

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

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

Filière : Science biologique.

Spécialité: Biochimie Appliquée.

Intitulé :

Evaluation de l'effet biocide de l'huile essentielle et de l'extrait brute de *Cupressus sempervirens* sur l'activité larvaire de *Culiseta longiareolata*.

Présenté Par : Chebira Maria

Chellia Souhila

Boussentouh Khaoula

Fakhet Rania

Membre de Jury:

Mr. Benzazia S (MCB)

Presidente

Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda

Mr. Boulkenafet F (MCA)

Promoteur

Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda

Mr. Mellahi L (MAA)

Examinatrice

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023

Remerciement

Avant toute chose, nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nos sincères gratitudes vont à Madame Melahi S pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury, et nous remercions d'être à nos côtés et de nous soutenir.

Nos vifs remerciements vont à Madame Benjazia Samia pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail, pour son soutien et son travail acharné avec nous.

Nous remercions également à notre encadreur du projet de fin d'étude : Monsieur Boulkenafet Fouzi qui nous a accordé l'honneur de diriger ce travail, de nous orienter et de nous aider. Merci à sa disponibilité, sa patience son soutien moral et ses conseils pertinents qui ont été pour nous un solide repère et réconfort dans tous les moments.

Nos remerciements particuliers à : Doctorante Yasmine Dob pour son aide sans limite et pour ses prodigieux conseils.

Nos remerciements vont à toutes les techniciennes du laboratoire précisément pour son aide continuelle au cours de la réalisation de la partie pratique de ce travail.

On remercie spécialement nos collègues et amis, et toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire. Merci !

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

-INTRODUCTION

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE1

I.1. Présentation de l'espèce *Cupressus sempervirens* :3

I.1.1. Définition et Origine : 3

I.1.2. Classification : 3

I.1.3. Répartition géographique : 4

I.1.4. Les Caractéristiques : 5

I.1.5. L'utilisation médicinale du cyprès : 6

I.2. *Culiseta longiareolata* :7

I.2.1. Définition: 7

I.2.2. Classification : 8

I.2.3. Répartition géographique des culicidés : 8

I.2.4. La morphologie : 9

I.2.5. Durée de vie : 11

I.2.6. Différents Nuisances : 12

I.2.7. Méthodes de lutte : 12

I.3. Les huiles essentielles :13

I.3.1. Définition : 13

I.3.2. Localisation d'huile essentielle : 13

I.3.3. Propriétés et caractéristiques : 13

I.3.4. Rôle physiologique : 14

CHAPITRE II: MATÉRIELS ET MÉTHODES.3

II.1. Le matériel végétal :15

II.1.1. Echantillonnage sur terrain : 15

II.1.2. Travail au Laboratoire : 15

II.2. Le matériel animal :18

II.2.1. L'échantillonnage sur terrain : 18

II.2.2. Travail au Laboratoire : 19

CHAPITRE III : RÉSULTAT ET DISCUSSION15

III.1. Résultats :24

III.1.1. Résultats d'identification d'espèce : 24

III.1.2. Rendement de l'extraction :	24
III.1.3. Evaluation des polyphénols totaux de l'extrait :	25
III.1.4. Evaluation des flavonoïdes de l'extrait :	26
III.1.5. Evaluation de l'activité antioxydant :	26
III.1.6. Résultats des tests de toxicité larvaire :	27
III.1.7. Analyse de la variance du taux de mortalité larvaire au différent intervalle du temps :	28
III.2. Discussion :	32

-Liste des figures :

Figure 1: Présentation général de <i>Cupressus sempervirens</i> (photo original).....	3
Figure 2: Air de répartition de Cyprès dans le monde (Genévrier, 2021).	4
Figure3: Carte de groupes de végétations (INRF, 2012).	5
Figure 4: Les différentes caractéristiques de <i>C.sempervirens</i> (Photo original).	6
Figure 5: Imago femelle de <i>Culiseta longiareolata</i> (Boulkenafet, 2006).....	8
Figure 6: Les pontes de <i>Culiseta longiareolata</i>	10
Figure 7: Les larves de <i>Culiseta longiareolata</i>	10
Figure 8: Nymphe de <i>Culiseta longiareolata</i>	11
Figure 9: L'adulte de <i>Culiseta longiareolata</i>	11
Figure10: <i>Cupressus sempervirens</i> (photo original).	15
Figure11: L'étuve de séchage (photo original).....	15
Figure12: Extraction par clivenger (photo original).	16
Figure 13: Extraction par soxhlet (photo original).....	17
Figure 14: L'obtention de concentration par évaporateur rotatif (photo original).	17
Figure 15: Présentation général de Wilaya de Skikda (Google).	18
Figure 16: Situation du gite d'échantillonnage (Google Maps).	18
Figure 17: Photo présentatrice d'un gite d'échantillonnage (photo original).	19
Figure 18: placement des larves dans le KOH (10%).	19
Figure 19: La forme libre et réduite du DPPH (Congo, 2012).	21
Figure 20: Tests des huiles essentielles sur les larves (photo original).	22
Figure 21: Préparation de la concentration dans Eppendorfs (photo original).	22
Figure 22: Préparation de dosage de l'extrait (photo original).....	23
Figure 23: Tests de l'extrait sur les larves (photo original).....	23
Figure 24: Critères d'identification de larve de <i>Culiseta longiareolata</i> (photo original).	24
Figure 25: Aspects d'huiles essentielles de <i>Cupressus sempervirens</i> (photo original).	24
Figure26: L'extrait de <i>C.sempervirens</i> (photo original).....	25
Figure 27: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour l'évaluation des phénols totaux.....	26
Figure 28: Courbe d'étalonnage de la Quercétine pour l'évaluation des flavonoïdes.	26
Figure 29: Courbe de l'activité antioxydant de l'extrait par rapport au.....	27
Figure30: Mortalités des larves de <i>Cs.longiareolata</i> observée en fonction de la concentration de <i>C.sempervirens</i> après 24h.....	29

Figure31: Mortalités des larves de *Cs.longiareolata* observée en fonction de la concentration de *C.sempervirens* après 48h.....30

Figure32: Mortalités des larves de *Cs.longiareolata* observée en fonction de la concentration de *C.sempervirens* après 72h.....31

-Liste des tableaux :

Tableau 1: la position systématique de l'espèce <i>Cupressus sempervirens</i>	3
Tableau 2: La classification de <i>Culiseta longiareolata</i> (Aitken, 1945 in Boudierhem 2015).....	8
Tableau 3: Rendement de l'extraction d'huile de <i>C.sempervirens</i>	25
Tableau 4: Rendement de l'extrait de <i>C.sempervirens</i>	25
Tableau 5: Variation de mortalité larvaire par huile essentielle.	27
Tableau 6: Variation de mortalité larvaire par l'extrait de <i>C.sempervirens</i>	28
Tableau 7: Analyse de variance de la toxicité de <i>C.sempervirens</i> après 24h.....	29
Tableau 8: Variation de variance de la toxicité de <i>C.sempervirens</i> après 48h.....	30
Tableau 9: Analyse de variance de la toxicité de <i>C.sempervirens</i> après 72h.....	30

Résumé :

L'utilisation des huiles essentielles représente une solution alternative et efficace de lutte contre la vectrice des maladies graves

Dans le but de mettre en valeur l'efficacité des huiles essentielles et de l'extrait brute en vas étudier l'effet larvicide de *C.sempervirens* sur les larves de quatrième stade de *Cs.longiareolata*.

L'extraction de l'huile essentielle des feuilles est réalisée par hydrodistillateur et de l'extrait par évaporateur rotatif.

Le rendement obtenu de *C.sempervirens* est de 0,58% d'huile essentielle et de 10.58% de l'extrait brute.

Les tests toxicologiques de l'extrait brute montrent leur efficacité sur les larves de *Cs.longiareolata* avec une importance de *C.sempervirens* pendant 24h, 48h, 72h respectivement

CL50 (106,6 ug/ml), CL50(189,5ug/ml), CL50(108,8ul/ml).

ملخص

يمثل استخدام الزيوت الأساسية حلاً بديلاً وفعالاً في مكافحة الأمراض الخطيرة

من أجل تسليط الضوء على فعالية الزيوت الأساسية والمستخلص الخام ، سوف ندرس تأثير مبيد البققات لنبات السرو على يرقات المرحلة الرابعة لبعوضة كوليسيتا لونغيارولاتا

يتم استخراج الزيت العطري من الأوراق بواسطة التقطير المائي و المستخلص بواسطة المبخار الدوار

الناتج المتحصل عليه من نبات السرو هو 0.58% من الزيت العطري و 10.58% من المستخلص الخام.

أظهرت الاختبارات السمية للمستخلص الخام فعاليتها على يرقات كوليسيتا لونغيارولاتا مع أهمية لنبات السرو لمدة 24 ساعة ، 48 ساعة ، 72 ساعة على التوالي .

LC50 (106.6ug / ml) ، LC50 (189.5ug / ml) ، LC50 (108.8ul / ml)

Abstract :

The use of essential oils represents an alternative and effective solution in the fight against serious illnesses.

In order to highlight the effectiveness of essential oils and crude extract, we will study the larvicidal effect of *C.sempervirens* on fourth stage larvae of *Cs.longiareolata*.

The extraction of the essential oil from the leaves is carried out by hydrodistillateur and the extract by soxhlet.

The yield obtained from *C. sempervirens* is 0.58% of essential oil and 10.58% of the crude extract.

The toxicological tests of the crude extract show their effectiveness on the larvae of *Cs.longiareolata* with an importance of *C.sempervirens* for 24h, 48h, and 72h respectively:

LC50 (106.6ug/ml), LC50 (189.5ug/ml), LC50 (108.8ul/ml).



Introduction

INTRODUCTION :

Les plantes médicinales sont utilisées pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine... Etc.) Peut-être employée dans le but de se soignée. Elles sont utilisées depuis au moins 7.000 ans avant notre ère par les hommes et sont à la base de la phytothérapie. Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents. À notre qu'il a été observé chez des grands singes la consommation de certaines plantes à usage thérapeutique (la galaxie de futura, 2022).

Cupressus Sempervirens L. décrit et nommé par Linné en 1753. Sempervirens du latin signifiant toujours vert en référence à son feuillage persistant. Est un conifère de la famille de Cupressacées originaires des régions tempérées, il apprécie les climats chauds, et se plaît aussi dans les jardins plus continentaux, il résiste à 20 °C et toléré une sécheresse relative. Facilement reconnaissable à ses branches disposées en fuseau, le cyprès peut mesurer jusqu'à 25 mètres de haut et vivre près de 2000 ans. Les cônes de cyprès renferment des flavonoïdes, aux propriétés anti inflammatoire, et des leuco anthocyanes (latine) qui protégé le système vasculaire et maintiennent le tonus veineux. Le cyprès est ainsi indiqué pour soigner toutes les affections de système veineux et lymphatique telle que : les hémorroïdes, les varices... etc.

Les recommandations visant à restreindre l'usage des antibiotiques à certaines pathologie afin d'éviter l'apparition de résistances tout comme les effets secondaire de certaines molécules de synthèse conduisent de plus en plus les médecins et pharmaciens à rechercher une alternative efficace capable de satisfaire patient et client. Utilisée à bon escient, l'aromathérapie répond dans bien des cas à ce besoin. Nous avons donc choisi de tester les larves de différents extraits défeuille de *Cupressus Sempervirens L.* (extrait aqueux, éthanolique).

La lutte contre les moustiques est une pratique vitale et essentielle pour la santé publique dans le monde ; où beaucoup de maladies transmissibles par les moustiques, sont en émergences. Dans les programmes actuels de lutte contre ces vecteur, en raison de l'augmentation rapide de la résistance des espèces et de la préoccupation publique de la croissance de la pollution environnementale, l'utilisation des insecticides chimiques pour le contrôle de moustique n'est plus encouragée, plutôt l'utilisation d'autres alternatives efficaces et qui respecte l'environnement sont favorisées. La démoustication comprend également plusieurs méthodes: Les méthodes environnementales consistent à rendre l'environnement défavorable au développement de l'insecte, mais la lutte biologique reste la plus sûre et la plus sélective. Il est fabriqué en utilisant des matériaux naturels efficaces, non polluants et moins nocifs.

Cs.longiareolata est l'une des espèces les plus abondantes dans la zone d'étude. Dans ce cadre de la recherche menée dans notre laboratoire sur "Mosquito Control-Toxicité" des extraits de *Cupressus*

sempervirens sur les larves de quatrième stade de *Culiseta longiareolata*. Nos résultats montrent que *Cupressus sempervirens* provoque une mortalité variable selon la concentration utilisée et la durée du traitement.

Ce manuscrite est divisé en trois parties :

- La première partie est une synthèse bibliographique qui divisé en trois parties :
 - Partie présenter l'espèce végétale
 - Partie présenter l'espèce animale
 - Partie présenter l'huile essentielle
- La deuxième partie est expérimentale, elle est divisé en deux parties : matériels et méthodes.
- La troisième est la discussion et la conclusion.



CHAPITRE J : synthèse bibliographique

I.1. Présentation de l'espèce *Cupressus sempervirens* :

I.1.1. Définition et Origine :

Cupressus sempervirens L. (**Figure1**) Connue sous le nom Cyprès méditerranéen (**Caudullo et Rigo, 2016**). Il appartient à la famille de (Cupressacées) (**Sebbane et Khaldi, 2019**), à la classe de conifère, aromatique et médicinale, conique, de taille moyenne et de feuilles persistantes vivace.

Il est cultivé partout en méditerranée. Son origine est L'Asie mais il a été acclimaté dans les grandes régions tempérées chaudes ou subtropicales de l'hémisphère nord et plus particulièrement autour du bassin, caractérisé par une forme pyramidal (**Caron, 2015**).



Figure 1: Présentation général de *Cupressus sempervirens* (photo originale).

I.1.2. Classification :

D'après (**Al-Safi, 2016**), la position systématique de cyprès est la suivante (**Tableau 1**).

Tableau 1: la position systématique de l'espèce *Cupressus sempervirens*.

Règne	Plantae.
Sous-Règne	Viridiplantae.
Embranchement	Trachéophyte.
Sous-Embranchement.	Sermatophytina.
Classe	Pinopsida
Sous-classe.	Pinidae.
Ordre	Pinales
Famille	Cupressacée.
Genre	Cupressus.
Espèce	<i>Cupressus sempervirens</i>

I.1.3. Répartition géographique :

I.1.3.1. Dans le monde :

Le cyprès de sempervirens pousse un peu partout dans le monde, on le trouve aussi bien en Amérique du nord, qu'en Amérique Centrale ou même dans la partie Est du Brésil. Il pousse aussi en Afrique, que ce soit au Maghreb comme au Maroc ou en Algérie, ou bien dans le sud du continent comme en Afrique du Sud ou au Mozambique. En Asie, nous retrouverons *Cupressus sempervirens* en Inde, en Indonésie, en Chine ou encore même en Corée du Sud et au Japon. En Océanie, c'est en Australie on le trouve le plus. Et plus partiellement sur la façade Sud-Ouest du pays où on le plante souvent comme arbre ornemental. Mais c'est sans conteste en Europe que le Cyprès de sempervirens est le plus présent. Et malgré sa faculté d'adaptation à de nombreux climats, il reste surtout une plante méditerranéenne. Ainsi, le Sud de la France, l'Espagne, mais aussi le Portugal, l'Italie, la Grèce et la Turquie sont des aires de répartition naturelles du Cyprès (Genévrier Cade, 2021). (Figure2).



Figure 2: Aire de répartition de Cyprès dans le monde (Genévrier, 2021).

I.1.3.2. En Algérie :

En Algérie, la richesse du couvert forestier est affectée par plusieurs facteurs (l'altitude, bioclimat, activités humaines, catastrophes naturelles ... etc.); Les groupes forestiers de l'atlantique varient d'un secteur à l'autre, même au sien d'un même. Les Cyprès sont disséminés dans les zones tempérées et chaude. Les espèces de Cyprès endémique ou naturalisées sont : le Cyprès de Tassili (*Cupressus dupreziana*) est un arbre de la famille des cupressacées Sahara, le Cyprès de l'Atlas (*Cupressus atlantic*), le Cyprès à feuilles persistantes (*Cupressus sempervirens*) et le Cyprès d'Arizona (*Cupressus arizona*) est une espèce introduite mais peu utilisé (Aissaoui, 2022) (Figure3).

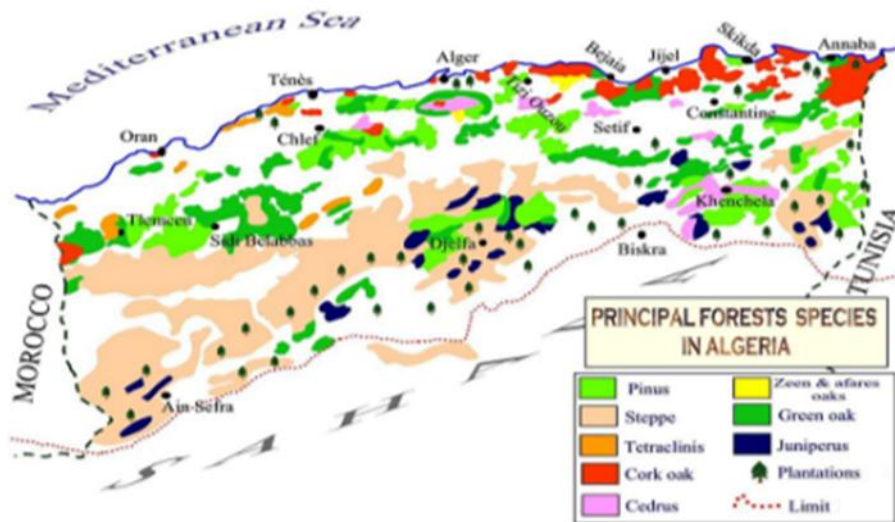


Figure3: Carte de groupes de végétations (INRF, 2012).

I.1.4. Les Caractéristiques :

I.1.4.1. Les caractéristiques botaniques :

Le *Cupressus sempervirens* est un arbre au port pyramidal à grande longévité, se caractérise par (Nichane, 2015 ; Caudullo et de Rigo, 2016 ; Sebbane et Khaldi, 2019) (Figure4) :

- **La taille:** moyenne de 20 à 30m, il existe plusieurs formes: *Cupressus arizona*, *C. leylandii*, *C. lusitanica*, *C. Macrocarpa* et *C. Sempervirens*.
- **Le tronc à écorce:** gris-brun, fine et crevassé présente de nombreuse ramification sauf en partie inférieur (soit à 1 m du sol).
- **Les rameaux :** courts présentent une section transversale quadrangulaire.
- **Les cônes:**
 - ✓ **Les cônes males:** solitaire, formés d'écailles fertiles, riche en pollen potentiellement allergisant (février-mars), porté par des étamines saumon pales.
 - ✓ **Les cônes femelles:** globuleuse de 2 à 4cm de haut et de 2,5cm de large comportent 8 à 14 écailles coriaces, bulbeux, polyédriques et mucrons.
 - ✓ **Les cônes vert brillant du cyprès:** permet une teinte gris-jaunâtre à maturité, chaque écaille libère 8 à 25 graines rougeâtre.
- **Les graines:** sont petits de 4 à 7 mm de long deux ailes sont déposés de chaque côté des graines.



Figure 4: Les différentes caractéristiques de *C.sempervirens* (Vanette 2020).

I.1.4.2. Caractéristiques écologiques:

Le cyprès a de nombreuses caractéristiques écologiques qui sont (Nichane, 2015):

- **Température:** du point de vue thermique, le cyprès peut résister à une température jusqu'à -20°C, comme beaucoup de plantes méditerranéennes, c'est le froid humide en hiver qui peut être préjudiciable à sa longévité. (Nichane, 2015)
- **Précipitation:** c'est une essence xérophile, car c'est un arbre robuste susceptible de s'adapter à des conditions physiques très sévères. Mais il peut être plastique, c'est-à-dire qui peut se développer dans des climats humides. En effet, le cyprès est un arbre qui n'a pas d'exigence pluviométrique et peut se contenter de 250 à 350 mm (Nichane, 2015)
- **Sol:** il est indifférent à la nature chimique du substrat, il préfère les sols profonds, drainés, sinon ras même sec et calcaire, il supporte mal les terres argileuses ou trop gorgées d'eau. (Nichane, 2015)
- **Altitude:** le cyprès vert se rencontre spontanément dans toutes les zones basses du pourtour méditerranéen à moins de 500 m d'altitude on les trouve souvent en limites de zones agricoles ou en alignement dans les parcs ou les propriétés où leur forme particulière en fuseau marque les paysages. (Nichane, 2015)

I.1.5. L'utilisation médicinale du cyprès :

Cette plante médicinale de la pharmacopée française est un protecteur du système vasculaire et un vasoconstricteur anti-inflammatoire et astringent. Le cyprès soulage les personnes souffrant de jambes lourdes, varices, hémorroïdes, incontinence et du syndrome prostatique...etc., (Cardenas, 2017).

I.1.5.1. L'utilisation interne :

- **Toxique veineux:** soulage les personnes souffrant de pathologies veineuses, jambes lourdes, œdèmes des membres inférieurs, varices. (Cardenas, 2017).
- **Vasoconstricteur:** il calme les hémorragies utérines durant la ménopause. En renforçant le tonus de la vessie, il lutte contre l'incontinence et le syndrome prostatique. (Cardenas, 2017).
- **Rééquilibrant nerveux:** le cyprès renforce le système nerveux, il aide à retrouver calme et concentré. (Cardenas, 2017).
- **Fébrifuge, antitussif et antispasmodique:** le cyprès est préconisé en cas de grippe, toux et autres affections respiratoires. (Cardenas, 2017).

I.1.5.2. L'utilisation externe :

En huile essentielle, adoucissant et purifiant, le cyprès peut être utilisé contre l'acné et aide à éliminer l'excès de sébum des peaux grasses. En bains de siège, le cyprès réduit les hémorroïdes et diminue la douleur. En inhalations, il soigne le rhume et la toux. (Cardenas, 2017).

Indications thérapeutiques usuelle: Pathologie veineuse telles que jambes lourdes, varices et hémorroïdes, incontinence, particulièrement l'énurésie et le syndrome prostatique, problèmes dermatologique, comme l'acné ou la peau grasse, grippe, rhume, affections respiratoires. (Cardenas, 2017).

Autres indications thérapeutiques démontrées: Nervosité, manque de concentration, Hémorragies utérines de la ménopause. (Cardenas, 2017)

I.2. *Culiseta longiareolata* :**I.2.1. Définition:**

Culiseta longiareolata (Macquart, 1938) est une espèce de la famille Culicidae, est un vecteur aviaire paludisme, tularémie et arbovirus tels que fièvre du Nil occidentale tismultivoltine, thermophile, et les espèces ornithiphiles sont réparties en Europe, en Asie et en Afrique, ainsi qu'en Méditerranée. Il développe principalement dans les petits plans d'eau, et les adultes peuvent entrer dans les maisons et attaquer les humaines, bien que les hôtes principaux sont les oiseaux. Ces espèces de moustique sont facilement distinguées des autres espèces de *Culiseta*, et ses caractères morphologiques incluent des rayures blanchets des points sur les jambes, la tête et le thorax (Khaligh et al, 2020). (Figure5).



Figure 5: Imago femelle de *Culiseta longiareolata* (Boulkenafet, 2006).

I.2.2. Classification :

Tableau 2: La classification de *Culiseta longiareolata* (Aitken, 1945 in Boudierhem 2015).

Règne	Animalia
Phylum	Arthropoda
Classe	Insecta
Sous- Classe	Pterygota
Ordre	Diptera
Sous-Ordre	Nematocera
Famille	Culicidae
Sous- Famille	Culicinae
Genre	<i>Culiseta</i>
Espèce	<i>Culiceta longiareolata</i> (Macquart, 1938)

I.2.3. Répartition géographique des culicidés :

I.2.3.1. Dans le monde :

Les diptères ou insectes à deux ailes sont répandu dans le monde entier, cosmopolite par leurs répartitions, ils sont communément réunis dans une même hostilité, celle des insectes inopportuns, malpropre, dangereux par leur contact et leur pique. En effet nombreuse espèce jouent un rôle d'agent actif dans la transmission des maladies pouvant être légères, grave ou voire même mortel. Leurs connaissances et leurs identifications est indispensable pour les médecins, écologistes, hygiénistes, zoologistes et entomologistes. Il existe plus de 100000 espèces dans le monde (Séguy, 1924).

A l'exception de l'Antarctique, toutes les autres parties du monde hébergent des moustiques, aussi bien dans le cercle arctique qu'à des altitudes de 5500m (Kettle,1995).En France la faune culicidienne est d'une vaste répartition et comprend 7 genres et 54 espèces représentées par les espèces montagneuses, les espèces méditerranéennes et nordiques (Rageau et Mouchet, 1970).Au Maroc, 50 espèces de moustiques réparties entre 7 genres et 15 sous genres, ont été signalées depuis le début de siècle, dix d'entre elles sont restées douteuse ou signalées d'une manière incertaine :*Aedes pullatus*, *Aedes vittatus*, *Anopheles hyrcanus*, *Anopheles gambae*, *Culex apicalis*, *Culex fatigans*, *Culex terriens*, *Culiceta litorea* et *Culiseta morsitans* (Trari et al., 2003).

I.2.3.2_En Algérie :

Les culicidés constituent les insectes piqueurs les plus nuisibles aux populations. Certaines espèces peuvent transmettent des maladies infectieuses (paludisme en particulier). Au cours des vingt dernières années, la faunes culicidienne d'Algérie a fait l'objet d'un grand nombre de travaux qui s'intéressent plus particulièrement à la systématique, biochimie, la morphométrie, la lutte chimique et biologique dans des différentes région (Tine, 2009). Dans le Nord de l'Algérie, Berchi (2000) penché sur l'inventaire et l'étude de la bioécologie des Culicidae à l'Est d'Alger et Tizi Ouzo, on note les travaux de Lounaci (2003), à l'Ouest les travaux de Hassaine (2002) à Tlemcen. Quelques d'inventaires Sud algérien (Sahara), comme l'Oued Righ et les travaux de région de Biskra. La bioécologie d'*Anopheles* l'abranche sur le littoral algérois a fait l'objet de peu de travaux (Lounaci et Doumandji, 2004).

I.2.4. La morphologie :

I.2.4.1. Ponte :

Les femelles pondent les œufs sur la surface des gîtes différents (bassins, puits abandonnés, trous des rocher, mers, étangs, canaux, citernes, eau de pluie...), dont l'état de l'eau est toujours stagnant et riche en matières organiques. Ces gîtes sont permanents ou temporaires, ombragés ou ensoleillés, remplis d'eau douce ou saumâtre, propre ou polluée (Paul, 2009). Les œufs sont fusiformes, ils ont une taille de 0.5 à 1mm. Au moment de la ponte ils sont blanchâtres et prennent rapidement, par oxydation de certains composants chimiques de la thèque ; une couleur noire (Boulkenafet, 2006). (Figure6).



Figure 6: Les pontes de *Culiseta longiareolata*.

I.2.4.2. Larve :

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**). Les larves vivent environ 10 jours. Rapidité du développement des larves dépend de la quantité de nourriture contenue dans l'eau du gîte (**Boulkenafet, 2006**). (**Figure7**).



Figure 7: Les larves de *Culiseta longiareolata*.

I.2.4.3. Nymphe :

Elle est en forme de virgule ou de point d'interrogation. Sa tête fusionne avec le thorax pour constituer un ensemble très développé appelé céphalothorax. Deux trompettes respiratoires s'ouvrent dorsalement au niveau du céphalothorax. L'abdomen est constitué de dix segments dont huit sont visibles. Le segment huit portes deux palettes natatoires pouvant elles-mêmes s'orner de denticules ou de soies. Il existe également de nombreuses soies sur les segments abdominaux. La nymphe comprend trois parties (**Hassaine, 2002**). (**Figure8**).

- Les nageoires ou palettes natatoires, très aplaties, de forme généralement ovale, parfois asymétrique.

- Les segments abdominaux qui sont au nombre de neuf, cependant, la poche génitale, visible à la nageoire constituerait le dixième segment.
- Le céphalothorax constitué de tubercules métathoraciques, de trompettes respiratoires qui fournissent de bons caractères taxonomiques et des soies céphaliques.



Figure 8:Nymphe de *Culiseta longiareolata*.

I.2.4.4. Adulte :

Le moustique adulte a un corps allongé, de 5 à 20 millimètres de long. Le corps comporte trois parties : la tête, le thorax, l'abdomen. **(Figure9).**



Figure 9:L'adulte de *Culiseta longiareolata*.

I.2.5. Durée de vie :

La durée de vie des moustiques adultes : de 2 à 3 semaines pour les mâles et de 1 à 6 mois pour les femelles hivernantes. La durée des œufs : plusieurs années à sec (quiescents) pour certaines espèces de genre *Aedes*. Le « moustique tigre » a ainsi colonisé les cinq continents en une vingtaine d'année. Aujourd'hui considère comme l'espèce invasive par excellence, les œufs d'*Aedes albopictus* ont été transportés à travers le monde notamment dans des conteneurs de pneus. La durée de développement des larves de trois jours à plusieurs mois pour les espèces dont la larve est le stade hivernant (certaine larve survivant dans des eaux gelées, figées dans la glace) **(Département Maritime, 2023).**

I.2.6. Différents Nuisances :**I.2.6.1. Piqures :**

La piqure de la femelle va entraîner, chez l'homme comme chez l'animal, une lésion ronde érythémateuse de quelques mm à 2 cm de diamètre. Il est à noter que la piqure ne provoque aucune douleur immédiate, grâce à un anesthésique local contenu dans la salive. Les lésions sont très souvent suivies d'une réaction allergique due aux allergènes présents dans la salive de moustique (**Muriel et Gabrielle, 2005**).

I.2.6.2. Transmission des maladies :

Le moustique se contamine au cours du repas sanguin sur un hôte infecté (**Muriel et Gabrielle, 2005**). La transmission des agents pathogènes se fait selon un cycle peu varié : contamination de l'agent photogène dans le corps du moustique (pour les parasites), puis inoculation à un hôte n°2 lors d'un second repas sanguin (**Resseguier, 2011**).

I.2.6.3. Des virus :

West Nile (atteint les oiseaux mais peut aussi toucher l'homme), fièvre jaune (peut se transmettre aux singes et à l'homme), virus de la dengue (atteint exclusivement l'homme)... (**Resseguier, 2011**).

I.2.6.4. Des parasites :

Notamment des filaires (**Muriel et Gabrielle, 2005**).

I.2.7. Méthodes de lutte :**I.2.7.1. La lutte chimique :**

Elle est basée sur l'utilisation d'insecticides chimiques. Ce sont des substances naturelles d'origine végétale, animale, minérale ou de synthèse présentant une toxicité préférentielle pour les insectes, Une substance ne peut être utilisée comme insecticide que si elle possède les propriétés suivantes : une forte toxicité pour les insectes cibles seulement et sans conséquence ni pour le reste de la faune, ni pour la flore ; une stabilité et une rémanence importante, mais non excessive ; être dégradable dans l'environnement (**Groupe Régional wach, 2017**).

I.2.7.2. La lutte physique :

Elle consiste à modifier le biotope de l'insecte en supprimant tous les facteurs favorables à son développement (**Groupe Régional wach, 2017**).

I.2.7.3. La lutte biologique :

La lutte biologique contre les moustiques et autres espèces nuisibles consiste à introduire dans leurs biotopes des espèces qui sont leurs ennemis naturels, par exemple, des parasites, des micro-organismes pathogènes ou des prédateurs. Il peut s'agir d'insectes, de virus, de bactéries, de protozoaires, de champignons, de végétaux divers, de nématodes ou de poissons (**Groupe Régional wach, 2017**).

I.3. Les huiles essentielles :

I.3.1. Définition :

Une huile essentielle est la fraction odorante volatile extraite des végétaux. C'est le parfum concrétisé de la plante un véritable concentré. Elle peut être extraite de différentes parties d'un végétal : les feuilles, les fleurs, l'écorce, le bois, le zeste et bien d'autre encore : les graines, les baies, les fruits et le bulbe. Elles sont liquides. Chaque huile essentielle est unique possède son odeur et ses caractéristiques spécifiques. Certaines sont particulièrement épaisses visqueuse comme celle de myrrhe d'autre très foncées. Son plus légères que l'eau et non miscibles elles ne sont mélangent pas à l'eau ce qui permet de les séparer dans l'essencier de manière totalement naturelle en revanche voici ce qui les caractérise spécifiquement : elles se mélangent à l'alcool à n'importe quel corps gras et a certains solvants. (**Danièle Festy, 2014**).

I.3.2. Localisation d'huile essentielle :

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes de la plante, par exemples : dans les sommités fleuries, les feuille, les rhizomes, les fruits, les racines, les graines, bien que cela soit moins habituel dans des écorces (**Yahyaoui, 2005**). Elles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante. Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules ou seras semblent sous formes de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles (**Bouamer et al, 2004**). La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologique spécialisés, souvent localisée sur ou à proximité de la surface de la plante. Il est intéressant de remarques que les organes d'une même espèce peuvent renfermer des huiles essentielles de composition différente selon la localisation dans la plante (**Belkou et al, 2005**).

I.3.3. Propriétés et caractéristiques :

Les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques :

- Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elles communiquent leur odeur.
- Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99.
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles ont rarement des effets inactifs sur la lumière polarisée.
- Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et elles réduisent certains sels.
- Ce sont des parfums, et ont une conservation limitée.
- Sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas).
- Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, très odorantes et volatiles.
- A température ambiante, elles sont généralement lipidiques.
- Ce sont des produits stimulants, employés à l'intérieur, comme à l'extérieur du corps, quelquefois purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou un solvant adapté (**Abdelouahid et Bekhechi, 2010**).

I.3.4. Rôle physiologique :

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de vie des plantes reste encore mal connu (**Mehani, 2015**). Cependant, il a été établi qu'elles exercent des interactions sur les végétaux et sur les animaux, ainsi elles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et d'assurer leur ultime défense (**Bruneton, 1993 ; Chouitah, 2012**). Elles jouent un rôle répulsif vis-à-vis des prédateurs (herbivores, virus, parasites, microorganismes...etc.) (**Randrianarivelo, 2010**), et attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs favorisant ainsi la pollinisation (**Lamamra, 2018**). Elles remplissent également une fonction pour la plante elle-même ; on estime que certains de leurs composants seraient des messagers internes ou encore, des intermédiaires du métabolisme végétal et pourraient être des sources d'énergie lorsque l'activité de photosynthèse n'est plus suffisante. De même, ils sont considérés comme des modérateurs des réactions d'oxydation intramoléculaire protégeant la plante contre les agents atmosphériques (**Figueredo, 2007**). Les huiles essentielles sont, par ailleurs, des agents allopathiques, contribuant à l'inhibition de la germination des graines pour la protection de la plante ou par manque de ressources environnementales (**Bakkali et al, 2008 ; Mehani, 2015**). Elles sont aussi considérées comme des agents conservateurs de l'humidité des plantes dans les climats désertiques (**Mehani, 2015**).



Chapitre II: Matériels et Méthodes.

II.1. Le matériel végétal :

II.1.1. Echantillonnage sur terrain :

L'échantillonnage de la plante *C.sempervirens* a été réalisé dans la région d'Elghameche à une distance d'un kilomètre de la commune de Zitouna, la Wilaya de Skikda le 15/04/2023.(Figure10).



Figure10: *Cupressus sempervirens* (photo originale).

II.1.2. Travail au Laboratoire :

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée au niveau de laboratoire à l'université de Skikda 20 aout 1955.

II.1.2.1. Séchage :

Les rameaux de plante sont placés dans des plateaux au niveau de l'étuve à température 40°C pendant 3 jours. (Figure11).

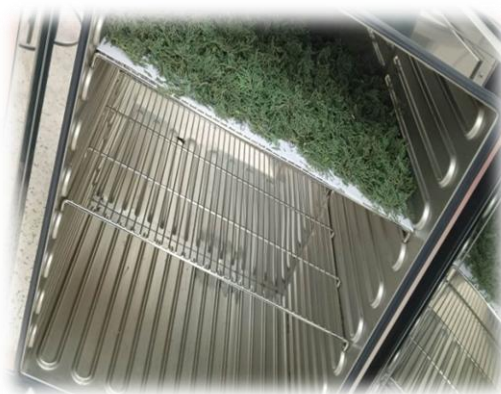


Figure11: L'étuve de séchage (photo originale).

II.1.2.2. Extraction par clivenger :

L'extraction a été réalisée à l'aide d'un hydrodistillateur (**Figure12**) 80g des feuilles de *c. sempervirens* sont mises dans un chauffe ballon avec 800 ml d'eau distillé à 80°C pendant 3 heures. Les huiles essentielles obtenues sont conservés à 4°C dans des tubes bien fermés en verre ombré.



Figure12: Extraction par clivenger (photo originale).

II.1.2.3. Extraction par Soxhlet :

50g de feuilles broyées de la plante introduite dans une cartouche en papier filtre, cette dernière sera placée dans le soxhlet surmonté d'un réfrigérant (**Figure13**).

L'avantage de ce type d'extraction est que le solvant condensé, s'accumule dans un réservoir à siphon, ce qui augmente la durée de contact entre le solvant et le produit à extraire. Quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute.

En premier lieu, verser 450 ml d'éthanol dans le ballon à une température de 80°C et porté à ébullition. Après une douzaine de siphonage, le solvant s'enrichi en substances solubles. Une concentration avec un évaporateur rotatif permet l'obtention de l'extrait. (**Figure14**).



Figure 13: Extraction par soxhlet (photo originale).



Figure 14: L'obtention de concentration par évaporateur rotatif (photo original).

II.1.2.4. Le 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. Le rendement exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivant :

$$R = PB/PA * 100$$

- R : rendement en huile en %.
- PB : poids de l'huile en g.
- PA : poids de la matière sèche de la plante en g.

II.2. Le matériel animal :

II.2.1. L'échantillonnage sur terrain :

Les larves de quatrième stade de *Culiseta longiareolata* ont été récoltées le 5 mai 2023 dans la région El- Zana (**Figure16**) de commune de Zitouna wilaya de Skikda. (**Figure15**).



Figure 15:Présentation général de Wilaya de Skikda (Google).



Figure 16 : Situation du gite d'échantillonnage (Google Maps).

II.2.1.1. Méthode d'échantillonnage :

L'échantillonnage des larves se fait en utilisant la méthode de coup de louche, s'est déroulé sur 1 jour sous une température moyenne de 26°C. La récolte s'est faite en plusieurs prises à la surface du gite (**Figure17**) et à proximité de sa bordure où les larves se retrouvent très abondantes autour d'une végétation. Les échantillons réalisés sont filtrés et les larves piégées sont mises dans un seau contenant l'eau du gite, puis transmis dans une bouteille fermée pour le transport.



Figure 17 :Photo présentatrice d'un gite d'échantillonnage (photo original).

II.2.2. Travail au Laboratoire :

II.2.2.1. Montage et identification des larves :

Nous avons utilisés seulement les larves du quatrième stade pour une identification fiable. Les larves récoltées sont conservées dans de petits tubes plastiques de transport, bien identifiés organisées par gîtes contenant de l'alcool éthylique à 70°, puis elles sont mises dans le KOH (10%) pendant 12 à 24 heures (**Figure18**) pour le bon éclaircissement des larves. Cette étape est suivie par des bains successifs d'alcool (70°-90°-100°), ensuite les larves sont placées pendant 1 heure au moins dans le créosote de hêtre.

Le montage se fait entre lame et lamelle dans une goutte du l' eau distillé en sectionnant à l'aide d'une fine aiguille la larve au niveau du 7ème segment abdominal en deux parties, la partie antérieure est montée face dorsale vers le haut et la partie postérieure est montée latéralement. Pour la détermination, nous avons utilisé le Rioux (1958) et le logiciel d'identification des moustiques de l'Afrique méditerranéen (**Brhunes et al, 1999**).

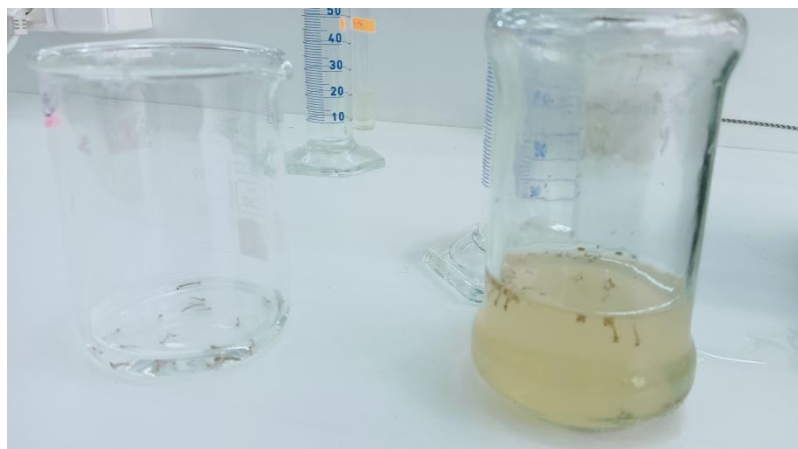


Figure 18:placement des larves dans le KOH (10%).

III.2.2.2. Les différents dosages :

a. Dosage des polyphénols totaux:

Le dosage des polyphénols totaux dans le différent extrait est réalisé par la méthode de Fo-Co (Wong et al, 2006).

- **Mode Opératoire :**

-Il consiste à mélanger 200µL de l'extrait (0.5mg d'extrait dilué dans 1ml méthanol) avec 1ml de réactif de Fo-Co (10 fois diluée dans l'eau distillé).

-Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes.

-Après l'incubation, 800µl de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (75g/L) a été ajoutée.

-Le développement d'une couleur bleue est obtenu après incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 2 heures.

-Après incubation, l'absorbance est mesuré par un spectrophotomètre à 765 nm.

Le blanc de la réaction ne contenant pas de polyphénols est réalisé comme le point 0 en mg/ml ; en utilisant l'acide gallique comme standards avec des concentrations allant de 10- 200µg/ml.

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec (µg EAG/mg ES) en utilisant l'équation de régression. Cette équation est obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

b. Dosage des flavonoïdes :

La méthode de trichlorure d'aluminium (Al_2Cl_3) cité par (Djeridane et al, 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes.

- **Mode Opératoire :**

- Brièvement, 1 ml de l'extrait et du standard (0.5 mg d'extrait ou standard dissous dans 1ml Méthanol) est ajouté à 1ml de solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm lire après 10 minutes d'incubation ; en utilisant Quercétine comme standard avec des concentrations allant de 2.5-30µg/ml.

- Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent de Quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg) en utilisant l'équation de régression. Cette équation est obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de la Quercétine.

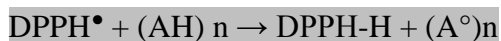
c. Etude de l'activité antioxydant des différents extraits:

c.1. Technique du 2, 2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) :

- **Principe :**

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH comme un radical libre relativement stable.

Le DPPH est un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (Sanchez-Moreno, 2002). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où (AH)_n représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (jaune)(Figure 16). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm.

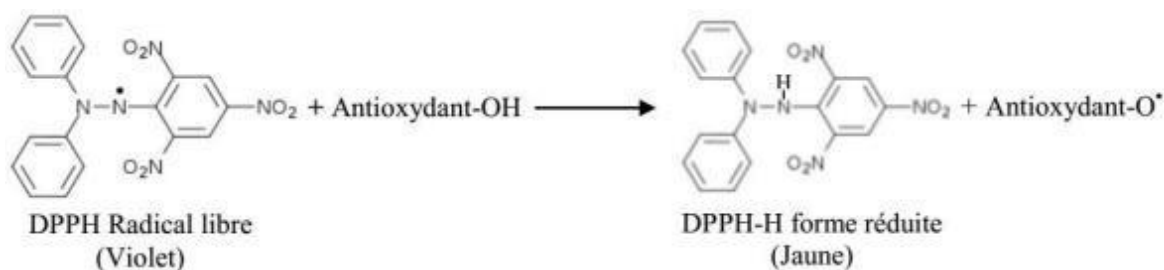


Figure 19:La forme libre et réduite du DPPH (Congo, 2012).

- **Mode Opérateur :**

- Le mélange réactionnel est préparé comme suit : 400µl des solutions d'extraits (1mg/ml) sont ajoutées à 1600µl DPPH (0.004% préparée dans du méthanol). Parallèlement un contrôle négatif est préparé en mélangeant 400µl de méthanol avec 1600µl de la solution méthanoïque de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante.
- Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique (la vitamine C) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration.
- L'activité anti-radicalaire est donnée par la formule suivante (Yen & Duh, 1994; Belmassous, 2017) :

$$\text{Activité anti-radicalaire (\%)} = \frac{\text{Abs contrôle négatif} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle négatif}} \times 100$$

- **Détermination IC50 :**

Par définition la valeur IC50 est la concentration de l'acide ascorbique ou de l'extrait qui peut réduire 50% du DPPH, cette dernière est déterminée graphiquement. Les IC50 sont calculées graphiquement par la formule de la régression des pourcentages d'inhibition en fonction de différente concentration des extraits testées (**Belmassous, 2017**).

II.2.2.3. Traitement des larves :

La méthodologie de nos tests ainsi que les formules utilisées pour calculer le pourcentage de mortalité est inspirée de la technique des tests de sensibilité normalises par l'organisation mondiale de la santé (OMS). Nous avons préparé 4 doses avec deux doses témoin (un positif et l'autre négatif), chaque dose contient 4 gobelets contenant 20 larves du 4^{ème} stade pour chaque méthode. Nous avons traités cette larves par deux méthodes : par l'huile essentielle et par l'extrait.

Premièrement, en ajoutant 50ul de tween80 (un agent tensioactif qui favorise le mélange de l'huile dans l'eau) dans toutes les doses, puis en préparant des concentrations de 2.5, 5, 7.5, 10 mg/l pour chaque dose dans 100ml d'eau distillé. (**Figure20**).



Figure 20: Tests des huiles essentielles sur les larves (photo originale).

Deuxièmement, dans 4 Eppendorf en préparant des concentrations de 18, 27, 36, 45 mg/l (**Figure21**).

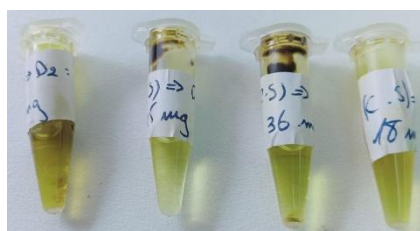


Figure 21:Préparation de la concentration dans Eppendorfs (photo originale).

Dans des bouteilles ont rajouté chaque concentration dans 400ml d'eau distillé et distribué dans tous les répétitions de ces doses (**Figure22**).



Figure 22: Préparation de dosage de l'extrait (photo original).



Figure 23: Tests de l'extrait sur les larves (photo originale).

- Le taux de mortalité est déterminé après 24h, 48h, 72h.

A close-up photograph of a mosquito perched on a green leaf. The mosquito is positioned in the center of a thought bubble-shaped graphic that has a soft, glowing yellow-to-green gradient. The background of the thought bubble is a blurred green, matching the leaf. The text 'Chapitre III : Résultat et discussion' is written in a stylized, orange-brown font across the middle of the thought bubble.

Chapitre III : Résultat et discussion

III.1. Résultats :

III.1.1. Résultats d'identification d'espèce :

L'identification des larves récoltées au niveau du gîte, nous a permis de recenser un seul genre soit le genre *Culiseta* représenté par l'espèce *C. longiareolata* (**Figure24**).

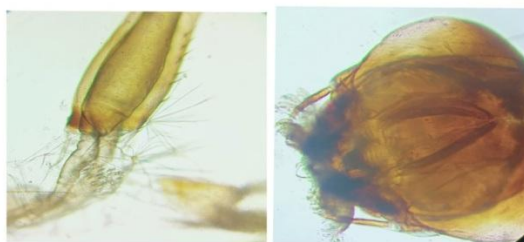


Figure 24: Critères d'identification de larve de *Culiseta longiareolata* (photo originale).

III.1.2. Rendement de l'extraction :

L'huile essentielle de *Cupressus sempervirens* (**Figure25**) obtenues par hydrodistillateur de type clivenger est : huiles à couleur transparent, odeur agréable forte, avec un rendement (**Tableau 3**) de la matière sèche de la partie aérienne de la plante.



Figure 25: Aspects d'huiles essentielles de *Cupressus sempervirens* (photo originale).

Tableau 3: Rendement de l'extraction d'huile de *C.sempervirens*.

Extrait	Poids d'huile essentielle (g)	Poids de la biomasse végétal (g)	Rendement d'huile essentielle en (%)
<i>Cupressus sempervirens</i>	0.47 g	80g	0.58%

L'extrait de *Cupressus sempervirens* (**Figure26**) obtenue par soxhlet et rota vapeur est : extrait un aspect sec et une odeur caractéristique de la plante de couleur vert foncé, odeur forte, avec un rendement (**Tableau4**).

**Figure26:**L'extrait de *C.sempervirens* (photo originale).

Le rendement de chaque extraction est déterminé au poids initial de la matière végétale.

Tableau 4: Rendement de l'extrait de *C.sempervirens*.

Extrait	Poids d'extrait (g)	Poids de plante sèche (g)	Rendement d'extrait en (%)
<i>Cupressus sempervirens</i>	21.17g	200g	10.58%

III.1.3. Evaluation des polyphénols totaux de l'extrait :

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux ont été déterminées à partir de la courbe d'étalonnage ayant l'équation: $Y = 0,0112x + 0,3746$. $R^2 = 0,9765$. Les valeurs obtenues sont exprimés en (ug= équivalent d'acide gallique/ mg=extrait sec). Où on a trouvé que l'extrait contient une quantité de polyphénol très importante. (**Figure27**).

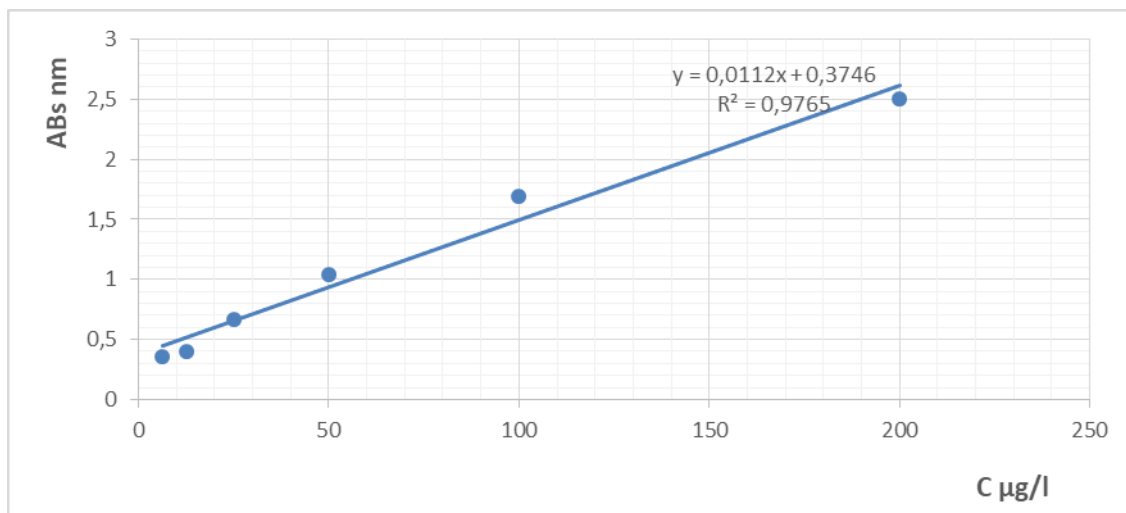


Figure 27: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour l'évaluation des phénols totaux.

III.1.4. Evaluation des flavonoïdes de l'extrait :

Après le dosage, le teneur en flavonoïdes est obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de la Quercétine (**Figure28**) ayant l'équation de formule : $y = 0.0136x + 0.1096$, avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.9782$. Les valeurs obtenues sont exprimés en (ug= équivalent de Quercétine /g d'extrait sec).

On a trouvé que l'extrait de *Cupressus sempervirens* contient une quantité de flavonoïdes importante.

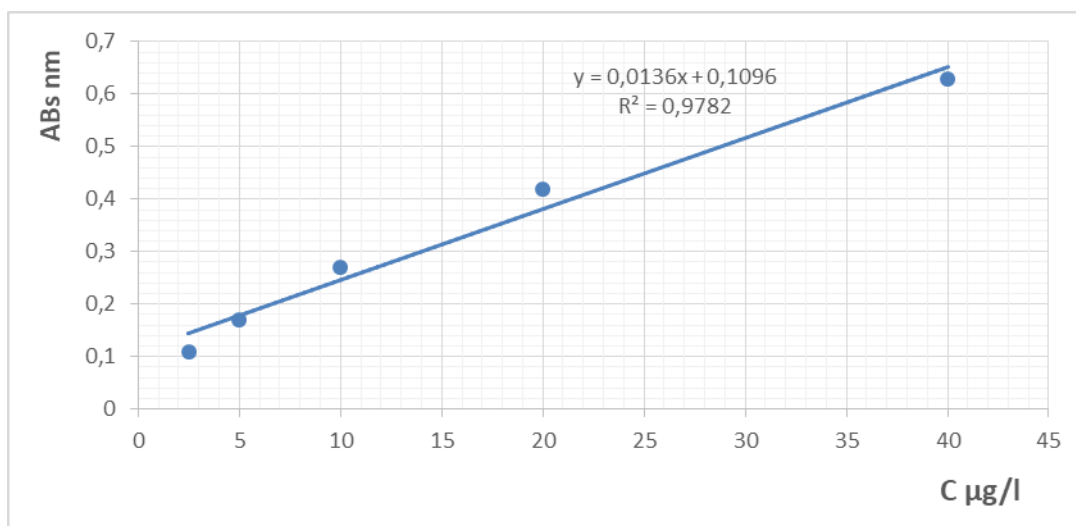


Figure 28: Courbe d'étalonnage de la Quercétine pour l'évaluation des flavonoïdes.

III.1.5. Evaluation de l'activité antioxydant :

L'extrait brute de *Cupressus sempervirens* a montré une très forte activité antioxydant sur les radicaux libre(DPPH) avec (IC50= 270).

Cependant la capacité de l'extrait brute reste moins par rapport à l'antioxydant synthétique de référence de la vitamine C avec (IC50=20). (**Figure29**).

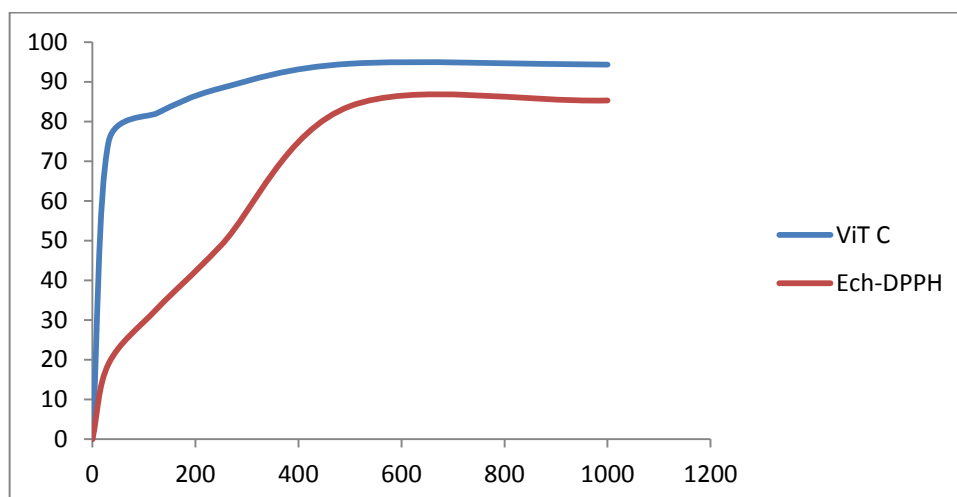


Figure 29: Courbe de l'activité antioxydant de l'extrait.

III.1.6. Résultats des tests de toxicité larvaire :

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité de l'extrait, évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles. Les tests de toxicité sont appliqués sur des larves du quatrième stade(L4) de *Culiseta longiareolata* à différente concentration (40mg/l ; 60mg/l ; 80mg/l ; 100mg/l) pendant 24, 48 et 72heures. Le pourcentage de mortalité des larves est représentée dans le tableau (Tableau5) selon la formule suivant :

$$\text{Pourcentage de mortalité} = (\text{Nombre des larves introduit} / \text{Nombre des larves mortes}) \times 100.$$

Tableau 5: Variation de mortalité larvaire par huile essentielle.

Répétition	24H						48H						72H					
	T-	T+	40p pm	60p pm	80p pm	100p pm	T-	T+	40p pm	60p pm	80p pm	100p pm	T-	T+	40p pm	60p pm	80p pm	100p pm
R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	5.55	16.66	44.44
R2	0	0	0	0	0	5	0	0	5.26	10.52	10.52	21.05	0	5	11.11	22.22	22.22	50
R3	0	0	0	0	0	5	0	0	5.55	5.55	5.55	22.22	0	5	5.88	64.17	17.64	47.05
R4	0	0	0	0	0	5	0	5	5.55	11.11	5.55	22.22	0	10	6.25	18.75	12.5	43.75

Tableau 6: Variation de mortalité larvaire par l'extrait de *C.sempervirens*.

Rép éti on	24H					48H					72H				
	T+	T-	40p pm	60p pm	80 pp m	T+	T-	40p pm	60p pm	80 pp m	T+	T-	40p pm	60p pm	80 pp m
R1	30	0	60	60	60	5 5	20	70	85	10 0	6 0	30	80	90	10 0
R2	65	0	60	45	60	1 0 0	10	100	95	80	1 0 0	25	100	95	90
R3	75	0	30	35	45	9 0	15	85	90	95	9 5	20	90	90	95
R4	55	0	80	60	75	9 5	40	100	85	90	1 0 0	45	100	85	90

Après traitement de toxicité larvaire par huile essentielle on a constaté une mortalité importante au niveau de contrôle positif, qui contient le Tween 80 avec une concentration de 50ul ce qui signifie que l'application de cette substance avec cette dose a un effet toxique sur les larves ce qui ne s'a empêché de trouver des résultats au niveau de différents concentration d'huile essentielle.

III.1.7. Analyse de la variance du taux de mortalité larvaire au différent intervalle du temps :

Les tableaux suivant représentent l'analyse de la variance des mortalités larvaires du *Cs.longiareolata* en fonction d'extrait d'huile essentiel de *Cupressus sempervirens*, avec différentes concentrations appliquées après 24, 48, 72 heures d'exposition.

III.1.7.1. Etude de la toxicité d'huile essentielle de *Cupressus sempervirens* :

Tableau 7: Analyse de variance de la toxicité de *C.sempervirens* après 24h

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	42,19	3	14,06	F (3, 12) = 9,000	P=0,0021 **
Residual (within columns)	18,75	12	1,563		
Total	60,94	15			

L'étude d'analyse de la variance (**Tableau 6**) des différentes concentrations, montre qu'il y a une différence significative (P=0,0021) dans les mortalités des larves traité avec *C.sempervirens* après 24h d'exposition.

La comparaison multiple des concentrations utilisées (**Figure30**) montre qu'il y a des différences significatives entre les concentrations (40-60mg/l), (40-80mg/l), (60-80mg/l). En revanche ce traitement présente une différence significative entre les concentrations (40-100mg/l), (60-100mg/l), (80-100mg/l).

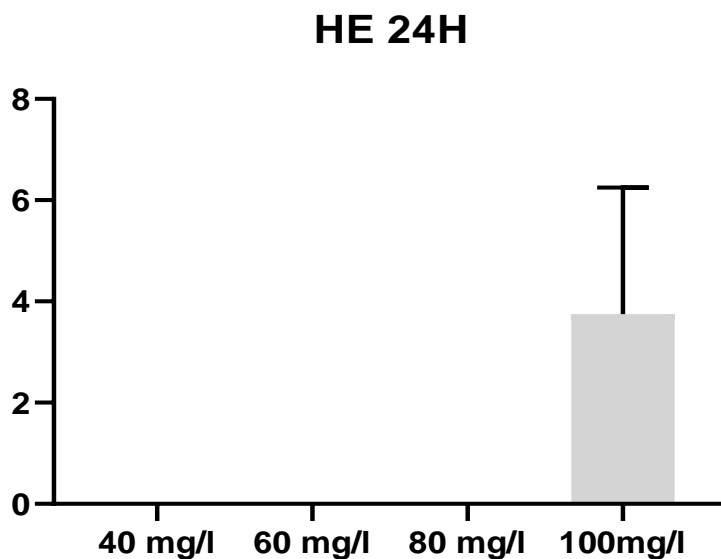


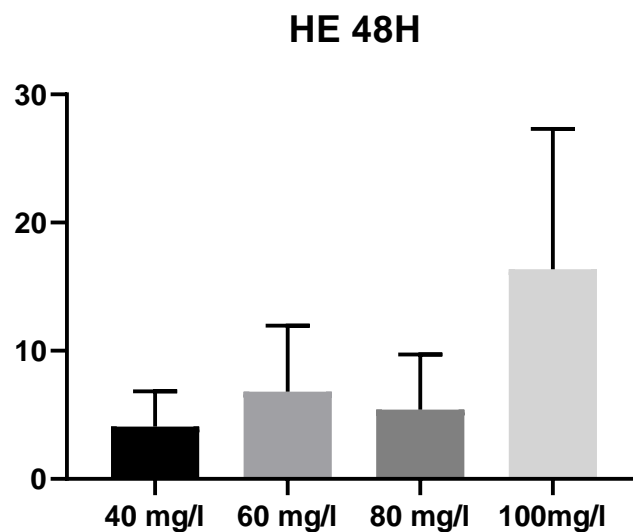
Figure 30: Mortalités des larves de *Cs.longiareolata* observée en fonction de la concentration de *C.sempervirens* après 24h.

Tableau 8: Variation de variance de la toxicité de *C.sempervirens* après 48h

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	373,5	3	124,5	F (3, 12) = 2,892	P=0,0793 NS
Residual (within columns)	516,5	12	43,04		
Total	890,0	15			

L'étude d'analyse de la variance (**Tableau 7**) de différentes concentrations, montre qu'il n'est y a pas une différence significative (P=0,0793) dans les mortalités des larves traité avec *C.sempervirens* après 48h d'exposition.

La comparaison multiple des concentrations utilisé (**Figure31**) montre qu'il n'est y a pas des différences significative entre les concentrations les plus proches (40-60mg/l), (40-80mg/l), (60-80mg/l). En revanche ce traitement présente une différence significative entre les concentrations (40-100mg/l), (60-100mg/l), (80-100mg/l).

**Figure31:** Mortalités des larves de *Cs.longiareolata* observée en fonction de la concentration de *C.sempervirens* après 48h.**Tableau 9:** Analyse de variance de la toxicité de *C.sempervirens* après 72h

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	3638	3	1213	F (3, 12) = 49,84	P<0,0001 ****

Residual (within columns)	292,0	12	24,33		
Total	3930	15			

L'étude d'analyse de la variance (**Tableau8**) de différentes concentrations, montre que il n'y a pas une différence significative ($P < 0,0001$) dans les mortalités des larves traitées avec *C.sempervirens* après 72h d'exposition.

La comparaison multiple des concentrations utilisées (**Figure32**) montre qu'il y a des différences significatives entre les concentrations les plus proches (40-60mg/l), (40-80mg/l), (60-80mg/l). En revanche ce traitement présente une différence significative entre les concentrations (40-100mg/l), (60-100mg/l), (80-100mg/l).

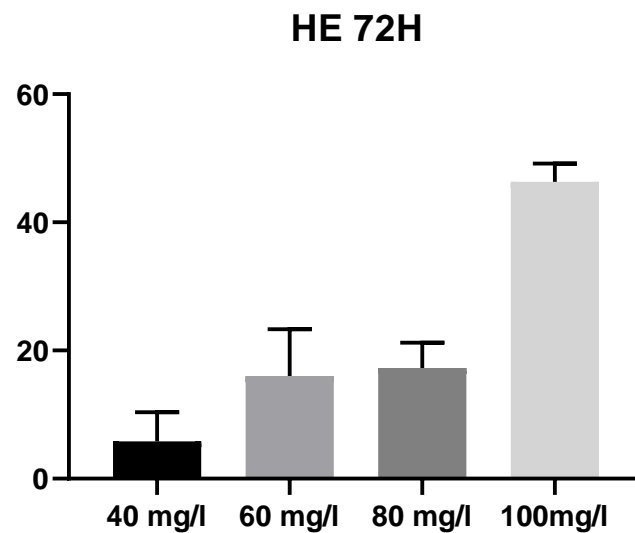


Figure 32: Mortalités des larves de *Cs.longiareolata* observée en fonction de la concentration de *C.sempervirens* après 72h.

III.2. Discussion :

La lutte insecticide est un outil essentiel de la prévention contre les maladies à vecteurs et de contrôle des insectes nuisibles. C'est même dans certains cas le seul disponible.

Des progrès significatifs ont été faits dans la mise au point de méthodes de lutte plus sélectives et impliquant directement les communautés : moustiquaires et pièges imprégnés de pyréthrinoides pour lutte contre les vecteurs du paludisme et de la maladie du sommeil en Algérie. Ces méthodes s'intègrent bien dans la politique décentralisée des soins de santé primaire comme les huiles essentielles (Guillet et al, 1997).

Concernant les caractéristiques d'huile essentielle après l'extraction, il apparaît que *Cupressus sempervirens* est caractérisée par une huile à couleur transparent odeur.

Le calcul de rendement de l'huile obtenue par hydrodistillation des feuilles sèches de *Cupressus sempervirens*. Dans notre étude le pourcentage du rendement obtenu de huile du *C.sempervirens* (région de Zitouna) est de 0.58% de notre côté le pourcentage du rendement obtenu de l'extrait de la même plante est de 10.58%.

Selon Ben Arbia et al (2020) qui a rapporté dans ces travaux que *Cupressus sempervirens* ému au forêt d'erriche, El hachimia à la wilaya de Bouira a apporté un rendement (0.31%). D'après les résultats obtenus de Boualouane (2013) le rendement des huiles essentielles (extraction par hydrodistillation) est 0.4% et le rendement d'extrait (extraction par soxhlet) est 16.43%.

Cette différence liée à l'extraction fait des feuilles sèches et aussi peut être justifiée par la différence de climat des plantes à extrait et la période de récolte aussi, la technique d'extraction.

Nos résultats de mortalités obtenues sur l'effet de l'extrait de *C.sempervirens* sur les larves de moustique (*Cs.longiareolata*) de 4^{ème} stade.

Dans l'aspect toxicologique : a permis d'établir les concentrations Létale (LC50=106.6ug/ml), 48h (LC50=189.5ug/ml), et 72h (LC50=108.8ul/ml) après traitement par l'extrait brute.

Nos résultats montrent que *C.sempervirens* entraîne une mortalité variable selon la concentration utilisé et le temps de traitement. Nous avons démontrés que les concentration létales (CL50) augmente en fonction de la durée du traitement. Au bout de 3jours de traitement les taux de mortalité des larves traité par l'extrait brute augmentent et peuvent atteindre 100% lorsqu'on utilise la plus forte concentration.

Après traitement de toxicité larvaire par huile essentielle on a constaté une mortalité importante au niveau de contrôle positif, qui contient le Tween80 avec une concentration de 50ul ce qui signifié

que l'application de cette substance avec cette dose a un effet toxique sur les larves ce qui ne s'a empêché de trouver des résultats au niveau de différents concentration d'huile essentielle.



Conclusion

Conclusion

Conclusion :


Les Culicidae communément appelés moustiques comptent aujourd'hui des milliers d'espèces disséminées presque partout dans le monde, il est responsable de la nuisance (piques douloureuses et gênantes) et de la transmission des maladies.

L'espèce *Culiseta longiareolata* est considéré comme l'un des moustiques les plus courants en raison de sa capacité à s'adapter à toutes les conditions environnementales lui permet d'être vecteur de plusieurs agents pathogènes responsables de maladies infectieuses parfois mortelles tel est le cas du virus West Nile.

De nombreuses études ont prouvé l'efficacité de certaines plantes dans la lutte contre moustiques soit en utilisant leurs extraits ou leurs huiles essentielles, parmi ces plantes *Cupressus sempervirens* L.

Au final, on peut dire que les biopesticides à base d'huiles essentielles ou d'extraits peuvent être une alternative pour réduire l'utilisation massive de pesticides chimiques qui menacent la santé humaine et l'environnement.

Nous espérons que de futures études seront menées sur le mécanisme d'utilisation de ce type de biopesticides sur terrain.



*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques :

A

- **AL-Snafi E., 2016** - Médical importance of cupressus sempervirens A review. Valene 6. Issue 6 version, 2. p 66-76.
- **Aissaoui A., 2022** - étude de l'activité antimicrobienne du cyprès, mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master biologie moléculaire et cellulaire, université 8 mai 1945 Guelma.

B

- **Belmessous. Saliha ed., Empire by Treaty 2014** - Negotiating European Expansion, 1600-1900. Oxford: Oxford University Press.
- **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008** - Biological effects of essential oils—a review. Food and chemical toxicology, 46(2), p446-475.
- **Bekhechi C., Abdelouahid D., 2010** - Les huiles essentielles. Office de publication universitaires, Alger
- **Bekhechi C., Boti J.B., Bekkara F.A., Abdelouahid D.E., Casanova J., Tomi F., 2010** - Isothymol in Ajowan essential oil. Natural product communications, 5(7), 1934578X1000500726.
- **Belkou B.E., Talebbah M., 2005** - Approche de la composition biochimique de la menthe verte (*Mentha spicata* Z) dans la région d'Ouargla. Université Ouargla, p7-8.
- **Berchi S., 2000** - Résistance de certaines populations de *Culex pipiens pipiens* L. au malathion à Constantine (Algérie) (Diptera, Culicidae). Bulletin de la société entomologique de France, 105(2), p125-129.
- **Bouamer S., Morand S., 2004** - Descriptions of *Tachygonetria africana* n. sp. and *T. pretoriensis* n. sp. and redescription of two other species of *Tachygonetria* Wedl, 1862 (Nematoda: Pharyngodonidae), all parasitic in *Geochelone pardalis* (Testudinidae) from South Africa. Systematic Parasitology, 58, p199-208.
- **Bouderhem A., 2015** - Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*) .Mémoire de mastère biochimie appliquée. Université Echahid Hama Lakhdar D'El-oued, p 46.
- **Boulkenafet F., 2006** - Contribution à l'étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera : Culicidae) dans la région de

Skikda. Mémoire de master-Université Mentouri Constantine-Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, p191.

- **Bruneton P., 1993** - Geological environment of the Cigar Lake uranium deposit. Canadian Journal of Earth Sciences, 30(4), p653-673.
- **Brunhes J., Rhaim A., Geoffroy B., Angel G., Hervy J.P., 1999** - Les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne, Programme d'identification et d'enseignement, I.R.D. édition.

C

- **Caudullo G., De Rigo D., 2016** - Ulmus-elms in Europe: distribution, habitat, usage and threats. European atlas of forest tree species, p186-188.
- **Caron S., Mebarek L., John J.M., Isabelle G., Elie S.M. Reversion., 2015** - Modular organization of the white spruce (*Picea glauca*) transcriptome reveals functional organization and evolutionary signatures.
- **Chouitah O., 2012** - Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra* (Doctoral dissertation, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).

D

- **Département Maritime., 2023** - LES CARACTÉRISTIQUES DES MOUSTIQUES. <https://www.eidatlantique.eu/page.php?P=152s>
- **Djeridane A., Yous M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N., 2006** - Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound. Food Chem., 97: p654-660.

F

- **Festy D., 2014** - Ma Bible des huiles essentielles, l'aromathérapie en 23 questions / réponses. p.15.
- **Figueredo G., 2007** - Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (*Lamiaceae*) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).

G

- **Genévrier C., 2021** - CYPRESS DE PROVENCE – *CUPRESSUS SEMPERVIRENS*. <https://monde-vegetal.fr/cypres-de-provence/>
- **WASH., 2017** - (Eau Hygiène Assainissement) Afrique de l'ouest & central. Lutte antivectorielle contre le moustique Anophèles dans le cadre de la lutte contre les paludisme.

H

- **Hassaine K., 2002** - Bioécologie et biotypologie des Culicidae (Diptera : Nematocera) de l'Afrique méditerranéenne. Biologie des espèces les plus vulnérantes (Ae. Caspius, Ae. Detritus, Ae. mariae et Cx. pipiens) dans la région occidentale algérienne. Ae. caspius, Ae. detritus, Ae. mariae, p191.
- <https://fr.scribd.com/document/514183773/chapitre-1-Biologie-de-Culiseta-longiareolata>

I

- **INRF., 2012** - l'État des ressources génétique forestières mondiales. Rapport national Algérie, p3.

J

- **Jesus C ., 2017** - <https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/cypres.htm>

L

- **Lamamra M., 2018** - Activités biologiques et composition chimique des huiles essentielles d'Ammiopsis aristidis Coss. (Syn. Daucus aristidis Coss.) et d'Achillea santolinoides Lag (Doctoral dissertation).
- **Larbi cherif y., 2015** - Diversité et Caractérisation des habitats des Diptères (Diptera, Culicidae) de la région de Chetouane (Tlemcen (Doctoral dissertation).
- **Lounaci Z., 2003** - Biosystématique et bioécologie des Culicidae (Diptera, Nematocera) en milieu rural et agricole. Mém., Magi., INA., El Harrach.
- **Lounaci Z., Doumandji-MiticheB., 2004** -Biosystématique des Culicidae (Diptera : Nematocera) dans la partie sub-urbaine de l'Algérois, du marais de Réghaïa et de l'Oued Sébaou de Tizi Ouzo. 2ème Jour. Protec. Végét., Alger : Inst. Nati. Agro, p45.

M

- **Mehani M., 2015** - Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Eucalyptus Camendulensis dans la région d'Ouargla. Thèse de Doctorat .Université d'Ouargla, p175.
- **Mehani M., Segni L., Terzi V., Morcia C., Ghizzoni R., Goudjil M.B., Bencheikh S.E., 2015** - Antibacterial, antifungal activity and chemical composition study of essential oil of Mentha pepirita from the south Algerian. Der Pharma Chemica, 7(12), p382-387.

N

- **Nichan M., 201** - contribution à l'étude du dépérissement du cyprès vert (*cupressus sempervirens* L.) dans les monts des Traras Occidentaux (Wilaya de Tlemcen).

P

- **Paul R., 2009** - Généralités sur les moustiques du littoral méditerranéen français .EID méditerranée, p11.

R

- **Rageau J., Mouchet J., 1970** - The ticks of Camargue and their potential role in the epidemiology of arbovirus infection. *Folia Parasitologica*, 17(4), p349-53.
- **Randrianarivelo R., 2010** - Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar *Cinnamosma fragrans*, alternative aux antibiotiques en crevetticulture (Doctoral dissertation, Université d'Antananarivo).

S

- **Sanchez-Moreno C., 2002** - Methods used to evaluate the free radical scavenging Activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8(3), p121-137.
- **Sebbane b., khaldi M., 2019** - Quelques composés secondaires isolés à partir des plantes de la famille de Cupressacée (*Cupressus sempervirens*, *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus communis*) : extraction, caractérisation et activité antibactérienne.
- **Séguy E., 1924** - Les insectes parasites de l'homme et des animaux domestiques (Vol. 18). P. Lechevalier.

T

- **Tine D., 2009** - Traitement de boues de vidange de systèmes d'assainissement autonome à Dakar (Sénégal) : Etude d'une phase d'acclimatation de deux espèces utilisées pour le traitement des boues de vidange domestiques. Mémoire de DEA en Sciences de l'environnement.

W

- **Wong C.C., Li H.B., Cheng K.W., Chen F., 2006** - A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem.*, 97: p705-711.

Y

- **Yahyaoui M., 2005** - Étude cinétique de la formation de polluants à partir de mélanges représentatifs des essences (Doctoral dissertation, Orléans).

- **Yen G.C., Duh P.D., 1994** - Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free radical and active-oxygen species. *J Agric Food Chem.* 42 :p629-632.