties morphologiques sous microscope optique G×100 (Figure 21), pour identifier le genre comme suite :

La larve possède une tête plus large que longue. Le mentum possède plus de huit dents de part et d'autre de la dent médiane. Le siphon est à bord droit ou convexe ; possédant quatre paires de soies après le peigne et une seule soie latérale. Cette espèce peut se développer dans des gîtes pollués (égouts, fosses septiques...etc.) comme dans des pots, piscines.

L'identification des échantillons récoltés au niveau du gîte d'étude, nous a permis de recenser la dominance d'un seul genre de *Culex pipiens*.



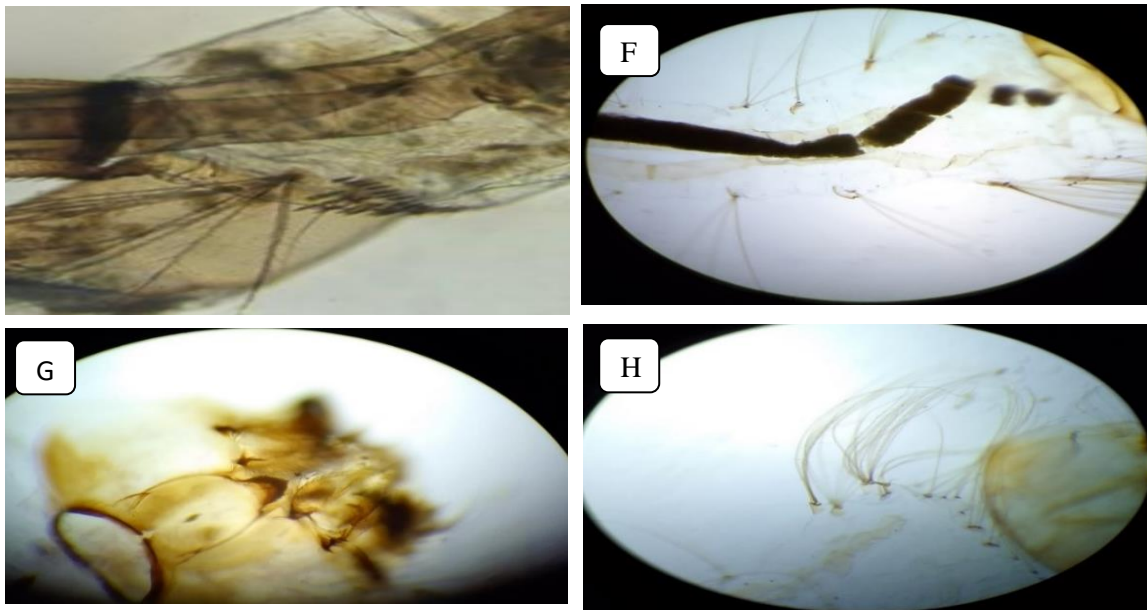


Figure 21 : Différents critères d'identification larvaire (Photo originale)

- A** : la tête
- B** : l'abdomen sans segments
- C** : La queue
- D** : Orientation de siphon et leurs sois.
- E** : Disposition des épines du segment. VII
- F** : Le thorax
- G** : Localisation du mentum et ses dents
- H** : Nombre de la sois pro-thoracique

III-1-4-Résultats des tests de toxicité larvaire

III-1-4-1- Etude de toxicité de l'huile essentielle de *L. stoechas* sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

Le test de toxicité est appliqué sur les larves 20 du *Culex pipiens* de 3^{ème} et 4^{ème} stade avec des différentes concentrations de l'huile essentielle : (2,5µl, 5µl, 7,5µl, 10µl) jusqu'à 24 h, 48h et 72h. La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle. On note que le nombre de mortalité observé au niveau des témoins négative est nulle le long de la période des traitements et on a constaté que développement des larves été normal et après 72h et ont atteint le stade nymphale. Elle est mentionnée dans les Tableaux **d'Annexe** : Les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance.

Tableau 10: Analyse de la variance des moyennes de la mortalité des larves de *Culex pipiens* exposées de l'huile essentielle du *L. stoechas* au 24h

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	9634	3	3211	F (3, 12) = 438,6	$P \leq 0,0001$
Residual (within columns)	87,87	12	7,322		
Total	9722	15			

$P \leq \alpha = 0,0001$ montre une différence très hautement significatives entre la mortalité larvaire de genre *Culex pipiens* avec des différentes concentrations de l'huiles essentielle de *lavandula stoechas* pendant 24h

Tableau 11 : Analyse de la variance des moyennes de la mortalité des larves de *Culex pipiens* exposées de l'huile essentielle du *Lavandula stoechas* au 48h

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	4263	3	1421	F (3, 12) = 310,1	$P \leq 0,0001$
Residual (within columns)	54,99	12	4,582		
Total	4318	15			

$P \leq \alpha = 0,0001$ montre une différence très hautement significatives entre la mortalité larvaire de genre *Culex pipiens* avec des différentes concentrations de l'huiles essentielle de *lavandula stoechas* pendant 48h

Tableau 12 : Analyse de la variance des moyennes de la mortalité des larves de *Culex pipiens* exposées de l'huile essentielle du *Lavandula stoechas* au 72h

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	2449	3	816,2	F (3, 12) = 41,37	$P \leq 0,0001$
Residual (within columns)	236,8	12	19,73		
Total	2685	15			

$P \leq \alpha = 0,0001$ montre une différence très hautement significatives entre la mortalité larvaire de genre *Culex pipiens* avec des différentes concentrations de l'huile essentielle de *lavandula stoechas* pendant 72h

III-1-4-2- Etude de toxicité d'extrait brut de *Lavandula stoechas* sur les larves de *Culex pipiens* après 24h, 48h et 72h d'exposition

Le test de toxicité est appliqué sur les larves 20 du *Culex pipiens* avec des différentes concentrations d'extrait brut de *L. stoechas* : (40 mg/L, 60 mg/L, 80 mg/L et 100 mg/L) jusqu'à 24 h, 48h et 72h.

La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle. Elle est mentionnée dans les Tableaux suivantes :

Tableau 13: Analyse de la variance des moyennes de la mortalité des larves de *Culex pipiens* exposées à l'extrait brut du *L. stoechas* au 24h

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	4,688	3	1,563	F (3, 12) = 0,2000	P \geq 0,005
Residual (within columns)	93,75	12	7,813		
Total	98,44	15			

Le résultat d'analyse de la variance des mortalités larvaire en fonction de différents concentration est P \geq 0,005 montre que n'existe pas différences significatives entre la mortalité larvaire de genre *Culex pipiens* avec des différentes concentrations d'extrait éthanolique de *Lavandula stoechas* pendant 24h

Tableau 14 : Analyse de la variance des moyennes de la mortalité des larves de *Culex pipiens* exposées à l'extrait brut du *L. stoechas* au 48h

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	32,24	3	10,75	F (3, 12) = 0,6104	P \geq 0,005
Residual (within columns)	211,3	12	17,60		
Total	243,5	15			

Le résultat d'analyse de la variance des mortalités larvaire en fonction de différents concentration est P \geq 0,005montre que n'existe pas différences significatives entre la mortalité larvaire de genre *Culex pipiens* avec des différentes concentrations d'extrait éthanolique de *Lavandula stoechas* pendant 48h

Tableau 15 : Analyse de la variance des moyennes de la mortalité des larves de *Culex pipiens* exposées à l'extrait brut du *L. stoechas* au 72h

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	268,5	3	89,51	F (3, 12) = 6,205	P \geq 0,005
Residual (within columns)	173,1	12	14,43		
Total	441,6	15			

Le résultat d'analyse de la variance des mortalités larvaire en fonction de différents concentration est P \geq 0,005montre que n'existe pas différences significatives entre la mortalité larvaire de genre *Culex pipiens* avec des différentes concentrations d'extrait éthanolique de *Lavandula stoechas* pendant 48h

III-1-4-3- Etude comparative de la toxicité d’huile essentielle de *L. stoechas* pendant 24h, 48h et 72h:

La variation du pourcentage des mortalités larvaires de *Culex pipiens* en fonction des 4 concentrations (2,5 µl/ml ; 5 µl/ml ; 7,5 µl/ml ; 10 µl/ml) de l’huile de *L.stoechas*, après 24h, 48 h et 72h d’exposition est représenté dans le graphique suivant (Figure 22).

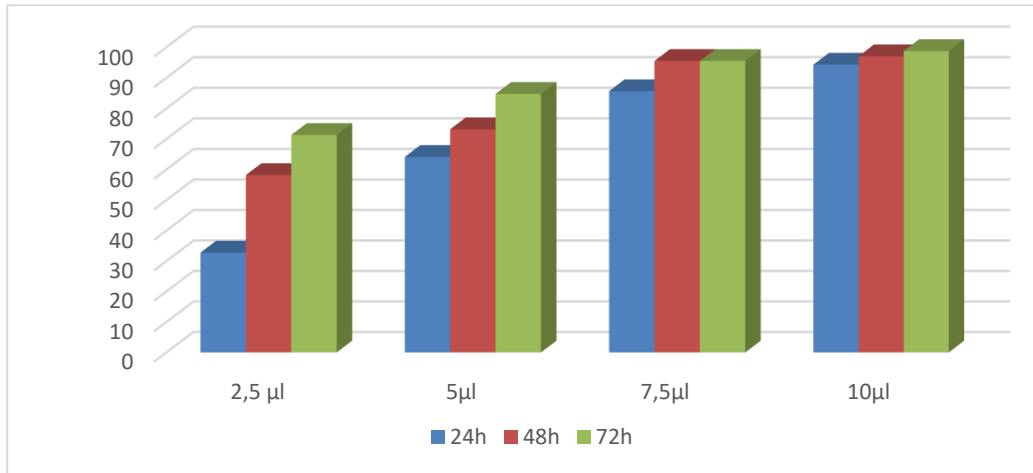


Figure 22 : La mortalité corrigée dans différents concentration de l’huile essentielle avec le temps

La représentation graphique montre qu’après 24h de contact avec le biocide la mortalité des larves atteint (32,76%) pour une dose 2,5µL, puis elle arrive 94,28 % pour une concentration élevée 10µl. Ceci est remarquable à 48h et 72h pour le reste des concentrations appliquées dans notre expérience. Donc dans la même durée d’exposition la mortalité est cohérente avec l’augmentation de la concentration de biocide.

On observe également pour la même concentration 2,5µl la mortalité s’augmente est atteint (32,76%) pendant 24h, (58,18%) après 48h et 71,32% à 72h. Avec ces résultats, l’augmentation de la mortalité dans une même concentration est liée au temps nécessaire d’exposition.

En fin, on peut donc dire que le taux de mortalité des larves *Culex pipiens* est lié à l’augmentation de la concentration de l’huile essentielle et du temps.

Tableau 16: Analyse de la variance de toxicité sur les larves de *Culex pipiens* à de différente concentration des HEs avec le temps :

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	7724	4	1931	F (4, 14) = 7,957	P≤0,0001
Residual (within columns)	3397	14	242,7		
Total	11121	18			

L’analyse de la variance montre que le nombre de mortalité en fonction de concentration d’une part et la concentrations en fonction de temps, présente des différences hautement significatives, $P \leq 0,001$ (Tableau15) ceci révèle des différences d’actions entre les différentes concentration au fil du temps des huiles essentielles à l’égard des larves de *Culex pipiens*.

III-1-4-4- Etude comparative de la toxicité d'extrait brut de *L. stoechas* pendant 24h, 48h et 72h :

La variation du pourcentage des mortalités larvaires de *Culex pipiens* en fonction des 4 concentrations (40mg/l ; 60mg/l ; 80mg/l ; 100mg/l) de l'huile de *L.stoechas*, après 24h, 48 h et 72h d'exposition est représenté dans le graphique suivant (**Figure 23**).

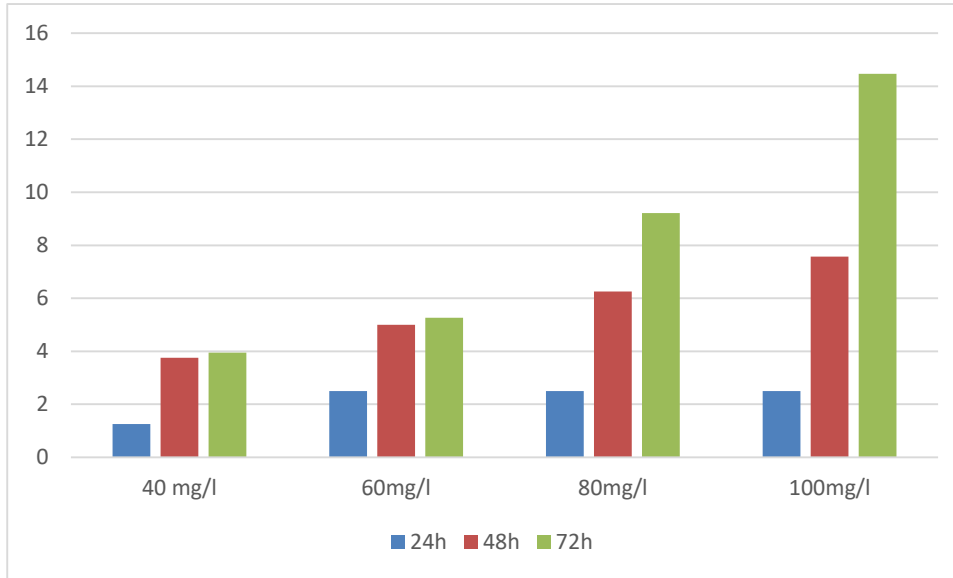


Figure 23 : La mortalité corrigée dans différents concentration d'extrait brut avec le temps

La représentation graphique montre qu'après 24h de contact avec le biocide la mortalité des larves était faible quasi inexistant, 1,25% pour une concentration 40mg/l et le pourcentage resterait constant à 2,5% pour différentes concentrations. Après 48h, 72h d'exposition, la mortalité arrive à 7,57%, 14,47%, respectivement pour une concentration 100mg/l. Donc les résultats pendant 24h par rapport au 48H et 72H à différentes concentrations sont insuffisants pour que la mortalité atteigne 25% du nombre total des larves testées.

Tableau 17 : Analyse de la variance de toxicité sur les larves de *Culex pipiens* à de différente concentration d'extrait brut avec le temps :

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	45,65	3	15,22	F (3, 8) = 1,171	P ≥0,005
Residual (within columns)	104,0	8	13,00		
Total	149,6	11			

P ≥0,005 : pas différences significatives

L'analyse de la variance du nombre de mortalité en fonction des différentes concentrations au fil de temps montre qu'il n'existe pas de différences significatives (Tableau16).

III-1-4-5- Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait brut et l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* :

Le extrait brut et l'huiles essentielle du *L. stoechas* a été appliqué sur des larves de *Culex pipiens* à concentrations létaux, CL50 sont déterminées grâce à logiciel GRAPH PAD PRISM 8.

Ils sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 18 : Concentrations létaux CL50 de l'extrait brut et l'huile essentielle du *Lavandula stoechas* à l'égard des larves de *Culex pipiens*

	Huile essentielle	Extrait brut
Temps d'exposition	CL50	CL50
	3,572	
24 h	(2,821 to 4,523)	0
	2,174	2114
48 h	(0,9236 to 5,117)	(1245 to 3589)
	1,482	262,1
72 h	(0,6671 to 3,290)	(123,1 to 558,2)

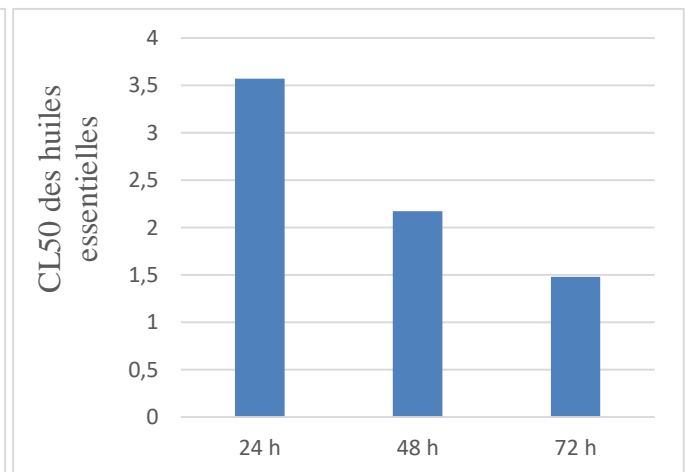
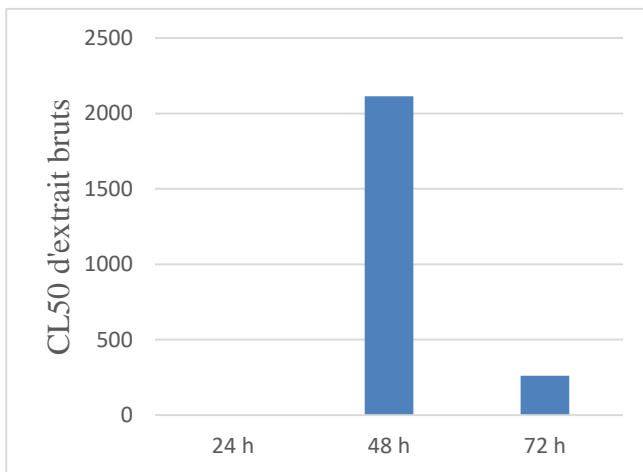


Figure 24 : CL50 d'extrait brut du *L.stoechas*

Figure 25 : CL50 d'Huile essentielle du *L.stoechas*

On observe que les concentrations létaux CL50 d'HEs sont diminuées avec le temps , pendant 24h la concentration létale atteint de 3,572 à 1,482 pendant 72h et constate également pour l'extrait éthanolique que les concentration létales sont dérègles de valeur 0 pendant 24h puis 2114 à 48h et s' abaisse directement à 262,1 pendant 72h.

III-2-Discussion

III-2-1-Rendement d'huile essentielle de *Lavandula stoechas*

Ce rendement de 0,66% est comparable à ceux obtenus dans d'autres travaux. En effet **Benabdelkader et al (2021)** ont montré que le rendement des HEs, extraite par hydrodistillation, à partir de 11 populations de *L. stoechas* poussant à l'état sauvage dans les régions du Nord d'Algérie varie entre 0,34 % et 1,63%, ce qui est similaire à notre rendement. Selon les études de **Mouloudj (2019)**, menées en Algérie (Bouira) sur les HEs de *L. stoechas*, obtenus par hydrodistillateur ont révélé un rendement estimé de 0,36% à 0,79%.

Du même, **christos (2010)**, qui a travaillé sur *L. stoechas* de Grèce a trouvé un rendement qui varie entre 0,06% et 1,46%, selon la période de cueillette.

Ces variations de rendement probablement dues à l'espèce (facteurs intrinsèque), à la partie de la plante utilisée, à la région et la période de collecte, et la méthode d'extraction et la durée de distillation (**Mejri et al 2010**). Les facteurs géographiques, la nature du sol, le taux d'ensoleillement et l'altitude peuvent également influencer le rendement en HEs (**Verma et al (2015)** ; **Dosoky et al(2016)** ; **Da silva et al (2017)**). De plus, l'âge et la maturité des feuilles peuvent affecter ce rendement, car les jeunes feuilles ont tendance à avoir un rendement en huile plus élevé que celui adultes (**Shiferaw et al (2019)**). On peut mentionner d'autre facteur importante affectant le rendement à savoir comment et combien de temps la partie aérienne de la plante de *L. stoechas* est stockée avant de l'utiliser.

III-2-2-Rendement d'extrait brut de *Lavandula stoechas*

On compare ce rendement qui nous avons obtenu 10,38% par rapport le mode d'extraction pour le même plante de *L. stoechas* ;

Selon **Bachiri et al (2016)**, le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale et son contenu en métabolites, de l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction. Les résultats des extraits bruts de la partie aérienne des lavandes étudiées montrent que les rendements les plus élevés sont ceux obtenus par le mode d'extraction « infusion », chez *L. stoechas* 18,4% la macération, 13,4%, et par la technique de décoction 15,3%.

Ainsi, il paraît que le rendement obtenu par SOXHLET représente le mode de préparation le moins rentable par rapport d'autres (Infusion, décoction).

On compare ce rendement par rapport le même technique d'extraction pour *L. stoechas* ;

Selon une étude menée par **Mohamedi, (2006)** sur la même espèce *Lavandula stoechas*, le rendement en extrait brut de la partie aérienne entière est de 2,389% rendement inférieur de dans notre étude.

D'une façon générale, le rendement n'est que relatif et dépend de la mode et les conditions dans lesquelles l'extraction s'effectue **Lee et al (2003)** ; **Yrjonen, (2004)**.

III-2-3- Evaluation des composants de l'extrait brut de *L. stoechas*

III-2-3-1- Les polyphénols totaux

Ce teneur de 34,23µg EAG /mg est rentable par rapport l'étude de **Messaoud et al (2011)** la détermination de la teneur en polyphénols totaux de la partie aérienne de l'extrait brut de *L. stoechas* a donné un taux de

polyphénols totaux 25,2 mg EAG/ μ g. Selon l'étude de **Bachiri et al (2017)**, qu'il apparait que le taux de polyphénol varie proportionnellement avec la polarité des solvants d'extraction. En effet, les bruts détiennent les taux les plus élevés (entre 128,45 et 160,24mg EAG /g), nous pouvons dire que notre résultats de taux de polyphénols totaux n'est pas insuffisante pour nous fournir une bonne activité antioxydant, ceci est cohérent avec ce que **Mansouri et al(2005)** a conclu la plupart des activités antioxydants des plantes sont dues à la présence de composés phénoliques.

III-2-3-2-Les flavonoïdes

L'évaluation quantitative de l'extrait brut de la *Lavandula stoechas* montre un teneur de 12,38 μ g EQue/g E. Selon **Messaoud et al (2011)** ont également trouvé que l'extrait brut du *L. stoechas* contient 10,1 mg EQue/ μ g. Ces teneurs résultats sont inférieur par rapport de notre résultats mais et pas assez par rapport d'autre de celui trouvé par **Menaceur et hazzit, (2014)** qui est de 26 mg EQue/ μ g . Mais notre teneur reste plus faible à celle trouvée dans les travaux de **Benchikh, (2012)** et **Kasimi (2016)**, qui ont obtenu un teneur de 59,87 et 93,64 mg EQue/ μ g.

III-2-3-3- Evaluation de l'activité antioxydant :

Plusieurs étude menées sur la même espèce de plante *L. stoechas*, notamment celles de **Messaoud et al(2012)** en Tunisie et **Mushtaq et al(2018)** en Pakistan, révèlent une activité IC₅₀=34,2 μ g/ml et IC₅₀=76,73 μ g/ml respectivement. On comparaison l'activité antioxydant d'extrait brut de *L. stoechas* de la région de Skikda (IC₅₀=164,51 PPM), avec le référent de Vit-C (IC₅₀=20 PPM) par rapport d'autre travaux pour la même échantillon d'extrait, mais aux régions différentes. On peut dire que l'activité antioxydant de cette plante est plus forte que son prédécesseur en Tunisie, en Pakistan .A l'inverse aux travaux de **Ceylan et al(2015)** qui montrent pour la même espèce de la plante de la Turquie possède une activité IC₅₀=300 μ g/ml Mais de par la nature de l'extrait, son activité antioxydant est incomparable à d'autres d'huiles essentielles selon les travaux de **Mouloudj (2019)**, l'étude de l'effet antioxydant des huiles essentielle de *L. stoechas* de la région de bouira a montré un pouvoir remarquable de piégeage de radical libre DPPH (IC₅₀=4140 μ g/ml) par rapport celui du l'antioxydant de référence BHT (IC₅₀=29,62 μ g/ml)

III-2-4- Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait brut et l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* :

Les études toxicologiques ont permis de déterminer l'efficacité des deux extraits de *L. stoechas* extrait brut et l'huile essentielle, sur les larves de *Culex pipiens* évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les larves des stades cibles.

En effet, la mortalité des larves de *Culex pipiens* la plus élevée est de l'ordre de 94,28% observée durant les 72 h qui suivent l'exposition des larves à des concentrations d'HEs (2,5 μ l, 5 μ l, 7,5 μ l, 10 μ l).et la mortalité la plus élevée durant les 72h est 14,47 des concentrations d' extrait brut (40 mg/L, 60 mg/L, 80 mg/L et 100 mg/L). L'analyse de la variance nous a permis de retenir des concentrations létaux à 50 (CL₅₀ PPM) de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* qui sont respectivement de l'ordre de (3,572)PPM après 24H, (2,174)PPM après 48H et (1,482)PPM après 72h et d' extrait brut qui sont respectivement de l'ordre de (0)PPM après 24H, (2114)PPM après 48H et (262,1)PPM après 72h.

Nous mentionons également que les concentrations CL50 d'huile essentielle sont diminuées au fil de temps et proportionnelles avec leurs effets larvicide qui atteignent au maximum de CL50=3,572 PPM à 24h. Cela on peut dire que l'huile essentielle du *L. stoechas* est rentable et efficace par rapport à l'extrait brut, dont l'effet larvicide est quasi inexistant dans les 24h la concentration létale a été nulle.

Durant cette expérience, les résultats ont montré des effets larvicides très importants variant en fonction, des concentrations utilisés au fil du temps pour les huiles essentielles par contre les extraits bruts ont faible toxicité, par une variation des concentrations létaux CL50 pour chacun des extraits du *L. stoechas*, nous avons mis en évidence une différence dans leurs activités larvicides.

Conclusion

Le travail réalisé, nous a permis d'évaluer l'activité antioxydant d'extrait brut de la plante *Lavandula stoechas* ; Les résultats obtenus de l'activité biologique des radicaux libres DPPH , polyphénols totaux et flavonoïdes, montrent que *L. stoechas* à une activité antioxydant qui est l'effet principale de lutte contre les radicaux libres.

Ainsi que l'effet larvicide des extraits de cette plante ; l'huile essentielle et l'extrait brut sur les larves de l'espèce *Culex pipiens* permis d'établir les doses létales la CL50 PPM au fils du temps.

La présente étude a montré que les extrait brut de *L. stoechas* possède le plus faible effet toxique sur les larves de *Cluex pipiens* selon les résultats d'après 24h le taux de mortalité est nulle et même d'après la toxicité par la plus haute concentration (100 mg/ml) pendant 72h, les résultats sont toujours faible selon l'intervalle des concentrations létaux CL50 (de 0 à 2114) PPM. Par contre l'huile essentiel de *L. stoechas* a une bonne activité larvicide avec une relation dose – réponse et selon le taux de mortalité larvaires atteignant 100% pendant 24h jusqu'à 72h et cela est convenable avec des concentrations létaux DL50 (de 1,482 à 3,572) PPM. Ce qui nous amène au fait qu'il est rentable et économique en sens de l'activité larvicide.

Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes ; l'emploi des substances d'origine naturelle comme biocide est une importance écologique. Notre étude a démontré que nos plantes aromatique peuvent être utilisées comme agent contre le développement des larves des moustiques. Nous espérons que notre travail sera suivi par d'autres travaux pour confirmer ces résultats et intensifier l'activité de lutte anti-larvaire à l'aide de produits à base de plantes.

Référence bibliographiques

- **Aouina. M, Sarra. Lakhdari, 2019** : Biologie des huiles essentielles de la famille des Lamiaceae (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
- **Anupam. G, Nandita. C , Goutam. C, 2012** : Plant extracts as potential mosquito larvicides. Indin. J Med Res 135, pp 581-598
- **Arous. S, 2012** : Etude phytochimique et évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de *Fredolia aretioides* – Mémoire du diplôme de Master - Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen .14p
- **Abdel Azeem. S, Abdel Baki. I, Shawky. M, Aboelhadid, Al-Quraishy. S, Ahmed. O. Hassan, Dimitra. D, Atalay. S and Asmaa .A. Kamel, 2023**: Cytotoxic, Scolicidal, and Insecticidal Activities of *Lavandula stoechas* Essential Oil.
- **Bachiri. L, Labazi. N, daoudi. A, Ibjbijien. J, Nassiri. I, Echchegadda. G, et Mokhtari. F, 2015**. Etude ethnobotanique de quelques lavandes marocainesspontanées. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 11(1), 1308-1318.
- **Ben Abdelkader.T, 2012** ; Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Thèse de doctorat, Université Jean Monnet - Saint-Etienne, Ecole normale supérieure de Kouba, Alger, 259 p.
- **Berchi. S, 2000** ; Bio Ecologie de *Culex pipiens* L. (Diptera : Culicidae) Dans la région de Constantine et Présentation de lutte. Thés. Doct. Es-sciences. Spéc. Entomologie. Univ. Mentouri Constantine. Fac. Des sciences. 10
- **Baba Aissa .F, 2011** ; Encyclopedie Des Plantes Utiles. Elmarifa, Beo Alger. 496p..
- **Brunhes. J, Hassaine. K, Rhaim. A, et Hervy J.P, 2000** - Les Culicidae de L'Afrique méditerranéenne, espèces présentes et répartition (Diptera : Nematocera). Bull. Soc. Ent. France. 105 (2) : 195-204p.
- **Brunhes. J, Rhaim. A, Geoffroy. B, Angel. G & Hervy. J.P, 1999** ; Les Culicidae d'Afrique méditerranéenne. Logiciel de l'institut de recherche et de développement de Montpellier (France)
- **Brunhes. J, Rhaim .A, Geoffroy. B, Angel. G & Hervy J.P, 1999** ; Les moustiques de l'Afrique méditerranéenne, Logiciel d'identification et d'enseignement, Ed. I.R.D
- **Burt S.A., 2004** ; Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. International Journal of Food Microbiology. 94: 223-253p
Becker N., Petric D., Zgomba M., Boase C., Madon M., Dahl C., & Kaiser A., 2010 - Mosquitoes and Their Control, 2nd Ed.

- **Springer & Business Media. Brureton. J, 1999** . pharmacognosie , photochimie , plantes médicinales , 3éme Editions , pp533-532, 4em Ed . revue et augmentée , Edition médicinales internationales p1288. Paris oussalah H , caillet , Lacroise M , 2006, machanism of Action of Spanish
- **Bruneton.J,1999** ; Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales, 3éme ed.Tac &Doc,paris.405p.
- **Benabdelkader.T, Zitouni. A , Guilton. Y, Jullien. F, Legendre. L, Kameli. A, 2011**: Essential oils from Wild Population of Algerian *Lavandula stoechas* L. : Composition , chemical variability , and in vitro Biological properties . Chem Biodivers.937-53p. BRIAN, 1995
- **Bruneton. J,1993** ; Pharmacognosie – phytochimie : plantes médicinales , Tec & Doc.Lavoisier .915pp Sousa EM-BD.Chiavone –filho, M,T ,Silva D,N ,Marques O ,O ,M ,Meireles M,A,A2002,Experimental Result for the extraction of essential oil from *lippia sidoides* cham using pressurized carbon dioxide . Brazilian journal of chemical engineering 229-241ppBA ,K. Tine,E. Destain,J. Cisse,N . et Thonart P. étude comarative des composés phénolique, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytique de leur malt. Biotechnol. Agro.Soc. Environ. Vol.14
- **Brahim. A , Saadia. O , Fouad. M , Saadia. M, 2006** : Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinuscommunis*L.) et du bois de thuya (*Tetraclinisarticulata*(Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens*(Linné), *Aedescaapius*(Pallas), *Culisetalongiareolata*(Aitken) et *Anophelesmaculipennis*(Meigen)*Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 10 (2), 67 – 71
- **Belyagoubi. L ,2006** ; Thèse « Effet de quelques essences végétale sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales ».
- **Bayer.E, Buttler.K.P, Finkenzeller.X, Grau.J, 2005** ;Guide de la flore méditerranéenne caractéristiques, habitat, distribution et particularité de 536 especes. P170.
- **Cavalcanti. ESB, de Morais. SM, Lima. MAA, Santana. EWP, 2004** : Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. Mem. Inst Oswaldo Cruz. 99:541–544p. CHU ET AL, 2007
- **Chami. F,2005** ; thèse « Evaluation in vitro de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires in vivo application dans la prophylaxie et le traitement de la candidose vaginale sur des modèles de rate et de souris immunodéprimés » P 28.
- **Chu, C. J et Kemper, K. J, 2001** ; Lavender (*Lavandulas* pp.). Longwood Herbal Task Force, 32(2), 1-32.

- **Clements A.N., 2000** ; The biology of mosquitoes; development, nutrition and reproduction. (CABI Publishing, Eastbourne.
- **Dellile, 2007** ; Les plantes médicinales d'Algérie, Berti éditions, pp. 141-142. Alger.
- **Dob. T, Dahmane. D, Agli. M, Chelghoum. C, 2006**; Essential oil composition of *lavandula stoechas* from Algeria. Swets & Zeitlinger .60-64p.
- **Djehader. N. H, Boudjelida. H & AMIRA. Kh, 2013** ; Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université de Annaba, 23000Annaba, Algérie.
- **Ezzoubi. Y, Bousta. D, Farah. A, 2020**: A Phytopharmacological review of a Mediterranean plant: *Lavandula stoechas* L, Clinical Phytoscience.
- **Gba Christabelle. S , Affoue. F, Paraudie. k, kouadio. F. B, Abouo Beatrice. A, Gourene, Guibehi. B.k. et Seidou. Ch. M** : (Reçu le 09 Avril 2021 ; Accepté le 29 Juin 2021 ; Impact de quelques facteurs biotiques sur la croissance larvaire des moustiques *Anopheles gambiae*.
- **Gerard.M, 2002** ; Lavender: the genus *Lavandula*. CRC press. 48p.
- **Gören A.C, Topcu. G, Bilsela. M, Aydogmus. Z, Pezzuto. J.M., 2002**:The chemical constituents and Biological Activity of Essential Oils of *lavandula stoechas* ssp .*stoechas*.Z. Naturforsch.57c797-800.
- **Gad. M.M, Hammad. R.E, Farid H.A, 1996**: Uptake and development of *Wuchereria bancrofti* in *Culex pipiens* L.
- **Hassaine. K., 2002** - Bio écologie et biotypologie des Culicidae (Diptera, Nematocera) de l'Afrique méditerranéenne. Biologie des espèces les plus vulnérantes (*Aedes caspius*, *Aedes detritus*, *Aedes mariae* et *Culex pipiens*) dans la région occidentale algérienne. Thèse. Doc. Sci. Aboubaker Belkaid, Univ. Tlemcen, 191 p.
- **Krida. G, Diancourt. L, Bouattour. A, Rhim. A, Chermiti. B, Failloux. A.B. 2011**: Assessment of the risk of introduction to Tunisia of the Rift Valley fever virus by the mosquito *Culex pipiens*. Bull. Soc. Pathol. Exot. 104 (4): 250-259.
- **Kolberg. R. 1994**. Finding sustainable ways to present Parasitic Diseases. Science. 264: 1816-1859
- **Lucchesi. M.E,200** ;Extraction sans solvants assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Science,Université de la Réunion,Faculté des science et Technologie,Réunion,143p
- **Lamiae . B, Ghizlane. E, Jamal. I, Laila. N, 2016** ; Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne de deux espèces de Lavande Autochtones Au Maroc :P313 «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.»

- **Linnaeuse. c,1758** : systema naturae per regna tria naturae, secundum classes ordines genera, species cum characteribus, differentis synonymis locis. Tomus I. Editio decima, reformata. Holmiae (= Stockholm) : L.Salvii, 824pp
- **Lounaci. Z, 2003** : Bio systématique et bio écologie des Culicidae (Diptera : Nematocera) en milieux rural et agricole. Thès. Sci. Agr. option, Entomologie
- **Robert. D, 1978** ; **Larousse encyclopédie des plantes médicinales. P110**
- **Matille. L, 1993** : Diptères d'Europe Occidentale .T1. Ed .Boubée, Paris, 439p.
- **Mahmoudi, 1982** ; La Thérapeutique par les Plantes Communes en Algérie. Blida-Algérie, Algeria, Palais de livre. 55-58 p.
- **Maia. M.F, Moore. S.J, 2011** ; Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. Malar; 10(1):11 p.
- **Mazyad. SAM, Soliman. M, 2001-** Laboratory evaluation of the insecticidal activity of camphor on the development of Oestrusovis larvae. J Egypt. Soc. Parasitol. 31(3):887–89 2 p.
- **Margaux. M, 2018** ; « Interaction entre l'état physiologique du moustique et le mode d'action des répulsifs chez les vecteurs de pathogène ».
- **Moutailler. S, Krida. G, Schaffner. F, Vazeille. M, Failloux. A.B. 2008:** Potential vectors of Rift Valley fever virus in the Mediterranean Region. Vector Borne Zoonot Dis. 8: 749-753.
- **Oussou. K.R, Yolou. S, Boti. J.B, Kouadio Guessennd. N, Kanko. C, Ahibo. C, Casanova. J, 2008** ; Etude chimique et Activité Anti diarrhéique des Huiles essentielles de deux Plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne; European Journal of Scientific Research. 24(1) : 94-103
- **OMS, 2004** - Questions fréquemment posées à propos de l'utilisation du DDT pour la lutte anti-vectorielle. WHO/HTMIRBM12004.54p
- **O.M.S, 2004** - Lutte contre les vecteurs du paludisme. WHO/CDS/WHOPES/2002.5Rev.1
- **O.M.S, 2004** - Organisation Mondiale de la Santé - Global Strategic Framework for Integrat Ed. Vector Management, Geneva, 2004.
- **Philippe. A, 1984** à paris ; biologie et écologie des moustiques d'alsace (éditions de l'ORSTOM)
- **Quezel et Santa ,1963** ; Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Meridionales (Tome II). Paris, France Centre National de la Recherche Scientifique.
- **Rodhain et Perez, 1985** Précis d'Entomologie Médicale et Vétérinaire. *Maloine, s.a.*
- *114 p.*
- **Ramdane. F, 2018** : Contribution à l'étude des activités biologiques de quelques plantes médicinales du Sahara algérien : Nauplius graveolens .Ziziphus lotus et Capparis spinosa. thèse de doctorat . Université KasdiMerbah . Ouargla, p: 33.

- **Resseguier. P, 2011** : Contribution de l'étude du repas sanguin de *Culex pipiens* thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale vétérinaire de Toulouse-ENVT, 80 pages.
- **Ryley.C, 1998** ; Roman gardens and their plants. Sussex Archaeological Society, Lewes England. 56 pp
- **Regnault.R, 2002** ; De nouveaux phyti-insecticides pour le troisième millénaire ? In : Philogène B.J.R, Regnault-Roger C.&Vincent C, coord. Biopesticides d'origine végétal.Paris: Lavoisier Editions Tec &Doc, 19-39.
- **Rhodain. F, Perez. C, 1985**. Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Maloine. SA Edition 27, Rue de l'école médecine 75006, Paris, France.
- **Sam Abdoul. D, 2001** ; Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : Valorisation. Thès. Doc. Univ. Ouagadougou, Burkina Faso.
- **Steven. D, Ehrlich. NMD, 2009**: Solutions acupuncture, a private practice specializing in complementary and alternative medicine. Healthcare Network: Phoenix.
- **Sinegre. G, 1974** : Contribution à l'étude physiologique d'*Aedes (O) caspius* (Pallas1777) (Nematocera : Culicidae). Ecllosion. Dormance. Développement. Fertilité. Thès. Doc. Es-Science. Univ. Sci. Tech. Languedoc. Montpelle. 285 p.
- **Dob.T, Dahmane. D, Agli. M, Chelghoum. C ,2006** ; Essential Oil Composition of *Lavandula stoechas*.from Algeria. pharmaceutical Biology, 44:1, 60-64,
- **Upson. Tm, Grayer. Rj, Greenham. Jr, Williams. Ca, Al-Ghamdi. F, Chen. Fh ,2000**: Leaf flavonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*.Biochem
- **Vermerris. w, 2006** : Phenolique compound biocgemistry, Springer, Dordrecht. ISBN, 10 (1):4020-5163.
- **World Health Organization, In " Malaria report " (2019)**
- **Mémoires** :
- **Meryem Alaoui Boukhris, 2009** ; mémoire de fin d'étude M2 « Activités larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires ».
- **Chikh sabrina et djamaa kenza,2019** ; mémoire de fin d'étude M2 « Synthèse bibliographique sur les moustiques (Diptera : Culicidea) en Algérie et lutte employée ».
- **Bouchagra Douha , Farhi Fatma,2022** : mémoire de fin d'étude M2 « Effets des extraits d'une plante aromatique, la Lavande sur le comportement et la biochimie d'un ravageur des stocks ».

- **Lahmer Nadjat , Messai Soumia,2017** - Étude phytochimique et biologique des extraits aqueux et méthanolique des écorces des racines du Zizyphus lotus (L) - Mémoire du diplôme de Master - Université des Frères Mentouri Constantine .38p.

Annexes

1- Tableaux supplémentaire des résultats de la mortalité corrigée des larvres du *Culex pipiens* 1-1-Mortalité corrigé de l'huile essentielle de *L. stoechas* sur les larves de *Culex pipiens*

Tableau 1 : Mortalité corrigée % pendant 24h, 48h et 72h (n = 4 répétitions comportant chacune 20 individus).

		T-	T+	2,5 µl	5 µl	7,5 µl	10 µl
24 H	R1	0	10	33,33	66,66	88,89	88,89
	R2	0	15	29,41	52,94	82,35	94,11
	R3	0	10	38,88	72,22	88,89	100
	R4	0	15	29,41	64,7	82,35	94,11
48 H	R1	0	10	58,82	76,47	94,11	100
	R2	0	15	56,25	75	93,75	100
	R3	0	10	64,7	70,58	94,11	94,11
	R4	0	15	52,94	70,58	100	94,11
72 H	R1	0	10	75	75	100	100
	R2	0	15	70,58	88,23	94,11	100
	R3	0	10	64,7	88,23	94,11	100
	R4	0	15	75	87,5	93,75	95

1-2-Mortalité corrigé d'extrait brut de *Lavandula stoechas* sur les larves de *Culex pipiens*

Tableau 2 : Mortalité corrigée % pendant 24h,48h et 72h (n = 4 répétitions comportant chacune 20 individus).

		T-	T+	40 mg/L	60mg/L	80mg/L	100mg/L
24 H	R1	0	0	0	0	0	0
	R2	0	0	5	5	5	5
	R3	0	0	0	5	5	5
	R4	0	5	0	0	0	0
48 H	R1	0	0	0	5	10	10
	R2	0	0	10	10	10	10
	R3	0	0	5	5	5	5
	R4	0	5	0	0	0	5,269
72 H	R1	0	10	0	0	10,52	21,05
	R2	0	5	5,263	5,263	5,26	10,52
	R3	0	5	5,26	5,263	10,52	10,52
	R4	0	10	5,26	10,52	10,52	15,78

Annexes

- 2- Etude comparative de la toxicité d'huile essentielle de *L. stoechas* sur les larves de *Culex pipiens* pendant 24h, 48h et 72h :

Concentrations	2,5 µl	5 µl	7,5 µl	10 µl
Le temps				
24h	32,76	64,13	85,62	94,28
48h	58,18	73,16	95,50	97,06
72h	28,99	46,82	62,78	72,83

- 3- Etude comparative de la toxicité d'extrait brut de *L. stoechas* sur les larves de *Culex pipiens* pendant 24h, 48h et 72h :

Concentrations	40 mg/l	60 mg/l	80 mg/l	100mg/l
Le temps				
24h	1,25	2,50	2,50	2,50
48h	3,75	5,00	6,25	7,57
72h	3,95	5,26	9,21	14,47