



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Larbi Tébessi-Tébessa  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Appliquée

**MEMOIRE DE MASTER**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Filière: Sciences Biologiques**  
**Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire**

**Thème :**

**Etude bibliographique de l'effet larvicide de  
l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* à  
l'égard de *Culex pipiens* :  
Métabolites.**

Elaboré par :

**NOURI Nour el houda**

**BOUTERFIF Safa**

Devant le jury :

Dr. SENOUSSE Asma	MAA	Université de Tébessa	Présidente
Dr. ZEGHIB Assia	MCA	Université de Tébessa	Promotrice
Dr. BENLAKEHAL Ammar	MAA	Université de Tébessa	Examineur

**Date de soutenance : 24-06-2020**

**Note :.....**

**Mention :.....**



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Larbi Tébessi-Tébessa  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Appliquée

**MEMOIRE DE MASTER**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Filière: Sciences Biologiques**  
**Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire**

**Thème :**

**Etude bibliographique de l'effet larvicide de  
l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* à  
l'égard de *Culex pipiens* :  
Métabolites.**

Elaboré par :

**NOURI Nour el houda**

**BOUTERFIF Safa**

Devant le jury :

Dr. SENOUSSE Asma	MAA	Université de Tébessa	Présidente
Dr. ZEGHIB Assia	MCA	Université de Tébessa	Promotrice
Dr. BENLAKEHAL Ammar	MAA	Université de Tébessa	Examineur

**Date de soutenance : 24-06-2020**

**Note :.....**

**Mention :.....**

اللَّهُمَّ صَلِّ وَسَلِّمْ وَبَارِكْ عَلَى سَيِّدِنَا مُحَمَّدٍ

ملخص

Abstrat

Résumé

## ملخص

هذه الدراسة عبارة عن بحث بيليوغرافي حول تطوير إستراتيجية جديدة لمحاربة البعوض ، الأكثر رصدًا في منطقة تبسة ، من خلال اختبار فعالية مبيدات اليرقات بالزيت العطري لـ *Rosmarinus officinalis* كمبيد حشري حيوي على يرقات L4 من *Culex pipiens* (الجانب الأيضي).

يُظهر العمل السابق أن العلاج ، في فترات مختلفة (24 و 48 و 72 ساعة) ، بالزيت الأساسي المستخرج من *R. officinalis* (CL25, CL50) في *Culex pipiens* ، يتسبب في زيادة محتوى البروتين والكربوهيدرات و انخفاض في الدهون.

الكلمات الأساسية : *Rosmarinus officinalis* ، زيت عطري ، مبيد حشري حيوي ، مبيد اليرقات ، *Culex pipiens* ، مستقلبات.

## **ABSTRACT**

This study is a bibliographic research on the development of a new strategy to fight against mosquitoes, the most spotted in the Tébessa region, by testing the efficacy of larvicides with the essential oil of *Rosmarinus officinalis* as a bio-insecticide on L4 larvae of *Culex pipiens* (Metabolic aspect).

Previous work shows that treatment, at different periods (24, 48 and 72 hours), with the essential oil extracted from *R. officinalis* (CL25, LC50) in *Culex pipiens*, causes an increase in the protein and carbohydrate content and a decrease in lipids.

Key words: *Rosmarinus officinalis*, essential oil, bio-insecticide, larvicide, *Culex pipiens*, metabolites

## **RESUME**

Cette étude est une recherche bibliographique sur le développement d'une nouvelle stratégie de lutte contre les moustiques, les plus repérés de la région de Tébessa, par test d'efficacité des larvicides avec l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* comme bio-insecticide sur les larves L4 de *Culex pipiens* (Aspect métabolique).

Les travaux antérieurs montrent que le traitement, à différentes périodes (24, 48 et 72 heures), par l'huile essentielle extraite de *R. officinalis* (CL25, CL50) chez *Culex pipiens*, cause une augmentation du contenu en protéines et en glucides et une diminution en lipides.

**Mots clés :** *Rosmarinus officinalis*, huile essentielle, bio-insecticide, larvicide, *Culex pipiens*, métabolites

# *Dédicaces*

*Après un remerciement sincère au DIEU*

*Je dédie cet humble travail avec grand amour, sincérité et fierté:  
En premier lieu aux êtres, les plus chers au monde et la source de  
mes joies*

*À la lumière de mes yeux, mon père **Nouiri Ahmed***

*À la rose de ma vie, ma joie, mon paradis, au battement de mon  
cœur, ma chère mère **Naggaz Ouarda***

*Pour m'avoir soutenu, aidé et encouragé tout ou long de ma  
vie. Quoi que je fasse je ne pourrai leur rendre ce qu'ils ont fait  
pour moi, si je suis arrivée là c'est bien grâce à eux, que Dieu les  
bénisse et leur accorde longue vie et les protège.*

*À mon amour, mon âme sœur, mon partenaire de vie, mon tout, et  
ma raison de vivre **Naoufel Hanagria**.*

*À mes très chères sœurs : **Meryem, Roumaissa, yassmina, Nour el  
iman**, j'espère que Dieu vous accorde le succès.*

*À mon amie et mon binôme **Bouterfif Safa** qui m'a soutenu tout au  
long de la période universitaire, merci, Dieu te bénisse.*

*À ma tante Nawal et ses filles Assinat, Hiba, Nour el houda*

*À mes cousines Chaima, Rima*

*À mes amis, Abir, Raoudha, Rawnek, Hanan, Chahinez, Safa.*

*À tous ceux que j'aime et que j'apprécie énormément leur aide et  
leur soutien. Merci à tous.*

# *Dédicaces*

*A l'aide de mon Dieu, Tout-Puissant, j'ai pu accomplir ce travail.*

*Je dédie ce travail au cœur blanc, au sourire qui ne quitte jamais ses lèvres, à la personne qui m'a soutenu et m'a toujours poussé pour le mieux. Je le dédie à mon père **Bouterfif belhadj** qui est absent du monde, mais il est vivant en moi. Que Dieu t'accorde sa miséricorde, papa*

*Je dédie ce travail à la femme qui partage ma joie et mon chagrin, je le dédie au paradis de la vie, à ma chère mère **Boukhamla souad**, que Dieu la protège.*

*À mes chers frères, Adam et Mouhamed Iyad, j'espère que Dieu vous accorde le succès.*

*À mon amie et mon binôme Nouri Nour el houda qui m'a soutenu tout au long de la période universitaire, merci, Dieu te bénisse.*

*À ma tante Noura et à mes oncles Zizou, Farouk, walid, toufik, Djalal et kamal*

*À mes amis Imen, Chaima, Kawther, Zzahra, Khadidja, Fatma Raoudha, Rawnek, Hanan, chahinez, Radhia, Nour el houda Malak, Manar et Salma*

*À mon fils Micha*

*À mes cousins Okba, Sohaib, Lokmen, Abdou, Mouhamed Amir et Ayoub*

*À Sofiane bekkai merci pour votre soutien et pour tous les conseils précieux.*

*À mes collègues de l'université, que Dieu vous bénisse.*

*À tous ceux qui m'ont aidé et qui ont participé de près ou de loin et m'ont encouragé pour arriver jusqu'ici, merci à tous*

# Remerciements

*Avant tout, je remercie Dieu Tout-Puissant qui nous a donné la volonté et la force de terminer ce travail.*

*Un grand merci du fond du cœur au Docteur de l'Université de Tebessa **ZEGHIB Assia**, qui a accepté de nous aider à l'accomplissement de notre travail ; nous la remercions pour ses précieux conseils et la confiance qu'elle nous a accordée.*

*Un grand merci à madame **SENOUSSI Asma** d'avoir accepté la présidence de ce mémoire.*

*Nous remercions beaucoup monsieur **BENLAKEHAL Ammar** d'avoir accepté d'examiner ce travail*

*Un grand merci pour tous ceux qui ont participé à la réalisation de ce mémoire. Merci à tous*

N°	Titre	Page
01	Dosage des protéines totales chez les larves de quatrième stade de <i>Culex pipiens</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage	43
02	Dosage des glucides totaux chez les larves de quatrième stade de <i>Culex pipiens</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	43
03	Dosage des lipides totaux chez les larves de quatrième stade de <i>Culex pipiens</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage	44
04	Effet de l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i> sur le contenu en protéines ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de <i>Cx. pipiens</i> ( $m \pm \text{sem}$ , $n=3$ ). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).	46
05	Effet de l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i> (CL50 et CL25), sur le contenu en lipides totaux ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de <i>Culex pipiens</i> ( $m \pm \text{sem}$ , $n=3$ ). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).	49
06	Effet de l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i> , sur le contenu en glucides ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de <i>Culex pipiens</i> ( $m \pm \text{sem}$ , $n=3$ ). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).	52

N°	Titre	Page
01	Photo d'une femelle de <i>Cx. pipiens</i> lors d'un repas de sang	5
02	Cycle de <i>Culex pipiens</i>	7
03	Œufs de <i>Culex</i>	8
04	Larve de <i>Culex</i>	9
05	Nymphe de <i>Culex</i>	10
06	Adulte de <i>Culex</i>	11
07	Œufs de <i>Culex pipiens</i>	12
08	Morphologie d'une larve du IV <sup>e</sup> stade de <i>Culex pipiens</i>	12
09	Morphologie générale d'une nymphe de <i>Culex pipiens</i>	13
10	Aspect morphologique de la tête d'une larve de <i>Culex pipiens</i>	13
11	Morphologie de la tête de <i>Culex pipiens</i> .	14
12	Morphologie du thorax de <i>Culex pipiens</i>	14
13	Morphologie de l'abdomen de <i>Culex pipiens</i>	15
14	Morphologie générale d'un moustique adulte	16
15	<i>Rosmarinus officinalis</i> (photo personnelle)	21
16	Rôle de l'acétylcholinestérase1 (AChE1) dans la transmission synaptique.	34
17	Dosage des protéines totales chez les moustiques : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$ : coefficient de détermination).	46
18	Effet de l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i> (CL25 et CL50) sur le contenu en protéines totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> , à différentes périodes ( $m \pm \text{sem}$ , $n=3$ ). Comparaison des moyennes : ns Différence non significative, *Différence significative ( $p<0,05$ ), **Différence hautement significative ( $p<0,01$ ).	47
19	Dosage des lipides totaux chez les moustiques : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipide ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$ : coefficient de détermination).	49
20	Effet de l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i> (CL50 et CL25), sur le contenu en lipides totaux ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les larves du quatrième stade (L4) de <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) ( $m \pm \text{sem}$ , $n=3$ ). Comparaison des moyennes : *Différence significative	50

---

( $p < 0.05$ ) entre les séries témoins et traitées, \*\*Différence hautement significative ( $p < 0,01$ ) entre les séries témoins et traitées.

- |           |   |    |
|-----------|---|----|
| <b>21</b> | Dosage des glucides totaux chez les moustiques : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipide ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$ : coefficient de détermination).   | 52 |
| <b>22</b> | Effet de l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i> (CL50 et CL25) sur le contenu en glucides totaux ( $\mu\text{g}/$ individu) chez les larves du quatrième stade (L4) de <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) ( $m \pm \text{sem}$ , $n=3$ ). Comparaison des moyennes : n s Différence non significative, *Différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les séries témoins et traitées, **Différence hautement significative ( $p < 0,01$ ) entre les séries témoins et traitées, *** Différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les séries témoins et traitées | 53 |
-

*Cx pipiens* : *Culex pipiens*

*R. officinalis* : *Rosmarinus officinalis*

**HE** : Huile Essentielle

**h** : Heure

**g** : Gramme

**AChE** : Acétylcholinestérase

**V** : Volume

**%** : Pourcentage

**°C** : Degré Celsius

**CL 50** : Concentration Létale de 50% de la population

**CL 25** : Concentration létale de 25% de la population

**ml** : Millilitre

**µl** : Microlitre

**nm** : Nanomètre

**mg** : Milligramme

**mg /ml** : Milligramme par Millilitre

**µg/mg** : Microgramme par Milligramme

**min** : minute

**trs** : Tours

**R2** : Coefficient de détermination

**P** : signification

**n** : Nombre de répétitions

**(sem)** : Ecart moyen

**L4** : Larve de stade 4

**(TCA)** : Acide Trichloracétique

**BBC** : Bleu brillant de comassie

**AOX** : Antioxydant

ملخص	
Abstract	
Résumé	
Dédicaces	
Remerciements	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Tables des matières	
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>CHAPITRE 1 : CULEX PIFIENS</b> .....	<b>4</b>
I. GENERALITE .....	5
II. POSITION SYSTEMATIQUE .....	6
III. CYCLE DE DEVELOPPEMENT .....	7
<i>III .1. Phase aquatique</i> .....	7
<i>III .2. Phase aérienne</i> .....	10
IV. CARACTERES MORPHOLOGIQUES .....	11
V. PRINCIPE NUISANCES .....	16
VI. MOYENS DE LUTTE .....	17
<i>Lutte physique</i> .....	17
<i>Lutte biologique</i> .....	18
<i>Lutte chimique</i> .....	18
<b>CHAPITRE 2 : ROSMARINUS OFFICINALIS</b> .....	<b>19</b>
I. GENERALITE .....	20
II. NOMS VERNACULAIRES .....	20
III. CLASSIFICATION.....	20
IV. DESCRIPTION BOTANIQUE.....	21
V. ORIGINE ET REPATITION .....	22
VI. COMPOSITION CHIMIQUE .....	22
<i>VII .1. Huile essentielle</i> .....	22
<i>VII .2. Composition phénolique</i> .....	22
VII. PROPRIETES BIOLOGIQUES .....	23
VIII. USAGE DU ROMARIN .....	23
<i>VIII .1. Usage médical</i> .....	23
<i>VIII .2. Parfumerie et cosmitique</i> .....	24
<i>VIII .3. Usage alimentaire</i> .....	24
IX. ACTIVITE BIOLOGIQUE.....	24

<i>Activité antioxydante</i> .....	<b>2</b> <b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<i>Activité antibactérienne</i> .....	25
<i>Activité antifongique</i> .....	25
<i>Activité insecticide</i> .....	26
<i>Activité antidiabétique</i> .....	26
<i>Activité anti-inflammation</i> .....	27
<i>Activité anticancéreuse</i> .....	27
<b>X. GENERALITE SUR LES HUILES ESSENTIELLES</b> .....	<b>28</b>
<i>X.1. Définition</i> .....	28
<i>X.2. Classification</i> .....	28
<i>X.3. Propriétés physicochimique</i> .....	28
<b>CHAPITRE 3 : LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LES INSECTES</b> .....	<b>29</b>
<b>I. GENERALITE</b> .....	<b>30</b>
<b>II. LUTTE CONTRE LES INSECTES</b> .....	<b>30</b>
<i>II.1. Lutte chimique</i> .....	31
<i>II.2. Lutte physique</i> .....	31
<i>II.3. Lutte écologique</i> .....	31
<b>III. RESISTANCE DES INSECTES</b> .....	<b>32</b>
<i>III.1. Résistance biochimique aux insecticides</i> .....	33
<i>III.2. Résistance métabolique</i> .....	34
<i>III.3. Résistance comportementale</i> .....	35
<b>IV. LUTTE BIOLOGIQUE</b> .....	<b>36</b>
<i>IV.1. Par les agents naturels</i> .....	37
<i>IV.2. Par lutte microbiologique</i> .....	40
<b>CHAPITRE4 : : EFFET LARVICIDE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE ROSMARINUS OFFICINALIS A L'EGARD DE CULEX PIPPIENS : METABOLITES</b> .....	<b>41</b>
<b>I. GENERALITE</b> .....	<b>42</b>
<b>II. EXTRACTION DE DOSAGE DES METABOLITES</b> .....	<b>42</b>
<i>II.1. Dosage des protéines totales</i> .....	42
<i>II.2. Dosage des glucides totaux</i> .....	43
<i>II.3. Dosage des lipides totaux</i> .....	44
<b>III. EFFET L'HUILE ESSENTIELLE DE R.OFFICINALIS SUR LES COMPOSITIONS BIOCHIMIQUES DE</b> 44	
<i>III.1. Contenu en protéines totales</i> .....	45
<i>III.2. Contenu en lipides totaux</i> .....	48
<i>III.3. Contenu en glucides totaux</i> .....	51
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>54</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>56</b>

# **INTRODUCTION**

### Introduction

La conservation de la biodiversité passe toujours par une connaissance de la distribution de la faune et de la flore. Cette faune qui est représentée par toutes les espèces animales d'un écosystème (**Aouati, 2016**), compte les insectes qui représentent près de 60% de l'ensemble des espèces animales. La classe des insectes a réussi à coloniser la quasi-totalité des milieux naturels et à s'adapter à de nombreux modes de vie (**Houam et Achouri, 2019**).

Depuis 170 millions d'année les diptères (les mouches et les moustiques) forment un groupe d'insectes le plus écologiquement diversifié. La famille des *Culicidae* est la plus importante. Les moustiques appartenant à cette famille forment un groupe diversifié dont une grande partie des insectes sont hématophages. Selon le plus récent classement, la famille des *Culicidae* comprend 2 sous-familles, 11 tribus, 111 genres et 3528 espèces de la faune du monde. En Algérie, *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* sont considérés parmi les espèces les plus abondantes (**Bouderhem, 2015**).

Les moustiques sont le principal vecteur de plusieurs maladies comme le paludisme, la dengue, la fièvre jaune et la filariose, causant des millions de décès chaque année. En raison de sa grande distribution géographique et de sa forte abondance (**Dris, 2017**). Les femelles en période de reproduction ont besoin de sang pour le développement des œufs et certaines espèces ont une préférence marquée pour le sang humain. Parmi les espèces connues dans la transmission des maladies à l'Homme, nous citons celles appartenant aux genres *Culex* (**Bezzaoui, 2013**). Dans les campagnes de lutte antimoustique, les insecticides de synthèse constituent les seuls moyens de lutte. Ces préparations, bien qu'elles se soient très efficaces contre les moustiques, ils sont révélés très toxiques et leurs effets collatéraux sur les écosystèmes naturels restent inestimables vu leur large spectre d'action ; souvent sur des organismes non cibles. S'ajoute aussi à ces inconvénients, le problème de développement de résistance aux insecticides chimiques, chez les insectes traités. Les larvicides synthétiques perturbent également les systèmes de contrôle biologique naturel qui aboutissent parfois à un développement généralisé de la résistance. Ce phénomène a déclenché et encouragé le développement de techniques alternatives utilisant des produits naturels (**Mansouri, 2018**). Les recherches à l'heure actuelle s'orientent vers les plantes aromatiques contenant des huiles essentielles qui agissent comme des bio-pesticides. Cette efficacité a été démontrée contre une grande variété d'insectes ravageurs (**Belarouci, 2017**).

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. C'est une herbe aromatique de la famille des Labiées, appréciée pour ses propriétés aromatiques, anti-oxydantes, antimicrobiennes et anti-tumorales, largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle. Les extraits des huiles essentielles de cette plante sont largement utilisés. Depuis 2006, de nombreuses études ont été réalisées sur l'effet répulsif des huiles essentielles ou sur leur effet larvicide. La plupart de ces études ont mis en évidence un effet larvicide et/ou répulsif sur les moustiques, et notamment les Culicidés. Dans cette perspective, les recherches envisagées visent à évaluer les réponses des populations d'une espèce de moustique, *Culex pipiens*, la plus répandue dans la région de Tébessa à l'impact d'un nouvel insecticide à base d'huile essentielle d'une espèce de *Rosmarinus officinalis* sur : La composition biochimique des individus du stade larvaire 4 par la détermination du contenu en protéines, lipides et glucides à différentes périodes (24, 48 et 72h) après traitement (**Berrah, 2016**).

# Chapitre 1 : BIOLOGIE DE *CULEX PIPIENS*



## I. Généralités

Les maladies transmises par les moustiques sont répandues dans plus de 100 pays à travers le monde, infectant plus de 700 000 000 de personnes chaque année dans le monde. Ils agissent comme un vecteur pour la plupart des maladies mortelles comme le paludisme, la fièvre jaune, la dengue, la fièvre chikungunya, la filariose, l'encéphalite, l'infection par le virus du Nil occidental, etc. (El\_Akhal et al, 2017), Parmi les espèces connues dans la transmission des maladies à l'homme, nous citons celles appartenant aux genres *Culex* (Aouinty et al, 2006).

En Algérie, *Culex pipiens* est le moustique qui présente le plus d'intérêt en raison de son abondance et sa nuisance réelle dans les zones urbaines, son développement dans certaines régions est continu pendant toute l'année (Berchi et al, 2012).

*Culex pipiens* est un moustique qui appartient à une variété dite commune de moustiques (*Culex*) européens. Il est également nommé maringouin, cousin ou moustique domestique. Il existe des sous-espèces de *Cx pipiens*. Tout comme chez les autres espèces de moustiques, c'est la femelle qui pique pour produire ses œufs. Le sang consommé est donc indispensable à la reproduction de cette espèce (Figure 01) (Kourdes, Melkia, 2017).



**Figure 01:** Photo d'une femelle de *Cx. pipiens* lors d'un repas de sang (Bouderhem, 2015).

## II. Position systématique

*Culex* appartient à la sous-famille des Culicinae (Aouati, 2016), qui forme le sous ordre des nématocères dans l'ordre des diptères. Leur corps est élancé et ils possèdent de longues antennes à plus de six articles. Leurs pattes sont fines et longues. Seules les femelles sont hématophages (Benserradj, 2015).

La position systématique de l'espèce étudiée selon Linnée (1758) est la suivante :

**Règne:** Animalia

**Embranchement:** Arthropoda

**Sous-embranchement:** Hexapoda

**Classe:** Insecta

**Sous-classe:** Pterygota

**Ordre :** Diptera

**Sous-ordre:** Nematocera

**Famille:** Culicidae

**Sous-famille:** Culicinae

**Genre:** *Culex*

**Espèce:** *Culex pipiens*

### III. Cycle de développement

Le cycle de *Culex pipiens* comporte, comme celui de tous les insectes, 4 stades : l'œuf, la larve, la nymphe et l'imago ou adulte. Il se décompose en deux phases : une phase aquatique pour les trois premiers stades, et une phase aérienne pour le dernier stade. Dans les optimales, le cycle dure de 10 à 14 jours (**Resseguier, 2011**).

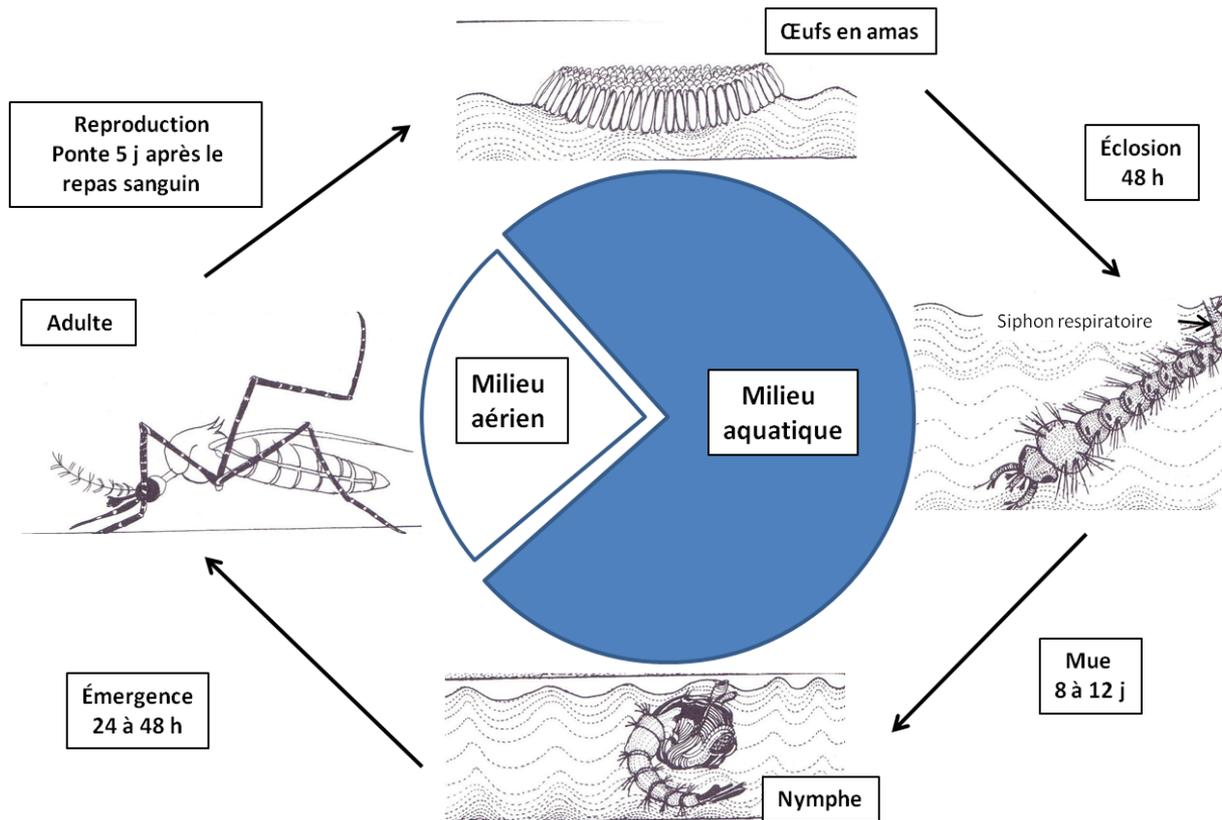


Figure 2: Cycle de *Culex pipiens* (**Resseguier 2011**).

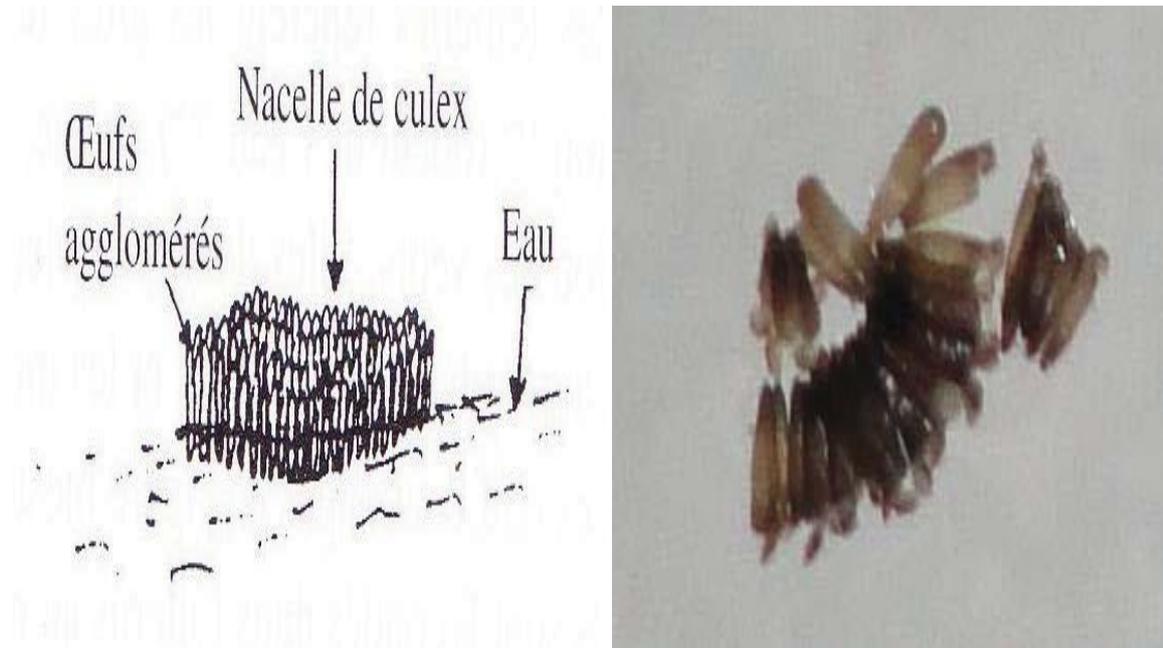
#### III.1. Phase aquatique

La phase aquatique larvaire possède trois stades : œuf, larve et nymphe

##### Les Œufs

Les œufs sont fusiformes et mesurent environ 1 mm de long. Généralement blanchâtres au moment de la ponte, ils s'assombrissent dans les heures qui suivent (**Benserradj, 2015**). La femelle dépose les œufs, perpendiculairement à la surface de l'eau en amas groupés. Une femelle peut pondre jusqu'à 300 œufs, qui éclosent en 24 à 48 heures lorsque la température de

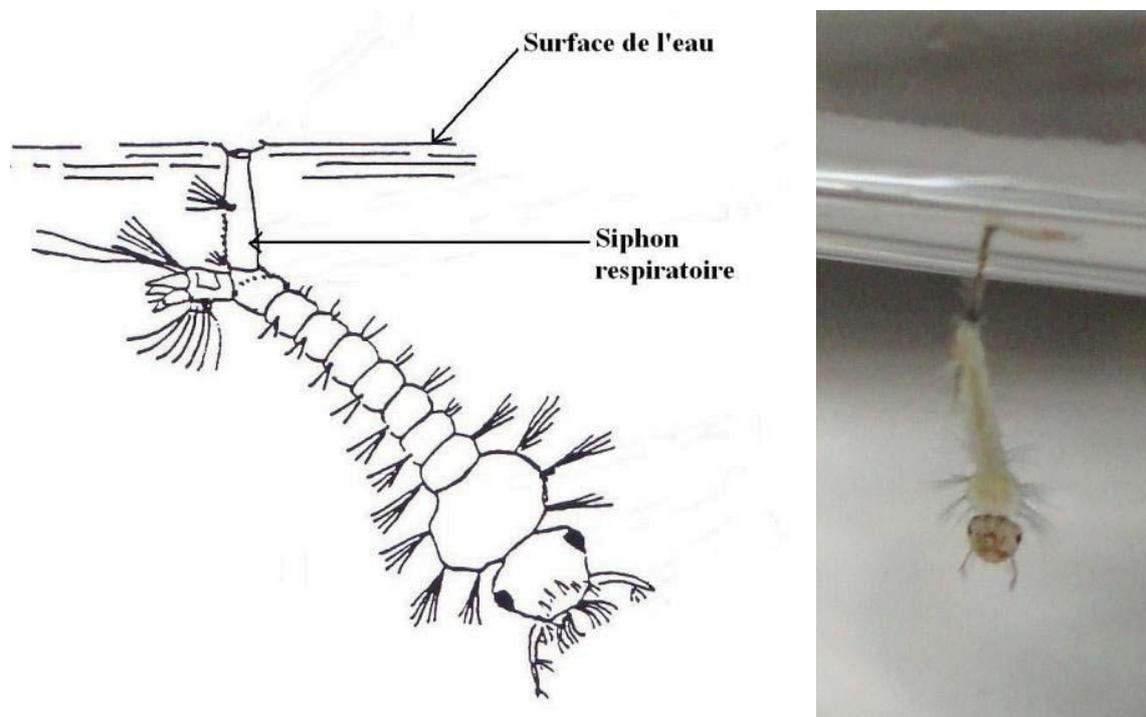
l'eau est suffisante (**Resseguier, 2011**) Les œufs flottent à la surface de l'eau soit du fait des phénomènes de tension superficielle, soit grâce à la présence de flotteurs latéraux (Anopheles) ou apicaux (Culex). La variation de forme, de taille et de coloration a parfois été utilisée en taxonomie (**Aouati, 2016**).



**Figure 03 : Œufs de Culex (Resseguier, 2011)**

### Larve

La larve sort de l'œuf. Elle est disposée obliquement par rapport à la surface de l'eau et se déplace par mouvements saccadés grâce à de brusques contraction de son corps (**Resseguier, 2011**) les larves ont un mode de vie exclusivement aquatique .elle subiront 3 mues avant de se transformer en nymphe (**Tabti, 2017**) D'aspect vermiforme, le corps de la larve se divise en trois segments: la tête, le thorax trapu et l'abdomen. Sa taille varie de 12mm en moyenne en fonction des stades et elle est dépourvue d'appareil locomoteur. (**Benserradj, 2015**) Son régime saprophyte est constitué de plancton et de particules organiques ingérés grâce à ses pièces buccales de type broyeur. Elle respire par un siphon. La larve évolue ainsi selon quatre stades pendant 8 à 12 jours, avant d'atteindre le stade nymphal. (**Resseguier, 2011**).



**Figure 04:**Larve de Culex (Resseguier 2011)

## Nymphe

La nymphe est formée dans l'exuvie larvaire. Les organes comme les trompettes respiratoires, les antennes, les pièces buccales, les pattes, les ailes et des rudiments alaires métathoraciques se forment très tôt chez la larve ; dès le premier stade larvaire, on remarque les yeux nymphaux en avant des yeux larvaires ; ces yeux se développent surtout au quatrième stade, quand ils se pigmentent (Aouati, 2016) Elle est extrêmement sensible et plonge dans l'eau au moindre mouvement perçu. *Culex pipiens* reste sous cette forme pendant 2 à 4 jours. A la fin de cette période, la nymphe donne un adulte, mâle ou femelle. Cette étape a généralement lieu le matin (Resseguier, 2011).

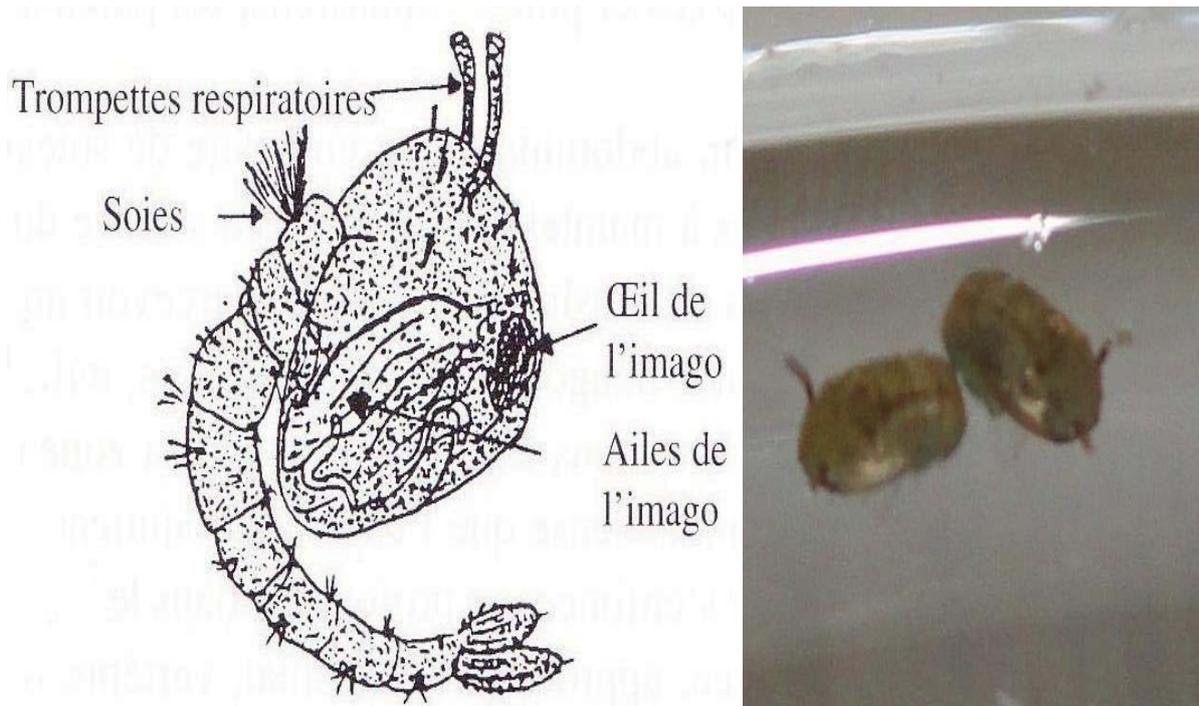


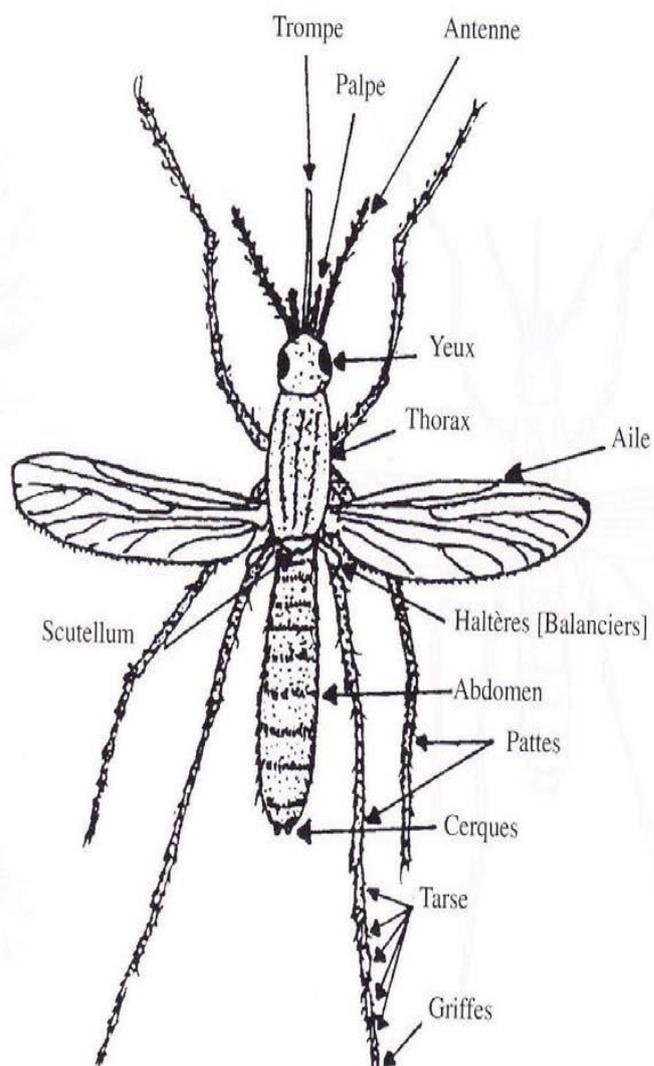
Figure 05.Nympe de Culex (Resseguier, 2011).

## III.2. Phase aérienne

### Adulte

Quand l'adulte est complètement formé dans son enveloppe nymphale, l'insecte reste en surface et commence à respirer. Un adulte de *Cx pipiens* mesure de 3 à 6 mm de long, son corps est segmenté en trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen (Tabti, 2017).

Le mâle se nourrit exclusivement de suc et de nectar extrait de plantes, et meurt après la copulation. La femelle peut vivre de 3 semaines à 3 mois selon la température et la qualité du gîte. Elle se nourrit du suc des plantes et est en plus hématophage, ce qui est indispensable à la formation des œufs. Les adultes s'éloignent peu des gîtes larvaires après l'éclosion. Ils ne dépassent pas 3 km de distance, sauf lors de vent violent qui pousse les *Culex* beaucoup plus loin. L'accouplement se produit dans les 48 heures suivant l'émergence des femelles et avant le premier repas sanguin. La femelle s'accouple en général une seule fois au cours du vol, dans un large espace : c'est une espèce dite eurygame. Le mâle est attiré par les fréquences sonores ainsi que par des phéromones émises par la femelle. Après l'accouplement, la femelle part à la recherche d'un hôte pour se nourrir de sang nécessaire à la maturation des ovules. La ponte a lieu environ 5 jours après le dernier repas. (Resseguier, 2011).



**Figure 06:**Adulte de *Culex* (Resseguier, 2011)

#### IV. Caractères morphologiques

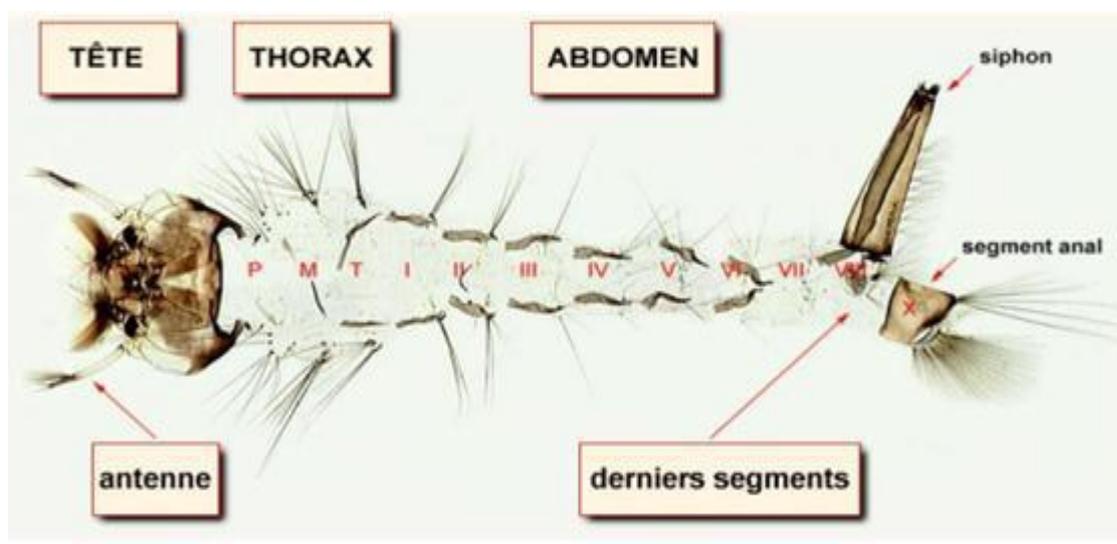
- **Les œufs** : Comprend de l'intérieur ; l'embryon, la membrane vitelline pellucide, un end-chorion épais et un exo-chorion plus ou moins pigmenté, il est de 0,5mm de taille. Au moment de la ponte il est blanchâtre et prend rapidement par oxydation de certains composants chimiques de la thèque une couleur marron ou noire.

Les œufs groupé en nacelle sont cylindro-coniques et se tiennent verticalement (Hmamiche , Bencenouci et Meessas, 2017).



**Figure 07** : les œufs de *Culex pipiens* (Berchi 2000)

- **Larve** : D'aspect vermiforme, le corps de la larve se divise en trois segments: la tête, le thorax trapu et l'abdomen (**Figure 08**). Sa taille varie de 12mm en moyenne en fonction des stades et elle est dépourvue d'appareil locomoteur. Son extrémité caudale est munie d'un siphon, long et étroit affleurant à la surface de l'eau. Ce tube est muni de 5 clapets qui s'ouvrent sur deux orifices par où l'air pénètre à l'intérieur quand la larve monte à la surface de l'eau. Ces clapets se rabattent quand elle gagne les profondeurs. Ses pièces buccales sont de types broyeurs, adaptées à un régime saprophyte (**Benserradj, 2015**).



**Figure 08** : Morphologie d'une larve du IV<sup>e</sup> stade de *Culex pipiens* (Brunhes et al., 1999).

- **La nymphe** : a une forme de point d'interrogation et respire par des trompes respiratoires situées sur le céphalothorax (**Zarroug, 2018**).



**Figure 09** : Morphologie générale d'une nymphe de *Culex pipiens* (Berchi, 2000).

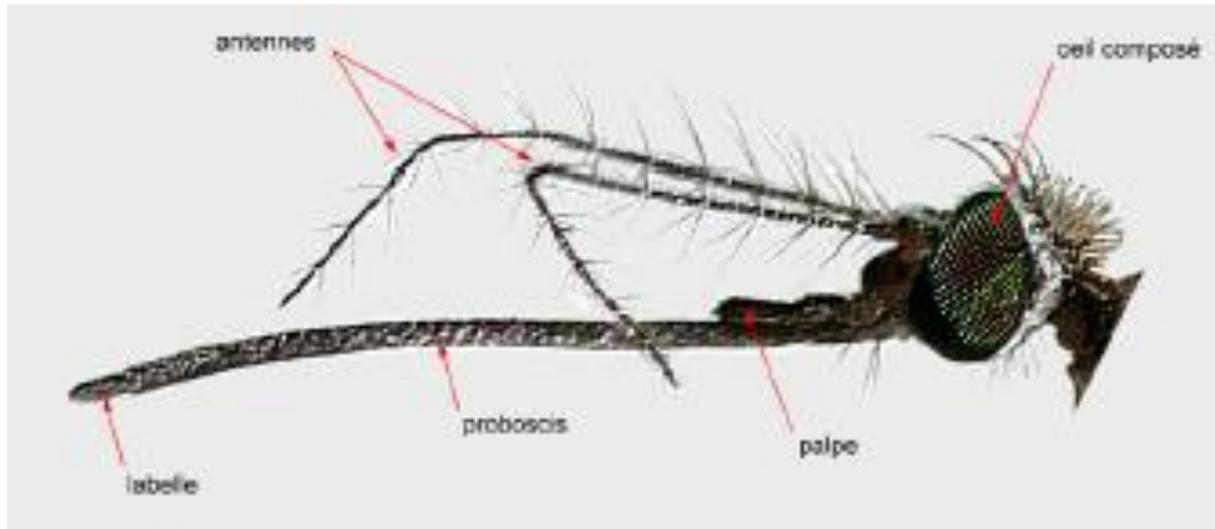
- **L'adulte** : Le corps du moustique adulte est composé de trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen. Les femelles se distinguent des mâles par des antennes glabres. Les mâles ont des antennes plumeuses, et une morphologie plus effilée (Zarroug, 2018).

#### **La tête**

Est sombre, couverte d'écailles fourchues dressées et sombres entre lesquelles sont situées des écailles blanches et des poils bruns. Sur les joues se trouvent des écailles plus courtes formant une tache blanche (Benserradj, 2015).



**Figure 10** : Aspect morphologique de la tête d'une larve de *Culex pipiens* (Berchi, 2000)



**Figure 11:** Morphologie de la tête de *Culex pipiens*. (Schaffner *et al.*, 2001)

### Le thorax

Il est formé de trois segments soudés : le prothorax, le mésothorax et le métathorax, chacun portant une paire de pattes.

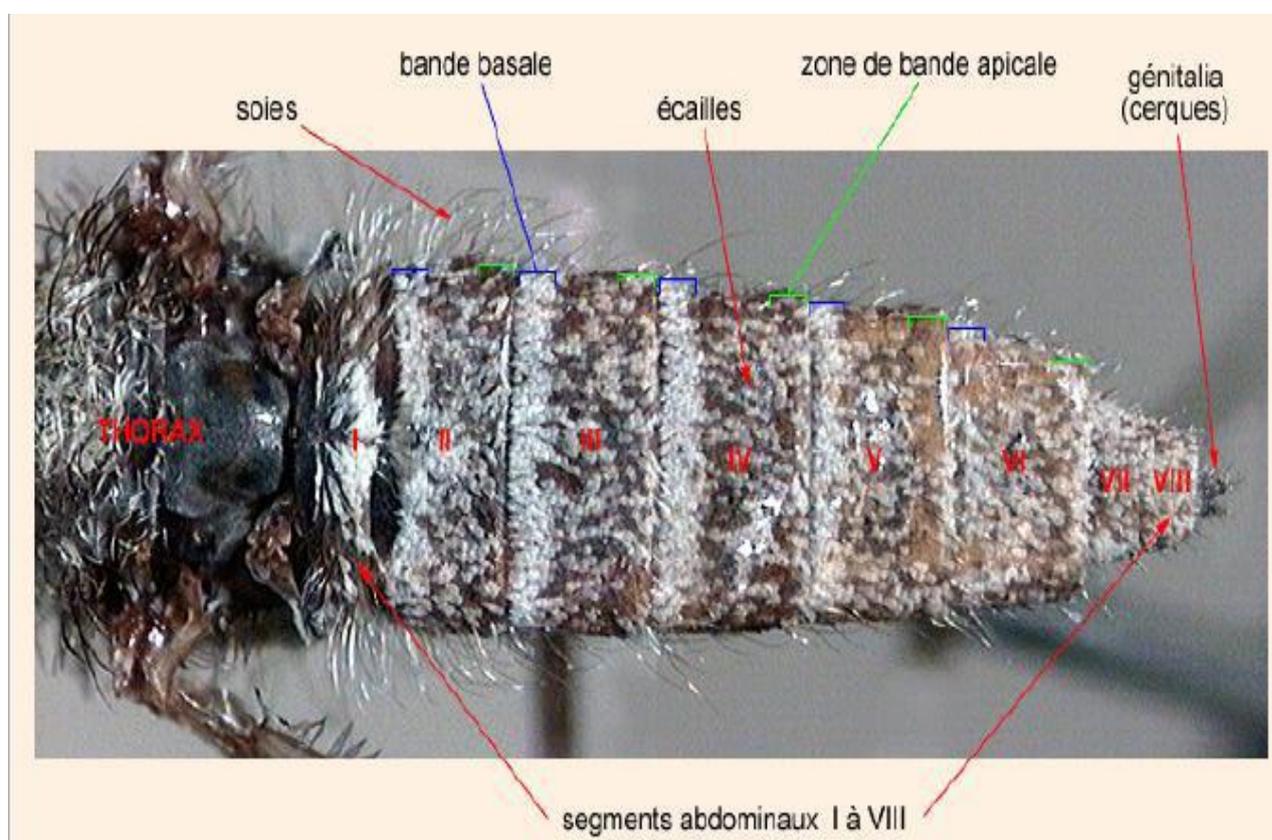
Le thorax est garni d'écailles dont l'arrangement, la forme et la couleur constituent souvent une ornementation spécifique. Les pattes présentent aussi des caractères taxonomiques, les plus importants sont la longueur relative des cinq tarse, la présence (ou absence) de pulvilli et l'ornementation due aux écailles. (Aouati, 2016).



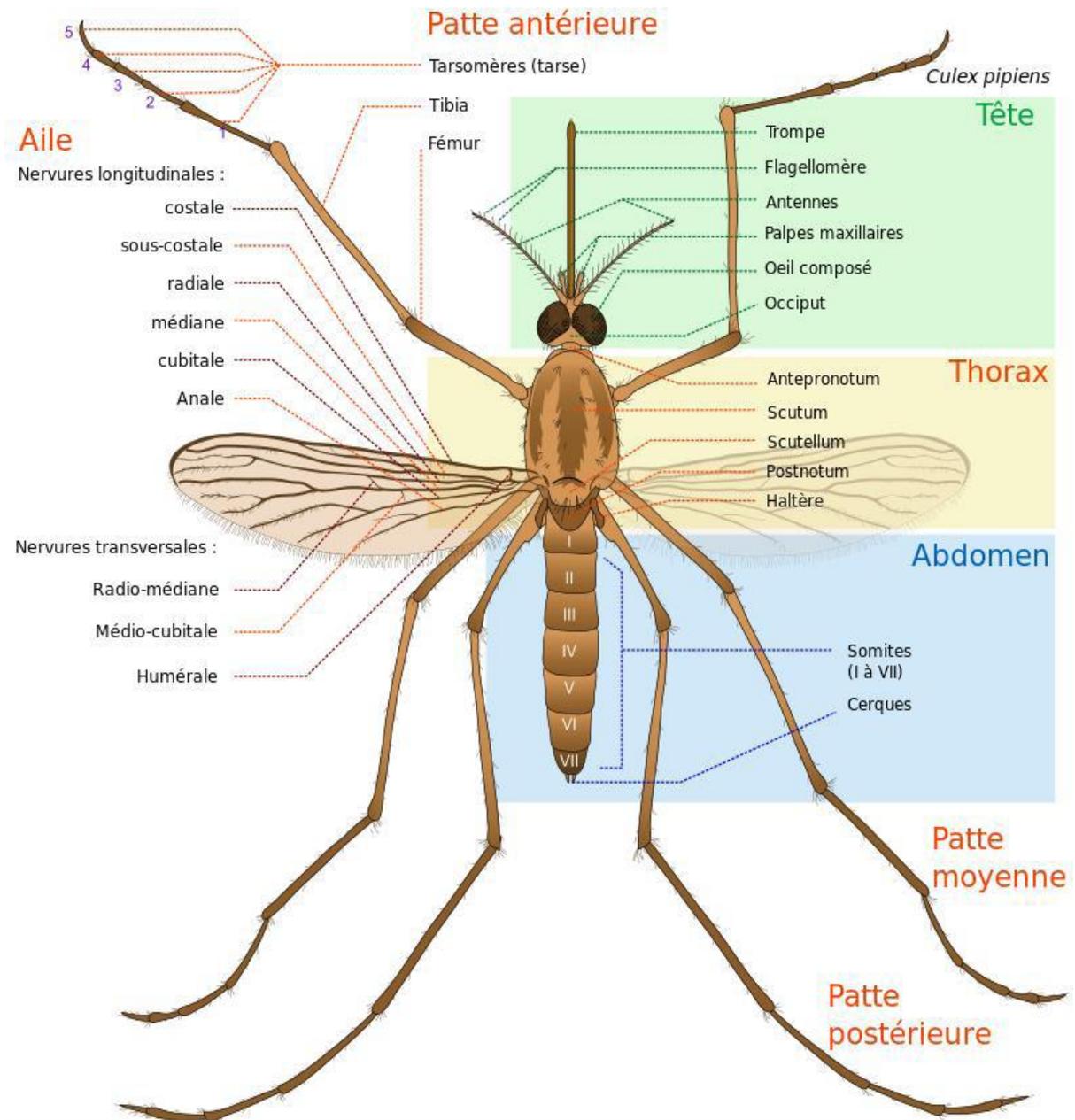
**Figure 12:** Morphologie du thorax de *Culex pipiens*. (Schaffner *et al.*, 2001)

### Abdomen

Il est mince et allongé (Aouati, 2015), il est composé de 9 segments terminés par 2 cerques, appendices courts protégeant l'anus et l'orifice génital. Il est recouvert d'écailles claires, brunes et blanches avec de longs poils sur la face dorsale. Une ligne longitudinale sombre ainsi que quelques taches sombres sur les cotés ornent la face ventrale. Chez les males, l'abdomen se termine en une armature génitale servant à maintenir la femelle durant l'accouplement. Chez les femelles, on trouve un oviscapte qui intervient lors de la ponte (Benserradj, 2015).



**Figure 13:** Morphologie de l'abdomen de *Culex pipiens*. (Schaffner *et al.*, 2001)



**Figure 14:** Morphologie générale d'un moustique adulte (Anonyme 2, 2018).

## V. Principales nuisances

Les Culicidae sont responsables de la transmission d'agents pathogènes qu'ils peuvent inoculer pendant leur repas sanguin. Ils représentent, de ce fait, un véritable problème de santé publique. Parmi ces moustiques, certains sont source de nuisance difficilement supportable. C'est le cas de *Culex pipiens* Linné, 1758, très répandu dans le monde. Il est présent en zones tropicales et tempérées (Berchi et al, 2012).

Distingue deux types de nuisances causés par culex pipiens :

La première est causée par la pique de la femelle qui va entraîner. Il est à noter que la pique 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 *Culex pipiens* injectée durant le repas sanguin, dues à l'injection d'antigènes salivaires, mais pouvant aussi être dues au simple contact avec le moustique ou ses excréments. Cela entraîne généralement un fort prurit.

La deuxième nuisance est liée à la transmission de maladies. En effet, Les moustiques sont vecteurs de nombreuses maladies. En règle générale, La transmission des agents pathogènes se fait selon un cycle peu varié : contamination du moustique sur un hôte n°1 porteur de maladie, maturation et parfois multiplication de l'agent pathogène dans le corps du moustique puis inoculation à un hôte n°2 lors d'un second repas sanguin.

On distingue 2 types d'agents pathogènes transmis par les culex :

**Virus** : comme le virus de la fièvre de la Vallée du Rift, de la famille des *Bunyaviridae* genre *phlebovirus* et West Nile, de la famille *Flaviviridae* genre *Flavivirus*

**Parasites**: comme le *Dirofilaria immitis* et *Dirofilaria repens*, et *Wuchereria bancrofti*. (Tabti, 2017).

## VI. Moyens de lutte

L'homme cherche, depuis longtemps, à lutter contre les moustiques pour s'en débarrasser. Cet insecte, incriminé dans des maladies sérieuses comme le paludisme, est devenu un problème de santé publique (Zerroug, 2018). Les moyens mis alors en oeuvre étaient essentiellement des mesures d'aménagement de l'environnement (Bouchekkif, 2017).

### Lutte physique

Elle consiste à modifier le biotope de l'insecte en supprimant tous les facteurs favorables à son développement (Thierry, 2011). Entend toute modification intentionnelle du milieu qui vise soit à faire disparaître ou réduire par des moyens physiques les nappes d'eau de surface dans lesquelles les moustiques se développent, soit à provoquer des modifications physiques du milieu qui rendent l'eau impropre à la reproduction des moustiques (Bakalem, 2014).

## **Lutte biologique**

La lutte biologique est l'utilisation d'organismes vivants pour prévenir ou réduire les dégâts causés par des ravageurs. Celle-ci s'illustre de différentes manières.

La lutte par entomophage, qu'il soit parasitoïde ou ravageur, s'effectue par l'introduction d'un animal ravageur de l'organisme cible. La lutte microbiologique est l'utilisation de microorganismes (champignons, bactéries) qui infectent la cible souvent par ingestion. (**Benserradj, 2015**).

## **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. (**Thierry, 2011**).

# **Chapitre 2 :**

*ROSMARINUS OFFICINALIS*



## I. Généralités

*Rosmarinus officinalis* L. appartient à la famille des herbes Lamiaceae (**wang et al 2012**), Cette famille compte 2700 espèces réparties en 31 genres (**Mansouri, Messabhia 2018**). Le romarin est une herbe ligneuse, aromatique et vivace aux feuilles persistantes en forme d'aiguilles. Originaires de la région méditerranéenne, elle est largement répandue dans le monde entier (**Sedighi et al, 2015**), Il est dérivé du mot latin *ros* (rosée) et *marinus* (mer) qui signifie «rosée de la mer» (**Begum et al, 2013**). Il est couramment utilisé comme épice pour sa saveur et son arôme, et en raison de ses propriétés chimiques, biochimiques ou organoleptiques spécifiques, le romarin est utilisé à des fins thérapeutiques, aromatiques et diététiques ou gastronomiques. Il a également des propriétés stimulantes, toniques et médicinales, et est utilisé dans la parfumerie, l'aromathérapie, les produits industriels et pharmaceutiques (**Kondoet al, 2018**). Parmi les utilisations médicinales pharmacologiquement validées du romarin figurent les effets antibactériens, anticancéreux, antidiabétiques, anti-inflammatoires et antinociceptifs, antioxydants, antithrombotiques, antiulcérogènes, améliorant les déficits cognitifs, antidiurétiques et hépatoprotecteurs (**Solomon, 2015**).

## II. Noms vernaculaires

Nom français : romarin, encensier, herbe aux couronnes, herbe aux troubadours.

Nom Anglais : rosemary, old man.

Nom Allemagne : rosmarin, weihrauchkraut, bodekraut.

Noms vernaculaires : Klil, Hassalhan , Iazir (**Mansouri , Messabhia.2018**).

## III. Classification

Selon **Begum (2013)**, *Rosmarinus officinalis* est classée comme suit :

**Règne** : Plantae

**Sous règne** : Tracheobionta

**Embranchement** : Spermatophyta

**Sous embranchement** : Magnoliophyta

**Classe** : Magnoliopsida

**Sous classe** : Asteridae

**Ordre** : Lamiales

**Famille** : Lamiaceae

**Genre :** Rosmarinus L

**Espèce :** Officinalis

**Nom binomial:** Rosmarinus officinalis L.

#### IV. Description botanique

Le Romarin Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) appartient à la famille des Lamiaceae ou Labiatae (**Mosayeb et al 2016**), est un arbrisseau vivement rameux, touffu, toujours vert (feuilles persistantes), très aromatique, de cinquante centimètres à deux mètres de haut. Il possède des tiges ligneuses subarrondies à écorce brun foncé, avec des feuilles sessiles opposées, étroites et entières (**Marion, 2017**), Les feuilles de *Rosmarinus officinalis* sont de couleur verte sombre luisante à la face supérieure et blanchâtre en dessous (**Mecheri, 2017**). Est facilement reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes (**Djellouli, 2016**), la floraison commence dès les mois de janvier- février et se poursuit jusqu'en avril – mai (**Zermane, 2010**), Les feuilles de cette plante et les branches principales sont récoltées au printemps et en été à des fins pharmaceutiques (**Noori Ahmad Abadi et al 2016**).



**Figure 15 :** *Rosmarinus officinalis* (photo originale).

## V. Origine et répartition

Le romarin pousse spontanément dans le sud de l'Europe (**Belbey, 2014**). Originaire des régions méditerranéennes. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chaud (**Benikhelf, 2014**) est l'une des plantes les plus populaires en Algérie puisqu'on la trouve dans tous les jardins et les parcs en bordure odorante (**Berkane, 2015**) où elle y est largement répartie et recouvre plus de 70000 ha du territoire national (**Aouati, 2016**).

## VI. Composition chimique

### VI.1. Huile essentielle

*Rosmarinus officinalis* L. contient une grande quantité d'huile essentielle (jusqu'à 1%), qui est largement utilisée en médecine traditionnelle. La composition chimique de l'huile de romarin a fait l'objet d'une étude considérable, examinée par Lawrence. Les composants rapportés étaient principalement monoterpènes, les principaux étant le pin-pinène, le 1,8-cinéole et le camphre (associés à des quantités variables de camphène, limonène, bornéol, verbénone, acétate de bornyle, etc.). Deux principaux types d'huile de romarin peuvent être distingués par rapport à ces constituants principaux: les huiles contenant plus de 40% de 1,8-cinéole (huiles du Maroc, de Tunisie, de Turquie, de Grèce, de Yougoslavie, d'Italie, de France) et les huiles avec des ratios approximativement égaux (20-30%) de 1,8-cinéole, pin-pinène et camphre (huiles de France, d'Espagne, d'Italie, de Grèce, de Bulgarie). Une autre composition chimique pourrait être définie en fonction de la quantité comparativement plus élevée de myrcène dans les huiles de Argentine, Portugal et Espagne (**Pintore, 2001**).

### VI.2. Composition phénoliques

*Rosmarinus officinalis*, L. est une riche source de composés phénoliques (**Nieto 2018**)

#### VI.2.1. Flavonoïdes

Provenant du mot latin flavus qui signifie jaune. Les flavonoïdes sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits, sont présents en concentrations élevées dans l'épiderme des feuilles (**Boumadjen et Kimouche, 2018**) Plus de dix flavonoïdes sont isolés et identifiés dans le romarin, la plupart d'entre eux sont des dérivés de flavones dont : l'apéginine, le genkwanine, le 6-méthoxy genkwanine, etc... (**Berkane, 2015**).

### VI.2.2. Les acides phénols

Ou acides phénoliques, sont rares dans la nature. Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (**Boumadjen et Kimouche, 2018**). Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages. Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales. (**fadi, 2011**) les acides phénoliques présents dans le romarin et à des teneurs importantes sont l'acide rosmarinique, l'acide caféique et l'acide vanéllique. (**Berkane, 2015**).

### VI.2.3. Diterpene

Actuellement, plus de douze diterpènes, sont isolés et identifiés dans le romarin, ils sont responsables à l'activité antioxydante de la plante (**Berkane, 2015**).

## VII. Propriétés biologiques

Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) est d'une importance considérable en raison de sa grande valeur médicinale et aromatique (**Hussain, 2010**). est une riche source de composés phytochimiques phénoliques ayant d'importants effets antioxydants, anti-inflammatoires, hypoglycémiques, hypolipidémiques, hypotensifs, anti-athérosclérotiques, anti-thrombotiques, hépatoprotecteurs et hypocholestérolémiques (**Vahdati Hassani, 2016**), l'extrait de romarin a également démontré une activité anticancéreuse dans différents modèles in vitro et dans des modèles de vivotumor (**Sakina, 2015**).

## VIII. Usage du romarin

### VIII.1. Usage médicinal

#### VIII.1.1. Voie externe

Pour les traitements externes (entorses, foulures, contusions, torticolis), on emploie les sommités infusées dans de l'alcool. L'extrait alcoolique lui-même agit sur les ulcères, les plaies, les dermatoses parasitaires. La décoction aqueuse s'utilise en gargarismes (angines) et bains de bouche (aphtes), ou elle est ajoutée à des bains stimulants (**Bousbia, 2011**).

L'huile essentielle de romarin soulage les troubles rhumatismaux et de la circulation sanguine, soigne les blessures, soulage les maux de tête, améliore la mémoire et la

concentration, fortifie les convalescents, combat les effets du stress et de la fatigue, traite l'inflammation des voies respiratoires et de la sphère ORL (**Bousbia, 2011**).

### **VIII.1.2. Voie interne**

Le romarin est un stimulant, antispasmodique, cholagogue. On l'indique pour ses qualités stimulantes dans les dyspepsies atoniques, les fermentations intestinales, les asthénies, le surmenage, les états adynamiques des fièvres typhoïdes ou muqueuses, de la grippe. En sa qualité d'antispasmodique, il est bénéfique dans la catarrhe chronique des bronches, la coqueluche, les vomissements nerveux ; c'est un bon cholagogue utilisé dans les cholécystites chroniques, certaines ascites et cirrhoses, les ictères ; c'est aussi un emménagogue (aménorrhée dysménorrhée) et un diurétique (hydropisies) (**Bousabia, 2011**).

### **VIII.1.3. Parfumerie et cosmétique**

Le romarin entre dans la composition de parfums surtout masculins, hespéridés aromatiques (eaux de Cologne), boisés et fugères aromatiques, ainsi que dans la formulation des pommades dermiques. Étudièrent la faculté des extraits de romarin a protégé la peau des lésions cutanées induites par les radicaux libres. Ils ont montré la validité réelle de la biotechnologie des antioxydants naturels dans la gestion de l'antivieillessement de la peau (**Bousbia, 2011**).

### **VIII.2. Usage alimentaire**

Le romarin est une bonne source naturelle de composés antioxydants. Il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour prévenir une éventuelle dégradation oxydative et microbienne des aliments (**Bousbia, 2011**)

## **IX. Activité biologique**

L'espèce *Rosmarinus officinalis* est caractérisée par ses propriétés thérapeutiques par l'usage traditionnel. Et il possède plusieurs activités biologiques, parmi les quelles on cite les plus importantes :

### **1. Activité antioxydante**

En général, les herbes et les plantes sont riches en composés aux propriétés antioxydantes, comme les vitamines (E et C), le glutathion, les enzymes et les composés

phénoliques (Nieto, 2018), *Rosmarinus officinalis* L. est une plante qui possède de nombreux composés à activité AOX, principalement des polyphénols (Moreno, 2006).

L'effet antioxydant du romarin est dû aux polyphénols présents dans les feuilles (principalement l'acide rosmarinique, le carnosol et l'acide carnosique), qui s'accumulent dans les membranes grasses des cellules où l'effet antioxydant est requis. (Nieto, 2018).

*Rosmarinus officinalis* exerce son effet antioxydant par plusieurs voies métaboliques. Par exemple, il a été démontré que l'huile essentielle et l'extrait de romarin détruisent et préviennent les radicaux libres. Le romarin est également capable de prévenir la peroxydation lipidique, un processus destructeur causé par le stress oxydatif. En plus de réduire la quantité d'espèces réactives dans le corps, le romarin s'est avéré augmenter l'activité des enzymes antioxydantes (Rafie et al, 2017).

## 2. Activité antibactérienne

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leurs environnements et assurent leurs ultimes défenses (Mecheri, Akdif, 2017) l'activité antimicrobienne du romarin dépend de la composition chimique de son huile essentielle (Rafie et al, 2017). Le Romarin a été testé sous différentes formes contre différentes bactéries à Gram positif ou négatif responsables de différents types de pathologies (Marion, 2017). Selon une étude, le romarin a le potentiel d'inhiber la résistance aux médicaments de certaines bactéries en surmontant et en réduisant l'imperméabilité des membranes de ces bactéries. Cela représente une stratégie innovante pour contenir et éliminer les souches de bactéries résistantes. (Rafie et al, 2017) les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes que les Gram positif, ceci est dû aux différences structurales de leurs membranes externes (Boutabia et al, 2016).

En revanche, Il a été démontré que le romarin inhibe la croissance de bactéries telles que *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* (Rafie et al, 2017).

## 3. Activité antifongique

En plus de ses propriétés antibactériennes, *Rosmarinus officinalis* possède plusieurs mécanismes antifongiques. Il a été démontré que l'huile essentielle de la plante inhibe l'adhésion de *Candida albicans* en dénaturant les structures cellulaires et en modifiant la perméabilité des membranes. Selon une étude, le romarin peut même empêcher le développement de biofilms fongiques très résistants. En enduisant les nanoparticules d'huile

essentielle de romarin, un nanobiosystème a été produit qui a considérablement inhibé l'adhérence et le développement du biofilm des souches fongiques de *Candida*. Ces deux nouvelles stratégies sont des alternatives nécessaires à la médecine traditionnelle dans le traitement contre les champignons résistants aux médicaments. La capacité d'inhiber la croissance et la production d'aflatoxines de nombreux champignons contribue au potentiel du romarin en tant que conservateur alimentaire efficace (**Rafi et al, 2017**). L'activité du Romarin est due au bornéol et aux autres composés phénoliques (camphre, 1,8-cinéole,  $\alpha$ -pinène, camphène, verbénone et acétate de bornyle) présents dans la fraction terpénique. (**Marion, 2017**).

#### 4. Activité insecticide:

Les Huiles essentielles de plantes ont été proposées comme une alternative prometteuse à l'anti-moustique. Une étude a effectué des tests sur des moustiques *Culex pipiens* femelles. Parmi les 9 Huiles essentielles testées, c'est celle du Romarin qui s'est avérée la plus efficace, cette étude suggère que 8 des Huiles essentielles testées dont celle de Romarin) peuvent être utilisées comme contrôle des vecteurs de maladies (par exemple, l'imprégnation des moustiquaires) (**Marion, 2017**). Et dans une autre étude les résultats montrent que l'huile essentielle de romarin possède un effet larvicide intéressant. (**Bezzaoui, 2013**). L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles de *R. officinalis* a montré la présence de certains composés connus pour leurs propriétés insecticides, tels que l' $\alpha$ -terpinéol, le 1,8-cinéole et le camphre et l' $\alpha$ -pinène. Plusieurs rapports indiquent que les monoterpènes provoquent la mort d'insectes en inhibant l'activité de l'enzyme acétylcholinestérase. et Certains monoterpènes peuvent également inhiber les monooxygénases dans le cytochrome P450 dépendant. Ainsi, il est probable que plus les monoterpènes oxygénés présents dans l'huile essentielle d'une plante, plus sa neurotoxicité est élevée (**Hannour et al, 2018**).

#### 5. Activité antidiabétique

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est plus largement accepté comme plante médicinale en raison de son activité antioxydante la plus élevée et est utilisé en médecine traditionnelle pour le traitement du diabète sucré (**Ramadan et al, 2013**). Les propriétés antioxydantes du romarin exécutent plusieurs mécanismes antidiabétiques et hypoglycémiques. Dans une étude, l'extrait de romarin a abaissé la glycémie chez des lapins normoglycémiques, hyperglycémiques et diabétiques. En inhibant la peroxydation lipidique et en activant des enzymes antioxydantes, l'extrait a également favorisé la sécrétion d'insuline.

Le romarin a également été trouvé pour atténuer le retard de cicatrisation des plaies, une complication grave du diabète. Ces activités antidiabétiques sont attribuables à l'amélioration du statut antioxydant de l'organisme après l'administration de romarin (**Rafie et al, 2017**).

## 6. Activité anti-inflammatoire

*Rosmarinus officinalis* a montré de puissants mécanismes anti-inflammatoires dans plusieurs des études examinées. L'huile essentielle et l'extrait de romarin se sont avérés inhiber de manière significative la migration des leucocytes *in vivo*. Cela a réduit le nombre de leucocytes (globules blancs) au site de l'inflammation, entraînant une réponse anti-inflammatoire. L'extrait de romarin a également inhibé d'autres substances pro-inflammatoires, telles que l'oxyde nitrique et les gènes associés à l'inflammation. Alors que le carnosol et l'acide carnosique semblent être particulièrement importants, l'activité anti-inflammatoire du romarin dépend très probablement d'un mécanisme synergique entre plusieurs de ses composants. Ces études suggèrent que l'effet anti-inflammatoire de *R. officinalis* est plutôt fort; en fait, les activités anti-inflammatoires du carnosol pur et de l'acide carnosique se sont révélées être neuf fois plus élevées que celles de l'indométacine, un médicament anti-inflammatoire courant (**Rafie et al, 2017**).

## 7. Activité anticancéreuse

De nombreuses études ont rendu compte des mécanismes anticancéreux de *Rosmarinus officinalis*. Le romarin a montré d'importantes activités anti-prolifératives contre plusieurs lignées cellulaires cancéreuses humaines. Il a été démontré que les principaux composés de l'extrait de plante, tels que l'acide carnosique, le carnosol et l'acide rosemarinique, induisent l'apoptose au sein de ces cellules cancéreuses, probablement par la production d'oxyde nitrique. L'acide carnosique semble être le plus puissant promoteur de l'apoptose. L'extrait de romarin a également une activité antitumorogène intrigante. Dans une étude, l'extrait s'est révélé inhiber fortement la tumorigénèse cutanée chez la souris en empêchant les agents cancérigènes de se lier à l'ADN épidermique.

Cet effet anti cancérigène est provoqué par l'activité antioxydante de l'extrait. Ces activités anti-prolifératives et anti-tumorogènes de *R. officinalis* peuvent éventuellement être utilisées dans de futurs traitements contre le cancer et méritent une enquête plus approfondie (**Rafie et al, 2017**).

## **X. Généralité sur les huiles essentielle**

### **X.1. Définition**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de substances organiques aromatiques liquides qu'on trouve naturellement dans diverse partie des végétaux, Elles sont concentrées, volatiles, non huileuses et sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur. (Mechri, Akdif, 2017). Elles sont des composés oxygénés, parfois d'origine terpenoides et possédant un noyau aromatique (Fadi, 2011) obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (Vangelder, 2017).

### **X.2. Classification**

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens et grâce à l'indice aromatique obtenu par des aromatogramme, les huiles essentielles sont classées en groupes.

- Les huiles majeures
- Les huiles médiums
- Les huiles terrains (Guermit et Rhaim, 2019)

### **X.3. Propriétés physicochimiques**

Toutes les huiles essentielles sont volatiles, odorantes et inflammables, ils sont généralement incolores ou de couleur jaune pâle à l'état liquide à température ambiante. Leurs densités sont souvent inférieures à 1. Seules trois huiles essentielles officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les huiles essentielles de cannelle, de girofle et de sassafras. Elles sont peu solubles dans l'eau, mais solubles dans les alcools et dans la majorité des solvants organiques. Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation (Beddiar, 2016).

**Chapitre 3 : *LUTTE***  
***BIOLOGIQUE CONTRE LES***  
***INSECTES***

## I. Généralités

Des maladies vectorielles constituent aujourd'hui un enjeu majeur. Ce contrôle passe par la compréhension des mécanismes de transmission de la maladie, qui sont généralement complexes du fait du mode de transmission indirect des maladies à transmission vectorielle faisant intervenir de nombreux acteurs (**Alaoui, 2010**).

Les colonies d'insectes sociales se caractérisent par de vastes interactions entre les individus, des échanges qui peuvent également potentiellement transmettre des agents pathogènes. (**Feigenbaum, 2010**). Les arthropodes hématophages tels que les moustiques, les tiques et les puces ont une importance significative en santé publique en raison de leur capacité à transmettre des maladies majeures aux humains et aux animaux (**Nebbak, 2017**). La transmission active se produit lorsque l'agent pathogène pénètre activement dans le corps de son hôte après avoir pris contact avec lui; cela se produit avec les ankylostomes. Enfin, la transmission inoculative se produit lorsqu'un vecteur tel qu'un moustique injecte l'agent pathogène dans le nouvel hôte pendant le processus d'alimentation sanguine, comme cela se produit avec les protozoaires causant le paludisme (**Capinera, 2010**). Malgré le succès de nombreuses campagnes de prévention et de programmes de lutte, nous assistons depuis une trentaine d'années à l'émergence et à la recrudescence de maladies à transmission vectorielle (**Viennet, 2011**).

## II. Lutte contre les insectes

L'efficacité d'une lutte quel que soit chimique, biologique, physique ou environnementale dépend de la solidité de ses bases écologiques en particulier de la connaissance de variations spatio-temporelles, du développement et de l'activité de l'insecte. L'efficacité du traitement, le coût économique et le coût écologique sont les éléments à prendre en compte dans le choix de type d'intervention. La reconnaissance des espèces des moustiques en particulier les vecteurs des agents pathogènes semble être qu'un simple exercice académique de taxonomiste, mais une étape fondamentale et indispensable dans toute opération de lutte anti-vectorielle, Ainsi il convient de reconnaître tous les aspects de lutte (**Guermit et Rhaim 2019**).

## II.1. Lutte chimique

La lutte chimique repose sur l'utilisation de produits chimiques (insecticides) à effet toxique envers les insectes cibles (**Guermi et Rhaim 2019**). Les compositions utilisés au début contre les organismes nuisibles étaient des pesticides de première génération relativement simple à base d'arsenic, de soufre, de chaux, de dérivés de pétrole, de substance à base de fluor ou extraite de plantes comme la nicotine. Ces pesticides se caractérisent par leur toxicité relativement élevée pour les organismes non visés et surtout par leur rémanence, ou encore leur lente décomposition dans l'environnement. Par la suite, des composés synthétiques de deuxième génération de nature organochlorés, organophosphorés ou carbamates, ont été mis en place (**Toulab, 2018**).

## II.2. Lutte physique

La base de toute lutte anti-vectorielle repose sur une gestion environnementale des populations de moustiques qui passe tant par une modification des habitats destinée à prévenir, limiter ou supprimer les gîtes larvaires potentiels (drainage de milieux humides, traitement des eaux usées, remblai) que par une adaptation du comportement humain en vue de réduire au mieux le contact hôte-vecteur (gestion des déchets, suppression ou bâchage de récipients d'eau potentiels). Cette technique de gestion élémentaire fut prépondérante jusqu'à l'avènement des insecticides de synthèse lors de la seconde guerre mondiale. Suivant les avancées scientifiques et technologiques du moment, elle a pu être renforcée par des moyens physiques et mécaniques, tels l'épandage d'huile à la surface des eaux ou encore le piégeage massif des adultes à proximité des habitations. L'importance de ces méthodes est capitale en milieu urbain car elles permettent la prévention et la réduction de l'abondance des espèces anthropophiles dangereuses (**Bawin et al, 2014**).

## II.3. Lutte écologique

C'est l'ensemble des mesures environnementales qui font obstacle à la reproduction des moustiques ou qui conduisent à l'élimination des gîtes larvaires. Elle vise la destruction des gîtes et la modification de l'environnement de façon à la rendre défavorable à la survie de l'arthropode. Elle peut se faire par drainages et assèchement des points d'eau, gestion des déjections et des engrais de fermes et gestion adaptée des ensilages (**Toubal, 2018**).

### III. Résistance des insectes

L'utilisation des insecticides pour lutter contre les ravageurs ne détruit pas toujours la totalité des populations visées. Certains insectes, moins sensibles à l'insecticide en question et à la dose administrée survivent. Pour détruire les survivants, ces populations ont besoin d'une concentration plus forte en insecticide et dans certains cas, les doses administrées deviennent totalement inefficaces (**wafa, 2011**).

La résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens est un phénomène qui se développe de façon inquiétante (**Haubruge, 1998**). La résistance est définie comme étant le développement de la capacité à tolérer des doses élevées de toxines qui peuvent être létales pour la plupart des individus dans une population (**wafa, 2011**).

Presque tous les insecticides chimiques sont des neurotoxiques. Ils perturbent le système nerveux de l'insecte en entraînant sa paralysie puis sa mort. Mais, pour agir, le poison doit pénétrer puis circuler dans l'organisme pour atteindre les cellules cibles. Les insecticides agissent sur le déroulement des mécanismes qui régulent l'influx nerveux, et toute action qui en bloque les effets conduit inévitablement à une résistance. Les résistances sont contrôlées par un ou plusieurs gènes qui permettent à l'insecte d'éviter le contact avec le composé toxique, de diminuer sa pénétration, d'augmenter son excrétion ou encore sa détoxification, et même de modifier la structure des cibles, de sorte que l'affinité avec l'insecticide est diminuée. Depuis une cinquantaine d'années, le nombre des insectes résistants s'est considérablement accru. On en compte actuellement plus de 500 espèces, dont le quart serait des moustiques (**Darriet, 2007**).

### IV. Mécanismes De Résistance

Parallèlement à l'usage intensif des insecticides sont apparues chez les moustiques de nombreuses résistances à ces composés (**Darriet, 2007**).

Plusieurs travaux ont été rapportés sur la résistance de *Culex pipiens* aux insecticides chimiques. (**Tmimi et al, 2018**) ont montré que les populations sauvages de *Cx. pipiens* ont développé une résistance contre les principales familles d'insecticides avec différents modes d'action: organochlorés (DDT), organophosphates (malathion), carbamates (bendiocarb), pyréthroïdes (lambda-cyhalothrine, perméthrine). De même (**El-Akhal et al, 2016**) ont testé les concentrations létales CL50/90 de quatre insecticides (malathion, fenthion, temephos et fenitrothion) sur les larves des stades trois et quatre de *Culex pipiens*. La population de *Culex*

pipiens étudiée présente une résistance importante pour les temephos et les fenitrothions. Toutefois, un début de résistance pour le malathion a été observé avec un taux remarquable pour le fenthion (**Haouam et Achouri, 2019**).

Les mécanismes de résistance sont classés en trois grandes catégories : comportementales métabolique et biochimiques.

#### **IV.1. Résistance Biochimique Aux Insecticides**

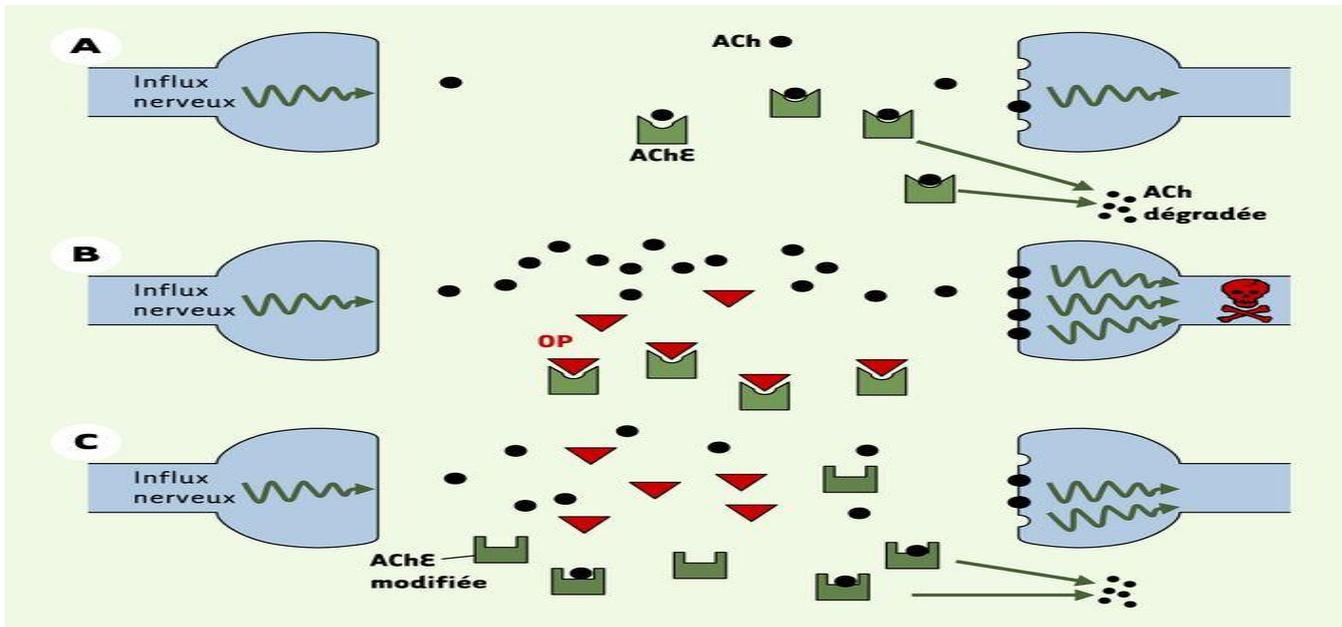
La résistance biochimique se situe au niveau cellulaire. Au moment où l'insecte entre en contact avec l'insecticide, ce dernier pénètre dans l'organisme et atteint les cellules, ainsi il entrave le fonctionnement normal des protéines et des enzymes cibles. On distingue alors deux types de modifications

- Une activité accrue des systèmes de dégradation des xénobiotiques (et donc des insecticides).
- Une modification de la cible de l'insecticide devenant capable de fonctionner correctement malgré la présence d'insecticide. Une diminution de l'affinité des sites d'action vis-à-vis des insecticides (**wafa, 2011**).

#### **Exemple : La résistance aux insecticides organophosphorés (OP)**

Les estérases constituent un groupe important d'enzymes qui catalysent l'introduction d'une molécule d'eau au niveau d'une liaison, ester ou amide, spécifique du substrat. Ces estérases ont la capacité de métaboliser les insecticides ; ils hydrolysent les esters carboxyliques et les pyréthroïdes naturels et synthétiques (**wafa, 2011**). Dans les cas de résistance, ces estérases sont produites en excès (Mylène et al, 2003). Les estérases agissent en piégeant l'insecticide, ce phénomène est appelé le phénomène de "séquestration". Ce phénomène de "séquestration" des pesticides par une estérase a été observé chez plusieurs espèces (**wafa, 2011**). Ces insecticides inhibent l'acétylcholinestérase, enzyme responsable de l'hydrolyse de l'acétylcholine dans les synapses cholinergiques. Cette inhibition prolonge la durée de l'influx nerveux, ce qui conduit rapidement à la mort du moustique (**Figure 16**). Développer une résistance à ces toxiques implique donc de supprimer ou de diminuer l'inhibition de l'acétylcholinestérase des synapses. L'étude des différents phénotypes de résistance et des changements génétiques qui leur sont associés, permet d'appréhender

finement comment se fait cette adaptation et comment elle se modifie au cours du temps  
(Haouam et Achouri, 2019)



**Figure 16 :** Rôle de l'acétylcholinestérase1 (AChE1) dans la transmission synaptique. (Mylène et al, 2003).

**A.** Situation d'un moustique sensible sans insecticides. L'AChE1 dégrade l'excès d'acétylcholine dans la synapse. **B.** Situation d'un moustique sensible en présence d'insecticides (OP). Les insecticides inhibent l'AChE1 qui ne dégrade plus suffisamment l'acétylcholine, ce qui conduit à un prolongement toxique de l'influx nerveux. **C.** Situation d'un moustique résistant en présence d'insecticides. Les OP n'inhibent plus l'AChE1 modifiée. En revanche, l'acétylcholine est moins bien dégradée par l'enzyme mutée que par l'enzyme

## IV.2. Résistance Métabolique

Les insecticides doivent atteindre leurs cibles pour exercer leurs effets toxiques. Avant de les atteindre, ils sont transportés à travers l'organisme où ils subissent un processus de biotransformation comme de nombreux composés étrangers à l'organisme (xénobiotiques). (Louat, 2013) Cette catégorie regroupe les mécanismes biochimiques entraînant une dégradation de l'insecticide en métabolites moins toxiques ou inactifs et plus facilement excrétables par les insectes (plus faible lipophilie), diminuant ainsi la quantité d'insecticide atteignant la cible. (Thierry et al, 2014). Ce processus biochimique implique des enzymes à large spectre de substrats appelées enzymes de détoxification. Ces enzymes de détoxification, qui

sont retrouvées chez les vertébrés comme chez les invertébrés, peuvent intervenir au cours de la phase I ou de la phase II du métabolisme. (**Louat, 2013**)

Les réactions de phase 1 nécessitent des enzymes qui vont catalyser trois types de réactions : oxydation, réduction et hydrolyse. (**Bonet, 2011**), Ce processus s'effectue par un système monooxygénase dépendant du CYP450 (**Bensakhira, 2018**) qui permettent de greffer un groupement fonctionnel sur le xénobiotique pour faciliter l'action des enzymes de la phase II, Cependant il existe d'autres classes d'enzymes qui interviennent durant cette phase comme les déshydrogénases ou les estérases qui sont capables d'hydrolyser certains insecticides comme les organophosphorés (**Louat, 2013**), et Les groupements fonctionnels issus des réactions de phase I peuvent être ensuite conjugués, C'est la réaction de la phase II (**Bensakhira, 2018**) Cette phase de conjugaison fait intervenir différentes classes d'enzymes tel que les glutathion S-transférases (GSTs) ou bien les carboxylestérases (COEs). Ces enzymes peuvent avoir une action individuelle sur la molécule insecticide mais aussi agir successivement lorsque la détoxification de l'insecticide implique plusieurs phases (par exemple hydroxylation par les P450s suivie d'une conjugaison par les GSTs) Donc, Les P450s peuvent catalyser un grand nombre de réactions chimiques comme des hydroxylations, dealkylations, epoxydations, oxydations etc. Les GSTs catalysent l'addition d'un groupement glutathion par conjugaison, mais peuvent aussi catalyser la déchloration des organochlorés comme le DDT. Enfin, les estérases catalysent l'hydrolyse de liaisons ester. On peut noter que d'autres familles d'enzymes peuvent également être impliquées dans la détoxification mais cela reste assez peu documenté (**Thierry et al, 2014**). En effet, une augmentation de la métabolisation de ces composés entraîne une diminution de la quantité d'insecticides dans l'organisme et donc une diminution de la quantité qui atteindra la cible. L'insecte devient tolérant à l'insecticide (**Louat, 2013**).

### IV.3. Résistance Comportementale

Pour qu'un insecticide soit efficace, il faut qu'il entre en contact avec l'insecte ciblé (**Goulu, 2015**). Ainsi, La résistance comportementale correspond à un changement de comportement suite à une exposition aux insecticides (**Louat, 2013**). Deux comportements ont été observés : le premier était une répulsion rapide suite au contact avec l'insecticide et la fuite des individus en présence d'insecticide avant que des doses létales ne soient absorbées; et le deuxième était un évitement de l'insecticide avant tout contact. Ces comportements peuvent avoir des effets négatifs sur la fécondité des

moustiques qui vont devoir se déplacer plus pour éviter le contact avec les insecticides (Goindin, 2016). une étude a montré que certaines mouches domestiques évitaient le contact avec le matériel contaminé par des insecticides (Poupardin, 2011).

## V. Lutte biologique

La définition adoptée par l'organisation internationale de la lutte biologique (OILB) est : « utilisation par l'homme d'ennemis naturels (Bouzerida et al, 2016) Elle recourt à trois types d'organismes : les prédateurs, qui consomment plus d'une proie pour se développer de l'œuf à l'adulte. Les parasitoïdes, qui se développent à partir d'une seule proie ou hôte. et les agents pathogènes (virus, bactéries par exemple) (Saharaoui, 2017).

### Les organismes utilisés en lutte biologique

Auxiliaire a la même signification qu'antagoniste ou ennemi naturel. Pratiquement tous les organismes vivants peuvent être considérés comme des auxiliaires selon l'angle avec lequel on examine leur écologie. Lorsqu'on s'intéresse aux arthropodes ravageurs, on peut les subdiviser en quatre groupes.

**Les microorganismes:** Les microorganismes regroupent des bactéries (environ une centaine d'espèces), des virus (650-1200 espèces), des champignons (700 espèces) et des protozoaires (six phyla) pathogènes aux insectes.

**Les nématodes entomophages:** Les nématodes entomophages exploitent les insectes comme ressource pour se développer et se reproduire. On retrouve des nématodes 29 entomophages dans 30 familles différentes ce qui représente environ 4000 espèces.

**Les parasitoïdes:** Les parasitoïdes représentent une classe d'auxiliaires qui se développent sur ou dans un autre organisme « hôte » dont ils tirent leur moyen de subsistance et le tuent comme résultat direct ou indirect de leur développement. Quand l'insecte parasitoïde émerge de sa chrysalide en tant qu'adulte, il se nourrit habituellement sur le miellat, le nectar ou le pollen, bien que quelques adultes se nourrissent des fluides du corps des hôtes et que d'autres exigent de l'eau additionnelle. Normalement, les parasitoïdes sont plus petits de leurs proies et s'attaquent à un stade particulier de développement de la proie. Les parasitoïdes laissent souvent des traces de leur activité (par exemple, les momies des pucerons). Le mode de vie parasitoïde, tel que défini plus haut, représente entre 5 et 20% des espèces d'insectes.

**Les prédateurs:** Les prédateurs tuent et consomment leurs proies souvent au stade larvaire. L'adulte peut soit avoir le même régime alimentaire que la larve (comme les forficules), soit être polliniphage, nectariphage, ou encore se nourrir de miellat des Homoptères (comme les syrphes). Les prédateurs sont généralement plus grands que leurs proies. On retrouve des espèces prédatrices de façon importante chez neuf ordres d'insectes principalement chez les Hémiptères, Coléoptères, Diptères et Hyménoptères. (**Dib, 2010**)

Sous le vocable, on retrouve notamment l'emploi de prédateurs naturels des moustiques pour lutter contre ces derniers, comme les oiseaux, les chauves-souris, les poissons et certains insecte (**Bouchakkif, 2017**).

L'action contre les larves de moustiques par des agents naturels consiste à détruire les larves ou à empêcher leur développement par l'utilisation de forces naturelles animées ou inanimées. La lutte biologique consiste à introduire, dans le biotope des moustiques, des espèces qui sont leurs ennemis, tels que microorganismes ou prédateurs naturels des larves de moustiques ; les moyens les plus répandus sont les larvicides biologiques et les poissons larvivores (**Alaoui, 2010**). C'est le cas du poisson larvivoire *Gambusia affinis* dont l'action est limitée aux eaux permanentes et de la bactérie, *Bacillus sphaericus* qui provoque une mortalité chez les larves de moustique des genres *Culex* et *Anopheles*, à degré moindre sur les *Aedes*. Les poissons herbivores (carpe) sont utilisés en Chine pour dévorer les herbes qui servent d'abris aux larves de moustiques (**Guermi et Rhaim, 2019**).

### V.1. Lutte par les agents naturels

L'utilisation d'autres moyens de lutte que les insecticides de synthèse afin de contrôler les populations d'insectes nuisibles devient de plus en plus nécessaire afin de préserver la santé des populations non ciblées (**Habbachi et al 2013**). Suite à les conséquences néfastes de la lutte chimique, la recherche a élaboré d'autres méthodes alternatives aux insecticides chimiques, ce qui a conduit au développement et utilisation de nouvelles molécules prenant en considération les paramètres biologiques, physiologiques et biochimiques des organismes vivants (**Aouati, 2016**) en revanche, peuvent être efficaces, sélectifs et biodégradables, avec peu ou pas de résistance du ravageur et aucune toxicité pour l'environnement. (**Tozul et al, 2011**).

Ces molécules sont décrites comme étant la troisième génération d'insecticide, c'est l'utilisation de plantes dans la lutte anti vectorielle, en effet ces extraits de plantes aqueux ou

sous forme d'huiles essentielles contiennent des substances toxiques pouvant agir efficacement sur les moustiques.

C'est des sources de molécules naturelles présentant un grand potentiel d'application contre les insectes et d'autres parasites des plantes et du monde animal. L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations (**Aouati, 2016**).

### V.1.1. Par l'huile essentielle

Il est à noter que, l'espèce de plantes a un certain nombre de types de chimio très différents, et parfois, la part du constituant principal peut être seulement mineure dans l'huile essentielle.

Les huiles essentielles et leurs constituants volatils sont largement utilisés dans la prévention et le traitement des maladies humaines. Diverses huiles essentielles ont également été documentées pour montrer des effets toxiques aigus contre les microbes et les insectes, y compris les moustiques (**El-akhal et al 2016**).

Les huiles essentielles isolées de plantes composées principalement de monoterpènes bioactifs peuvent avoir des effets attractifs ou répulsifs. Dans certains cas, ils montrent une action insecticide telle qu'une inhibition de la mue et de la respiration, une réduction de la croissance et de la fécondité, une perturbation des cuticules et des effets sur la voie de l'octopamine invertébrée (**Tozul et al, 2011**) En outre, les monoterpènes inhibent la cholinestérase (**Bouchekkif, 2017**).

Les huiles essentielles sont également des répulsives efficaces contre certaines espèces d'insectes et leurs vapeurs et leurs constituants purs présentent également des effets toxiques contre les larves et les adultes de certains insectes. Les huiles essentielles de plantes peuvent avoir des effets directs et / ou indirects minimaux sur les ennemis naturels pour l'équilibre écologique. Pour ces raisons, les huiles essentielles sont actuellement à l'étude pour leurs propriétés de lutte antiparasitaire à large spectre (**Tozul et al 2011**).

Les résultats trouvés par Sayah en 2014 confirment l'activité larvicide des huiles essentielles de *Citrus aurantium*, *Citrus sinensis*, *Pistacia lentiscus* aux doses létales D50 et DL80, qui ont été testés sur les larves *Culex pipiens* (**Sadallah et Belkhaoui 2016**).

Ont été testé des huiles essentielles du romarin (*Rosmarinus officinalis*) sur les adultes du puceron vert des agrumes *Aphis spiraeicola* par Ousaadi et Nail en 2019. A été

calculé le dénombrement d'insectes d'*Aphis spiraeola* morts sous l'effet de l'huile essentielle du romarin, l'inventaire de la mortalité a été suivi chaque 24 h, et pendant 08 jours. Les résultats obtenus, montrent que *Rosmarinus officinalis* L a un effet insecticide très fort vis-à-vis d'*Aphis spiraeola* ; avec un taux maximum de mortalité de 100% aux doses 0,1% et 10% après 168 h d'exposition, par ailleurs, il a été démontré que l'effet des autres doses pour l'extrait persiste dans le temps et avec l'augmentation de la dose (DL50 de 0,26%).

### V.1.2. Par extrait aqueux

Les extraits aqueux de feuilles fraîches de *D. gnidium* sur les larves de quatrième stade de l'espèce *Culex pipiens* (moustiques) révèlent une sensibilité traduite par les taux de mortalité élevés, l'activité de *D. gnidium* est progressive puisque la mortalité augmente au fur et à mesure que le temps avance et peut atteindre un taux maximal de mortalité 100% pour les doses les plus élevés, ceci montre que la mortalité est corrélée aux doses utilisées et au temps d'exposition de 48h (**Bouzerida, 2016**).

*Rosmarinus officinalis* ont été choisis dans les essais toxicologiques à l'égard du quatrième stade larvaire de *Culex pipiens*. Dans le but de connaître l'effet larvicide de l'extrait hydroéthanolique de la plante *Rosmarinus officinalis*, des essais toxicologiques préliminaires sur les larves du 4ème stade de *Culex pipiens* nouvellement exuvies ont été réalisés. Les résultats obtenus révèlent un effet toxique très faible traduit par un taux de mortalité faible et une sensibilité variable des larves L4 nouvellement exuvies de *Culex pipiens* vis-à-vis des concentrations testées 151 mg/ml et 604 mg/ml de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis*. Les résultats montrent également que l'activité larvicide est progressive avec la durée de traitement, puisque on a enregistré une augmentation de la mortalité au fur et à mesure qu'on prolonge le temps d'exposition de 24 à 48 et 72 heures. (**Mansouri et Messabhia, 2018**).

### V.1.3. Par autres extraits

L'utilisation des extraits de plantes comme le pyrèthre, la nicotine et la roténone était connue depuis longtemps déjà comme agents de lutte contre les insectes ; les extraits de plantes agissent de deux façons possibles ; une action larvicide pouvant causer une mortalité appréciable des larves en 1 à 12 jours, ou une action juvénile mimétique de l'hormone juvénile, avec allongement de la durée de la vie larvaire pouvant inhiber la nymphose (**Aouati, 2016**).

## V.2. Lutte microbiologique

La plupart des micro-organismes possèdent un spectre d'hôtes étroit de leur mode d'action spécifique, ce qui permet de limiter les effets sur les organismes non ciblés: c'est là leur atout commun. Le choix d'un agent de contrôle microbien dépend de l'espèce d'insecte ciblée, et par-delà des possibilités de conditionnement et d'application de l'agent lui-même. Plusieurs stratégies d'application de ces micro-organismes existent. Il peut s'agir de promouvoir les micro-organismes existant déjà dans l'environnement de l'insecte ciblé (augmentation), ou encore de les y introduire et les acclimater à long terme (inoculation). Mais les micro-organismes sont plus particulièrement indiqués pour être appliqués sous forme de biopesticides (inondation) pour un contrôle rapide des populations d'insectes (**Bawin et al, 2014**)

**Chapitre 4 : *Effet larvicide de  
l'huile essentielle de Rosmarinus  
officinalis à l'égard de Culex pipiens :*  
*Métabolites***

## I. Généralités

Chez les insectes, les dépenses énergétiques tout en volant ou nageant ou exerçant n'importe quelle fonction vitale, exigent la synthèse et la mobilisation des métabolites (protéines, glucides et lipides). Ces métabolites jouent un rôle essentiel dans la physiologie des insectes. Les glucides représentent une source d'énergie importante et servent à l'élaboration des produits génitaux et des structures membranaires. Les lipides représentent 35% de la composition des ovocytes chez l'*Aedes aegypti* et 40% du poids sec des œufs. Les protéines, à leur tour, jouent un rôle fondamental dans diverses réactions et peuvent assurer la catalyse biochimique, la régulation hormonale et s'intègrent dans la cellule en tant qu'éléments structuraux en même temps que les glucides et les lipides. Ces métabolites sont synthétisés dans le corps gras puis transportés vers les organes utilisateurs via l'hémolymphe (**Barreh, 2016**). Cette étude but d'évaluer l'effet des huiles essentielles de *Rosmarinus Officinalis* sur *Culex pipiens*, espèce de moustique la plus répandue dans la région de Tébessa, pour détermination principaux constituants biochimiques corporels (protéines, lipides et glucides).

## II. Extraction et dosage des métabolites

L'extraction des différents métabolites a été réalisée selon le procédé de (Shibko et al., 1966). Les échantillons (larves du quatrième stade de *Cx pipiens*) sont placés dans des tubes eppendorf contenant 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et broyés. Après une première centrifugation (5000 trs / min, 10 mn), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de Duchateau & Florkin, (1959). Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides (Goldworthy et al., 1972) et le culot II, dissout dans de la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines selon Bradford, (1976) (**Kouider, Attia 2016**).

### II.1. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de Bradford (1976) dans une fraction aliquote de 100µl à laquelle on ajoute 4ml de réactif du bleu brillant de comassie (BBC) G 250 (Merck). La solution de BBC se prépare comme suit: on homogénéise 100mg de BBC dans 50ml d'éthanol 95°, on ajoute ensuite 100ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 1000ml avec l'eau distillée. La durée de conservation du réactif est de 2 à 3

semaines à 4°C. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de boeuf (Sigma) titrant 1mg/ml (Nadji, 2011). (Tableau 01).

**Tab.01 :** Dosage des protéines totales chez les larves de quatrième stade de *Culex pipiens*: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution standard d'albumine (μl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (μl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité d'albumine (μg)	0	20	40	60	80	100

## II.2. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de Duchateau & Florkin (1959). Elle consiste à ajouter 4ml du réactif d'anthrone à 100μl du surnageant I, et chauffer le mélange à 80°C pendant 10min; une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des glucides présente dans l'échantillon la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 620nm. Le réactif d'anthrone se prépare comme suit: on ajoute 75ml d'acide sulfurique concentré et 25ml d'eau distillée à 150mg d'anthrone, respectivement, pour obtenir une solution limpide de couleur verte qui sera stockée à l'obscurité. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1 mg/ml) (Nadji, 2011). (Tableau 02).

**Tab. 02:** Dosage des glucides totaux chez les larves de quatrième stade de *Culex pipiens*: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de glucose (μl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (μl)	100	80	60	40	20	0
Réactif d'anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité de glucose (μg)	0	20	40	60	80	100

### II.3. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy et al, (1972) utilisant le réactif sulfo-phospho-vanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100µl des extraits lipidiques ou de la gamme étalons. On évapore totalement le solvant puis on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré. Les tubes sont agités et placés pendant 10minutes dans un bain à sec à 100°C. Après refroidissement, on prend 200µl de ce mélange auquel on ajoute 2,5ml de réactif sulfo-phospho-vanillinique. Après 30 minutes à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide sulfurique, en présence de vanilline et l'acide orthophosphorique, des complexes roses. Le réactif est préparé comme suit: dissoudre 0,38g de vanilline dans 55ml d'eau distillée et ajoute 195ml d'acide orthophosphorique à 85%. Ce réactif se conserve pendant 3 semaines à 4°C et à l'obscurité. La solution mère des lipides est préparée comme suit: on prend 2,5mg d'huile de table (tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf et on ajoute 1ml d'éther/chloroforme 1V/1V (V= Volume) (Nadjj, 2011).

**Tab. 03 :** Dosage des lipides totaux chez les larves de quatrième stade de *Culex pipiens*: réalisation de la gamme d'étalonnage

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant (éther /chloroforme) (1V/1V)	100	80	60	40	20	0
Quantité de lipides (µg)	0	50	100	150	200	250

### III. Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis* sur les compositions biochimiques

En 2016, **Berrah** et **Ahcenea** menées une étude pour évaluation de l'activité larvicide de la matière végétale de *Rosmarinus officinalis* sur *Culex pipiens*, sous titre :<< Etude préliminaire de l'effet larvicide d'une plante du genre *Rosmarinus* à l'égard de *Culex pipiens*>>. Ont testé

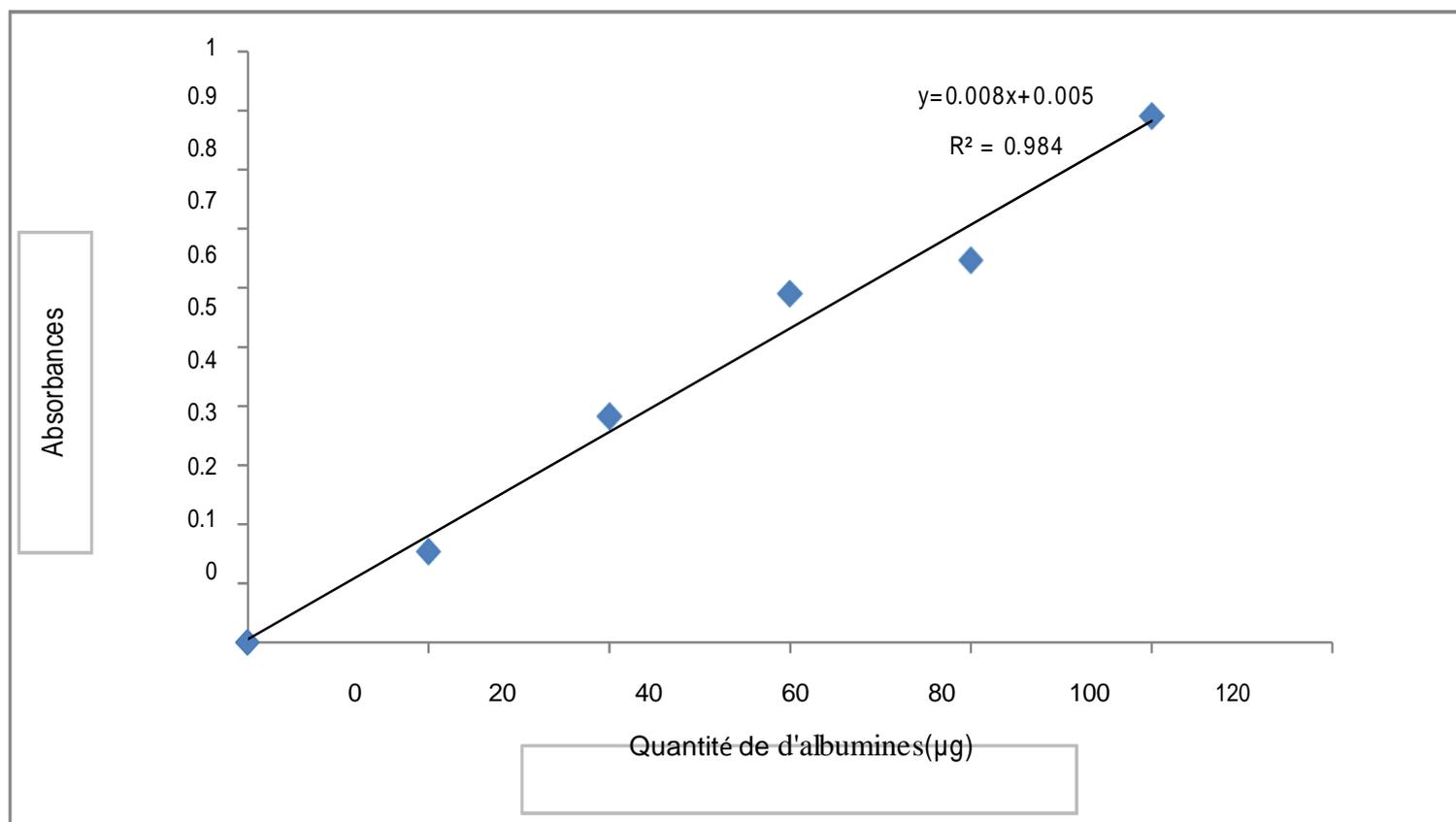
les concentrations CL25/50 de l'huile essentielle de *R.officinalis* sur les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culex pipiens* témoins. Sont prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures). Et compare avec séries témoins.

### III.1.Contenu en protéines totales

Le taux des protéines totales a été estimé chez les séries témoins et traitées par l'huile essentielle de *R. officinalis* (CL25 et CL50), chez *Culex pipiens*, d'après la méthode de Bradford (1976). Les résultats relatifs au taux des protéines totales sont exprimés en microgramme par milligramme de poids frais ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de poids frais). D'après une courbe de référence (**Figure 17**) Les résultats du dosage sont donnés dans le **Tableau 4** et la **Figure18**

Les résultats obtenus par Berrah et Ahcene : Chez les séries témoins et traitées par la CL25 et la CL50, ils remarquent une augmentation non significative du taux des protéines ( $p>0,05$ ) par rapport aux temps testés (24, 48 et 72h). En revanche, chez les séries traitées par la CL25, les taux de protéines montrent une augmentation non significative ( $p>0,05$ ) au cours des périodes testées. Et chez les séries traitées par la CL50, les taux de protéines indiquent une augmentation significative après 24h ( $p= 0,038$ ), non significative après 48h ( $p=0,133$ ) et hautement significative (0,004) après 72h, comparativement aux témoins.

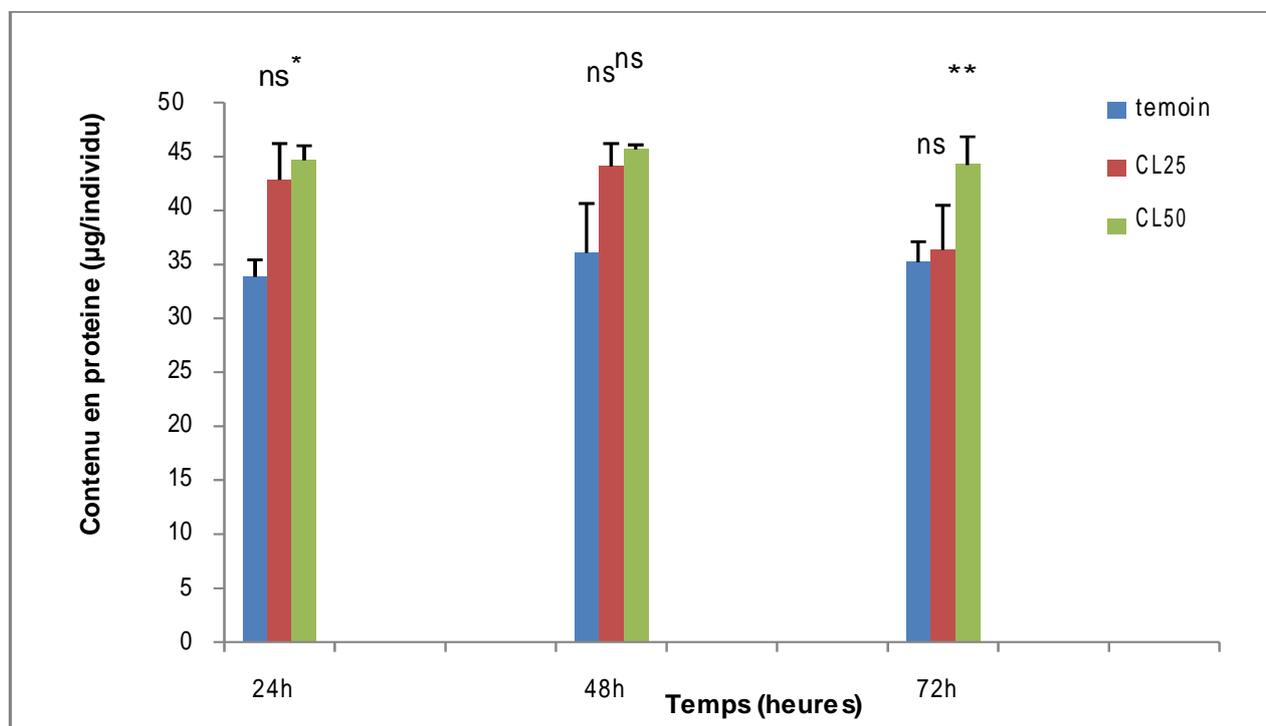
Les analyses statistiques effectuées entre les séries témoins et traitées, montrent que l'huile essentielle de *R.officinalis* provoque une augmentation du taux de protéines totales chez *Culex pipiens*.



**Figure 17:** Dosage des protéines totales chez les moustiques : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (µg) ( $R^2$  : coefficient de détermination).

**Tab. 04:** Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis* sur le contenu en protéines (µg/individu) chez les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cx. pipiens* ( $m \pm sem$ ,  $n=3$ ). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Traitement \ Temps (heures)	Témoins	CL25	CL50
24	33,885 ± 1,586 a A	42,869 ± 3,366 a A	44,686 ± 1,359 b A
48	36,110 ± 4,563 a A	44,121 ± 2,112 a A	45,695 ± 0,424 a A
72	35,229 ± 1,913 a A	36,359 ± 4,146 a A	44,262 ± 2,6042a A



**Figure 18:** Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis* (CL25 et CL50) sur le contenu en protéines totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les larves 4 de *Cx. pipiens*, à différentes périodes ( $m \pm \text{sem}$ ,  $n=3$ ). Comparaison des moyennes : ns Différence non significative, \*Différence significative ( $p < 0,05$ ), \*\*Différence hautement significative ( $p < 0,01$ ).

Les résultats obtenus par Barreh et Ahcene, montrent que le traitement par l'huile essentielle extraite de *R. officinalis* (CL25, CL50) chez *Culex pipiens*, cause une augmentation du contenu en protéines.

### III.2. Contenu en lipides totaux

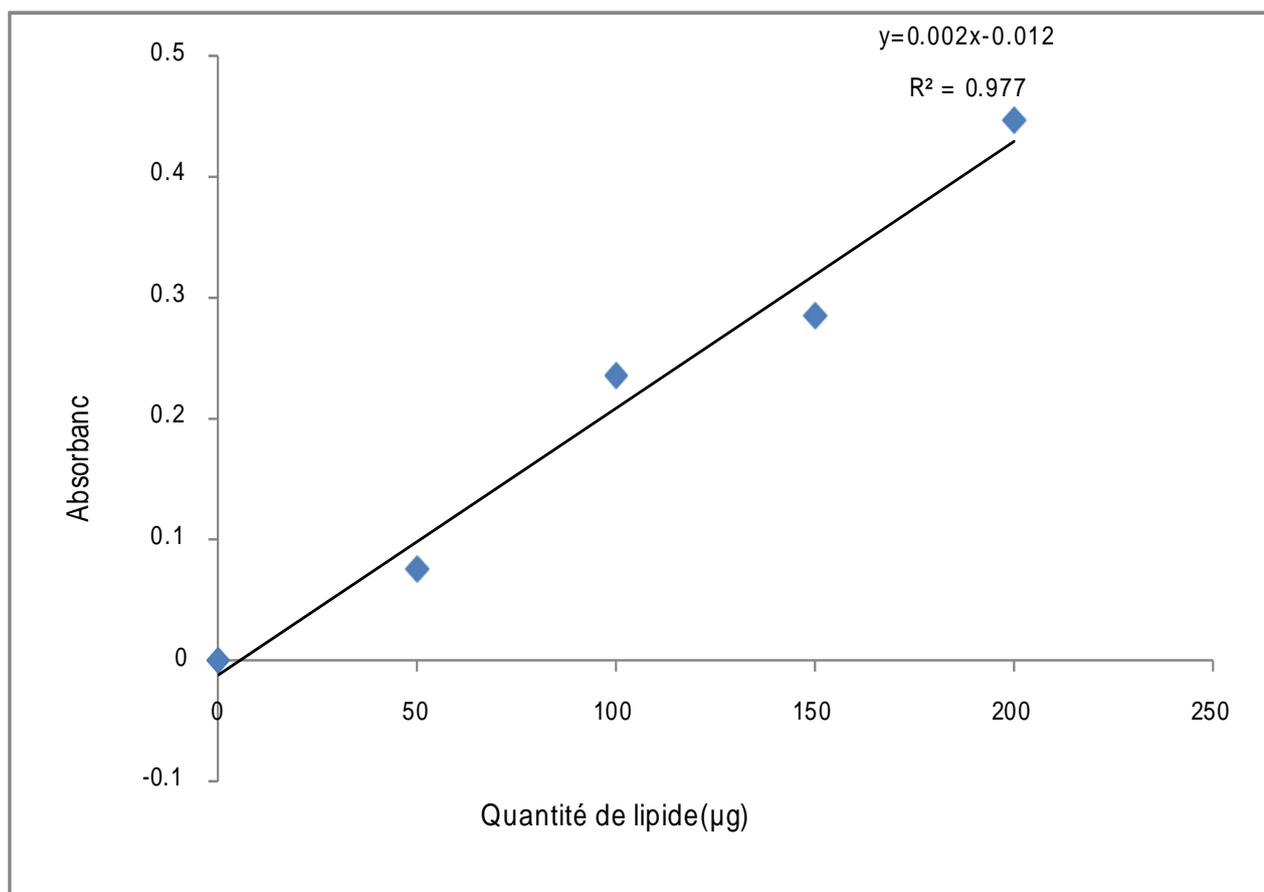
Le contenu en lipides totaux a été déterminé chez les larves de quatrième stade. D'après une courbe de référence (**Figure 19**) les résultats du dosage sont consignés dans le **Tableau 5** et la **Figure 20**.

Chez les séries témoins, les résultats obtenus montrent une différence non significative du taux des lipides mesurés après 24h, 48h et 72h. Cependant, pour les séries traitées par la CL25, une diminution très hautement significative ( $p \leq 0,0001$ ) est observée par rapport aux temps testés. Chez les séries traitées par la CL50 il y'a une diminution significative ( $p=0,065$ ) des taux de lipides mesurés après 24h, 48h et 72h.

Chez les séries traitées par la CL25, les taux de lipides prouvent une augmentation hautement significative après 24h ( $p=0,002$ ) et très hautement significative après 48h et 72h ( $p \leq 0,0001$ ) comparativement au témoin.

Chez les séries traitées par la CL50, les taux de lipides indiquent une augmentation hautement significative après 24h et 48h ( $p=0,003$  ;  $p=0,001$ , respectivement) et significative ( $p=0,066$ ) après 72h comparativement au témoin.

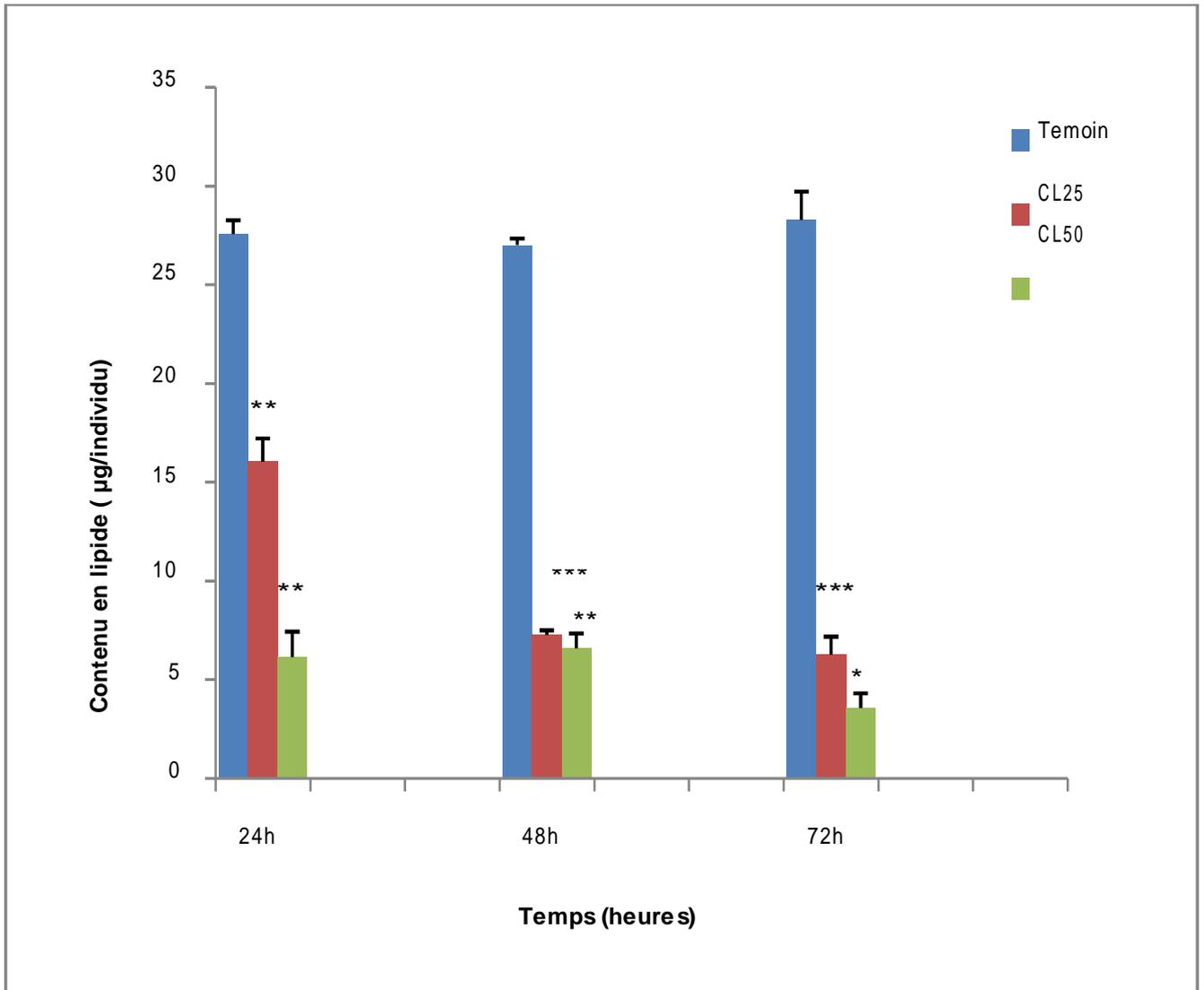
Les analyses statistiques effectuées entre les séries témoins et traitées montrent que l'huile essentielle de *R.officinalis* provoque une diminution du taux de lipides totaux chez *Culex pipiens*.



**Figure 19:** Dosage des lipides totaux chez les moustiques : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipide ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$  : coefficient de détermination).

**Tab.5:** Effet de l'huile essentielle de *R.officinalis* (CL50 et CL25), sur le contenu en lipides totaux ( $\mu\text{g}/$  individu) chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culex pipiens* ( $m \pm \text{sem}$ ,  $n=3$ ). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Traitement \ Temps (heures)	Témoins	CL25	CL50
24	$27,554 \pm 0,697$ a A	$16,029 \pm 1,186$ b A	$6,137 \pm 1,291$ c A
48	$26,991 \pm 0,338$ a A	$7,254 \pm 0,247$ b B	$6,587 \pm 0,750$ b A
72	$28,283 \pm 1,427$ a A	$6,254 \pm 0,922$ b B	$3,554 \pm 0,747$ b A



**Figure 20:** Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis* (CL50 et CL25), sur le contenu en lipides totaux (µg/ individu) chez les larves du quatrième stade (L4) de *Culex pipiens* à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) ( $m \pm sem$ ,  $n=3$ ). Comparaison des moyennes : \*Différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les séries témoins et traitées, \*\*Différence hautement significative ( $p < 0,01$ ) entre les séries témoins et traitées.

Les résultats obtenus par Barreh et Ahcene, montrent que le traitement par l'HE de *R. officinalis* (CL25 et CL50) chez les larves de quatrième stade de *Culex pipiens*, cause une diminution du contenu en lipides.

### III.3. Contenu en glucides totaux

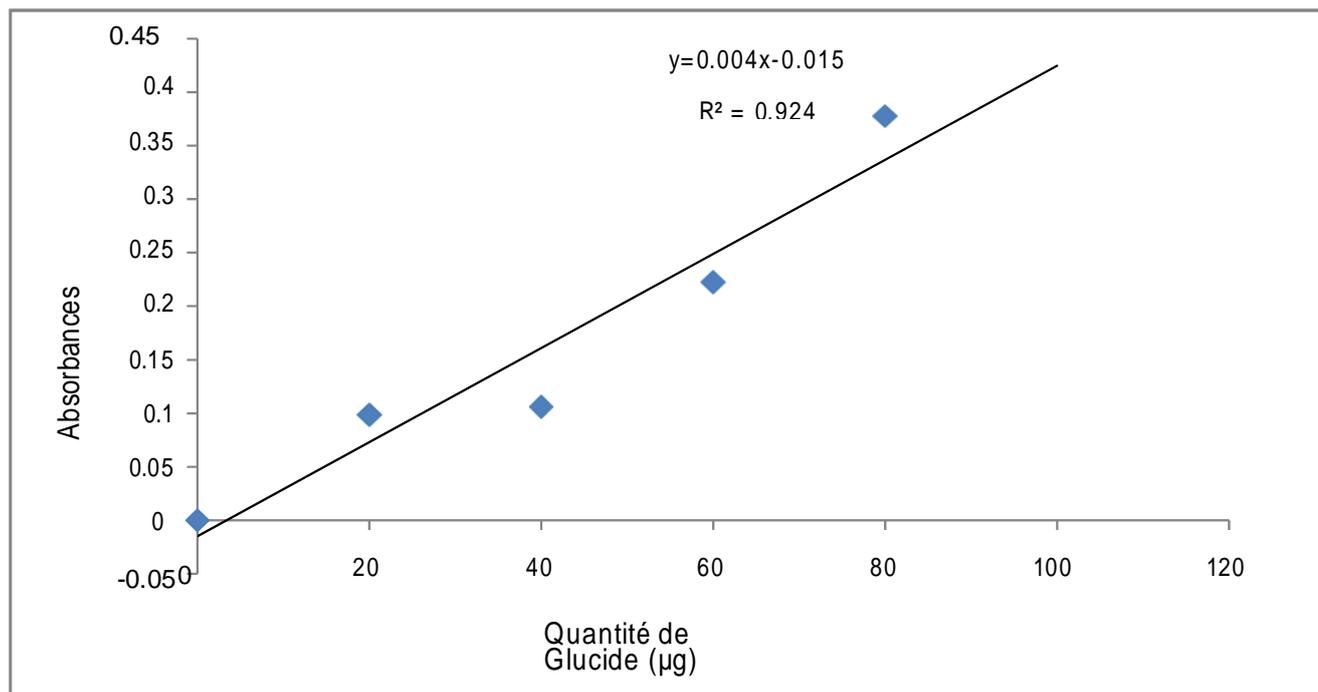
Le taux des glucides totaux a été estimé chez les séries témoins et traitées par l'huile essentielle de *R. officinalis* (CL25 et CL50), chez *Culex pipiens*, d'après la méthode de Duchateau & Florkin (1959). Les résultats relatifs au taux des glucides totaux sont exprimés milligramme de poids frais. D'après une courbe de référence (**Figure 21**) Les résultats du dosage sont donnés dans le (**Tableau 06**), et la (**Figure 22**).

Chez les séries témoins, les résultats obtenus montrent une différence non significative des taux des glucides mesurés après 24h, 48h et 72h. Cependant, pour les séries traitées, les glucides totaux présentent une augmentation significative par la CL25 ( $p=0,016$ ) et très hautement significative par la CL50 ( $p\leq 0,0001$ ) par rapport aux temps testés 24, 48 et 72h.

Chez les séries traitées par la CL25, les taux de glucides mentrent une augmentation non significative après 24h ( $p=0,630$ ), et hautement significative ( $p=0,007$ ) après 48h et significative ( $p=0,076$ ) après 72h, comparativement aux témoins.

Chez les séries traitées par la CL50, les taux des glucides indiquent une augmentation significative après 24h ( $p=0,047$ ) et très hautement significative ( $p\leq 0,001$ ) après 48 et 72h, comparativement aux témoins.

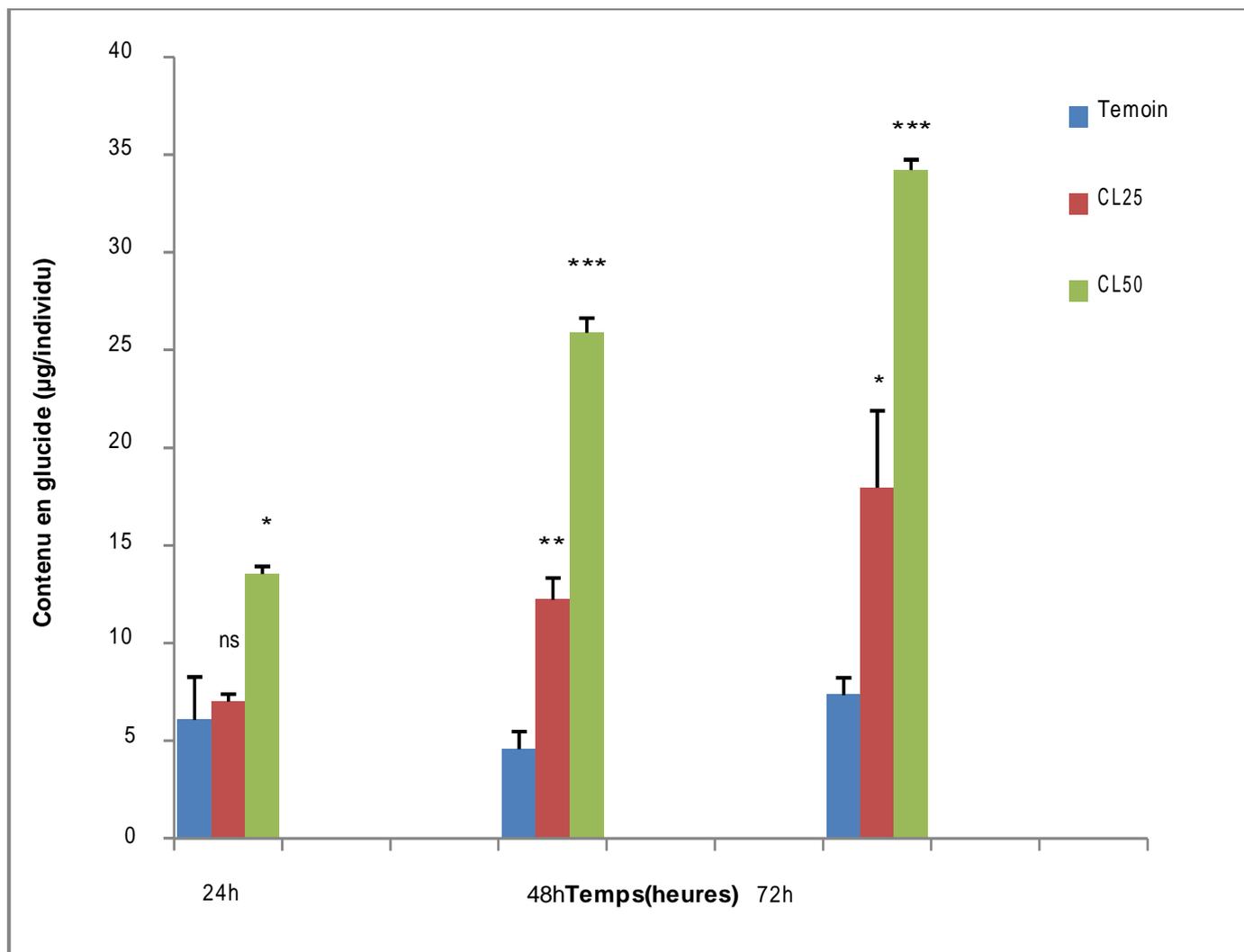
Les analyses statistiques effectuées entre les séries témoins et traitées montrent que l'huile essentielle de *R. officinalis* (CL25 et CL50) provoque une augmentation du taux des glucides totaux chez *Culex pipiens*.



**Figure 21:** Dosage des glucides totaux chez les moustiques : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipide ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$  : coefficient de détermination).

**Tab. 6:** Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis*, sur le contenu en glucides ( $\mu\text{g}/$  individu) chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culex pipiens* ( $m \pm \text{sem}$ ,  $n=3$ ). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Traitement \ Temps (heures)	Témoins	CL25	CL50
24	$6,079 \pm 2,197$ a A	$7,025 \pm 0,366$ a A	$13,545 \pm 0,388$ b A
48	$4,595 \pm 0,888$ a A	$12,229 \pm 1,130$ b AB	$25,891 \pm 0,761$ c B
72	$7,350 \pm 0,891$ a A	$17,966 \pm 3,947$ b B	$34,225 \pm 0,541$ c C



**Figure 22 :** Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis* (CL50 et CL25) sur le contenu en glucides totaux ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les larves du quatrième stade (L4) de *Culex pipiens* à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) ( $m \pm \text{sem}$ ,  $n=3$ ). Comparaison des moyennes : ns Différence non significative, \*Différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les séries témoins et traitées, \*\*Différence hautement significative ( $p < 0,01$ ) entre les séries témoins et traitées, \*\*\* Différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les séries témoins et traitées

Les résultats obtenus par Barreh et Ahcene, montrent que le traitement par l'HE de *R. officinalis* (CL25 et CL50) chez les larves de *Cx pipiens*, cause une augmentation du contenu en glucides.

# **CONCLUSION**

### Conclusion

L'utilisation d'insecticides chimiques a un effet néfaste sur la santé humaine et l'environnement. Ainsi, il est devenu nécessaire d'utiliser des alternatives naturelles qui ont le même rôle que les insecticides synthétiques.

La présente recherche bibliographique montre que l'huile essentielle de *R. officinalis*, testée aux concentrations létales 25 et 50 (CL25 et CL50) chez le stade larvaire 4 de *Cx. pipiens*, entraîne une augmentation du contenu en protéines totales et en glucides ainsi qu'une diminution du contenu en lipides, au cours de la période étudiée (24, 48 et 72h).

Le romarin possède, ainsi, des propriétés insecticides du fait que les résultats obtenus à partir des travaux antérieurs, soutiennent son application dans la production de biocides.

# **REFERENCES**

# **BIBLIOGRAPHIQUES**

-A-

**Alaoui B,** (2010), Activités larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires, mémoire de fin d'étude, Pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques.

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

**Aouati A.** (2016). Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de culex pipiens (Diptera, Culicidae). Thèse de doctorat, Université des frères mentouri. Constantin.

**Aouinty, B., Oufara, S., Mellouki, F., Mahari, S.** (2010) Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). 10(2), 67 – 71.

**Azizi R, Helimi M.** (2019). Evaluation du Potentiel larvicide d'huile essentielle d'*Artemisia campestris* à l'égard de *Culex*. Mémoire de Master, Université Larbi-Tébessi. TEBESSA.

-B-

**Bakalem R.** (2014). Inventaire de Culicidae dans la région d'EL-Hamdania(Parc National de Chréa-Blida-) et comparaison de l'efficacité de deux huiles essentielles Rosmarinus officinalis, Origanum floribundum avec le Fénitrothion contre des populations de larve de *Culex pipiens* en conditions contrôlées. Mémoire de Master en Biologie. Université Saad Dahleb. Blida.

**Baldet T., Darriet F., David J., Dusfour I., FRANC M., Izri A., Labbe P., Lagadic L., Lagneau C., Bonnet S., Duvallet G., Fontenille D., Girod R., Guillet P., L'ambert G., Robert V., Roy L., Schwoerer A.,** (2014). Utilisation des insecticides et gestion de la résistance.

**Bawin T., Seye F., Boukraa., S., Zimmer F., et Delvigne F,** (2014) : La lutte contre les moustiques (Diptera: Culicidae): diversité des approches et application du contrôle biologique

**Beddiar H.** (2016). Etude de << JUNIPERUS PHOENICEAL >> de la region de tébessa : Composition chimique, Activité antioxydantes, et microbiologique. Mémoire de Master, Université Larbi Tébessi. Tébessa.

**Begum A., Sandhya S., Syed Shaff ath A., Vinod K.R., Swapna R., Banji D.,** (2013). An in-depth review on the medicinal fl ora *Rosmarinus offi cinalis* (Lamiaceae).Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 12(1), 61-73.

**Belarouci A.** (2017). Comportement insecticide des huiles essentielles du Romarin et du Thym sur *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera : Tenebrionidae).mémoire de master, Université de Tlemcen.

**Belbey L,** (2014). Activité antioxydante de *Rosmarinus officinalis* L, et soninvitroeffet sur *Penicilliumdigitatum* . Mémoire de master academique, Université de M'sila.

**Benikhlef A,** (2014).Comparaissant entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla . Mémoire de master. Université Abor Belkaid-Tlemcen.

**Bensakhria A,** (2018). Biotransformation des toxiques.

**Benserradj O.** (2015). Evaluation de *Metarhiziumanisopliae* à titre d'agent delutte biologique contre les larves de moustiques. Thèse de doctorat, Université de Constantine.

**Berchi S.,** 2000. Bioécologie de *Culex pipiens* L. (Diptera : Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de luttés, Thèse Doctorat, Université de Constantine, Algérie. 133p.

**Berchi, S., Aouati, A ., Louadi, K.** (2012). Typologie des gîtes propices au développement larvaire de *Culex pipiens* L. 1758 (*Diptera-Culicidae*), source de nuisance à Constantine (Algérie). Vol .38(2). 6p.

**Berkane A.** (2015). La détermination des propriétés thermodynamiques d'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis* L. Mémoire de Fin d'Etudes Pour l'obtention de diplôme Master, Université Djilali Bounaama - Khemis Miliana.

**Berkani I, Hamdi H, Razkallah N,** (2013), Détermination de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Mémoire de Master, Université 08 Mai 1945 Guelma.

**Berrah F, Ahcene H.,** (2016). Etude préliminaire de l'effet larvicide d'une plante du genre *Rosmarinus*à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire de master, Université de Tébessa.

**Bezzaoui O**, (2013). comparaison de l'efficacité des extraits aqueux et des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* (le romarin) et de *salvia officinalis* (la sauge) avec un insecticide chimique la sypérméthrine sur les larves de *Culex pipiens* en conditions contrôlées. Mémoire de master, Université Saad Dahleb Blida.

**Bonet A.**, (2011). Effets du cadmium sur l'expression d'enzymes de biotransformation au cours de la différenciation entérocytaire. Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en biologie. Université du Québec à Montréal.

**Bouchekkif H.** (2017). Evaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles et des extraits aqueux formulés de lentisque à l'égard des larves de *Culex*. Mémoire de Master en Biologie, Université de Blida 1.

**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 Master Académique, Université Echahid Hamma Lakhdar D'EL-OUED.

**Boumadjen R** , **Kimouche S.**, (2018). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante de Romarin (*Rosmarinus officinalis*). Mémoire de master. Université des Frères Mentouri Constantine.

**Bousbia N.**, (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat, Université D'avignon et des pays de vaucluse.

**Boutabia L .,** **Telailia S .,** **Bouguetof I .,** **Guenadil F .,** **Chefrou A .,** (2016) . Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie), Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 85, 2016, p. 174 – 189.

**Bouzerida k .,** **Mandi R .,** **Lahlouh B .,** (2016) . La lutte biologique contre les insectes nuisibles : Utilisation des plantes et des extraits de plantes. Mémoire de master, Université des Frères Mentouri Constantine.

**Brunhes J., 1999** – Culicidae du Maghreb. Description d'*Aedes (Ochlerotatus) Biskraensis* n. sp. D'Algérie (Diptera, Nematocera). Bulletin de la société entomologique de France, 104 (1), 25-30.

**-C-**

**Capinera J.** (2010). Transmission d'agents pathogènes à la faune par des arthropodes. Université de floride

**-D-**

**Darriet F.** (2007). Moustiquaires imprégnées et résistance des moustiques aux insecticides. Paris : IRD, 116 p.

**DIB H.** (2010). Rôle des ennemis naturels dans la lutte biologique contre le puceron cendré, *Dysaphis plantaginea* Passerini (Hemiptera: Aphididae) en vergers de pommiers. Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse Institut National de la Recherche Agronomique.

**Djellouli A., 2016.** Contribution a la regeneration in vitro d'une plante medicinale sauvage d'Algerie «*Carthamuscaeruleus L*» (Doctoral dissertation, Saadi Abdelkader). Ed. Tec. & Doc., les Presses Agronomiques de Gembloux, 223 p.

**Dris D., Tine-Djebbar F., Bouabida H., Soltani N.** (2017). Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: Toxicological, biometrical and biochemical aspects. South African Journal of Botany 113 (2017) 362–369

**-E-**

**EL-Akhal F., Guemmouh R., Maniar S., Lalami A.** (2016). Larvicidal activity of essential oils of *Thymus Vulgaris* and *Origanum Majorana* (Lamiaceae) against of the Malaria Vector *Anopheles Labranchiae* (Diptera: Culicidae). International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Vol 8, Issue 3, 372-376.

**-F-**

**Fadi Z.,**(2011). Le romarin *Rosmarinus officinalis* le bon procédé d'extraction Pour un effet thérapeutique optimal. Thèse de doctorat . Université Mohammed V

**Feigenbaum C, Naug D.** (2010). The influence of social hunger on food distribution and its implications for disease transmission in a honeybee colony

-G-

**Goindin D.**(2016). Étude des résistances aux insecticides et des réponses biologiques aux changements climatiques du moustique *Aedes aegypti*, vecteur de la Dengue du Chikungunya et du Zika en Guadeloupe. Thèse de doctorat en Physiologie et biologie des organismes - populations - interactions.

**Goulu M.** (2015). Développement d'une nouvelle stratégie de protection chimique contre les moustiques vecteurs de maladies : utilisation d'une association répulsif/insecticide afin d'optimiser l'efficacité du traitement tout en réduisant les doses utilisées. Thèse de doctorat, Université d'Angers.

**Guermi A, Rhaim F.** (2019). Contribution à l'étude de la toxicité de deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* et *Artemisia herba alba*) sur les larves de culicidées dans la région de Oued souf. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques. Université Echahid Hamma Lakhdar El –OUED.

-H-

**Habbachi W., Benhissen S., Ouakid M. L., Farine J. P.** (2013). Effets biologiques d'extraits aqueux de *Peganum harmala* (L.) (Zygophyllaceae) sur la mortalité et le développement larvaire de *Drosophila melanogaster* (Diptera-Drosophilidae). Algerian journal of arid environment. vol. 3, n° 1, Juin 2013: 82-88p.

**Habtemariam S.**(2015). The Therapeutic Potential of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) Diterpenes for Alzheimer's Disease. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Vol 2016, 14p.

**Hannour K., Boughdad A., Maataoui A., Bouchelta A.** (2018). Chemical composition of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) essential oils and evaluation of their toxicity against *Bruchus rufimanus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) in Morocco. International Journal of Tropical Insect Science page 1 of 13.

**Hamiche S, Bencenouci Y, Messas N.** (2017). Contribution à l'étude de l'activité larvicide avec l'utilisation des polyphénols de *Pistacia lentiscus* sur les moustiques. Mémoire de Master en Biologie, Université M'Hamed Bougara. Boumerdes.

**Haubruge E, Amichot M.** (1998). Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 1998 **2** (3), 161–174.

**Houam A, Achouri K.** (2019). Evaluation du potentiel larvicide de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire de master, Université Larbi Tébessi. Tébessa.

**Hussain A.I., Anwar F., Chatha A.S.A., Jabbar A., Mahboob S., Nigam P.S.** (2010). *ROSMARINUS OFFICINALIS* ESSENTIAL OIL: ANTIPROLIFERATIVE, ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES. *Brazilian Journal of Microbiology* (2010) 41: 1070-1078.

-*k*-

**Kondo T., Rodriguez J., Diaz M F., Javier dix luno O., Palacio goenaga E.** (2018). Description of two new species of Cryptinglisia Cockerell (Hemiptera: Cocomorpha: Coccidae) associated with rosemary, *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) in Colombia. *Zootaxa* 4420 (3): 379–390.

**Kourdes H, Melkia E.** (2017). Evaluation de l'effet larvicide des extraits d'*Artemisia campestris* à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire de Master, Université de Larbi Tébessi. Tébessa.

-*L*-

**Louat F.** (2013). Etude des effets liés à l'exposition aux insecticides chez un insecte modèle, *Drosophila melanogaster*. Thèse de doctorat, Université D'orléans.

-*M*-

**Mansouri F Z, Messabhia H.** (2018). Etude de l'effet larvicide de l'extrait hydroalcoolique de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire de master, Université Larbi Ben M'Hidi Oum El Bouaghi.

**Marion L.** (2017). Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. Présenté pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, Université d'Aix-Marseille – Faculté de Pharmacie.

**Mecheri F., Akdif N.** (2017). Contribution à l'étude de l'effet des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Ruta graveolens* sur la croissance des quelques microorganismes pathogènes. Mémoire de Master, Université M'hamed bougara de Boumerdes.

**Moreno S., Scheyer T., Romano C S., Vojnov A A.** (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition.

Free Radical Research, February 2006; 40(2): 223–231.

**Mylène W,** (2003), La résistance du moustique *Culex pipiens* aux insecticides, Un article de la revue M/S : médecine sciences. n° 12, vol. 19, décembre 2003.

**-N-**

**Nadji H,** (2011). Contribution a l'étude des moustiques de la région de Biskra : Aspect Systématique, Ecologique et Energétique. Mémoire de Magistère en Biologie, Université de Mohamed Kheider. BISKRA.

**Nebbak A,**(2017). Développement expérimental et application sur terrain d'outils innovants pour l'identification des arthropodes. Thèse de doctorat.

**Nieto G., Ros G., Castillo J.** (2018). Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review.

**Noori Ahmad Abadi M., Mortazavi M., Kalani N., Marzouni HZ, Kooti W., Ali-Akbari S.** (2016). Effect of Hydroalcoholic Extract of *Rosmarinus officinalis* L. Leaf on Anxiety in Mice. Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine.1–6.

**-O-**

**Ousaadi Y, Nail M.** (2019). Evaluation in vitro de l'effet insecticide du romarin (*Rosmarinus officinalis*) et de la sauge (*Salvia officinalis*) vis-à-vis du puceron vert des agrumes (*Aphis spiraecola*). Mémoire de Master, Université Abdelhamid Ibn Badis De Mostaganem.

**-P-**

**Pintore G., Usai M., Bradesi P., Juliano C., Boatto G., Tomi F., Chessa M., Cerri R., Casanova J.** (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. Flavour and fragrance journal, Flavour Fragr.J. 2002; 17: 15–19.

**Poupardin R.** (2011). Interactions gènes-environnement chez les moustiques et leur impact sur la résistance aux insecticides. Thèse de doctorat, Université de Grenoble .

**-R-**

**Rafie H., Hamidpour S., Grant E.** (2017). Rosmarinus Officinalis (Rosemary): A Novel Therapeutic Agent for Antioxidant, Antimicrobial, Anticancer, Antidiabetic, Antidepressant, Neuroprotective, Anti-Inflammatory, and Anti-Obesity Treatment. *Herb Med.* 2017, Vol. 3 No. 2: 8.

**Resseguier P.** (2011), Contribution a l'étude du repas sanguin de *Culex pipiens*, thèse pour obtenir le grade docteur vétérinaire, Ecole Nationale vétérinaire de Toulouse – ENVT, 80p.

**-S-**

**Sadallah N, Belkhaoui A.** (2016). Étude Biométrique sur des larves de *Culex pipiens* Exposées aux Extraits Des plantes. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master, Université des Frères Mentouri Constantine.

**Saharaoui L.** (2017). Les coccinelles algériennes (*Coleoptera, Coccinellidae*): analyse faunistique et structure des communautés. Thèse de doctorat, l'Université Toulouse III - Paul Sabatier.

**Sakina M. Petiwala, Jeremy J. Johnson.** (2015). Diterpenes from Rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Defining their potential for anti-cancer activity. *Cancer Letters* (2015).

**Schaffner E., Angel Guy., Geoffroy Bernard, Hervy Jean-Paul, Rhaïem A., Brunhes Jacques., 2001** - Les moustiques d'Europe : logiciel d'identification et d'enseignement Paris (FRA) ; Montpellier : IRD ; EID, 2001, 1 CD ROM (Didactiques). ISBN 2-7099-1485-9.

**Sedighi R., Zhao Y., Yerke A., Sang S.** (2015). Preventive and protective properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in obesity and diabetes mellitus of metabolic disorders: a brief review. *Current Opinion in Food Science* 2015, 2:58–70.

**-T-**

**Tabti N.** (2017). Etude comparée de l'effet de *Bacillus thuringiensis* sur les populations purifiées et des populations des gîtes artificiels de *Culex pipiens* (Diptera-Culicidae) dans la ville de Tlemcen. Thèse de doctorat, Université de Tlemcen.

**Thierry Damien, O.A.** (2011). Lutte bioécologique contre *Culex pipiens quinque fasciatus* en milieu urbain au Burkina Faso. Thèse de doctorat, Université de Ouagadougou.

**Tmimi F., Faraj C., Bkhache M. Mounaji Kh., Failloux A-B., Sarih M,** (2018), Insecticide resistance and target site mutations (G119S ace-1 and L1014F kdr) of *Culex pipiens* in Morocco. Research Article.

**Toubal S,** (2018), Caractérisation de la relation chémotypes de l' Ortie- bactéries vectorisées associées et évaluation de leurs activité sur *Culex sp.* Thèse de Doctorat, université m'Hamed bougara - boumerdes.

**Tozlu E., Cakir A, Kordal S, Tozlu G, Ozer H, Akcin T.** (2011). Chemical compositions and insecticidal effects of essential oils isolated from *Achillea gypsicola*, *Satureja hortensis*, *Origanum acutidens* and *Hypericum scabrum* against broadbean weevil (*Bruchus dentipes*). *Scientia Horticulturae* 130 (2011), 9–17p

-V-

**Vahdati Hassani F., Shirani K., Hosseinzadeh H.** (2016). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) as a potential therapeutic plant in metabolic syndrome: a review. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* (2016) 389:931–949.

**Vangelder V,** (2017). L'aromatherapie dans la Prise en charge des troubles de sante mineurs chez l'adulte a l'officine. Thèse de doctorat, Université de Lille 2.

**Viennet E.** (2011). Insectes et maladies émergentes : Contacts hôte/Culicoides en région paléarctique et leurs implications dans la transmission de la fièvre catarrhale ovine. Thèse de doctorat, Université Montpellier II.

-W-

**Wafa M,** (2011), Détection de la résistance aux pesticides organophosphorés chez les populations sauvages de la mouche méditerranéenne de fruits *Ceratitis capitata*. Mémoire de Master, université Tunis el Manar.

**Wang W., Li N., Luo M., Zu Y., Efferth T.** (2012). Antibacterial Activity and Anticancer Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Compared to That of Its Main Components. *Molecules* 2012, 17, 2704-2713

-Z-

**Zerroug, S.** (2018). Etude biométrique et histologique sur des larves de *Culex pipiens* Linnée, 1758 (Diptera, Culicidae) Exposées aux extraits aqueux de plantes. Thèse de doctorat, Université des Frères Mentouri Constantine.

**Zermane A.** etude de l'extraction super critique applicationaux système agroalimentaire, diplôme de doctora, constantine. Université mentouri,. 14/06/2010.148p.