

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

العلمي والبحث العالي وزارة التعليم

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 : Sciences biologiques

Spécialité : Ecotoxicologie Animale

Intitulé :

**Évaluation de l'effet toxique de l'extrait éthanolique et
de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis*
(Dehnh, 1832) sur le développement des larves
d'*Aedes flavescens* (Muller, 1764)**

Présenté Par :

M^{elle} Boudjerou Ines

M^{elle} Boucenna Ikram

M^{elle} Zatout Nadjat

M^{elle} Adjghim Djihed

Membre de Jury :

Mr. Djerrou Z (Pr)

Président

Université du 20 Août 1955- Skikda

Mr. Boulkenafet F (MCA)

Promoteur

Université du 20 Août 1955- Skikda

Mr. Bouhayene S (MCA)

Examineur

Université du 20 Août 1955- Skikda

Année universitaire 2022/2023



Remerciement

Nous allons le plaisir de remercier :

En premier lieu, ALLAH le tout Puissant de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail, également nous remercions infiniment nos parents, qui nous ont encouragé et aidé tout le long de notre formation.

En second lieu, Nous tenons à exprimer toutes nos reconnaissances à Mr *BOULAKNEFET F* qui a aimablement accepté de diriger ce modeste travail. Nous avons eu le grand plaisir de travailler sous votre direction, et avons trouvé auprès de vous le conseiller et le guide qui nous a reçus en toute circonstance avec sympathie, sourire et bienveillance et votre compétence professionnelle incontestable.

Mes remerciements exprimé au jury Mr *DJERROU Z* pour l'honneur d'avoir accepté de présider et le jury Mr *BOUHAYENE S* pour avoir accepté d'examiner ce travail.

C'est avec grand plaisir que nous remercions :

Mme *Benzazia S* et Mme *Mallahi L* pour toute l'aide qu'il m'apporté en ce qui concerne la partie traitement statistique.

La doctorante *DOB Y* qui a suivie de près notre travail, pour sa collaboration, son orientation et ses conseils précieux.

La doctorante *HERMOUCHE A* pour toute l'aide et l'encouragement.

Je remercie également tous les membres de laboratoire de biochimie de l'université de Skikda.

Nous tenons aussi à exprimer nos sincères remerciements à tous les enseignants du département des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université 20 aout 1955 Skikda qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenus pour la poursuite de nos études.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir

Réussir mon père Djamel.

À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur maman Mounira.

Reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

À mes chers frères et mes chères sœurs, qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant mes études.

À ma grande mère Aziza Allah Yarhamha qui m'a toujours encourager.

À mes chères amies merci pour votre amour, votre soutien et avec qui j'ai passé les plus beaux et les plus vrais souvenirs et partagé avec eux les sentiments les plus profonds :

Hadil, Ikram, Ines

À toute ma famille et à tous ceux que j'aime.

À mes trinômes : Ikram, Nadjet, Djihed

Mes dédicaces vont également à tous ce qui m'ont aidé de près ou de loin et à toute personne qui un jour consultera ce document.



INES

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*Mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est
toujours sacrifié pour me voir Réussir mon père Abdelfatah.*

*À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon
cœur maman Mounira.*

*Reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il l'expression de mes
sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*À mes chers frères et mes chères sœurs, qui m'ont toujours soutenu et
encouragé durant mes études.*

*À mes chères amies merci pour votre amour, votre soutien et avec qui j'ai
passé les plus beaux et les plus vrais souvenirs et partagé avec eux les
sentiments les plus profonds :*

*Maissem, Soulef, Sirine, Belkis, Aya
À toute ma famille et à tous ceux que j'aime.*



IKRAM

Dédicace

Je dédie ce travail

*A ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour et leurs encouragements a fait moi ce que je suis aujourd'hui
particulièrement :*

*A mes très chers parents « Zatout Bachir » et « chebel Fatima » qui ont toujours été là pour moi, je n'ai pas les mots pour vos dire merci à votre encourage et conseils
judicieux encore une fois merci.*

A mes adorables sœurs « Amel, Ismahene, et Bouchra »

A mes chers frères « Omar et Saad »

*À mes chères amies merci pour votre amour, votre soutien et avec qui j'ai passé les plus beaux et les plus vrais souvenirs et partagé avec eux les sentiments les plus profonds :
Bouchra, Roumaïssa, Rihab, Rayane*

A tous ceux qui m'ont connu de proche et de loin.



NADJAT

Dédicace

*A l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que
je dédie :*

*A mes très chers parents la lumière de ma vie qui m'a soutenu
tout au long de ma vie dans les moments difficiles et dans mes
études. Vous
m'avez apporté soutien, écoute et encouragements qui ont été
essentiels pendant ces années. Cette thèse est la tienne car
grâce à ton aide et à
que ce travail à pouvoir le jour...*

A mes chère sœurs Rima et souhaila, ghania,

*A ma famille au sens large, avec toutes mes excuses pour mon
manque*

de présence et d'attention ces dernières années.

Que Dieu le tout puissant nous accorde un avenir meilleur.



DJIHED

SOMMAIRE

| | |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| INTRODUCTION..... | 1 |
| I.1 Généralité sur les culicidea | 3 |
| I.1.1. Définition : | 3 |
| I.1.2. La position systématique : | 3 |
| I.1.3. La morphologie générale : | 4 |
| A. L'œuf :..... | 4 |
| B. La larve : | 4 |
| C. La nymphe : | 5 |
| D. L'adulte :..... | 6 |
| I.1.4. Cycle de vie : | 7 |
| a) Accouplement : | 8 |
| b) Ponte :..... | 8 |
| c) Développement larvaire et nymphose : | 8 |
| d) Mue imaginale :..... | 9 |
| e) Stade adulte : | 9 |
| I.2. <i>Eucalyptus camaldulensis</i> | 9 |
| I.2.1. Description de la plante : | 9 |
| I.2.2. Position systématique : | 10 |
| I.2.3. La répartition géographique :..... | 10 |
| I.2.3. Description botanique de la plante :..... | 11 |
| I.2.3. Utilisation médicinale et traditionnelle :..... | 11 |
| I.3.Généralités sur les huiles essentielles..... | 12 |
| I.3.1. Définition des huiles essentielles :..... | 12 |
| I.3.2. Localisation ou répartition des huiles essentielles :..... | 12 |
| I.3.3. Propriétés des huiles essentielles : | 12 |
| I.3.4. Utilisations des huiles essentielles :..... | 13 |
| I.3.5. Méthode d'extraction des huiles essentielles :..... | 14 |
| I.3.6. Critères de qualité des huiles essentielles : | 15 |
| I.3.7. Toxicité d'huile essentielle : | 15 |
| Chapitre II : Matériel et méthodes | 3 |
| II. 1 Etude des larves <i>A.flavescens</i> :..... | 16 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| II. 1.1. L'échantillonnage sur terrain :..... | 16 |
| A. Situation géographique des gites des études : | 16 |
| B. La récolte des larves : | 16 |
| II. 1.2. Travail au laboratoire : | 17 |
| II. 1.2.1. Montage et Identification des larves :..... | 17 |
| II.2. Etude de la plante : | 18 |
| 2.1. La récolte de la plante : | 18 |
| 2.2. Travail au laboratoire : | 18 |
| 2.2.1. Extraction et rendement des huiles essentielles par hydrodistillation :..... | 18 |
| 2.2.2. L'extraction par Soxhlet :..... | 20 |
| II. 3. Test de toxicité : | 22 |
| A. par l'huile essentielle : | 22 |
| B. par l'extrait aqueux : | 22 |
| II.4 Analyse statistique :..... | 23 |
| Chapitre III : Résultats et Discussion | 24 |
| III.1 Résultats :..... | 24 |
| III.1.1 Résultats d'identification des larves :..... | 24 |
| III.1.2 Rendement et caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles d' <i>E. Camendulensis</i> :..... | 24 |
| III.1.3 Rendement des extraits aqueux d' <i>E. Camendulensis</i> :..... | 25 |
| III.1.4 Résultats des tests de toxicité larvaire :..... | 25 |
| III. 1.5. Analyse de la variance de deux biocides (ANOVA) : | 28 |
| III. 1.5.1 Etude de la toxicité de l'extrait aqueux :..... | 29 |
| III. 1.5.2 Etude de la toxicité de l'extrait aqueux :..... | 30 |
| III. 1.5.3 Etudes des paramètres toxicologiques d'huiles essentiel d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> : 32 | |
| III. 1.5.4 Etudes des paramètres toxicologiques de extrais aqueux d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> :32 | |
| III.2. Discussion :..... | 32 |
| Conclusion :..... | 42 |
| Références bibliographiques :..... | 43 |

Liste des figures

| Les Figures | N° de Pages |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| fig. 1 : Aspect général des œufs de Culicidae (Berchi, 2000). | 4 |
| fig. 2 : Morphologie de la larve de moustique (BERCHI, 2000). | 5 |
| fig. 3 : Photographie d'une Nymphe (VACUS, 2012). | 6 |
| fig. 4 : Morphologie générale de culicidé adulte (LANE et CROSS Key, 1993). | 7 |
| fig. 5 : Cycle de vie des Culicidés (MARGOT, 2010). | 8 |
| fig. 6 : Répartition d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> dans le monde (Bouvet, J.M, 2003). | 10 |
| fig. 7 : Montage d'extraction par hydro distillation (Mehani, 2015). | 14 |
| fig.8 : Situation du gite d'échantillonnage, (Google maps 2023). | 16 |
| fig. 9 : Gite d'échantillonnage. | 17 |
| fig. 10 : Technique de préparation et montage des larves. | 17 |
| fig. 11 : L'arbre d' <i>E. camendulensis</i> . | 18 |
| fig. 12 : Montage de l'hydro-distillation de type Clevenger. | 19 |
| fig. 13 : Les étapes de la production de l'HES. | 20 |
| fig. 14 : Dispositif d'extraction par soxhlet. | 21 |
| fig.15 : un évaporateur rotatif. | 21 |
| fig. 16 : Traitement des larves de moustiques par l'huile essentielle. | 22 |
| fig. 17 : Traitement des larves de moustiques par l'extrait Ethanolique. | 23 |
| fig. 18 : critères d'identification d' <i>Aedesflavescens</i> . | 24 |
| fig. 19 : Aspects des huiles essentielles. | 25 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| fig. 20 : Mortalité des larves d' <i>Aedes flavescens</i> corrigés en fonction de la concentration d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> après (24h, 48h, 72h). | 27 |
| Fig.21 : Mortalité des larves d' <i>Aedes flavescens</i> observée en fonction de la concentration d' <i>Eucylaptus camaldulensis</i> après (24h, 48h, 72h). | 28 |

Liste des tableaux

| Les tableaux | N° des pages |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| Tab 1 : pourcentages de mortalités larvaires. | 26 |
| Tab 2 : Représente le pourcentage de mortalité corrigé de l'huile essentielle dans les 3 répétitions en fonction des 4 concentrations utilisées à savoir (25ppm, 50ppm, 75ppm, 100ppm) après (24h, 48h, 72h) d'expositions. | 27 |
| Tab 3 : Représente le pourcentage de mortalité corrigé de L'extrait éthanolique dans les 3 répétitions en fonction des 4 concentrations utilisées à savoir (40mg/l, 60mg/l, 80mg/l, 100mg/l) après (24h, 48h, 72h) d'expositions. | 28 |
| Tab 4 : Analyse de variance de la toxicité d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> après 24h. | 29 |
| Tab 5 : Analyse de variance de la toxicité d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> après 48h. | 30 |
| Tab 6 : Analyse de variance de la toxicité d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> après 72h. | 30 |
| Tab 7 : Analyse de variance de la toxicité d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> après 24h. | 30 |
| Tab 8 : Analyse de variance de la toxicité d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> après 48h. | 31 |
| Tab 9 : Analyse de variance de la toxicité d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> après 72h. | 31 |

Liste des abréviations

OMS : organisation mondiale de la santé

E : Eucalyptus

HE : huile essentielle

M' : la masse d'extrait sec obtenue après l'extraction.

M : la masse de la matière végétale utilisée

Masse (HE) : masse de l'huile essentielle

Masse (MVS) : masse du matériel végétal sec.

DDL : Degrés de liberté.

F obs : Valeur de la variance de F de Fisher = carré moyen différences entre stations/carré

moyen valeur résiduelle.

L3, L4 : stade larvaire.

% : pourcentage

T° : degré température.

DL : Dose létale.

Ppm : partie par million.

OMS : organisation mondial de la santé.

C° : degré celcuce.

H : heure.

Cl : concentration létale.

Km : kilomètre.

μ l / ml : microlitre/ millilitre.

Mg/ml : milligramme par millilitre

Mg : Microgramme

mg/ml : Milligramme par millilitre

mgEq AC/g Ms : milligramme équivalent en acide gallique par gramme de la matière sèche

Résumé

Dans le cadre de la recherche des méthodes efficaces de lutte biologique contre les moustiques, l'efficacité des huiles essentielles et des extraits bruts d'*Eucalyptus camaldulensis* ont été testés sur les larves de l'espèce *Aedes flavescens*.

Les tests de toxicités ont été réalisés dans les conditions de laboratoire sur les larves de stade L3, L4 nouvellement exuvies selon une méthodologie inspirée du protocole standard de l'OMS.

Le calcul des effectifs a révélé les valeurs des concentrations létales de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* sont : 35.87ppm, 67.21ppm, 8.81ppm après 24h/72h/48h d'expositions respectivement.

Le calcul des effectifs a révélé les valeurs des concentrations létales de l'extrait éthanolique d'*Eucalyptus camaldulensis* sont : 108.9mg/l, 411.6mg/l, 268.2mg/l, après 3 jours successifs respectivement.

L'huile essentielle de la plante étudiée manifeste une toxicité avec un avantage sur les larves des moustiques par rapport aux extraits bruts de la plante.

mots clés: *Eucalyptus camaldulensis*, les huiles essentielles, CL50, *Aedes flavescens*, extrait éthanolique .

ملخص

كجزء من البحث عن طرق فعالة للمكافحة البيولوجية ضد البعوض ، تم اختبار فاعلية الزيوت الأساسية والمستخلصات *Aedes flavescens* على يرقات نوع *camaldulensis* الخام لأوكالبتوس الخارجة حديثاً وفقاً لمنهجية مستوحاة من L3 و L4 تم إجراء اختبارات السمية في ظروف معملية على يرقات المرحلة بروتوكول منظمة الصحة العالمية القياسي.

كشفت حساب الأرقام عن قيم التركيزات المميتة للزيت العطري والمستخلص الإيثانولي لأوكالبتوس كامالدولينسيس هي: 35.87 جزء في المليون ، 67.21 جزء في المليون ، 8.81 جزء في المليون ، 108.9 ملجم / لتر ، 411.6 ملجم / لتر ، 268.2 ملجم / لتر. بعد 24 ساعة / 72 ساعة / 48 ساعة من التعرض على التوالي يظهر الزيت العطري للنبات المدروس سمية مع ميزة على يرقات البعوض مقارنة بالمستخلصات الخام للنبات

الكلمات الدلالية: زيت الكينا ، زيوت عطرية ، *Aedes flavescens* ، LC50.

Abstract

As part of the search for effective methods of biological control against mosquitoes, the effectiveness of essential oils and raw extracts of *Eucalyptus camaldulensis* have been tested on the larvae of the species *Aedes flavescens*.

The toxicity tests were carried out under laboratory conditions on the newly exuviated L3 and L4 stage larvae according to a methodology inspired by the standard WHO protocol.

The calculation of the numbers revealed the values of the lethal concentrations of the essential oil and the ethanolic extract of *Eucalyptus camaldulensis* are: 35.87ppm, 67.21ppm, 8.81ppm and 108.9 mg/l, 411.6 mg/l, 268.2 mg/l after 24h/72h/48h of exposure respectively.

The essential oil of the studied plant manifests toxicity with an advantage on mosquito larvae compared to crude extracts of the plant.

keywords: *Eucalyptus camaldulensis*, essential oils, LC50, *Aedes flavescens*.

Introduction

Introduction

Les Culicidae (Diptera : Insecta) regroupent beaucoup d'espèces qui ont été identifiées parmi les ectoparasites temporaires hématophages les plus importants. Également, ils présentent des stades de vie pré imaginaires aquatiques représentés par les œufs, les larves et les nymphes et un stade adulte aérien (Bendali-Saoudi, 2006). Cependant, ils sont vecteurs de parasites et de virus comme le Plasmodium responsable de la Malaria, les arbovirus responsables de la fièvre jaune, la filariose, ainsi que le virus West Nile transmis principalement par le genre Culex (Alaoui Slimani et al, 1999) En se reproduisant dans l'eau, les moustiques sont des cibles intéressantes pour les pesticides au stade larvaire. Les Culicidae ont développé une résistance vis-à-vis les insecticides utilisés (Chandre et al, 1999).

Pour lutter contre ces agents ravageurs. Les produits chimiques malgré que efficaces, sont toxiques et présentent des conséquences néfastes sur les écosystèmes naturels ; l'accumulation de résidus et la pollution des sols, l'apparition et la généralisation des mécanismes de résistance chez les pathogènes, le déséquilibre écologique, dû au fait que beaucoup de ces composés de synthèse ont un large spectre d'action, détruisant non seulement les agents nuisibles, mais également les autres populations de l'écosystème (Kouassi, 2001; Thakore, 2006). Il s'agit la lutte biologique reste la plus sûre, la plus sélective et celle qui se biodégrade le mieux. L'attention des chercheurs à l'heure actuelle est la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles d'origines végétales (Aouati, 2016) qui sont les métabolites secondaires (les extraits aqueux, les poudres et les huiles essentielles des plantes...).

Les plantes aromatiques et médicinales (PAM) constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés médicales des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques. Ces propriétés, dues souvent à la fraction d'huile essentielle (HE), Les vertus thérapeutiques des essences aromatiques sont connues depuis l'antiquité ; cependant l'intérêt accordé à l'étude scientifique du pouvoir des plantes aromatiques et médicinales n'a augmenté que durant ces dernières années dans le but de rechercher des alternatives aux substances chimiques qui présentent des risques pour

la santé humaine et pour l'environnement (Zhang et al, 2010).

L'Eucalyptus est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde.

Les extraits des feuilles de cette plante sont largement employés, dans la médecine traditionnelle depuis des siècles contre la grippe et notamment comme anti-inflammatoire

Introduction

. Par ailleurs, beaucoup d'études soulignent les propriétés anti oxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anti infectieuses, antispasmodiques, insecticides et acaricides de l'huile essentielle d'Eucalyptus (Ait M'barek et al, 2007 ; Atmani-Merabet, 2018 ; Atmani-Merabet et al, 2020 ; Inouye et Abe, 2007 ; Steflitsch, 2008).

L'objectif principal de notre travail est l'évaluation de l'effet toxique de l'huile essentielle et l'extrait éthanolique de la partie aérienne d'*E.camaldulensis* dans la région de Skikda sur l'espèce *Aedes falavescens*.

Le présent travail est divisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre est une synthèse bibliographique sur les Culicidae, l'espèce *Eucalyptus camaldulensis* et les huiles essentielles.
- Le second chapitre est consacré à la présentation du matériel et des méthodes utilisés dans cette recherche.
- Dans le troisième chapitre est exposés les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

Notre étude se termine par une conclusion.

Chapitre I :
Synthèse
bibliographique

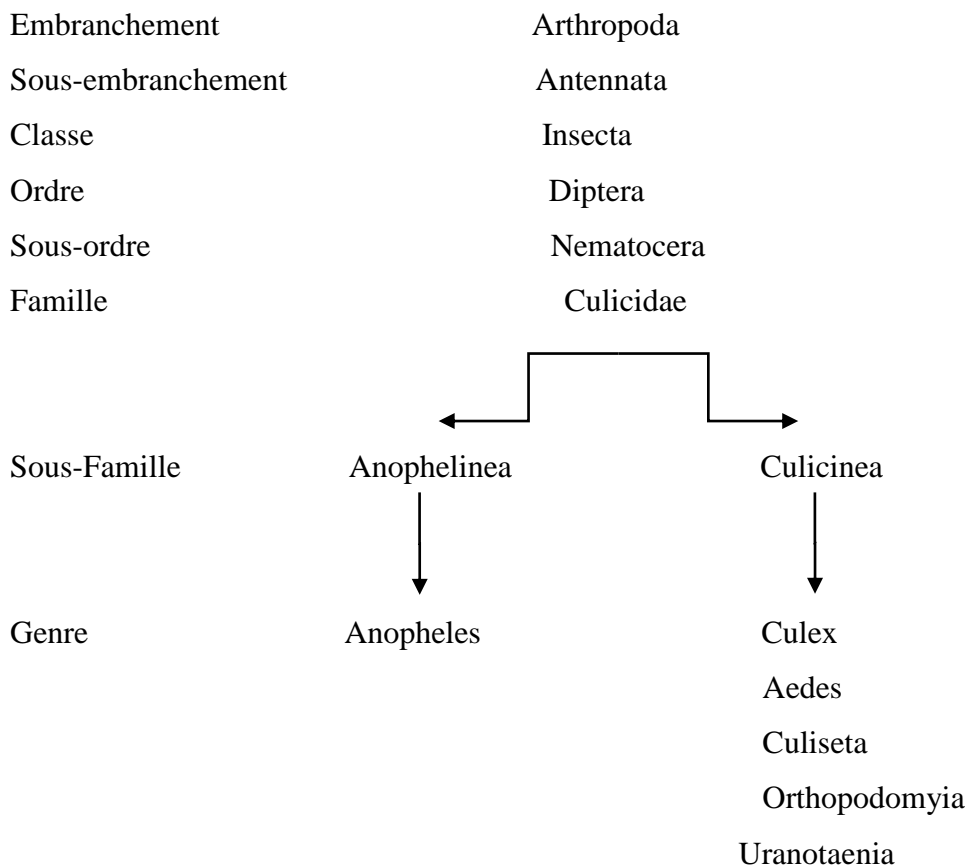
I. Généralité sur les Culicidae

I. 1. Définition :

Les Culicidae ou plus communément les moustiques, appartiennent à l'ordre des diptères, répartis sur 3300 espèce à travers le monde, caractérisé pas corps mince, longues et fines pattes, un corps recouverts d'écailles ou de poils, les femelles sont hématophages contrairement au mâles, la salive des femelles renferme un liquide toxique irritant en cas dépiquer et elle peut contenir des pathogènes qui seront inoculés à l'homme au moment de la piqure (Dajoz, 2010). En Algérie, il existe environ 48 espèces recensées appartenant au genre Anophèles, Aedes, Culex et Coquilletidea (Brunhes et al, 2000). La famille des Culicidae se divise en deux sous familles : les Anophelinae, les Culicinae de la quelle dérive trois genres : Anophèles, Culex et Aedes. Les femelles moustiques de la famille des Culicidae sont vecteurs de pathologie avec un impact et un risque sanitaire et économique négatif et considérable (Elouard, 1981).

I.2. La position systématique :

Les Culicidae de la région méditerranéenne sont devisés en deux sous familles :



Classification des Culicidae d'Algérie (BERCHI, 2000)

I.3. La morphologie générale :

La morphologie des moustiques varie avec le stade de développement, le genre et l'espèce.

A. L'œuf :

L'œuf comprend de l'intérieur vers l'extérieur ; l'embryon, la membrane vitelline pellucide, un endo-chorion épais et un exo-chorion plus ou moins pigmenté et ornementé, il est de 0.5 mm de taille (Hassaini, 1976 ; Rodhain et Perez, 1985).

Au moment de la ponte il est blanchâtre et prend rapidement, par oxydation de certains composants chimiques de la thèque ; une couleur marron ou noire (Seguy, 1949). Selon Holstein (1949), la couche externe de l'œuf porte des expansions latérales ou apicales caractéristiques des genres et espèces.

Les œufs d'Anophèles sont pondus isolément à la surface de l'eau. Leur forme est plus ou moins ovoïde et pourvue latéralement de flotteurs leur permettant de conserver une position horizontale (fig1-a.). Les œufs d'Aedes sont allongés, rétrécis et montrent un réseau de fines dépressions. Ils flottent horizontalement à la surface de l'eau. Les œufs de Culex groupés en nacelle sont cylindro-coniques et se tiennent verticalement (fig.1-b) (Pressat, 1905 in Boulkenafet, 2006) (fig.1).



a- Forme typique des oeufs d'Anopheles (*Anopheles gambiae*)



b- Nacelle d'oeufs de Culex (*Culex pipiens*)

fig. 1 : Aspect général des œufs de Culicidae (Berchi, 2000).

B. La larve :

Les larves d'Aedes se distinguent par l'absence de plaques abdominales, la présence de l'ouverture respiratoire située à l'extrémité d'un tube cylindrique court, trapu et porteur d'une seule touffe de soies médianes.

La larve se compose de trois parties : la tête, le thorax, et l'abdomen (fig.2).

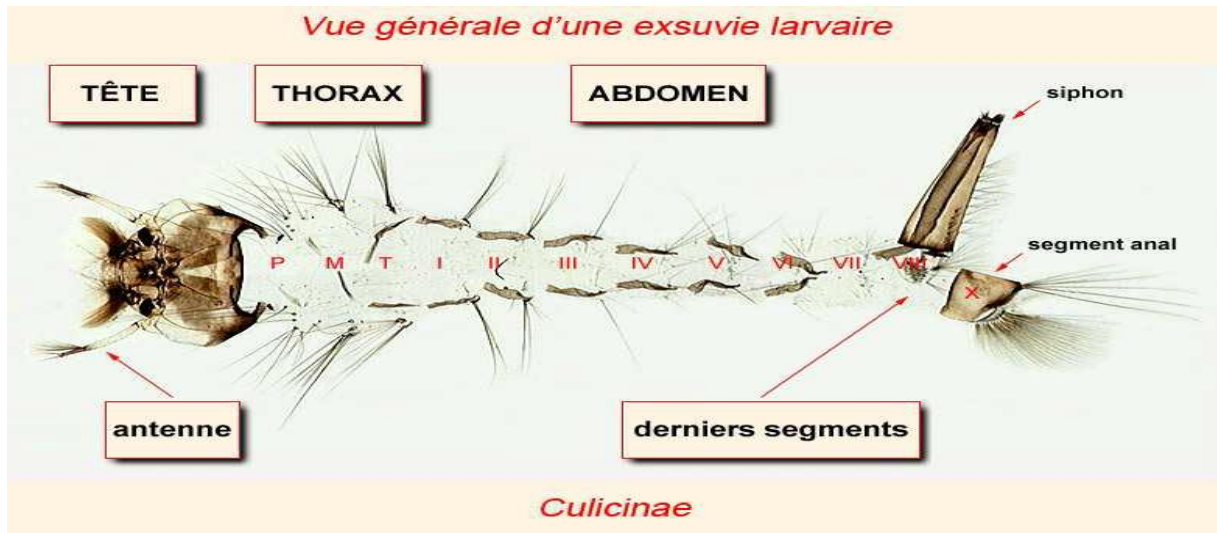


fig. 2 : Morphologie de la larve de moustique (Berchi, 2000).

- **La tête:** Porte deux tâches oculaires et une paire d'antennes formant un « V » dirigé vers l'avant portant toujours des soies caractéristiques selon les groupe, la soie (6c) est la plus importante du point de vue taxonomique et comporte une branche, deux branches, ou trois branches et plus. Elle comporte une plaque chitineuse appelée le fronto-clypeus, garnie de 5 soies. En avant du fronto-clypeus s'insèrent les épines préclypéales. On distingue au niveau de la tête la plaque mentale qui se compose d'une forte dent médiane avec un certain nombre de dents latérales.
- **Le thorax :** Subdivisé en prothorax, mésothorax et métathorax. Le thorax porte des soies. L'arrangement des soies pro thoraciques permettent de reconnaître les espèces (Senevet et Andarelli, 1956 ; Rioux, 1958).
- **L'abdomen :** Allongé sub-cylindrique est composé de neuf segments individualisés dont le 8^{ème} possède un intérêt majeur en taxonomie.

L'abdomen se termine en général par deux structures importantes : le peigne, situé sur la face latérale et qui est constitué par un ensemble d'épines, et le siphon respiratoire qui comporte un certain nombre de critères taxonomiques, tels que le crochet subapical, le peigne siphonique ventral et les soies siphoniques. La selle portée par le segment anal sur sa face dorsale est une partie lisse ou chitinisée spiculeuse, sur laquelle s'insère la soie latérale, nous y trouvons aussi les soies de la brosse ventrale et les soies caudales.

C. La nymphe :

Les pupes des Culicidae, qui ont une forme de virgule sont suspendues juste sous la surface de l'eau et nagent activement lorsqu'elles sont dérangées.

La nymphe comprend trois parties (Hassein, 2002) (fig.3).

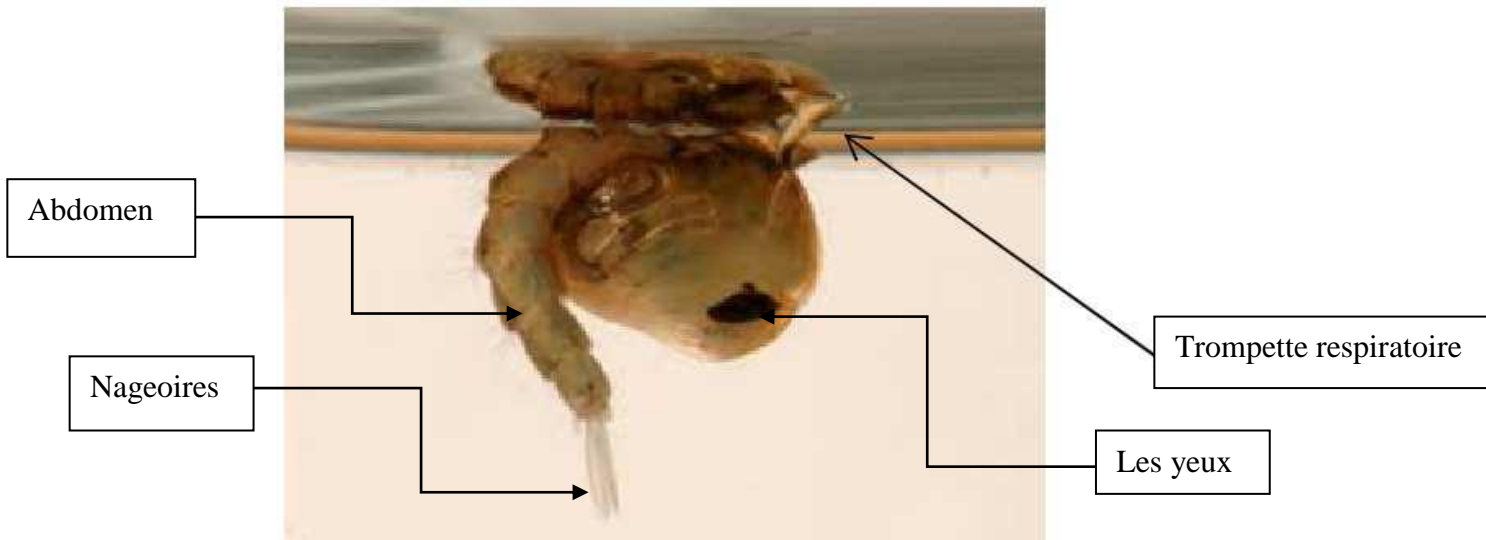


fig. 3 : Photographie d'une Nymphe (Vacus, 2012)

- 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.

D. L'adulte :

Les adultes des Culicidés sont de petits insectes au corps élancé. Le corps se compose de : la tête, le thorax et l'abdomen. Le corps et les pattes ont une coloration variant de brun pâle à noire, parfois marquée de taches et de bandes (fig. 4).

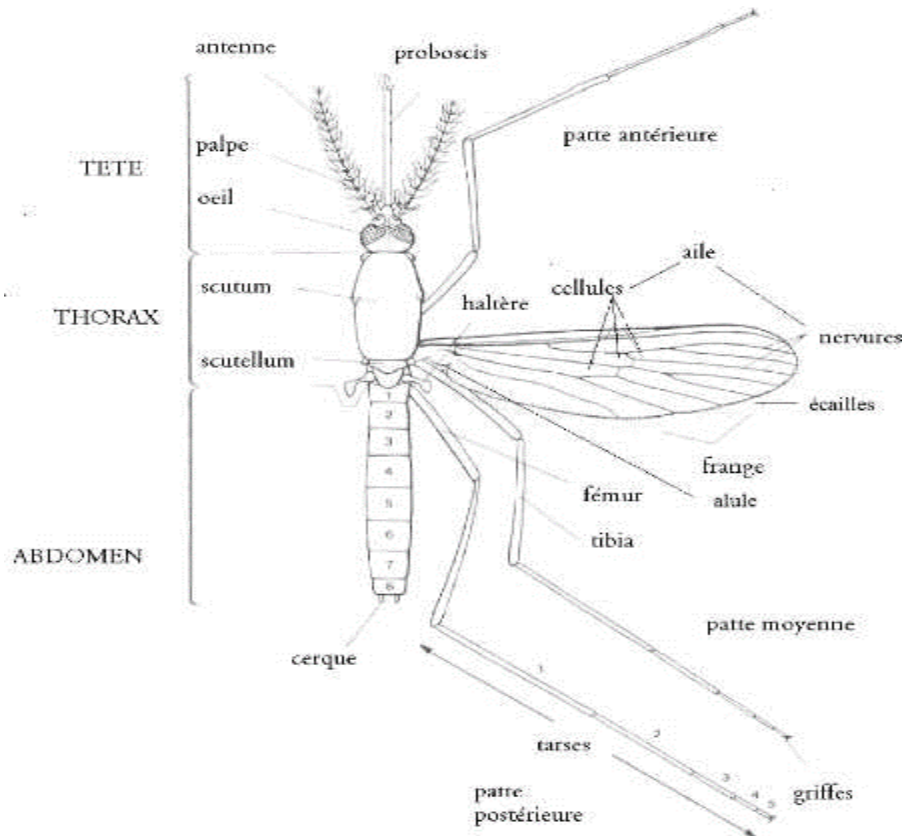


fig. 4 : Morphologie générale de culicidé adulte (Lane et Cross Key, 1993).

I.4. Cycle de vie :

La vie des moustiques passe par deux phases :

- Une phase aquatique (pré-imaginale) : période de croissance par mues (de l'œuf à la nymphe passant par quatre stades larvaires). Cette phase se déroule en 5 à 90 jours en fonction des conditions environnementales (température, présence de nourriture, ...).
- Une phase aérienne (imaginale) : période de reproduction sans croissance (imago). La phase aérienne dure de 2 à 3 semaines pour les mâles et d'un mois à 6 mois pour les femelles hivernantes. Sa durée dépend des conditions environnementales et de l'espèce (fig.5).

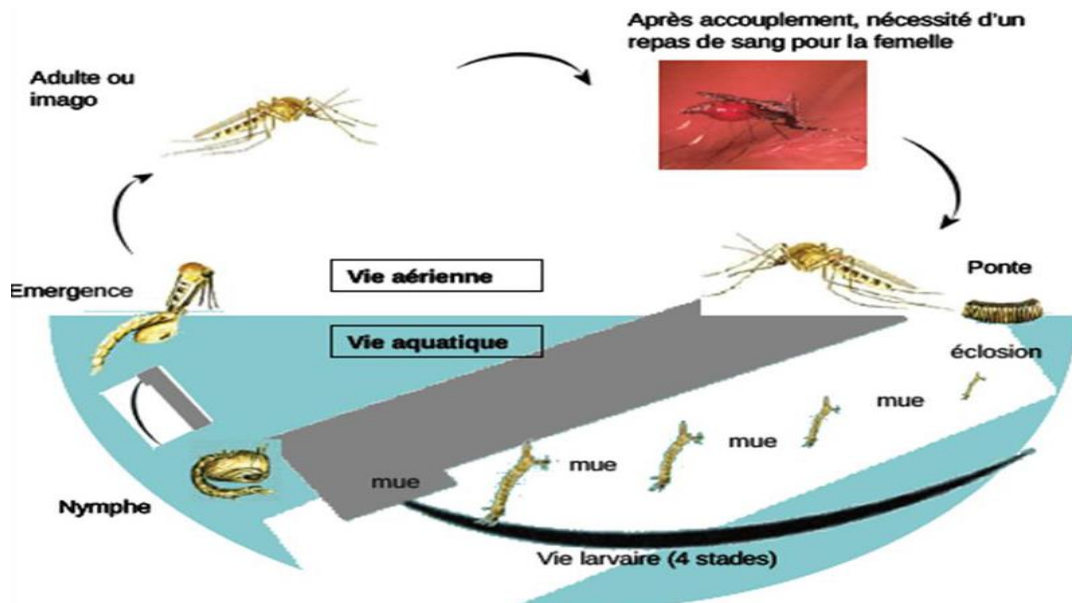


fig. 5 : Cycle de vie des Culicidés (Margot, 2010).

a) Accouplement :

L'accouplement des moustiques a lieu en vol ou dans la végétation. Les femelles gardent le sperme du mâle dans leur spermathèque, une petite poche située dans l'appareil génital. Une fois fécondées, elles partent en quête d'un repas de sang. Après avoir absorbé du sang, les femelles se posent dans un endroit abrité pour digérer leur repas (Delaunay et al, 2001).

Après maturation des œufs, les femelles partent à la recherche d'un endroit favorable pour pondre.

b) Ponte :

Selon (Balenghien, 2007), les œufs peuvent être déposés sur de la vase ou autre support humide, susceptible d'être submergé. Par la suite, ils éclosent de manière synchrone suite à leur mise en eau

(Cas chez les *Aedes*), ou directement à la surface de l'eau (cas des autres genres de moustiques : *Anopheles*, *Culex*, *Culiseta*). Le nombre d'œufs par ponte varie en fonction des espèces et de la quantité de sang absorbée.

c) Développement larvaire et nymphose :

L'éclosion des œufs libère dans le gîte des larves. Après quatre mues et ayant atteint leurs développements maximaux, les larves cessent de s'alimenter et se transforment en nymphes. La durée de ce stade varie de 3 jours à plusieurs mois pour les espèces dont la larve est le stade hivernant ; certaines larves survivent dans des eaux gelées, figées dans la glace (Balenghien, 2007 ; Guillermet, 2013).

d) Mue imaginale :

Les nymphes donnent naissance à des imagos après quelques jours (1 à 2 jours dans les conditions optimales). Les formes adultes (imagos) émergent à l'air libre en fendant l'enveloppe nymphale (exuvie) qui, leur sert de flotteur pour déplier leurs ailes avant de s'envoler.

e) Stade adulte :

Les adultes, dès leur émergence, passent 1-5 jour au repos. Durant cette période, les genitalia des mâles effectuent une rotation de 180°. Les abris utilisés sont divers : trous d'arbres, terriers d'animaux, feuillage, végétation, toiles d'araignées, etc. Suivant les espèces, l'accouplement peut avoir lieu pendant cette période ou plus tard (lors du premier repas sanguin des femelles) (Boulkenafet, 2006).

Eucalyptus camaldulensis**I.2.1. Description de la plante :**

Le genre *Eucalyptus* est originaire de Tasmanie en Australie. Son nom a pour origine les mots grecs : « Eu » est un préfixe d'origine grecque et signifiant «bien» et « kaluptos » veut dire «couvert», donc le nom générique signifie bien couvert car les pétales et sépales sont soudés. Il fut décrit et baptisé en 1788 par le botaniste français L'Heritier. Plusieurs espèces d'*Eucalyptus* avaient reçu des noms entre 1800-1890 par des savants botanistes (Bigendako, 2004).

Le nombre d'espèces d'*Eucalyptus* introduites dans différents pays est supérieur à 150, moins d'une trentaine sont exploitées de façon significative en plantation et quatre espèces (*E.camaldulensis*, *E. globulus*, *E. tereticornis* et *E. grandis*) occupaient, à la fin des années quatre-vingts, plus de la moitié des surfaces plantées (Eldridge et al, 1993).

Son introduction en Algérie fut par les français en 1860. L'espèce pionnière semble être l'*E.camaldulensis*, mais d'autres espèces furent introduites dans des placettes d'essais notamment à Reghaia, Bouchaoui et El-Alia dans la région d'Alger. Cette zone d'introduction a été tellement favorable qu'on a assisté à des croisements naturels qui ont donnés des hybrides dont l'*Eucalyptus* «Algériensis». Dans ce cadre pas moins de 130 espèces ont été plantés sur le territoire national. Pendant les années 60 à 70, les reboisements à base d'*Eucalyptus* ont concernés notamment l'Est (El-Kala, Annaba, Skikda), le centre (Tizi-uzou, Bâinem) et l'Ouest (Mostaganem) et ceci afin de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et papetiers (Inrf, 1996).

I.2.2. Position systématique :

La classification systématique de l'espèce *Eucalyptus camaldulensis* est la suivante (Arar et Houari, 2008).

| | |
|--------------------|------------------------------------------------|
| Règne | Plantae |
| Embranchement | Spermatophytes |
| Sous-embranchement | Angiospermes |
| Classe | Dicotylédones |
| Ordre | Myrtales |
| Famille | Myrtacées |
| Genre | Eucalyptus |
| Espèce | <i>Eucalyptus camaldulensis</i> (Dehnh, 1832). |

I.2.3. La répartition géographique :

Eucalyptus camaldulensis est une espèce d'arbre du genre *Eucalyptus* que l'on trouve dans de nombreuses parties du monde mais qui est originaire d'Australie ou il est largement répandu au bord des rivières de l'intérieur du pays (fig. 6). Il est aussi surnommé le gommier rouge en référence à son bois d'un rouge brillant, qui peut aller d'un rose pâle à un rouge très foncé. Le nom d'*Eucalyptus camaldulensis* est : Eucalyptus à bec, Eucalyptus des Camaldules ou gommier rouge (Kebir, 2018).

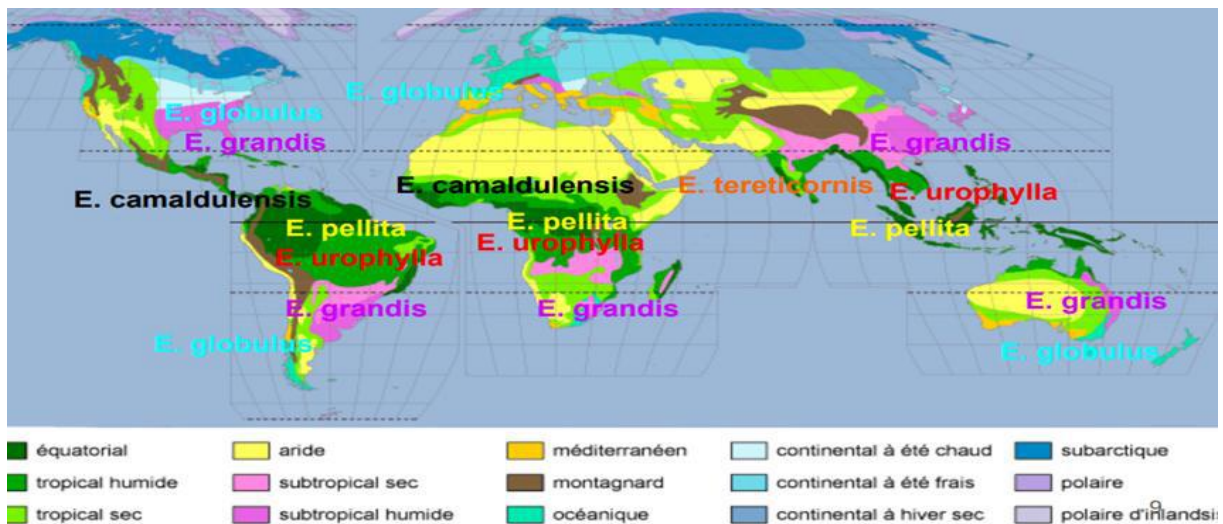


fig. 6 : Répartition d'*Eucalyptus camaldulensis* dans le monde (Bouvet, 2003).

I.2.3. Description botanique de la plante :

- Arbre

L'*Eucalyptus camaldulensis* est un arbre forestier à houppier très développé de forme conique jusqu'à 15 à 20 ans, elle est érigée plus tard. C'est un arbre de hauteur qui varie de 25 à 35 mètres et un diamètre qui varie de 0,9 à 2,50 mètres (Meziane, 1996).

- Tronc et écorce

Le tronc d'*Eucalyptus camaldulensis* est le plus souvent droit et élancé, parfois tortueux, exsudant fréquemment une gomme résineuse rouge, et blanche grisâtre en haut et l'écorce est couleur et de texture variable selon les espèces. Souvent elle présente plusieurs couleurs, comme un platane et se détache en lambeaux qui tombent au Sol, mais l'écorce peut être aussi dure, fibreuse, floconneuse et lisse (Mekellech, 2015).

- Feuilles

Les jeunes feuilles sont opposées sur trois ou quatre, avec d'autres alternées. Elles ont un pétiole, sont lancéolées et mesurent de 2 à 4 cm. Légèrement glauques, les feuilles adultes sont pétiolées et alternées, la couleur verte est identique pour les deux faces.

Elles sont Lancéolées, étroites et falciformes), et sont longues de 8 à 30 cm, et larges de 0,7 à 4,2 cm de couleur verte ou gris-vert (Arnold et Luo, 2018).

- Fleur

Les fleurs ont l'allure de petites boules, qui ont de très nombreuses étamines blanchâtres et donnent naissance à des capsules hémisphériques Inflorescence en ombelle simple, avec des fleurs régulières par 4 à 7, en ombelles axillaires (Rameau et al, 2008)

- Fruits

Le fruit ligneux est une grosse capsule glauque prenant une teinte marron à maturité.

Elle est dure, anguleuse, verruqueuse, et s'ouvrant légèrement par trois, quatre ou cinq fentes (Qui dessinent une étoile à son sommet) pour libérer de nombreuses graines sombres et minuscules (Goets et Ghedira , 2012).

I.2.3. Utilisation médicinale et traditionnelle :

Espèce aromatique et médicinale, les feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*, sont parfumées, riches en huile essentielle, antibactériennes, antifongiques, expectorantes, fébrifuges et légèrement sédatives. Les feuilles sont recommandées en cas de rhumes, de sinusites, de

maux de gorge, d'angines, de toux, de bronchites, d'infections urinaires ou de fièvres (Kebir, 2018 in Koreichi et Benletreche, 2019).

La gomme de cette plante bouillie avec de l'eau et du sucre, devenue une boisson Liquide, est utilisée pour traiter les affections pulmonaires, comme une anesthésie générale et pour les maux de dents. Une infusion de l'écorce, est utilisée pour le lavage pour certains yeux, l'ophtalmie, et est efficace dans le traitement de la diarrhée (Boily et Vapuyvelde, 1986).

I.3.Généralités sur les huiles essentielles

I.3.1. Définition des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des mélanges de composés aromatiques des plantes, qui sont extraites par distillation par la vapeur ou des solvants (Smallfield, 2001). Pour la 8^{ème} édition de la pharmacopée française (1965), les huiles essentielles (= essences = huiles volatiles) sont : « des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenu dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. » (Bruneton, 1993).

I.3.2. Localisation ou répartition des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont très répandues dans le règne végétal, on les rencontre surtout dans les phanérogames, mais quelques cryptogames en renferment également. Dans la plupart des cas, les essences se trouvent toutes formés dans les différents organes, elles sont alors localisées soit dans les glandes des poils sécréteurs, soit dans des réservoirs intracellulaires ayant la forme des canaux (Huard, 1999). Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux feuilles, fleurs, écorces, bois, racines, des rhizomes, fruits et des graines. La synthèse et l'accumulation sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules à l'huile essentielles des Lauraceae ou des Zingiberaceae, poils sécréteurs des Lamiacées, poches sécrétrices des Myrtaceae ou des Rutaceae (Bruneton, 1993). Toutes les parties des plantes aromatiques peuvent contenir de l'huile essentielle.

I.3.3. Propriétés des huiles essentielles :

Nombreux sont les facteurs susceptibles de modifier les essences natives de la plantes qui sont des substances très altérables, elles renferment en effet presque toutes des terpènes et des aldéhydes etc.... Corps souvent oxydables sous l'action de l'air et de la lumière. Ils se résinifient et modifient alors profondément le parfum des essences, leur saveur ainsi que leurs constantes physiques et chimiques, en les rendant par fois inutilisables. Ceux-ci ont induit un

besoin normalisation (Nazli, 2003). Les normes AFNOR (2000), sont en nombre de douze qui concernent principalement :

- Les propriétés organoleptiques : couleur, aspect et odeur ;
- Les caractéristiques physiques : densité, pouvoir rotatoire indice de réfraction, point de congélation et la solubilité dans l'éthanol ;
- Les caractéristiques chimiques : indices d'acide et d'ester ;
- Le profil chromatographique et la quantification relative des différents Constituants (Nazli, 2003).

I.3.4. Utilisations des huiles essentielles :

➤ En pharmacie

Il y a sept huiles essentielles inscrites dans la pharmacopée européenne ce sont : les huiles essentielles : d'anis, d'eucalyptus, de clou de girofle, de fleur d'oranger amer, de lavande, de menthe poivrée et de thym. Les propriétés pharmacologiques des huiles essentielles leurs confèrent une utilisation médicale qui se reflète dans :

- Pouvoir antiseptique :

Contre des bactéries variées ainsi que des champignons et levures. Citons les huiles essentielles de thym, girofle, lavande, eucalyptus. Le thymol, constituant principal de l'huile essentielle de thym, est 20 fois plus antiseptique que le phénol (Bruneton, 1993).

- Propriétés spasmolytiques et sédatives :

Certaines drogues à huiles essentielles (menthe, verveine) sont réputées efficaces pour diminuer les spasmes gastro-intestinaux. L'amélioration de certaines insomnies et de troubles psychosomatiques divers est également notée (Bruneton, 1993).

- Propriétés irritantes :

De nombreuses crèmes, pommades à base d'huiles essentielles, sont destinées à soulager entorses, courbatures ou claquages musculaires. En effet, par voie externe certaines huiles essentielles (ex : oléorésine dans la térébenthine) augmentent la microcirculation, induisent une sensation de chaleur et dans certains cas une légère anesthésie locale (Bruneton, 1993). Ces huiles essentielles constituent également le support de l'aromathérapie, traitement des maladies par des essences de plantes.

- ##### ➤ En parfumerie et cosmétologie :

Les huiles essentielles, matières premières par excellence des parfumeurs, sont classées en fonction de leurs odeurs. Ainsi les huiles essentielles de citron, de bergamote ou encore de lavande constitueront la note la plus éphémère, dite note de tête. Des essences fleuries comme celles de rose ou de néroli participeront à l'élaboration de la note de cœur. Enfin, la note de fond, la plus durable des trois, comportera plutôt des essences boisées ou épicées comme le santal ou la cannelle (Deschepper, 2017).

➤ En industries agro-alimentaires :

Certaines drogues sont utilisées en nature (épices et aromates), d'autres sous forme d'huiles essentielles ou de résinoïdes dispersés, encapsulés ou complexés. Si la réfrigération et d'autres moyens de conservation se sont substitués aux épices pour assurer la conservation des aliments, le développement de nouvelles pratiques culinaires (plats préparés, surgelés), le goût pour l'exotisme et les qualités gustatives, conduisent à une rapide augmentation de la consommation de ce type de produits. On note leur intégration dans : les boissons non alcooliques, les confiseries, les produits laitiers ou carnés, les soupes, les sauces, les snacks, les boulangeries, ainsi que la nutrition animale (Bruneton, 1993).

I. 3.5. Méthode d'extraction des huiles essentielles :

- **Extraction par Hydro-distillation :**

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce faite-là plus anciennement utilisée (fig.7). Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat (Piochon, 2008).

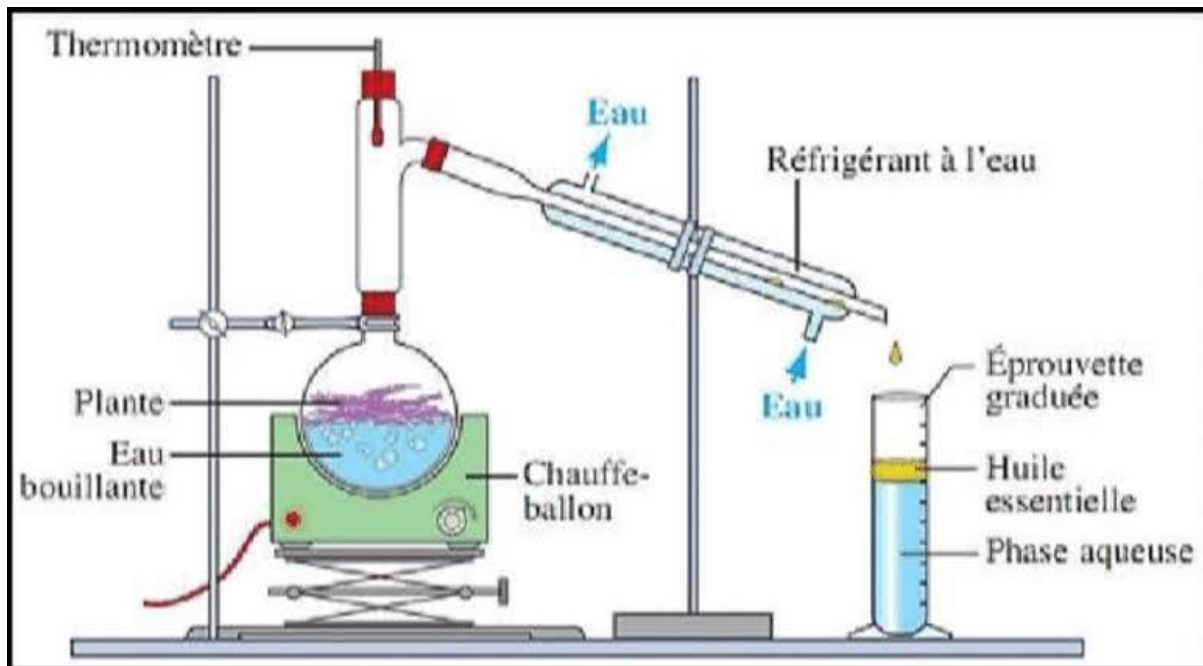


fig. 7 : Montage d'extraction par hydro distillation (Mehani, 2015).

I. 3.6. Critères de qualité des huiles essentielles :

L'obtention d'une huile essentielle de qualité thérapeutique se révèle être un processus particulièrement délicat car cette huile essentielle doit impérativement répondre à de nombreux critères de qualité (Tolba, 2017) comme :

- La certification botanique.
- L'origine géographique.
- Le mode de culture et de récolte.
- Le stade de développement.
- L'organe distillé ou exprimé.
- Le mode d'extraction.
- La spécialité biochimique ou chémotype

I. 3.7. Toxicité d'huile essentielle :

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise. Les huiles essentielles semblent n'être toxiques par ingestion que si celle-ci est faite en de grandes quantités et en dehors du cadre classique d'utilisation. Les huiles ne seront toxiques par contact que si des concentrations importantes sont appliquées (Merzougui et Tadj, 2012)

Chapitre II
Matériel et
Méthodes

II. 1 Etude des larves *Aedes flavescens* :

II. 1.1. L'échantillonnage sur terrain :

A. Situation géographique des gites des études :

L'échantillonnage des larves des moustiques s'est effectué sur une seule station (Oued Zeramna) (fig.8) au niveau de la Wilaya de Skikda près de la cité de 20 août, c'est un gîte naturel et caractériser par une abondance larvaire.



fig. 8 : Situation du gite d'échantillonnage, (Google maps, 2023).

B. La récolte des larves :

L'échantillonnage des larves se fait en utilisant la méthode de coup de louche ou dipping (Messai et al, 2010), sous une température moyenne de 20 C°. La récolte s'est faite en plusieurs prises à la surface du gite (fig.9) et à proximité de sa bordure où les larves se retrouvent très abondantes autour d'une végétation. Les échantillons réalisés sont mises dans un seau contenant l'eau, en utilisant le matériel suivant : gants, bouteilles, bavettes, tasses, pendant quatre jours, puis transmis dans des bouteilles en plastique, non fermé hermétiquement, installés à l'ombre, jusqu'à ce que les échantillons soient ramenés au laboratoire.



fig. 9 : Gite d'échantillonnage (photo originale).

II. 1.2. Travail au laboratoire :

II. 1.2.1. Montage et Identification des larves :

Le montage se fait entre lame et lamelle dans une goutte du baume du Canada 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(fig.10).. Pour la détermination, nous avons utilisé le logiciel d'identification des moustiques de l'Afrique méditerranéenne (Brhunes et al, 1999)

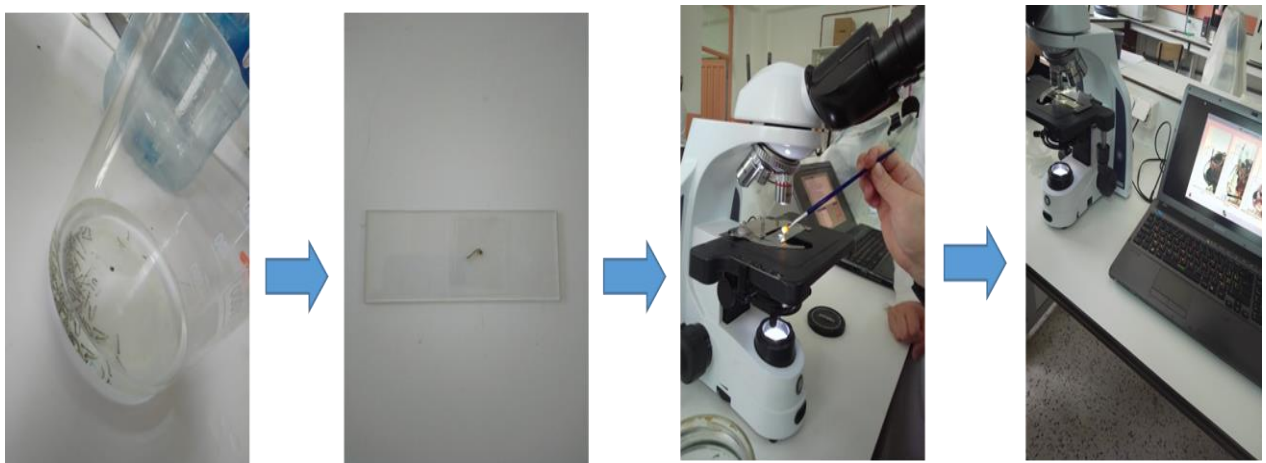


fig. 10 : Technique de préparation et montage des larves (photo originale).

II.2. Etude de la plante :

2.1. La récolte de la plante :

Les parties aériennes (les feuilles) de la plante *E. camaldulensis* (fig.11) est récoltées en mai 2023 dans la région de (Oued Elksab) commune de FIL-FILA au niveau de la wilaya de Skikda à l'aide de ciseaux, elles sont ensuite placées dans un sac en papier et transporter au laboratoire.

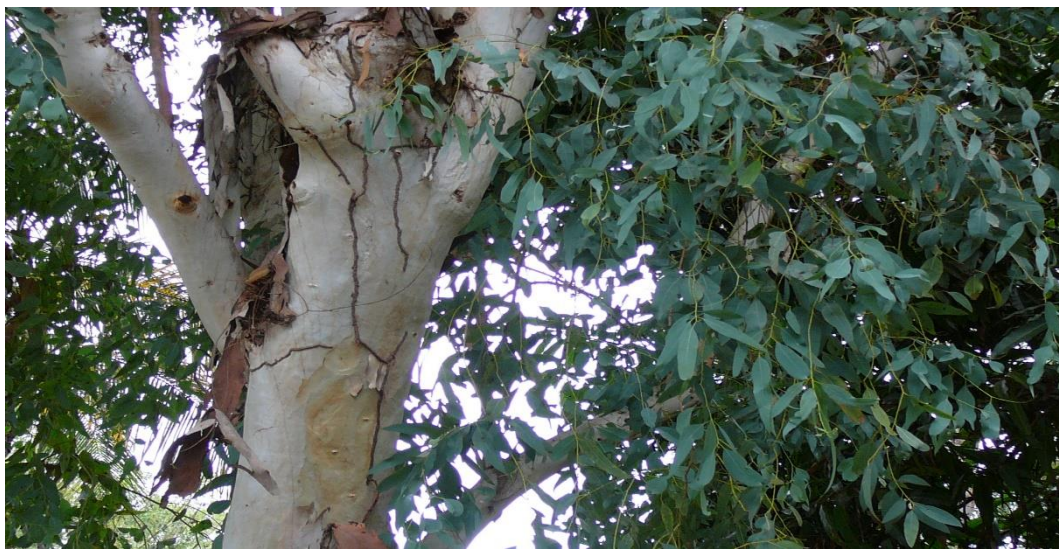


fig. 11 : L'arbre de *Eucalyptus camaldulensis* (photo originale).

2.2. Travail au laboratoire :

2.2.1. Extraction et rendement des huiles essentielles par hydrodistillation :

L'extraction des HE de la matière végétale sèche d'ensemble des parties aériennes d'*E. camaldulensis* a été réalisée au laboratoire du département des sciences biologiques à l'université de Skikda par la méthode d'hydro distillation dans un appareil de type Clevenger (fig.12).



fig. 12 : Montage de l'hydro-distillation de type Clevenger (photo originale).

➤ Mode opératoire et appareillage :

Pour l'adoption des huiles principales (bases) de cette plante *E.camaldulensis* nécessite l'utilisation d'un appareil Clevenger. Au cours de l'extraction, 80 g de la matière végétale sèche (*Eucalyptus camaldulensis*) avec 800 ml d'eau, le tous introduit dans un ballon de surmonté d'une colonne reliée à un réfrigérant à son tour relié à une conduite d'eau froide pour permettre la condensation des vapeurs, les vapeurs d'eau chargées d'huile essentielle On raccorde l'appareil et laisser le tout bouillir pendant 3 heures on utilisant le brûleur de ballon pendant l'admission de la vapeur chargées d'HE ,traversent le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter , les huiles essentielles recueillies par séparation et filtration à la fin de la distillation, Le mélange précédent est séparé en deux phase miscibles une phase aqueuse, en générale plus dense, se situe dans la partie inférieure et une phase organique de densité plus faible et contenant le HE se situe au-dessus. Le volume et la masse de l'huile essentielle obtenue ont été mesurés. L'huile est transvasée dans un flacon en verre fumé et conservée dans un réfrigérateur (fig.13).



fig. 13 : Les étapes de la production de l'HES.

➤ Détermination du rendement en huile essentielle :

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter (sèche).

Le rendement est exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

R (%) : Rendement en huile essentielle

Masse (HE) : masse de l'huile essentielle

Masse (MVS) : masse du matériel végétal sec (AFNOR, 1986).

$$R (\%) = \frac{\text{Masse de l'HE}}{\text{Masse (MVS)}} \times 100$$

2.2.2. L'extraction par Soxhlet :

L'extraction des plantes est réalisée à l'aide d'un soxhlet avec du éthanol comme solvant.

Ainsi 40 g de chaque échantillon ont été placés dans une cartouche qui sera ensuite insérée au centre d'extracteur (extracteur à 3 sorties) chauffé à 60°C (fig.14). L'extrait brut en première étape est réalisé à chaud sous reflux par 400 ml de Éthanol et 100 ml de l'eau distillée pendant 03 heures. Lorsque le solvant atteint le degré d'ébullition, la vapeur monte à travers un circuit d'évaporation, se condense au niveau du condensateur et après son contact direct avec le réfrigérant, il retombe sur l'extracteur faisant macérer l'échantillon dans le solvant. Ce dernier s'enrichit progressivement de composé soluble.



fig. 14 : Dispositif d'extraction par soxhlet (photo originale).

Enfin, les mélanges obtenus sont placés dans un évaporateur rotatif (rota vapeur) (fig.15) pour donner finalement des concentrés pâteux très réduits afin de récupérer l'extrait qui va être placée dans une étuve à 40°C pendant quelque jour pour éliminer le solvant et sécher l'extrait.



fig. 15 : Un évaporateur rotatif (photo originale).

- Finalement la quantité d'extrait obtenu est pesée sur une balance de précision pour calcul le rendement. Il exprime en pourcentage par la formule suivante :

M' : la masse d'extrait sec obtenue après l'extraction.

M : la masse de la matière végétale utilisée

$$R\% = \frac{M'}{M} \times 100$$

II. 3. Test de toxicité :

A. par l'huile essentielle :

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 normalisés par l'organisation mondiale de la santé (OMS).

Pour traiter les larves *A. flavescens* par l'huile essentielle d'*E.camaldulensis*, on a suivi les étapes :

- Préparation de 6 lots avec un témoin chaque lot contient 3 gobelets Contenant 20 larves des stades (L3 et L4). Ajoutant 100 ml de l'eau distillée.
- Utilisation de quatre concentrations (25 ppm, 50ppm, 75ppm, 100ppm) de l'huile essentielle avec (2 µl) de tween 20 (pour assurer la solubilité de l'huile dans l'eau) dans de chaque Répétition.
- Le lot control négatif (C-) est constitué de l'eau distillée, alors que le control positif (C+) est constitué de tween 20.
- Observation de nombre mortalité est ensuite noté après 24h, 48h, 72h d'exposition (fig.16).

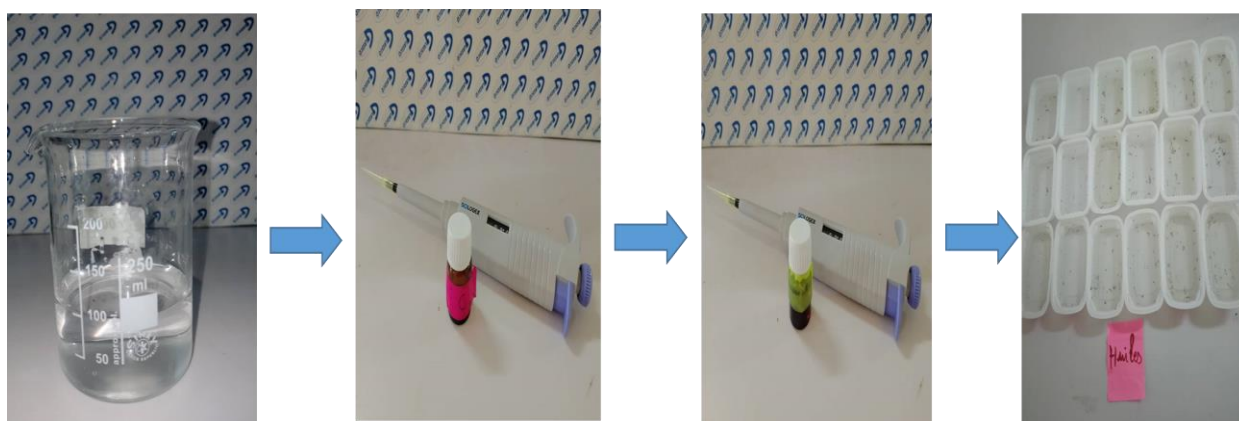


fig. 16 : Traitement des larves de moustiques par l'huile essentielle (photo originale).

B. par l'extrait aqueux :

- Préparation de 6 lots avec un témoin chaque lot contient 3 gobelets

- Contenant 20 larves des stades (L3 et L4).
- Utilisation de quatre concentrations (40mg/l, 60 mg/l, 80mg /l, 100 mg/l) dans de chaque répétition.
- Le lot control négatif (C-) est constitué de l'eau distillée, alors que le control positif (C+) est constitué de l'éthanol.
- observation de mortalité est ensuite noté après 24h, 48h, 72h d'exposition (fig.17).

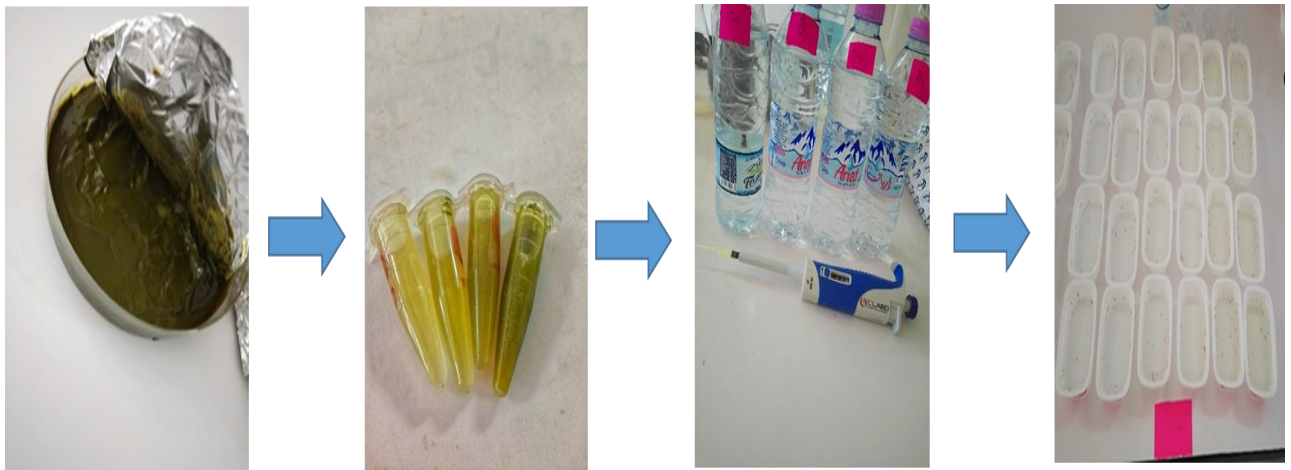


fig. 17 : Traitement des larves de moustiques par l'extrait Ethanolique (photo originale).

II.4 Analyse statistique :

L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel GraphPad Prism 8 .0.1 . Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne \pm l'écart-type (SD). L'analyse de la variance à un et deux critères de classification, ont été utilisés.

Chapitre III
Résultats et
discussion

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1 Résultats :

III.1.1 Résultats d'identification des larves :

L'identification des larves récoltées au niveau du gîte, on trouve un seule genre appartenant le genre *Aedes* représenté *Aedes flavescens* (fig. 18).



A : Abdomen : forme de la selle incomplète



B : Tête : suture hypostomale complète ou nettement marquée



C : Abdomen : Taille et forme des papilles anales égale ou supérieur à la longueur de la selle

fig. 18 : critères d'identification d'*Aedes flavescens*.

III.1.2 Rendement et caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles d'*E. Camendulensis* :

- Le rendement des huiles essentielles d'*E.camaldulensis* est égal à (0,75%).
- HE d'*E. camendulensis* se caractérise par un aspect visqueux, couleur jaune avec une forte odeur (fig.19).



fig. 19 : Aspects des huiles essentielles (photo originale).

III.1.3 Rendement des extraits aqueux d'*E. Camendulensis* :

- le rendement de l'extrais éthanolique d'*E. camaldulensis* est égal à 11.7%.

III.1.4 Résultats des tests de toxicité larvaire :

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité des insecticides évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles. Différente Concentration d'huile essentielle (25ppm ,50ppm, 75ppm ,100ppm) et l'extrait aqueux (40 mg/l, 60 mg/l, 80 mg/l, 100 mg/l) sont appliqués sur des larves du troisième et quatrième stade d'*Aedes flavescens* pendant (24, 48,72) heures (Tab 1). Le pourcentage de mortalités larvaires est représentée dans le tableau (Tab 1) selon la formule suivant :

$$\text{Pourcentage de mortalité}\% = \frac{\text{Nombre des larves mortes}}{\text{Nombre des larves introduit}} \times 100$$

Tab1 : pourcentages de mortalités larvaires.

| | | | | 24H | | | | 48H | | | | 72H | | | |
|------------------------|----|-----------|----------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|--------|---------|
| | | Control - | control+ | 25ppm | 50ppm | 75ppm | 100ppm | 25ppm | 50ppm | 75ppm | 100ppm | 25ppm | 50ppm | 75ppm | 100ppm |
| L'huile essentielle | R1 | 5 | 0 | 50 | 55 | 75 | 90 | 75 | 65 | 85 | 95 | 80 | 80 | 95 | 100 |
| | R2 | 0 | 10 | 40 | 45 | 100 | 95 | 75 | 85 | 100 | 100 | 75 | 85 | 100 | 100 |
| | R3 | 5 | 5 | 75 | 80 | 95 | 85 | 90 | 90 | 95 | 95 | 95 | 95 | 95 | 100 |
| | | C | C+ | 40mg/l | 60mg/l | 80mg/l | 100mg/l | 40mg/l | 60mg/l | 80mg/l | 100mg/l | 40mg/l | 60mg/l | 80mg/l | 100mg/l |
| L'extrais aqueux | R1 | 25 | 10 | 10 | 10 | 10 | 15 | 20 | 15 | 25 | 25 | 35 | 40 | 50 | 55 |
| | R2 | 25 | 10 | 10 | 10 | 10 | 15 | 10 | 15 | 20 | 10 | 15 | 20 | 25 | 25 |
| | R3 | 0 | 10 | 0 | 0 | 10 | 10 | 10 | 10 | 15 | 20 | 15 | 15 | 15 | 35 |

- Les larves traitées par huiles essentielles d'*eucalyptus camaldulensis* montrent un taux de mortalités élevés. On observe le pourcentage de mortalités le plus grand (la mort de 100% des larves) dans la plus forte concentration (100ppm) après 72h d'expositions.
- Les larves traitées par l'extrait éthanolique d'*eucalyptus camaldulensis* montrent un taux de mortalités faible par rapport aux huiles essentielles. On observe le pourcentage de mortalités le plus élevé dans la plus forte concentration 100mg/l (après 72h d'expositions).

III.1.4.1 Etude de la toxicité de L'huile essentielle :

Tab2 : Représente le pourcentage de mortalité corrigé de l'huile essentielle dans les 3 répétitions en fonction des 4 concentrations utilisées à savoir (25ppm, 50ppm, 75ppm, 100ppm)

| | 25PPM | 50PPM | 75PPM | 100PPM |
|------------|-------|-------|-------|--------|
| R1 | 0 | 55 | 75 | 90 |
| R2 | 33,33 | 38,88 | 100 | 94,44 |
| R3 | 73,68 | 78,94 | 94,73 | 84,21 |
| LA MOYENNE | 35,67 | 57,61 | 89,91 | 89,55 |
| R1 | 75 | 65 | 85 | 95 |
| R2 | 72,22 | 83,33 | 100 | 100 |
| R3 | 89,47 | 89,47 | 94,73 | 94,73 |
| LA MOYENNE | 78,90 | 79,27 | 93,24 | 96,58 |
| R1 | 75 | 65 | 85 | 95 |
| R2 | 72,22 | 83,33 | 100 | 100 |
| R3 | 89,47 | 89,47 | 94,73 | 94,73 |
| LA MOYENNE | 82,32 | 86,02 | 96,58 | 100,0 |

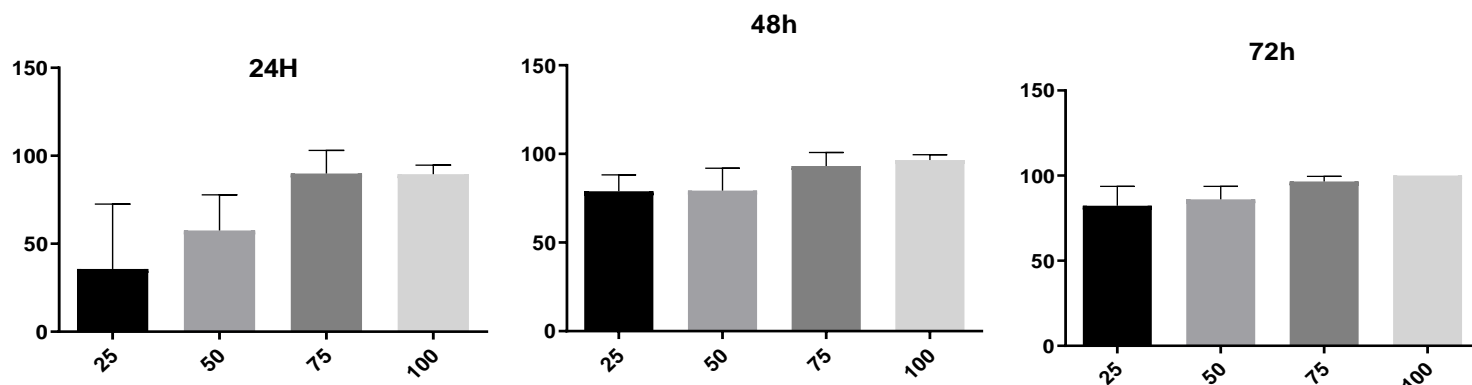


fig.20 : Mortalité des larves d'*Aedes flavescens* corrigés en fonction de la concentration d'*Eucalyptus camaldulensis* après (24h, 48h, 72h).

Le graphique suivant représente les variations de taux de mortalités en fonctions des concentrations utilisées par l'HE d'*E.camaldulensis* sur l'espèce *A.flavescens* après 3jours successifs. On observe qu'il existe une relation directe entre les concentrations utilisées et le pourcentage de mortalités, quand la concentration est plus élevée, la mortalité des larves est augmentée.

III.1.4 Etude de la toxicité de L'extrait éthanolique :

Tab3 : Représente le pourcentage de mortalité corrigier de L'extrait éthanolique dans les 3 répétitions en fonction des 4 concentrations utilisées à savoir (40mg/l, 60mg/l, 80mg/l, 100mg/l) après (24h, 48h, 72h) d'expositions.

| | 40MG/L | 60MG/L | 80MG/L | 100MG/L |
|---------|--------|--------|--------|---------|
| R1 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| R2 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| R3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| MOYENNE | 0 | 0 | 0 | 3,333 |
| R1 | 11.11 | 5.55 | 16.66 | 16.66 |
| R2 | 0 | 5.55 | 11.11 | 0 |
| R3 | 0 | 0 | 5.55 | 11.11 |
| MOYENNE | 3,703 | 3,7 | 11,11 | 12,96 |
| R1 | 27.77 | 33.33 | 44.44 | 50 |
| R2 | 5.55 | 11.11 | 16.66 | 16.66 |
| R3 | 5.55 | 5,55 | 5,55 | 27,77 |
| MOYENNE | 12,96 | 16,66 | 22,22 | 31,48 |

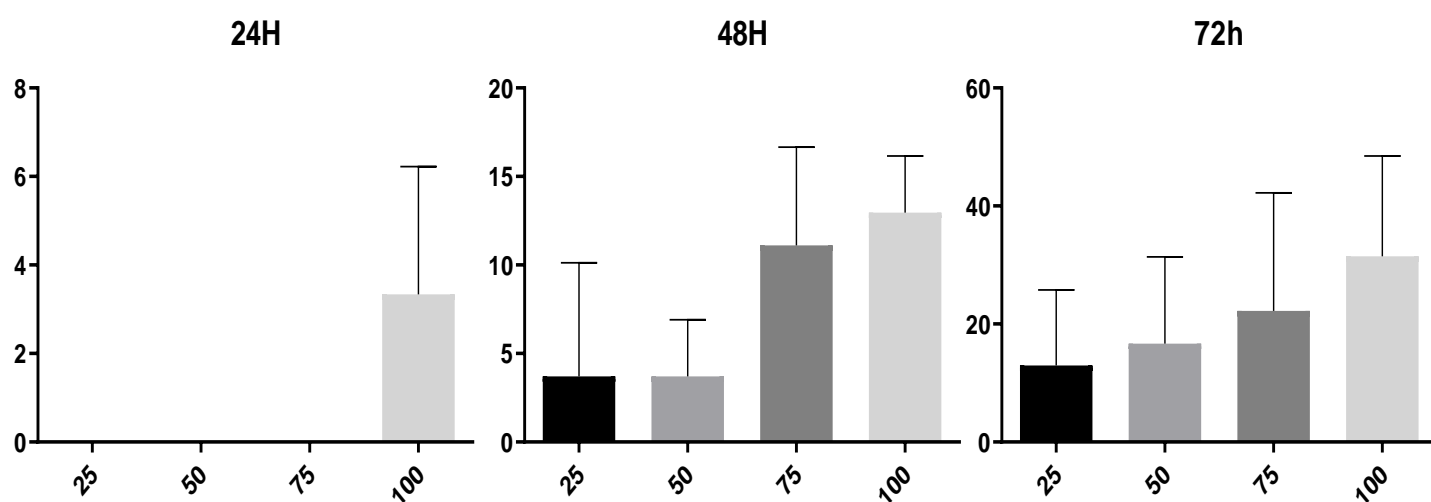


fig. 21 : Mortalité des larves d'*Aedes flavescens* observée en fonction de la concentration d'*Euclyptus camaldulensis* après (24h, 48h, 72h).

Le graphique suivant représente les variations de taux de mortalités en fonctions des concentrations utilisées par l'extrait d'*E. camaldulensis* sur l'espèce *A. flavescens* après 3 jours successifs. On observe qu'il existe une relation directe entre les concentrations utilisées et le pourcentage de mortalités, quand la concentration augmente, la mortalité des larves augmente.

III. 1.4.3 Analyse de la variance de deux biocides (ANOVA) :

Les tableaux suivants représentent l'analyse de la variance des mortalités larvaires du *A. flavescens* en fonction d'extrait et de l'huile essentielle d'*E. Camaldulensis*, avec les différentes concentrations appliquées après (24h, 48h, 72 h) d'exposition.

III. 1.5 Etude de la toxicité de l'huile essentiel *D'E.camaldulensis* :

Tab4 : Analyse de variance de la toxicité d'*Eucalyptus camaldulensis* après 24h

| ANOVA table | SS | DF | MS | F (DFn, DFd) | P value | observation |
|-----------------------------------|-------|----|-------|------------------------|----------|-------------|
| Treatment (between columns) | 6293 | 3 | 2098 | F (3, 8) = 4,264 | P=0,0448 | * |
| Residual (within columns) | 3935 | 8 | 491,9 | | | |
| Total | 10228 | 11 | | | | |

L'étude d'analyse de la variance de différentes concentrations, montre qu'il y a une différence significative ($P=0,0448$) dans les mortalités des larves traitées par *Eucalyptus camaldulensis* après 24h d'exposition.

Tab5 : Analyse de variance de la toxicité d'*Eucalyptus camaldulensis* après 48h.

| ANOVA table | SS | DF | MS | F (DFn, DFd) | P value | observation |
|-----------------------------|-------|----|-------|------------------|----------|-------------|
| Treatment (between columns) | 768,5 | 3 | 256,2 | F (3, 8) = 3,257 | P=0,0807 | ns |
| Residual (within columns) | 629,1 | 8 | 78,64 | | | |
| Total | 1398 | 11 | | | | |

L'étude d'analyse de la variance (Tab5) des différents concentrations, montre que il n'y a pas une différence significative (P=0,0807) dans les mortalités des larves traité avec *Eucalyptus camaldulensis* Après 48h d'exposition.

Tab6 : Analyse de variance de la toxicité d'*Eucalyptus camaldulensis* après 72h.

| ANOVA table | SS | DF | MS | F (DFn, DFd) | P value | observation |
|-----------------------------|-------|----|-------|------------------|---------------|-------------|
| Treatment (between columns) | 636,3 | 3 | 212,1 | F (3, 8) = 4,259 | P=0,0449 * | * |
| Residual (within columns) | 398,4 | 8 | 49,79 | | | |
| Total | 1035 | 11 | | | | |

L'étude d'analyse de la variance des différents concentrations, montre que il y a une différence significative (P=0,0449) dans les mortalités des larves traité avec *Eucalyptus camaldulensis* 72h d'exposition.

III. 1.6 Etude de la toxicité de l'extrait éthanolique :

Tab7 : Analyse de variance de la toxicité d'*Eucalyptus camaldulensis* après 24h.

| ANOVA table | SS | DF | MS | F (DFn, DFd) | P value | observation |
|-----------------------------|-------|----|-------|------------------|----------|-------------|
| Treatment (between columns) | 25 | 3 | 8,333 | F (3, 8) = 4,000 | P=0,0519 | ns |
| Residual (within columns) | 16,67 | 8 | 2,083 | | | |
| Total | 41,67 | 11 | | | | |

L'étude d'analyse de la variance (Tab7) des différents concentrations, montre qu'il n'y a pas une différence significative ($P=0,0519$) dans les mortalités des larves traitées avec *Eucalyptus camaldulensis* après 24h d'exposition.

Tab8 : Analyse de variance de la toxicité d'*Eucalyptus camaldulensis* après 48h.

| ANOVA table | SS | DF | MS | F (DFn, DFd) | P value | observation |
|------------------------------------|-------|----|-------|------------------|----------|-------------|
| Treatment (between columns) | 131,1 | 3 | 43,7 | F (3, 8) = 1,133 | P=0,3921 | Ns |
| Residual (within columns) | 308,5 | 8 | 38,56 | | | |
| Total | 439,6 | 11 | | | | |

L'étude d'analyse de la variance (Tab8) des différents concentrations, montre qu'il n'y a pas une différence significative ($P=0,390$) dans les mortalités des larves traitées avec *Eucalyptus camaldulensis* après 48h d'exposition.

Tab7 : Analyse de variance de la toxicité d'*Eucalyptus camaldulensis* après 72h.

| ANOVA table | SS | DF | MS | F (DFn, DFd) | P value | observation |
|------------------------------------|-------|----|-------|-------------------|----------|-------------|
| Treatment (between columns) | 583,9 | 3 | 194,6 | F (3, 8) = 0,7275 | P=0,5637 | ns |
| Residual (within columns) | 2140 | 8 | 267,5 | | | |
| Total | 2724 | 11 | | | | |

L'étude d'analyse de la variance (Tab7) des différents concentrations, montre qu'il n'y a pas une différence significative ($P=0,56$) dans les mortalités des larves traitées avec *Eucalyptus camaldulensis* après 72h d'exposition.

III. 1.7 Etudes des paramètres toxicologiques d'huiles essentielles d'*Eucalyptus camaldulensis* :

Après de calculer les mortalités on montre la CL50 à (35,87ppm, 67, 21ppm, 8,81ppm) après 3 jours successifs respectivement.

III. 1.8 Etudes des paramètres toxicologiques de extrais aqueux d'*Eucalyptus camaldulensis* :

Après de calculer les mortalités on montre la CL50 à (108.9mg/l, 411.6mg/l, 268.2mg/l,) après 3 jours successifs respectivement.

III.2. Discussion :

À cause de leur effet négatif sur l'environnement, l'utilisation des insecticides chimiques est devenue de plus en plus restrictive. L'utilisation des insecticides chimiques conduit aussi à un désordre écosystème accompagné d'une augmentation spectaculaire du nombre d'espèces résistantes. L'application des produits naturels reste la méthode qui présente beaucoup d'avantages pour la santé de l'être vivant et pour son environnement par rapport aux produits de synthèse chimique qui contaminent globalement la biosphère (Benayad, 2008).

La présente étude montre que le rendement de l'huile essentielle *Eucalyptus camaldulensis* récolté dans la région de Skikda, obtenus par hydrodistillation est de l'ordre de 0,75%, cela corrobore aux résultats obtenus par Bouderbail et al (2020), qui démontre un rendement égale à 0,78% de cette même plante récoltée à Constantine, par contre d'après Belbachir (2019) l'*E.camaldulensis* prélevé à Ain Timouchent présente un rendement supérieur de 1,92 %.

Une autre étude montre un taux inférieur à nos résultats, selon Nait Achour (2012) qui a trouvé un rendement de 0,43%, dans la plante présente dans région de Tizi Ouzo.

Les résultats du rendement obtenus de la partie aérienne de l'extrait éthanolique d'*E.camaldulensis* est de 11,7%. Les extraits éthanoliques d'*E.camaldulensis* ont fait objet de quelques études dont les valeurs de rendement étaient plus faibles comparativement à celles trouvées dans le présent travail. Selon l'étude de Gaston et al (2014) sur le rendement d'*E.camaldulensis* présente un taux de 9,29%. Une autre étude faite par Shayoub et al (2015) a révélé que le rendement en extrait pour l'*E.camaldulensis* est de l'ordre 6,54%. Cette variation dans ces valeurs peut être attribuée non seulement à l'origine de la plante mais également à différents facteurs tels que : la Température, l'humidité, la différence de l'étage

climatique des plantes à l'extraite et leur périodes de récoltes, l'âge de la plante, méthode d'extraction peuvent influences le rendement ajout sur le même concept.

La toxicité est évaluée à partir du taux de mortalité enregistrés après traitement et qui dépend des concentrations à l'égard des larves du 3^{ème} et 4^{ème} stade d'*A. flavescens*. Les résultats obtenue montrent une sensibilité variable des larves traiter par HE et l'extrais éthanolique d'*E.camaldulensis*.

pour la toxicité de HE à l'égard d'*A.flavescens* montre que la CL50 est égal à 35 ppm cela est conforme aux résultats des travaux réaliser par Hodung Manh et al (2020) et Sen Sung et al (2008) qui affirment que la CL50 de la même plante contre l'espèce *A.egyptié* est égale à 33,7 et 31ppm respectivement par contre Sedaghat (2010) montre que la CL50 d'*E.camaldulensis* est égal à 89,85ppm et contre les *anophele stephensi* et la CL50 enregistré par Sen Sung et al (2008) est égal à 55,3ppm contre l'espèce *A. albopictus*.

Les résultats conduits montrent que l'extrais éthanolique d'*E.camaldulensis* à un pouvoir de mortalité cl50 vis-à-vis les larves d'*A.flavecense* qui est égal à 108ppm. Des résultats similaires ont été mentionnés par les travaux de Mensouri (2018) sur L'espèce *Culex pipiens* qui affirment que la CL50 est égal à 101,5 ppm. En revanche Gide et al (2011) déclarent que la CL50 de la même plante contre les espèces *Culex pipiens* et *Anophèles arobiensis* est égal à 141,7ppm et 827,6ppm respectivement. Selon Sedghat et al (2010) et majed et al (2018) montrent des résultats de CL50 est égal à 397,7ppm et 31,87 ppm respectivement

L'application de ces deux biocides a abouti à des résultats intéressant quant à soit l'efficacité sur les larves du 3^{ème} stade d'*A. flavesences*. Cette variation dans ces concentrations létal pour plusieurs raisons tel que : les concentrations utilisés, la méthode d'extraction de ces biocides, le protocole utilisé. On constate aussi que notre HE et extrait éthanolique d'*E.camaldulensis* à une efficacité larvicide non seulement sur l'espèce *A.flavescens* mais également sur les moustiques d'une façon générale.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Au terme de cette étude, l'efficacité larvicide de l'huile essentielle et de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus camaldulensis*, testée sur les larves du quatrième stade d'*Aedes flavescens* indique un effet toxique traduit par des taux de mortalité variable selon la nature de l'extrait.

L'évolution du taux de mortalité des larves traitées est en progression dans le temps (interaction dose-temps) et varie en fonction de la dose (relation dose-réponse).

Les essais toxicologiques ont permis de déterminer les concentrations létales des huiles essentielles et des extraits aqueux à l'égard des larves du quatrième stade d'*Aedes flavescens*.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques :

- 1-AFNOR : « Association Française de Normalisation », (1980). Bulletin des bibliothèques de France (BBF), n° 8, p. 407.
- 2-Ait M'barek L., Ait Mouse H., Tilaoui M., Jaâfari A., Aboufatima R., Chait A et al, (2007). Antitumor properties of black seed (*Nigella sativa* L.) extracts. *Braz J of Med and Biol*, 40(11): 839-847.
- 3-Alaoui Slimani N., Joud N., Benhoussa A., Hajji K. (1999). Typologie des habitats d'Anopheles dans une zone urbaine (Diptera Culicidae). *Entomologiste*, 55(5) : 181-190.
- 4-Arar, Z et Houari, S. (2008). Etude de comportement de quelque peuplement de boisement dans la région d'Ouargla. Thèse d'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Biologie, Université de kasdi Merbah- Ouagla, Algérie.
- 5-Arnold, RJ et Luo, J. (2018). *Eucalyptus camaldulensis*. In Thomson L.; Doran and Clarke B. (eds) 2018. Trees for life in Oceania: conservation utilization of genetic diversity. ACIAR. Monograph No.201. Australian Centre for International Agricultural Research: Canberra. 94-99.
- 6-Atmani-Merabet G., Fellah S., Belkhiri A. (2020). Comparative study of two *Eucalyptus* species from Algeria: chemical composition toxicity and acaricidal effect on *Varroa destructor*. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 33(3), 144-148.
- 7-Aouati A. (2016). Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). Thèse de doctorat en sciences, Université des Frères Mentouri, Constantine1. 130 p.
- 9- Berchi S. (2000). Bioécologie de *Culex pipiens* L. (Diptera : Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de luttés. Thèse de Doctorat en Sciences, option Entomologie. Université de Constantine, Algérie, 133 p.
- 10-Berchi S., (2000) – Bio écologie de *Culex pipiens* L. (Diptera, culicidae) dans la région de Constantine et perspective de lutte. Thèse Doctorat Univ. Mentouri, Constantine, 133p.
- 11-Bendali S.F., (2006) - Thèse de Doctorat d'Etat en science Naturelle : Etude bioécologique, Systématique et Biochimique des Culicidae (Diptera- Nematocera) de la région d'Annaba. Lutte biologique anti-culicidiène.
- 12-Boulkenaft 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. Mem. Ing. Univ. Mentouri, Constantine, 191p.

Références bibliographiques

- 13-Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier, 2ème édition, Paris. 915p.
- 14-Brunhes J., Abdl Rahim., Geoffroy B., Angel G. & Hervet J. P. (2000) - Identification des culicides d'afrique méditerranéenne. CDRom I.R.D. Montpellier. France.
- 15-Bruneton, J. (1993) Pharmacognosie et phytochimie, plantes médicinales. Ed : Tec et doc. Lavoisier. Paris. p 915.
- 16-Chandre F., Darriet F., Manga L., Akogbeto M., Faye O., Mouchet J., Guillet P., 1999. Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae sensu lato*. Bull. World Health Org., 77: 230-234.
- 17-Danielle Huard. (1999). Les huiles essentielles, l'aromathérapie. Canada : Quebec : 195p.
- 18-Deschepper, R. (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de doctorat. Université de Marseille, France. 149p.
- 19- Eldridge K., Davidson J., Harwood C., Van Wyck G. (1993) Eucalypt domestication and breeding, Clarendon Press, Oxford.
- 20-Hassaine, K. (2002) Les culicides (Diptera- Nematocera) de l'Afrique méditerranéenne. Bioécologie d'*Aedes caspius* et d'*Aedes detritus* des marais salés, d'*Aedes mariaae* des rocks Pools littoraux et de *Culex pipiens* des zones urbaines de la région occidentale Algérienne. Thèse de Doctorat, Université d'Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, pp. 203.
- 21-Hassaine K. (2002) – Bioécologie et biotypologie des Culicidae (Diptera, Nematocera) de l'Afrique méditerranéenne. Biologie des espèces les plus vulnérantes (*Aedes caspius*, *Aedes detritus*, *Aedes mariaae* et *Culex pipiens*) dans la région occidentale algérienne. Thèse doctorat. Fac. Sci. Aboubaker Belkaid. Univ. Tlemcen, 191 p.
- 22-INRF : l'Institut National de Recherche Forestière de Bainem, 1996.
- 23-Goetz, P & Ghedira, K. (2012). Phytothérapie infectieuse, Springer Verlag, France, P 272.
- 24-Kebir, B. (2018). Etude dendrométrique d'*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh dans trois stations de la Wilaya de Tlemcen. Mémoire de Master, Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, Algérie.
- 25-Meziane, H. (1996). L'Eucalyptus en Algérie un arbre controversé en forêt algérienne N°1. Edité par I.N.R.F. Bainem, 5-10.
- 26-Mekkelliche, H. (2015). Contribution à l'étude morpho métrique d'*Eucalyptus globulus* Labill (myrtacées) dans la région de Tlemcen. Mémoire d'obtention du diplôme de Master, Université Aboubaker Belkaid, Tlemcen 50p.

Références bibliographiques

- 27-Nazli Nacer-Bey. (2003). Etude des huiles essentielles (essence végétale) de quelle que plante Algérienne : caractérisation chimique et valorisation agronomique, Thèse de magistère en agronomie INA.
- 28-Senevet G. ; Anderlli L. (1956) - Les Anophèles de l'Afrique du Nord et du bassin méditerranéen. Encycl. Ent. Paris, 33,280 p.
- 29-Oyen, L.P.A ; Lemmens, R.H.M.J. (2002)- Ressources végétales de l'Afrique tropicale. Programme PROTA Wageningen. Pays-Bas. 207 p.
- 30-Pressat R. (1905)- L'analyse démographique. Paris, Presses Universitaires de France, 498 p.
- 31-Roman Émile. Jean-A. Rioux. (1959) — *Les Culicides du «Midi» méditerranéen*. Encycl. entomol. XXXV, 1958. In : *Bulletin mensuel de la Société linnéenne de Lyon*, 28^e année, n°5, pp. 158-159.
- 32-Seguy, E. (1949) La biologie des diptères. Edition Paul le chevalier, Paris, 260 p.
- 33-Senevet (G.) et Andarelli (L.). (1956) — Les Anophèles de l'Afrique du Nord et du bassin méditerranéen. Lechevalier éd., Paris.
- 34-Senevet (G.) et Andarelli (L.). (1956) — Les Anophèles de l'Afrique du Nord et du bassin méditerranéen. Lechevalier éd., Paris.
- 35-Zhang C.Q., Liu Y.H., and Zhu G.N. (2010) - Detection and characterization of benzimidazole resistance of *Botrytis cinerea* in greenhouse vegetables, *Eur. J. plant Pathol*, 126 (4), 509-515.