



République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Chadli Benjedji – Tébessa –

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la vie

Département de Biologie des êtres vivants

N° d'ordre :

N° de série :

Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme

DE MASTER

Filière : Sciences Biologiques

Option : Ecophysiologie végétale

Thème

Impact de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* sur une espèce de moustique *Culiseta longiareolata*

Présenté par :

BENHADDA Asma

GOUFFI Imene

Devant les membres du jury :

Pr. BOUABIDA Hayette	Pr	Université Chadli Benjedji –Tébessa-	Président
Dr. SEGHIER Hanane	MCB	Université Chadli Benjedji –Tébessa-	Promotrice
Dr. FENGHOUR Hind	MCA	Université Chadli Benjedji –Tébessa-	Examinatrice

Date de soutenance : Le 07/06/2023 Note : /20

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Nous remercions avant tout Allah tout puissant, de nous avoir guidé toutes les années d'étude et nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.

On tient également à exprimer notre profonde gratitude et sincères remerciements à notre Promotrice Madame Seghier Hanane « Maître Assistante Classe B » au département de Biologie, faculté des sciences exactes de la nature et de la vie, l'Université Laarbi Tébessi Tébessa, d'avoir proposé et dirigé ce travail; on la remercie infiniment pour ses importantes Remarques, ses orientations et ses conseils, sa patience, sa confiance, tout au long de ce Travail.

Nous adressons nos sincères remerciements aux membres de jury, chacun de son nom, d'avoir Accepté de juger et d'examiner notre travail.

Nos vifs remerciements aussi la plus belle femme Mme Djalleb Sihem

Un grand respect et un Grand remerciement à toutes ces personnes qui ont participé par leur disponibilité, leur Gentillesse et leur aide chaque jour.

Nous adressons nos remerciements également à tous notre enseignants, pour les informations Et les aides au cours des années de mes études.

Enfin, nous remercions tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce Travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire

À mon très cher père Benhadda Mourad qui a été toujours présent pour moi. À la plus chère au monde, ma mère Benhadda Soulef qui a Toujours m'encouragé durant toutes mes années d'études.

À mes chères frères: Kader, Talal

À ma chère sœur: Nourhane

À tout ma famille

À tous les enseignants qui ont contribués à ma formation

À mes chères amies: Chifa, Imene

Benhadda Asma

Dédicaces

Je dédie ce travail

*Mon père Sassi, qui peut être fier et trouver ici le résultat de
longues années de sacrifices et
de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire
en sorte que ce travail porte
son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien
permanent venu de toi.*

*Ma mère Djamila, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour,
son soutien, tous les
Sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son
assistance et sa présence dans ma
vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de
mes sentiments et de mon
Éternelle gratitude.*

*Mes frères Oussama et Mohamed et Mes sœurs Asma et Nourzed Pour
leur soutien moral.*

*À toute Ma famille Gouffi et Khelef, ma belle grande mère, Mes oncles
et tantes.*

À tous les enseignants qui ont contribué à ma formation

À mes chères amies: Chifa, Asma

Gouffi Imene

Résumé

Les moustiques jouent un rôle important dans l'effet écologique bénéfique malgré leurs nuisances associées à l'alimentation en sang et en tant que vecteurs potentiels de transmission d'agents pathogènes qui causent des maladies infectieuses chez l'humains et l'animaux.

Le contrôle de ces insectes suceurs de sang repose sur l'utilisation d'insecticides chimiques contre les adultes ou les larves. Or, aujourd'hui, les phénomènes de pollution et de résistance aux différents types de pesticides chimiques menacent l'environnement en général et l'homme en particulier. Les insecticides à base de plantes sont l'un des moyens par lesquels les plantes se protègent des ennemis naturels, il est donc fortement recommandé de les combattre avec des insecticides à base de plantes.

Le screening phytochimique réalisée sur les feuilles de *Rosmarinus officinalis* a montré la présence des flavonoïdes, des tanins catéchiques, des quinones, des stéroïdes et l'absence de tanins galliques, leucoanthocyanes, alcaloïdes, et terpènes.

Le test de toxicité a été réalisé en conditions de laboratoire sur les larves des stades L3, L4 de *Culiseta longiareolata*.

Les tests de toxicité ont révélé des concentrations létales CL₂₅, CL₅₀, et CL₉₀ à 24h, 48h et 72h.

L'extrait hydro-éthanolique de la plante *Rosmarinus officinalis* montre une toxicité à l'égard des larves 3 et 4 de *Culiseta longiareolata* avec une relation dose-réponse.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis*, screening phytochimique, extrait hydro-éthanolique *Culiseta longiareolata*, toxicité, bioinsecticides

Abstract

Mosquitoes play an important role in the beneficial ecological effect despite their nuisances associated with the blood supply and as potential vectors for the transmission of pathogens that cause infectious diseases in humans and animals.

Control of these blood-sucking insects relies on the use of chemical insecticides against adults or larvae. Today, however, the phenomena of pollution and resistance to different types of chemical pesticides threaten the environment in general and man in particular. Herbal insecticides are one of the ways in which plants protect themselves from natural enemies, so it is strongly recommended to combat them with herbal insecticides.

Phytochemical screening on the leaves of *Rosmarinus officinalis* showed the presence of flavonoids, catechic tannins, quinones, steroids and the absence of gallic tannins, leucoanthocyanins, alkaloids, and terpenes.

The toxicity test was conducted under laboratory conditions on the L3, L4 stages of *Culiseta longiareolata*.

Toxicity tests revealed lethal concentrations LC25, CL50, and CL90 at 24h, 48h, and 72h.

The hydro-ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* shows toxicity to *Culiseta longiareolata* larvae 3 and 4 with a dose-response relationship.

Keywords: *Rosmarinus officinalis*, phytochemical screening, hydro-ethanol extract *Culiseta longiareolata*, toxicity, bioinsecticides

ملخص

يلعب البعوض دورًا مهمًا في التأثير البيئي المفيد على الرغم من الإزعاج المرتبط بإمدادات الدم وكناقات محتملة لانتقال مسببات الأمراض التي تسبب أمراضًا معدية للإنسان والحيوان.

تعتمد السيطرة على هذه الحشرات الماصة للدم على استخدام المبيدات الحشرية الكيميائية ضد البالغين أو اليرقات. غير أن ظواهر التلوث ومقاومة مختلف أنواع مبيدات الآفات الكيميائية اليوم تهدد البيئة بوجه عام والإنسان بوجه خاص. المبيدات الحشرية العشبية هي إحدى الطرق التي تحمي بها النباتات نفسها من الأعداء الطبيعيين، لذلك يوصى بشدة بمكافحتها بالمبيدات الحشرية العشبية.

أظهر الفحص الكيميائي النباتي على أوراق *Rosmarinus officinalis* وجود الفلافونويد والعفص المسيحي والكينونات والستيرويدات وغياب العفص الغالي والليكوأنتوسيان والفلويدات والتربينات.

تم إجراء اختبار السمية في ظل ظروف مختبرية على مراحل L3 و L4 من *Culiseta longiareolata*.

كشفت اختبارات السمية عن تركيزات قاتلة LC25 و CL50 و CL90 في الساعة 24 و 48 و 72 ساعة.

يُظهر المستخلص الإيثانوليكي المائي لـ *Rosmarinus officinalis* سمية ليرقات *Culiseta longiareolata* 3 و 4 مع علاقة الجرعة والاستجابة.

الكلمات الرئيسية: *Rosmarinus officinalis*، الفحص الكيميائي النباتي، مستخلص الإيثانول المائي *Culiseta longiareolata*، السمية، المبيدات الحيوية

Sommaire

Sommaire

1	Introduction	1
2	Matériels et méthodes	3
2.1	Présentation de <i>Rosmarinus officinalis</i>	3
2.2	Origine du la plante	3
2.3	Classification	3
2.4	Description botanique	4
2.5	Composition chimique de <i>Rosmarinus Officinalis</i>	4
2.6	Activités biologiques	5
2.7	Utilisation de la plante	6
2.8	Procédé d'extraction.....	6
2.8.1	Préparation de l'extrait hydro-éthanolique	6
2.9	Screening phytochimique de <i>Rosmarinus Officinalis</i>	7
2.10	Présentation de <i>Culiseta longiareolata</i>	9
2.10.1	Position systématique.....	9
2.10.2	Cycle de vie du <i>Culiseta longiareolata</i>	10
2.10.3	Collecte et élevage.....	12
2.10.4	Traitement et teste de toxicité.....	12
2.10.5	Analyse statistique.....	13
3	Résultats	14
3.1	Screening phytochimique.....	14
3.2	Efficacité larvicide de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> à l'égard de <i>Cs. longiareolata</i>	15
4	Discussion	20
4.1	Analyse phytochimique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	20
4.2	Effet larvicide de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> à l'égard de <i>Cs. longiareolata</i>	20
5	Conclusion.....	22
	Référence bibliographies.....	23

Liste d'abréviation

%	Pourcentage
°C	Degré Celsius
AChE	L'acétylcholinestérase
CL	Concentration Létales
Cm	Centimètre
<i>Cs. longiareolata</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>
Etc	Et cetera
FeCl3	Chlorure ferrique
g	Gramme
GABA	Acide gamma-aminbutyrique
H	Heure
HCL	Chlore d'hydrogène
HgCl2	Chlorure de mercure
L1	Larve 1
L2	Larve 2
L3	Larve 3
L4	Larve 4
m	Mètre
M.C	Mortalité corrigée
min	Minute
mm	Millimètre
ml	Millilitre
NACHR	L'acétylcholine
NaOH	L'hydroxyde de sodium
NH4OH	Ammoniaque
P	Probabilité
ppm	Particule par mille
R²	Coefficient de variation
<i>R. Officinalis</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Présentation d'un rameau du <i>Rosmarinus Officinalis</i> (Iserin, 2001).	
02	Extraction par l'utilisation de l'évaporateur rotatif.	
03	Femelle adulte de <i>Culiseta Longiareolata</i> .	
04	Cycle de développement du Moustique.	
05	Effet de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> (mg/ml) appliquée sur des larves du troisième stade de <i>Cs. Longiareolata</i> , sur le taux de mortalité corrigée à 24, 48, et 72 heures.	
06	Effet de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> (mg/ml), appliquée sur les larves 3 de <i>Cs. Longiareolata</i> : Courbe dose réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.	
07	Effet de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> (mg/ml) appliquée sur des larves du quatrième stade de <i>Cs. Longiareolata</i> , sur le taux de mortalité corrigée à 24, 48, et 72 heures.	
08	Effets de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> (mg/ml), appliquée sur les larves 4 de <i>Cs. longiareolata</i> : Courbe dose réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.	

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Classification selon(Andrade et al., 2018).	
02	Position systématique de <i>Culiseta Longiareolata</i> (Paul, 2009).	
03	Résultats du criblage phytochimique de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	
04	Efficacité de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> (mg/ml) appliquée sur des larves du troisième stade de <i>Cs. Longiareolata</i> à 24, 48 et 72 heures après traitement : analyse des probits.	
05	Efficacité de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i> (mg/ml) appliquée sur des larves du quatrième stade de <i>Cs. longiareolata</i> à 24, 48 et 72 heures après traitement : analyse des probits.	

Introduction

1 Introduction

Les insectes dépassent de loin tous les autres groupes biologiques en termes de nombre d'espèces et de diversité morphologique. Environ 1 000 000 d'espèces d'insectes différentes ont été décrites à ce jour, mais ce nombre ne représente qu'une fraction des insectes qui existent réellement, de nombreuses espèces sont encore inconnues, notamment dans les régions tropicales. Certains auteurs pensent que les nombres appartenant à des espèces à la classe Insecta peut atteindre 10 000 000, d'autres 30 000 000, les insectes sont les seuls invertébrés terrestres à avoir des ailes combinées à leur taille relativement petite, contribuent sans aucun doute à leur survie. Ils habitent tous les habitats et sont associés à de nombreux autres organismes végétaux et animaux. La plupart des insectes, du moins à l'état adulte sont aériens, mais certains sont endogènes (vivant sous terre) ou souterrains (vivant dans des terriers), d'autres vivent au-dessus de l'eau, et d'autres sont totalement aquatiques (**Delaunay et al., 2001**).

Les Culicidae sont des insectes mécoptéroïdes Diptère Nématocère caractérisés par une évolution progressive qui affecte en parallèle les adultes et les larves. Ils occupent la première place par le rôle de vecteurs de certains organismes pathogènes de leurs représentants ou en harcelant les autres. (**Merabeti et Ouakid, 2011**).

Un inventaire systématique des moustiques collectés de différents refuges de Tébessa (nord-est algérien) a permis d'identifier neuf espèces. Les espèces les plus communes sont *Culiseta longiareolata* (62,01%) et *Culex pipiens* (32,57%) (**Bouabida et al., 2012**).

En entomologie médicale et vétérinaire, les moustiques jouent un rôle important malgré leur nuisance associée à l'alimentation en sang et en tant que vecteurs potentiels de transmission d'agents pathogènes. (**Duvallet et Chabasse, 2020**). Ils peuvent transmettre plusieurs maladies potentiellement mortelles comme le paludisme, la dengue, la fièvre jaune, le chikungunya, la filariose, l'encéphalite, l'infection de virus West Nile (**WHO, 1996**).

Pour prévenir la prolifération de ces maladies, la lutte contre les moustiques s'avère indispensable. Elle est basée sur l'application d'insecticides synthétiques tels que les organochlorés et les organophosphorés. Ces préparations, bien qu'elles soient efficaces, présentent plusieurs inconvénients d'ordre techniques, économiques et écologiques (**Ghosh et al., 2012**). A tous ces inconvénients s'ajoute aussi un grand nombre de problèmes tels que l'apparition des espèces résistantes, l'impact sur les organismes non visés et la contamination des chaînes trophiques (**Domingues et al., 2010**).

Les plantes sont les compagnies biochimiques de la nature Ils bio-synthétisent un large éventail de produits naturels différents, tels que les alcaloïdes, les terpènes et les terpénoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes et les coumarines grâce à leurs mécanismes structurels pour réduire les attaques d'insectes, à la fois constitutives et inductibles (Acheuk *et al.*, 2017).

Leur utilisation a fait l'objet de plusieurs travaux de recherche durant cette dernière décennie et a suscité un vif d'intérêt scientifique traduit par le nombre de travaux sur l'activité insecticide des extraits végétaux vis-à-vis des larves de moustiques (El Akhel *et al.*, 2015).

Dans cette perspective, nous visons à évaluer les réponses des populations d'une espèce de moustique, à l'impact d'un nouvel insecticide à base d'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* sur une espèce de moustique *Culiseta longiareolata*.

Ce travail est structuré comme suit : une partie relative à l'étude bibliographique et une autre partie réservée à l'étude expérimentale :

➤ Dans la partie bibliographique nous présenterons la plante *Rosmarinus officinalis* et l'espèce *Culiseta longiareolata*.

➤ Dans la partie expérimentale nous présentons les réponse des populations de l'espèce de moustique (*Cs longiareolata*) à l'impact de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis*, par l'étude de l'aspect toxicologique pour déterminer les concentrations létales (CL₂₅ et CL₅₀) de l'extrait hydro-ethanolique à l'égard des larves du troisième et quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* à 24, 48 et 72 heures après traitement. Enfin, une conclusion globale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Matériels

Et

Méthodes

2 Matériels et méthodes

2.1 Présentation de *Rosmarinus officinalis*

Rosmarinus officinalis (romarin) est un arbuste aromatique appartenant à la famille Lamiacées (Lamiaceae) connues depuis l'Oligocène. C'est l'une des familles les plus populaires largement distribué dans le bassin méditerranéen, notamment en Algérie. Il comprend plus de 3300 espèces, environ 200 genres (**Bruneton, 1993**).

Le nom latin *Rosmarinus* est interprété comme « *ros* » dérivé rosée et « *marinus* » Appartient à la mer, même s'il en pousse loin (**Heinrich et al., 2006**).

Le romarin C'est un arbuste de 50 cm à 1 m ou plus, toujours vert, très aromatique, très ramifié, très feuillée. Les fleurs sont bleu pâle ou blanches. L'écorce se décolle sur les vieilles branches, et son odeur est très douce, Tenace (**Makhloufi, 2009**).

Selon **Mathias (2008)**, le romarin fleurit en janvier et mai. Son pollen est typiquement blanc cassé.

2.2 Origine du la plante

La plante est originaire du Caucase et de la Méditerranée orientale, mais depuis l'antiquité, elle a été introduite comme espèce ornementale dans de nombreuses régions du monde (reste de l'Europe, Chili, Chine, etc.). Cependant, il est le plus souvent cultivé dans les pays au climat méditerranéen. Habite des altitudes de 0 à 1600 m et est indifférent aux conditions du sol. Il ne pousse pas bien dans les régions très humides ou très froides. La période de floraison s'étend de fin décembre à avril dans la région méditerranéenne (hémisphère nord) (**González et Ayala, 2020**).

Le romarin tire son nom de rose de mer uniquement du fait qu'il pousse spontanément au bord de la mer (**Makhloufi, 2009**).

Il est également endémique d'Espagne, de Turquie, de Grèce et du sud de la France. Préfère l'Italie et l'Asie, le Maroc à la Tunisie, le Caucase et l'Amérique du Nord Régions tempérées et froides. En Algérie, il occupe une superficie de 70 000 hectares (**Boukhelfa, 1991**).

2.3 Classification

Tableau 01 : Classification selon **Andrade et al (2018)**.

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Super-division	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>RosmarinusL.</i>
Espèce	<i>Officinalis</i>

2.4 Description botanique

Le romarin est un arbuste de la famille de la menthe et la hauteur de l'arbre peut atteindre 1,5 mètre. Malgré sa grande taille, il peut être facilement identifié toute l'année par ses feuilles persistantes sans pétioles. Coriace, plus longue que large, avec des bords légèrement arrondis, vert foncé brillant. Les fleurs varient en couleur bleu pâle à violet. Il y a un calice poilu avec des dents bordées de blanc et deux étamines flanquées de petites dents. Comme la plupart des Lamiacées, le fruit est un tétracène brun. (Zeghad, 2008).



Figure 01 : Présentation d'un rameau du *Rosmarinus Officinalis* (Iserin, 2001).

2.5 Composition chimique de *Rosmarinus Officinalis*

Les plantes aromatiques sont riches en huiles volatiles qui dégagent un arôme agréable. Les composés aromatiques importants du romarin comprennent les hydrocarbures mono terpéniques, les monoterpènes oxygénés, les hydrocarbures sesquiterpéniques, les

sesquiterpènes oxygénés, les esters, les cétones, les phénols, les alcools, etc (**Ribeiro-Santos et al., 2015**).

Comme d'autres huiles essentielles botaniques, la composition chimique de l'huile de romarin varie selon le génotype, la géographie, le climat et la méthode de préparation, les principaux composants de romarin étaient le 1,8-cinéol, l' α -pinène, le β -pinène et le camphre. En moyenne, le 1,8-cinéole représentait 52 % du poids de l'huile (**Isman et al., 2008**).

Les feuilles de romarin contiennent trois espèces chimiques Il confère des propriétés pharmacologiques très différentes (**Fuss, 2014**) :

- ❖ Flavonoïde : (genquanine, diosmétineetc ...).
- ❖ Diterpènes : (picrossalvin, rosmanol, carnosol, etc...).
- ❖ Acide phénolique :(acide chlorogénique, acide rosmarinique, acide Carnosique, etc...).

2.6 Activités biologiques

Les effets biologiques du romarin ont été rapportés dans des études portant sur une série d'effets, notamment : Effets anti-tumoraux, anti-oxydants, anti-infectieux, anti-inflammatoires, analgésiques, effets sur des maladies telles que le système nerveux central, endocrinien cardiaque, remodelage cardiaque après infarctus du myocarde, modifications corporelles, poids corporel, dyslipidémie, ischémie cérébrale, toxicité hépatique et rénale, stress, anxiété. Les effets anti-inflammatoires du romarin seraient dus à la présence d'acide carnosique, d'acide carnosique, d'acide rosmarinique, d'acide ursolique, d'acide oléanolique et d'acide micromique qui agissent en synergie. En particulier, l'effet anti-inflammatoire est considéré comme étant dû à l'effet synergique de l'acide ursolique et des micropolyacides contenus dans l'extrait de romarin. On pense que les effets anti-inflammatoires de l'extrait de *R. officinalis* sont dus à la présence d'une combinaison d'acides ursolique, oléanolique et micromique (**Macedo et al., 2020**)

Le romarin contient de nombreux composés phytochimiques qui sont des sources potentielles de composés naturels tels que les diterpènes phénoliques, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les huiles essentielles. Environ 90 % de l'activité antioxydante du romarin est principalement due à sa forte teneur en composés non volatils tels que l'acide carnosique, le carnosol (un diterpénoïde phénolique) et l'acide rosmarinique (**Bradley, 2006**).

2.7 Utilisation de la plante

Romarin peut être utilisé frais, séché ou en infusion. L'huile essentielle et les extraits de romarin sont disponibles pour une utilisation dans les emballages alimentaires, l'aromathérapie et les procédures médicales. Il est utilisé comme agent aromatisant dans la cuisine, la conservation des aliments et les cosmétiques, ou en médecine traditionnelle à des fins anti-inflammatoires, diurétiques et antibactériennes, la prévention et le traitement du diabète, du cancer et des maladies cardiovasculaires. Le romarin fournit des protéines, des fibres, des vitamines et des minéraux connus pour leurs propriétés anti-maladies (Ribeiro-Santos et al., 2015).

2.8 Procédé d'extraction

2.8.1 Préparation de l'extrait hydro-éthanolique

Suivant le protocole d'extraction décrit par (Merghem et al, 1995), le matériel végétal broyé (100 g) est soumis à une extraction par macération dans le mélange éthanol / eau (30/70 : v/v) pendant 72 heures avec renouvellement de solvant chaque 24 heures et agitation de temps en temps. Les macéras sont réunis puis ils sont filtrés sur un papier filtre. Les filtrats sont évaporés presque à sec au moyen d'un évaporateur rotatif. Le résidu sec est repris dans une quantité d'éthanol (l'intérêt de l'utilisation de l'éthanol c'est pour assurer la récupération des composés restés accolés à la paroi du ballon d'évaporation).

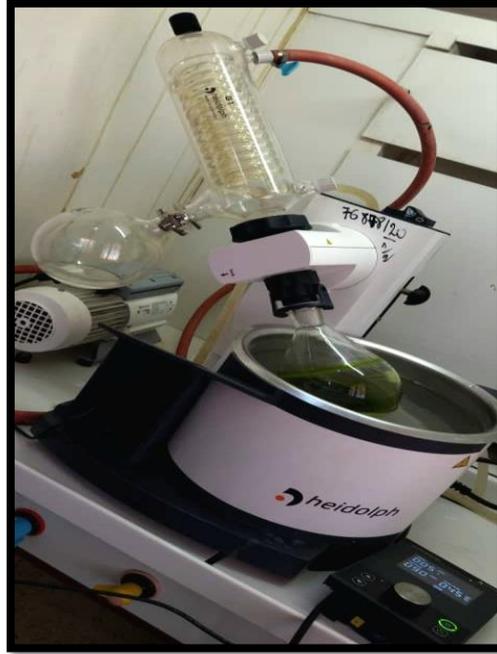


Figure 02: Extraction par l'utilisation de l'évaporateur rotatif

2.9 Screening phytochimique de *Rosmarinus Officinalis*

Pour identifier les différents groupes de composés chimiques présents dans les deux plantes, un screening chimique a été réalisé. La colorimétrie et la gravimétrie ont été les deux principales voies d'identification de ces groupes de substances en solution. Les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponines, les anthocyanes, leucoanthocyanes, les tanins, les terpènes et stérols contenus dans la plante ont été mis en évidence selon les méthodes décrites par (Harborne, 1998).

- **Tanins**

Les tannins catéchiques, non hydrolysables, sont identifiés à l'aide du réactif de Stiasny (Formol 30%/HCl concentré : 3-1). 5 ml de l'infusé ont été évaporés à sec. Après ajout de 15 ml du réactif de Stiasny au résidu, le mélange a été maintenu au bain-marie à 80 °C pendant 30 min. L'observation d'un précipité orange caractérise les tanins catéchiques.

Les tannins galliques, hydrolysables, sont mis en évidence par ajout de FeCl₃. En effet, nous avons filtré la solution précédente puis la saturé d'acétate de sodium. L'addition de 3 gouttes de FeCl₃ à 2% provoque l'apparition d'une teinte bleu-noire intense dénotant la présence de tanins galliques.

- **Leucoanthocyanes**

Les leuco-anthocyanes sont révélés par l'ajout à 05 ml d'infusé de 04 ml d'alcool chlorhydrique (Ethanol/HCl pur : 3-1). Après quelques minutes de chauffage au bain marie à 50°C, L'apparition d'une coloration rouge (rouge cerise) est caractéristique de leur présence.

- **Saponines**

Un décocté à 2 % est préparé avec 2 g de poudre dans 100 ml d'eau bouillante et maintenir une ébullition pendant 30 minutes. A partir de cette solution mère on prépare 10 tubes de 1-10 ml, le volume final étant réajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube est agité pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 min en position verticale. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponines.

- **Flavonoïdes**

10 g de la poudre a été macérée dans 150 ml d'HCl à 1% pendant 24 h. Ajouter le NH₄OH au 10 ml du filtrat pour rendre la solution basique. L'apparition d'une couleur jaune claire après 3h dans la partie supérieure du tube montre la présence des flavonoïdes.

- **Alcaloïdes**

La présence des alcaloïdes est établie par la précipitation de sels et la révélation à l'aide du réactif de Mayer (5 g de KI + 1,358 g de HgCl₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillé). A 5 g de poudre ajouter 50 ml d'HCl à 1%. Après 3 heures de macération à température ambiante, le macéré a été filtré. Prélever 1 ml de filtrat y ajouter 5 gouttes de réactif. La présence d'alcaloïdes est mise en évidence par l'apparition d'un précipité blanc.

- **Terpènes et stéroïdes**

Pour mettre en évidence les stéroïdes et les polyterpènes, nous avons utilisé le réactif de Liebermann. En effet, 5 g de poudre des feuilles ont été macérés dans 20 ml d'éther de pétrole, filtrés puis évaporés à sec dans un bain de sable à 90°C. Le résidu est trituré à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique. Nous avons ajouté 0,5 ml d'acide sulfurique concentré au triturât. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau pourpre et violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive.

- **Quinones**

Humecter 5 g de matériel végétal broyé de quelques gouttes de HCl. Mettre à macération ce matériel végétal pendant une heure ou 24 heures dans un Erlen Meyer fermé et contenant 10 ml d'éther de pétrole. Après filtration, 2 ml de filtrat sont agités avec 2 ml de NaOH à 10 %. La coloration rouge virant au violet apparaît en présence des quinones.

2.10 Présentation de *Culiseta longiareolata*

Culiseta longiareolata est une moustique d'une espèce de la famille des Culicidae et la sous-famille des Culicinae (Araâr et Dris, 2022). La taille de *Culiseta longiareolata* est de 3 à 5 mm. C'est une espèce pluripotente et rurale, la femelle est sténogame et autologue. Ils préfèrent mâcher les vertébrés, en particulier les oiseaux, mais rarement les humains. Cette espèce est considérée comme un vecteur des parasites du paludisme aviaire (figure 10) (Dris, 2019).



Figure 03 : Femelle adulte de *Culiseta Longiareolata*

2.10.1 Position systématique

Tableau 02 : Position systématique de *Culiseta longiareolata* (Paul, 2009).

Règne	Animalia
Sous-règne	Metazoa
Embranchement	Arthropoda
Sous-embranchement	Hexapoda
Classe	Insecta
Sous-classe	Pterygota
Ordre	Diptera
Sous-ordre	Nematocera
Famille	Culicidae
Sous famille	Culicinae
Genre	<i>Culiseta</i>
Espèce	<i>Culiseta longiareolata</i>

2.10.2 Cycle de vie du *Culiseta longiareolata*

Les moustiques sont des insectes holométaboles dont le cycle de vie comprend des stades aquatiques et aériens (**figure 11**) (**Dris, 2019**). Le cycle de développement des moustiques prend parfois 12 à 20 (**Dahchar, 2017**). Les adultes, sont en suspension dans l'air, tandis que les œufs, les larves et les nymphes constituent les stades pré-adultes et vivent généralement dans de l'eau douce, parfois saumâtre. La durée totale de développement est fortement influencée par la température et varie de 10 à 15 jours sous les tropiques (**Dris, 2019**).

Les femelles ingèrent normalement du sang pour assurer la maturation des ovocytes. Dans des conditions optimales, ce cycle dure environ 12 à 20 jours. L'accouplement des moustiques a lieu en vol ou dans la végétation et ne se produit généralement qu'une fois dans une vie. Après la prise de sang, la femelle atterrit dans une zone protégée pour digérer son repas. La ponte des œufs aura lieu 2 à 4 jours après la prise de sang (**Aïssaoui, 2014**).

➤ **Œufs**

Après l'accouplement, qui a eu lieu peu de temps après l'éclosion des adultes, la femelle fécondée a pondu 200 à 400 œufs perpendiculairement à la surface de l'eau. Les œufs, cylindriques et blanchâtres à la ponte, deviennent gris ou noirs au bout de quelques heures. Cette coloration est due à l'oxydation de certains constituants chimiques de la thèque au contact de l'eau ou de l'air. Les œufs ont des couvercles qui s'ouvrent vers le bas à l'éclosion, d'où émergent les larves grâce à des épines chitineuses au niveau de la tête (**Dris, 2019**).

➤ **Larves**

Les larves passent par quatre stades de développement, L1, L2, L3 et L4, sont séparées par la mue et atteignent environ 2 à 12 mm. Les larves sont mobiles et respirent à la surface de l'eau via un siphon respiratoire au bout de leur abdomen. Ils saccadent et se nourrissent de divers microbes (particules végétales, bactéries, levures). Les larves sont apodes, se déplacent rapidement et ont des pièces buccales broyeuses. Le corps larvaire est composé de trois parties : la tête est entourée d'une capsule durcie, le thorax est composé de trois segments fusionnés et l'abdomen a neuf segments : le dernier segment abdominal est le , attaché à l'extrémité postérieure où l'anus est dans une position ventrale position courbée. Après chaque mue, la larve se fixe près de la carapace rejetée et se transforme en puppe à la fin de cette période (**Dris, 2019**).

➤ **Nymphes**

Les larves ou pupes sont également aquatiques, en forme de virgule et mobiles, mais ne se nourrissent pas à ce stade. Cette étape dure 2 à 5 jours. L'air atmosphérique est aspiré par deux trompettes respiratoires situées dans le céphalothorax. Son corps est composé de deux parties : un gros céphalothorax (antennes, tronc, pattes, ailes) et un abdomen en forme de queue permettant de distinguer les sexes. Les femelles ont des queues plus courtes. Le stade nymphal est un stade transitoire au métabolisme très actif, au cours duquel l'insecte subit de profondes modifications morphologiques et physiologiques, passant des stades larvaire, aquatique et saprophyte aux stades adulte, aérien et généralement femelle. Insectes. A la fin de cette étape, le tégument s'assèche au contact de l'air, et sous l'influence d'une pression interne accrue, une fente en forme de T se forme sur la face dorsale, libère successivement l'abdomen, laissant la coque pupale rejetée dans l'eau. Ce phénomène émergent dure environ 15 minutes, pendant lesquelles l'insecte est exposé à de nombreux prédateurs sur des surfaces non protégées(Dris, 2019).

➤ **Adultes**

Les adultes, comme tous les diptères, ont une paire d'ailes longues, étroites et membraneuses avec des écailles le long des nervures, qui sont repliées horizontalement au repos. La seconde paire se réduit à une paire de pendules. Ils ont un corps élancé divisé en trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen. Au niveau de la tête, les adultes ont de longues antennes fines et articulées contrairement aux autres membres de la famille des diptères. Les femelles se distinguent facilement des mâles par la présence d'antennes pennées. Ils ont de longues parties buccales suceuses et suceuses (Dris, 2019).

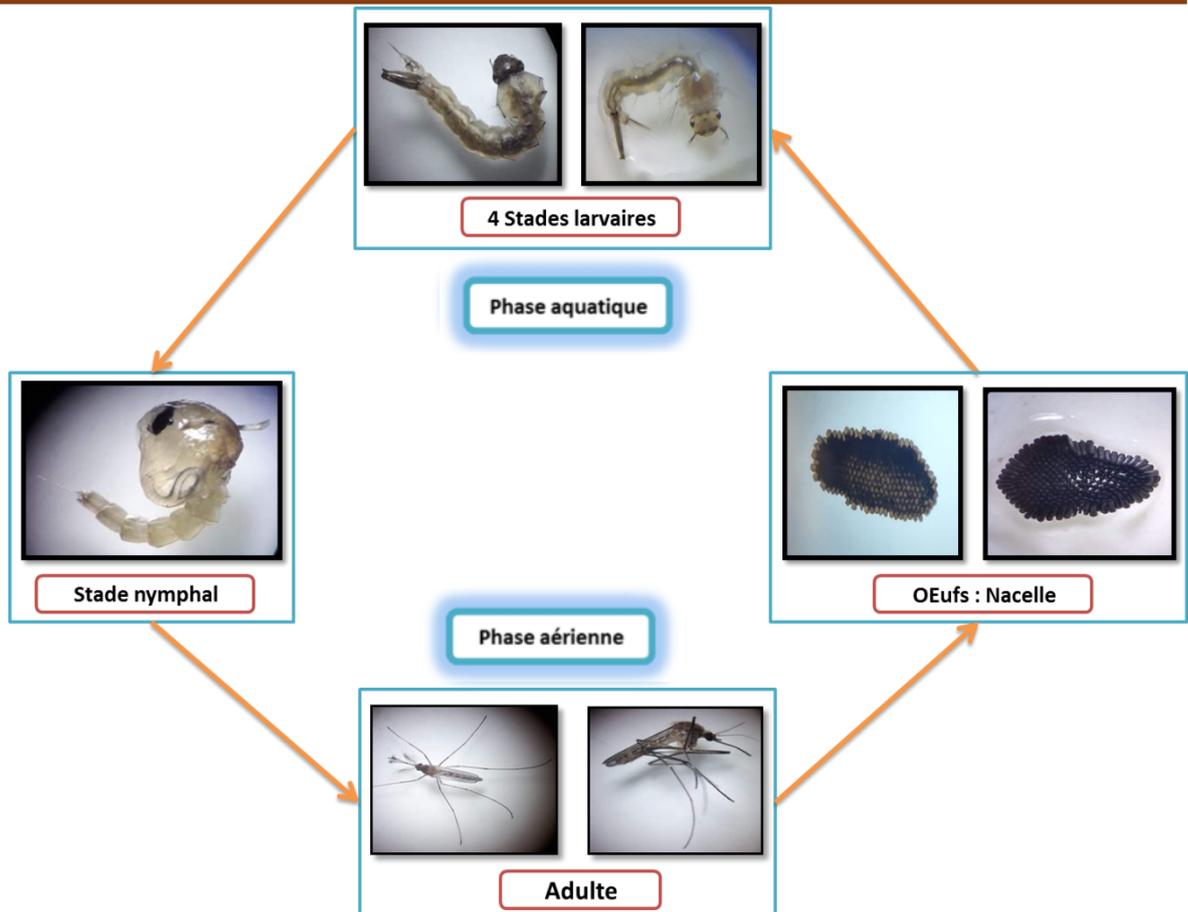


Figure 04 : Cycle de développement du Moustique.

2.10.3 Collecte et élevage

Les larves de moustique sont récoltés des différents sites d'échantillonnage. Les larves sont élevées dans des récipients contenant 150 ml d'eau déchlorurée et nourris avec 0,04g du mélange biscuit 75% et 25% levures (Tine-Djebar et Soltani., 2008). L'eau est renouvelée chaque deux jour. Le régime alimentaire joue un grand rôle dans la fécondité car les protéines permettent à la femelle de pondre plus d'œufs par rapport aux femelles nourries de sucre seulement (Wigglesworth, 1972).

2.10.4 Traitement et teste de toxicité

L'extrait hydro-éthanolique dissoute dans l'éthanol est appliqué sur des larves du troisième et quatrième stade de *Cs. longiareolata*. Après un screening préalable, L'extrait hydro-éthanolique de romarin a été testé à différentes concentrations. Trois répétitions comportant chacune 15 larves, ont été réalisées pour chaque concentration. Une série témoin négatif (les individus ne subissent aucun traitement) et une série témoin positif (les larves reçoivent 1ml d'éthanol) sont conduites en parallèle. Le traitement a été appliqué dans des gobelets contenant chacun 150 ml d'eau déchlorurée et de la nourriture pendant

24 heures, selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé (OMS, 1963). Après cette période, les larves sont rincées puis placées dans de nouveaux gobelets contenant de l'eau propre et de la nourriture. Le suivi de mortalité des larves a été réalisé à 24, 48 et 72 heures après traitement, le pourcentage de mortalité observée est corrigé par la formule d'Abbott (1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle et de déterminer la toxicité réelle du biopesticides. La détermination des concentrations sous létales et létales (CL_{25} , CL_{50} et CL_{90}) ainsi que leurs intervalles de confiance (95% IC) a été faite grâce à un logiciel GRAPH PAD PRISM 7.

- **Mortalité corrigée (M .C)**

Le pourcentage de la mortalité observée chez les larves témoins et traitées à été déterminé par la formule suivant :

$$M .C\% = \frac{\% \text{ mortalité des larves traitées} - \% \text{ mortalité des larves témoins}}{100 - \% \text{ mortalité des larves témoins}} \times 100$$

La formule permet d'éliminer la mortalité et de connaître la toxicité réelle et de pesticides par l'analyse des probits.

2.10.5 Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (version 16, Penn State Collège, PA, USA), Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne \pm l'écart-type (SD).

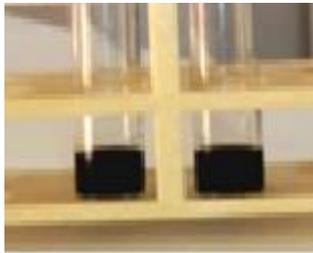
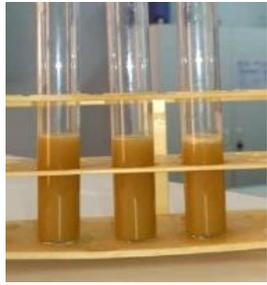
Résultats

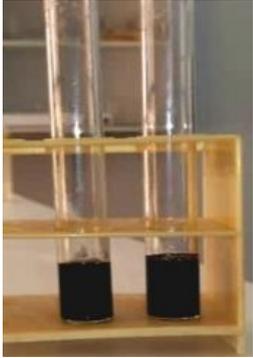
3 Résultats

3.1 Screening phytochimique

Les résultats de l'analyse phytochimique sont présentés dans le tableau 5. Le signe "+" traduit la présence du groupe de composés chimiques et le signe "-" une réaction négative. Les résultats indiquent que les feuilles de *Rosmarinus officinalis* renferment des flavonoïdes, des tanins catéchiques, des quinones, des stéroïdes et ne contient pas de tanins galliques, leucoanthocyanes, alcaloïdes, et terpènes.

Tableau 03: Résultats du criblage phytochimique de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis*

Métabolites secondaires	Observations	Résultats
Tanins		T. catéchiques + T. galliques -
Leucoanthocyanes		-
Saponines		-

<p>Flavonoïdes</p>		<p>+ (isoflavon)</p>
<p>Alcaloïdes</p>		<p>-</p>
<p>Terpènes et stéroïdes</p>		<p>Terpènes – Stéroïdes +</p>
<p>Quinones ...</p>		<p>+</p>

3.2 Efficacité larvicide de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Cs. longiareolata*

Les essais toxicologiques ont permis de déterminer l'efficacité de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* à partir de la mortalité enregistrée chez les individus traités après différentes périodes 24, 48 et 72 heures.

* Stade larvaire (L₃)

Différentes concentrations : 15, 30, 60, 120, 180 mg/ml ont été appliquées sur les larves du troisième stade nouvellement exuviées. Des séries témoins négatifs (eau seulement) et

Résultats

témoins positifs (eau + 1ml éthanol) sont réalisées en parallèles. Aucune mortalité n'a été observée dans les deux séries témoins. Les mortalités corrigées mentionnées dans l'histogramme (**figure 05**) marquent une augmentation significative en fonction des concentrations appliquées et des périodes testées.

Les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification qui révèle un effet – concentration très hautement significatif ($p < 0,0001$) à 24, 48 et 72 heures. La courbe dose-réponse exprimant le taux de mortalité corrigée en fonction du logarithme des concentrations appliquées (**Figure 06**) a permis l'estimation des valeurs des différentes concentrations sous létales (CL_{25} et CL_{50}) et létales (CL_{90}) ainsi que leurs intervalles de confiance et le Hill Slope (**Tableau 04**).

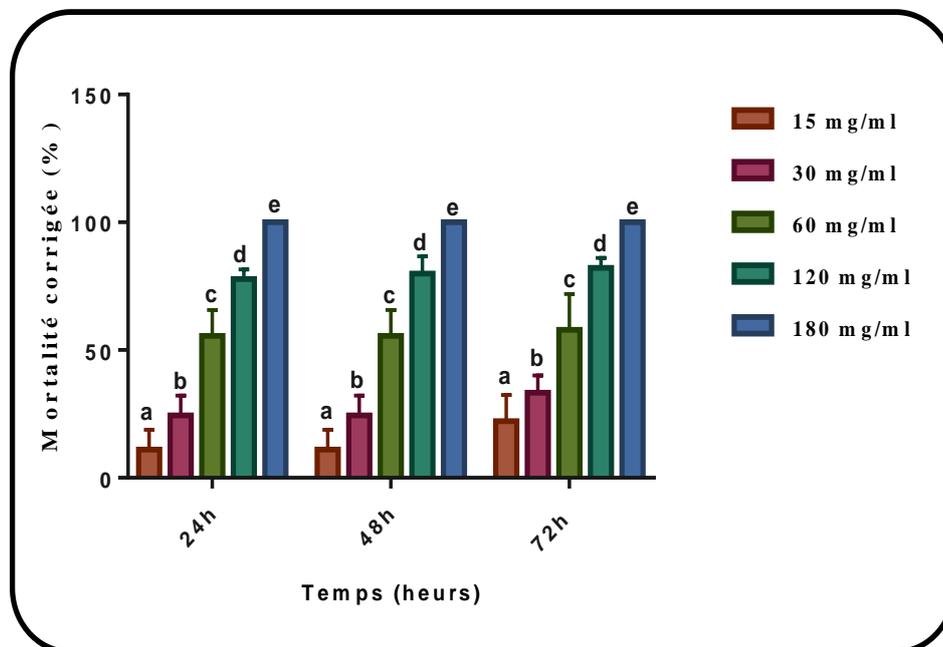


Figure 05. Effet de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* (mg/ml) appliquée sur des larves du troisième stade de *Cs. longiareolata*, sur le taux de mortalité corrigée à 24, 48, et 72 heures

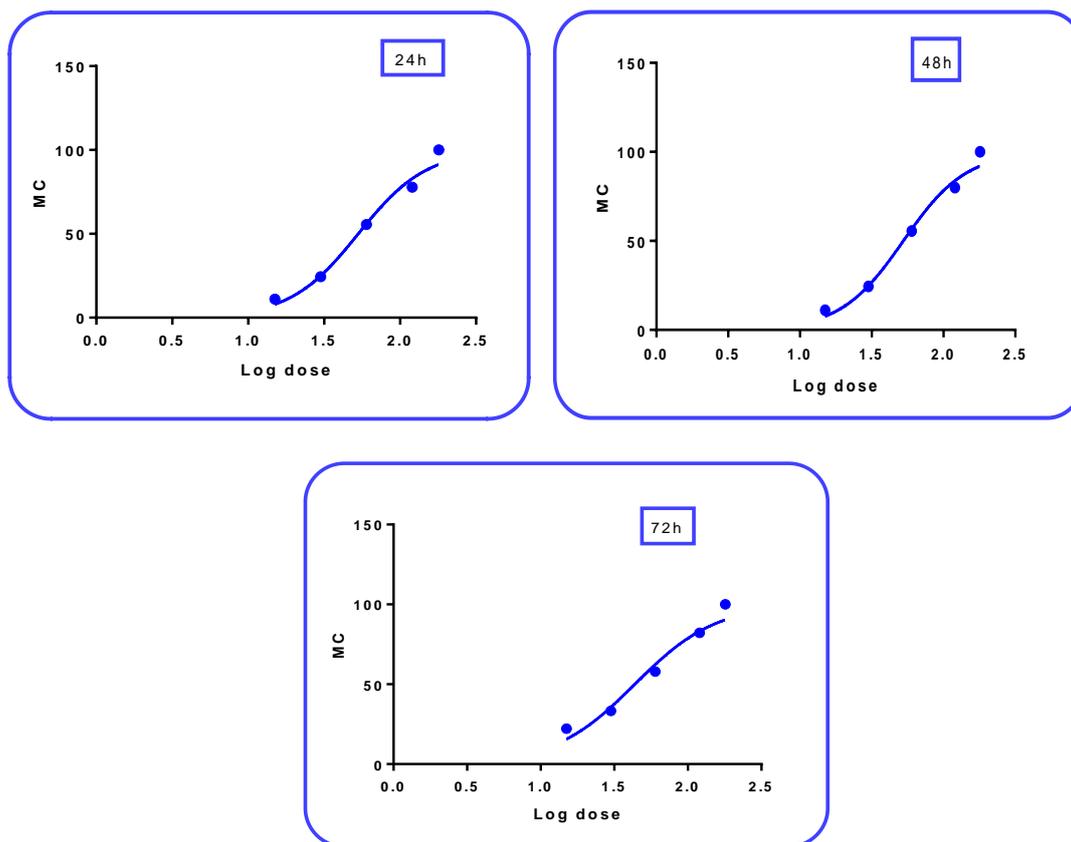


Figure 06. Effet de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* (mg/ml), appliquée sur les larves 3 de *Cs. longiareolata*: Courbe dose réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses

Tableau 04. Efficacité de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* (mg/ml) appliquée sur des larves du troisième stade de *Cs. longiareolata* à 24, 48 et 72 heures après traitement: analyse des probits.

Périodes (heures)	R ²	HillSlope	Concentrations sous létales (mg/ml)		Concentrations létales (mg/ml)
			CL ₂₅ (95% IC)	CL ₅₀ (95% IC)	CL ₉₀ (95% IC)
24	0,98	1,93	30,04 (18,58 – 43,78)	53,06 (39,59 – 70,07)	165,6 (98,72 – 329,7)
48	0,98	1,98	30,17 (19,79 – 42,45)	52,5 (40,43 – 67,36)	159 (99,97 – 288,6)
72	0,96	1,57	21,74 (9,60 – 37,09)	43,61 (28,31 – 63,54)	175,5 (89,05 – 514,1)

*** Stade larvaire (L₄)**

L'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* a été testée sur les larves 4 de *Cs. longiareolata* à différentes doses 15, 30, 60, 180, 360, 480 mg/ml. La mortalité naturelle enregistrée chez les séries témoins positifs et négatifs est nulle. Le traitement révèle un

effet larvicide avec une relation dose-réponse.

Aussi l'analyse de la variance à un critère de classification fait ressortir des différences très hautement significatives ($p < 0,001$) (**Figure 07**). La courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalités corrigées en fonction du logarithme de la dose appliquée (**Figure 08**) a permis la détermination des valeurs des différentes concentrations sous létales et létales ainsi que leurs intervalles de confiance et le HillSlope (**Tableau 05**).

De plus, on note que le stade larvaire L₄ est plus résistant à l'égard de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* comparativement au stade larvaire L₃.

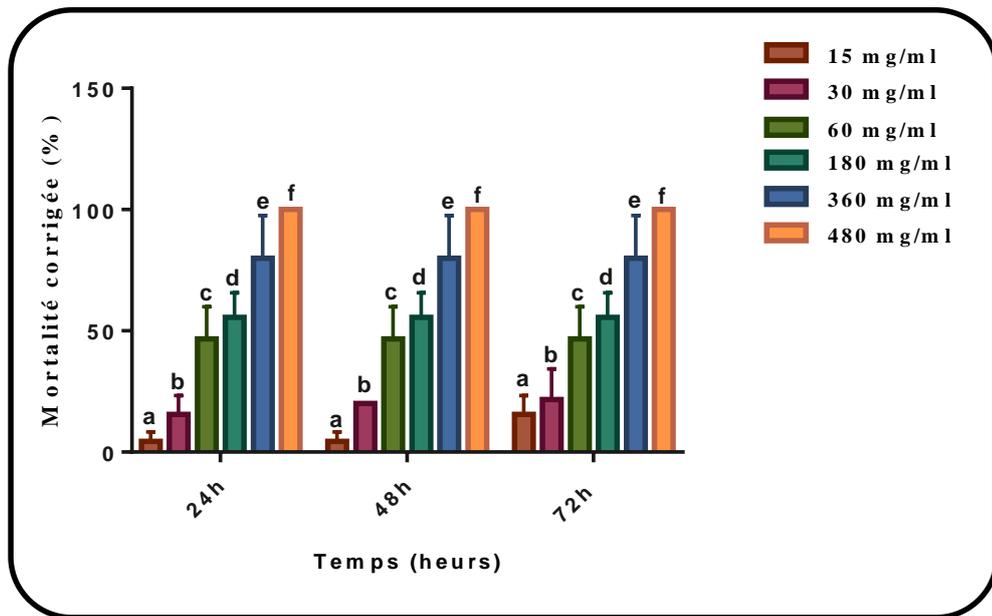
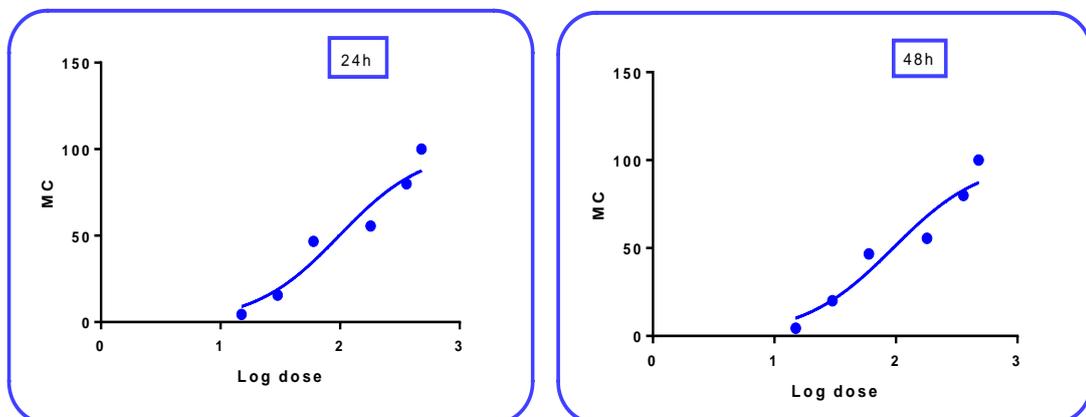


Figure 07. Effet de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* (mg/ml) appliquée sur des larves du quatrième stade de *Cs. longiareolata*, sur le taux de mortalité corrigée à 24, 48, et 72 heures.



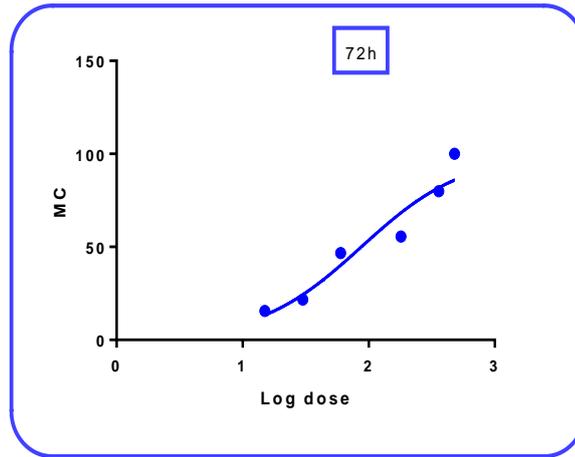


Figure 08. Effets de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* (mg/ml), appliquée sur les larves 4 de *C. longiareolata*: Courbe dose réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.

Tableau 05. Efficacité de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* (mg/ml) appliquée sur des larves du quatrième stade de *C. longiareolata* à 24, 48 et 72 heures après traitement: analyse des probits.

Périodes (heures)	R ²	HillSlope	Concentrations sous létales (mg/ml)		Concentrations létales (mg/ml)
			CL ₂₅ (95% IC)	CL ₅₀ (95% IC)	CL ₉₀ (95% IC)
24	0,93	1,22	40,29 (14,35 – 90,71)	98,49 (52,62 – 181,4)	588,6 (192,5 – 3068)
48	0,93	1,18	37,46 (13 – 84)	94,81 (50,56 – 174,8)	607,2 (198,5 – 3273)
72	0,92	1,94	31,05 (9,17 – 71,07)	87,36 (45,46 – 161,3)	691,5 (225,7 – 4454)

Discussion

4 Discussion

4.1 Analyse phytochimique de *Rosmarinus officinalis*

Pour se protéger, en plus des barrières physiques, les plantes ont élaboré des systèmes de défense basés sur la production de molécules plus ou moins toxiques. Ces composés naturels sont issus du métabolisme de la plante et sont appelés métabolites secondaires ou encore métabolites spécialisés. Ce sont des produits qui n'interviennent pas directement dans les activités biochimiques primaires permettant la croissance, le développement et la reproduction de l'organisme dans lequel ils sont produits (**Dugrand-Judek, 2015**).

Un screening phytochimique est un moyen pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans une plante (**EL-Haoud et al., 2018**). Notre étude phytochimique réalisée sur les feuilles de *Rosmarinus officinalis* a montré la présence des flavonoïdes, des tanins catéchiques, des quinones, des stéroïdes et l'absence de tanins galliques, leucoanthocyanes, alcaloïdes, et terpènes.

. Ces résultats sont confirmés par d'autres travaux. **Boudjema et al., (2011)**, ont noté que les feuilles de romarin contiennent des quinones, des flavonoïdes, des terpènes, des tannins et des saponines. Plusieurs études montrent que les feuilles de romarin sont riches en polyphénols totaux et surtout en flavonoïdes (**Zeghad, 2009**).

D'autre part, nos résultats diffèrent des résultats obtenus par **Saudi et Basodan, (2023)** en ce qui concerne les saponines, les tanins et qui ne sont pas présents dans l'extrait alcoolique des feuilles de la même plante.

4.2 Effet larvicide de l'extrait hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Cs. longiareolata*

Au cours des dernières décennies, les recherches sur les interactions entre plantes et insectes ont conduit à l'utilisation potentielle des extraits de plantes dans le domaine de la lutte (**Kamaraj et al., 2009**)

Les composés phytochimiques dérivés de diverses sources végétales offrent de nombreuses utilisations bénéfiques allant des médicaments aux pesticides. En plus de leur utilisation comme poisons contre divers stades de la vie des moustiques, les composés phytochimiques ont également des utilisations potentielles comme répulsif et inhibiteurs de croissance et de reproduction (**Zeghib, 2022**). Ils peuvent agir sur divers cibles du système nerveux des insectes, notamment l'acétylcholinestérase (AChE), les récepteurs de l'acide γ -

aminobutyrique (GABA), les récepteurs de l'octopamine, les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChR) et les canaux sodiques en provoquant la mort de l'insecte. Leurs efficacités varient en fonction du profil phytochimique des extraits de plantes et de la cible entomologique (**Bouzidi, 2022**)

Les tests toxicologiques sont adoptés pour tester la sensibilité des larves, vis-à-vis des insecticides utilisés en campagnes de lutte (**OMS, 1963**), ils sont nécessaires pour évaluer les concentrations létales. La toxicité a été évaluée à partir du taux de mortalité enregistrées après chaque traitement et qui dépend des doses ou des concentrations administrées.

Notre étude vise à tester la toxicité des extraits hydro-éthanolique extraites de *Rosmarinus officinalis* sur les larves de troisième et quatrième stades nouvellement exuviées de *Cs longiareolata*, dont les résultats montrent une activité larvicide avec une relation dose-réponse. Cependant, les concentrations létales et sous létales de l'extrait hydro-éthanolique du romarin montrent des valeurs variables en fonction du temps: CL₂₅ (30,04 ; 30,17 et 21,74 mg/ml) , CL₅₀ (53,06 ; 52,5 et 43,61 mg/ml) et CL₉₀ (165,6 ; 159 et 175,5 mg/ml) à 24, 48 et 72 heures après traitement, respectivement sur les larves du troisième stade nouvellement exuviées de *Cs longiareolata*. Et : CL₂₅ (40,29 ; 37,46 et 31,05 mg/ml) , CL₅₀ (98,49 ; 94,81 et 87,36 mg/ml) et CL₉₀ (588,6 ; 607,2 et 691,5 mg/ml) à 24, 48 et 72 heures après le traitement sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs longiareolata*

Des expériences antérieures ont montré que l'extrait aqueux de *T. vulgaris*, possède un pouvoir larvicide plus élevé que celui de *Ricinus communis* et *Daphne gnidium* à l'égard de *Cx. pipiens*. De plus, les extraits aqueux de *Ricinus communis* et de *Tetraclinis articulata* appliqués sur les larves de quatre espèces de moustiques, montrent une sensibilité marquée des larves 2 de *Cx. pipiens* et de *Cs. longiareolata* (**Bouguerra, 2019**). Les résultats signalés par **Koua (1994)** révèlent une activité toxique de l'extrait aqueux de *Persea americana* appliqué sur différents stades larvaires d'*An.gambiae* avec une relation dose réponse.

Par ailleurs, L'effet insecticide des extraits de 5 plantes algériennes : *Thymus vulgaris*, *Artemisia herba-alba*, *Juniperus phoenicea*, *Rosmarinus officinalis* et *Eucalyptus globulus* a été évalué par **Nabti & Bounechada, (2019)** et qui ont signalé l'efficacité du thym contre les larves L4 de *Cs. longiareolata* avec des concentrations létales (CL50 et CL90) de 25,64 ppm et 50,53 ppm par rapport à *J. phoenicea* (59,83 et 137,68 ppm), *R. officinalis* (64,18 et 96,55ppm), *A. herba-alba* (86,67 et 139,55 ppm), puis *E. globulus* (95,83 et 168,25 ppm).

Conclusion

5 Conclusion

En raison des problèmes liés à l'utilisation des insecticides chimiques et leur impact nocif sur la santé et l'environnement, le recours à des alternatifs naturels remplissant le même rôle des insecticides de synthèse et présentant des avantages écologiques et économiques, s'avère nécessaire

L'application des extraits des plantes dans le domaine de la lutte a augmenté au cours des dernières années en raison de leur disponibilité et leurs propriétés biologiques. Elles contiennent une large gamme de composés bioactifs dont beaucoup sont sélectifs et ont peu ou pas d'effets nocifs sur les organismes non ciblés et sur l'environnement.

Le but de la présente étude était d'évaluer l'effet d'un extrait hydro-éthanolique de la plante *Rosmarinus officinalis* sur des larves de *Culiseta longiareolata*, en traitant des larves de stade L3 et de stade L4 nouvellement muées de *Culiseta longiareolata*.

Le screening phytochimique réalisée sur les feuilles de *Rosmarinus officinalis* a montré la présence des flavonoïdes, des tanins catéchiques, des quinones, des stéroïdes et l'absence de tanins galliques, leucoanthocyanes, alcaloïdes, et terpènes.

Le traitement par l'extrait hydro-éthanolique de la plante sur les larves de stade L3, L4 et de *Culiseta longiareolata* a permis d'établir les concentrations létales : CL25, CL50, CL90. Cette huile montre des effets doses significatifs et manifestent une toxicité avec une relation dose-réponse.

Enfin, on peut conclure que le romarin est une bonne source de substances bioactives qui pourraient constituer une alternative naturelle potentielle aux agents de lutte contre les insectes.

A l'avenir, il serait intéressant de compléter ces résultats par une analyse qualitative de l'extrait hydro-éthanolique du romarin, de tester l'effet de cette huile sur la viabilité des œufs ainsi que sur le potentiel de reproduction. Par ailleurs, le dosage des métabolites (protéines, lipides, glucides) et le dosage des enzymes du système de détoxification (estérases, mono-oxygénase à P450) et les techniques de biologie moléculaire, pourraient contribuer à mieux comprendre la mise en place du mécanisme de résistance et d'identifier les gènes affectés dans ce processus, afin d'établir un programme de lutte intégrée.

Références

bibliographies

Références bibliographies

-A-

Acheuk, F., Lakhdari, W., Abdellaoui, K., Belaid, M., Allouane, R., & Halouane, F. (2017). Etude phytochimique et effet bioinsecticide de l'extrait éthanolique brut de la plante algérienne *Artemisia judaica* L. (Asteraceae) contre le puceron noir de la fève, *Aphis fabae* Scop. *Poljoprivreda i Sumarstvo*, 63 (1), 95p.

Aïssaoui Linda 2014. Etude écophysiological et systématique des Culicidae ans la région de Tébessa et lutte biologique. Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences. 166 p.

Araâr Abiret Dris Amira 2022. Screening phytochimique d'une plante médicinale *Ruta montana* et l'évaluation biologique sur une espèce de moustique. Mémoire de Master. 35 p.

-B-

Barbouche N., Hajjem B., Lognay G., Ammar M. (2001). Contribution à l'étude de l'activité biologique d'extraits de feuilles de *Castrum parqui* L'Hérit. (Solanaceae) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 5 (2), p. 85-90.

Belaïche P., 1979. L'aromatogramme, Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, M.S.A. Editeur, Paris, (1), 204 P.

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

Boukhelfa, T., (1991). Apport du couplage CPG/SM ET CPG/TR. Techniques des analyses Des mélanges naturels complexe exemple de l'huile essentielle de romarin. U.S.T.B.H Alger. 126p.

Boz I., Burzo I., Zamfirache M.M., Toma C., Padurariu C, 2009, Glandular trichomes and Essential oil composition of *Thymus pannonicus* All. (Lamiaceae). *Analele Universitatii Din Oradea, Fascicula Biologie*, 36-39p.

Bruneton J. 1993.Pharmagnosie, phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier TEC et DOC 1éme édition, Paris.

Brunhes, J., Rhaim, A., Geoffroy, B., Angel, G. & Hervy, J. P. (1999). Les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne. Logiciel de l'institut de recherche et de développement.

-C-

CARNEVALE, Pierre (dir.) ; ROBERT, Vincent (dir.). Les anophèles : Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. Nouvelle édition [en ligne]. Marseille : IRD Éditions, 2009 (généré le 06 mars 2023). Disponible sur Internet : <http://books.openedition.org/irdeditions/10374>. ISBN : 9782709922838. DOI : <http://doi.org/10.4000/books.ireditions.10374>.

-D-

Dahcharzineb 2017. Inventaire des Culicidae de la région Ouest de la ville d'Annaba. Etude bioécologique, systématique des espèces les plus abondantes. Lutte biologique anti larvaire par les extraits aqueux de quelques plantes (Médicinales et toxiques) et le *Bacillus thuringiensis israelensis* H14. Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat. 286 p.

Delaunay, P., Fauran, P., & Marty, P. (2001). Les moustiques d'intérêt médical. *Revue Française des laboratoires*, 2001(338), 27-36.

Dris Djemâa 2019. Etude de l'activité larvicide des extraits de trois plantes : *Menthapiperita*, *Lavanduladentata* et *Ocimum basilicum* sdeules larves de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* (Linné) et *Culiseta longiareolata* (Aitken). These en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat es science. 165 p.

Duvallet, G., & Chabasse, D. (2020). Moustiques et pathogènes. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(524), 34-43.

-G-

Gassner, G. 1973. Mikroskopische Untersuchung pflanzlicher Lebensmittel. Gustav fischer Verlag. Jena. 299-300.

González-Minero, FJ, Bravo-Díaz, L., & Ayala-Gómez, A. (2020). *Rosmarinus officinalis* L. (Romarin) : Une plante ancienne utilisée dans les soins de santé personnels et les cosmétiques. *Cosmétiques* , 7 (4), 77.

-H-

Harborne, J.B. (1998). *Phytochemical methods*. London : Chapman and Hall. 286 pages.

Heinrich M., Kufer J., Leonti M., Pardo-de-Santayana M, 2006. Ethnobotany and Ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences. *Ethnopharmacol.* 107 : 157-160.

Hoda S. El-Sayed, Mohamed T. Fouad, Samah M.ElSayed,2022. Propriétés microbiennes, fonctionnelles et sensorielles améliorées du fromage à pâte molle aux herbes avec nanoémulsion d'extrait de graines de coriandre, Biocatalyse et biotechnologie agricole, Tome 45, 102495, ISSN 1878-8181.

-I-

Iserin P (2001). Larousse-Encyclopédie des Plantes Médicinales : identification, préparation, soins 2^{ème} édition. Larousse-Bordas Paris. 335 p : 128-6.

Isman, MB, Wilson, JA et Bradbury, R. (2008). Activités insecticides des huiles commerciales de romarin (*Rosmarinus officinalis*.) contre les larves de *Pseudaletia unipuncta*. Et *Trichoplusia ni*. Par rapport à leurs compositions chimiques. *Biologie pharmaceutique* , 46 (1-2), 82-87.

-J-

Joana M Andrade, Célia Faustino, Catarina Gracia, Diogo Ladeiras, Catarina P Reis et Patricia Rijo 2018. *Rosmarinus officinalis* L.: An update review of its phytochemistry and biological activity. *Futur Sci. OA* 4(4)

-M-

Macedo, LM, Santos, É. MD, Militão, L., Tundisi, LL, Ataíde, JA, Souto, EB et Mazzola, PG (2020). Romarin (*Rosmarinus officinalis* L., syn *Salvia rosmarinus* Spenn.) Et ses applications topiques : Une revue. *Plantes* , 9 (5), 651.

Makhloufi A., 2009- Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes Médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) Et *Rosmarinus officinalis* L et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Mémoire doctorat. Université Aboubaker Belkaid Bechar, 136p.

Mathias M., 2008- Filière plantes aromatique et à parfum. Fiche technique de Lycée Agricole de Rivesaltes, 8p.

Merabeti, B., & Ouakid, M. L. (2011). Contribution à l'étude des moustiques (Diptera : Culicidae) dans les oasis de la région de Biskra (nord-est d'Algérie). Actes du Séminaire International sur la Biodiversité Faunistique en Zones Arides et Semi-arides. Ouargla, 4, 185-189.

Merghem R., Jay M., Viricel M. R., Bayet C. et Voirin B. 1995. Five 8-C benzylated Flavonoids from *Thymus hirtus* (Labiatae). *Phytochemistry.*, 38 (3) : 637-640.

-P-

Paul R. (2009). Généralités sur les moustiques du littoral méditerranéen français. EID méditerranée, p : 1-11.

Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales, 4ème édition De médicales internationales (Tec et Doc). (Paris).

Piochon M. (2008). Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémisynthèse. Mémoire, Université du Québec à Chicoutimi, Canada.

Pixabay. [en ligne] Disponible sur : <<http://pixabay.com/en/flower-purple-bluerosemary-herb-189897/>> (consulté le 21/11/2014)

-R-

Ribeiro-Santos, R., Carvalho-Costa, D., Cavaleiro, C., Costa, HS, Albuquerque, TG, Castilho, MC, ... & Sanches-Silva, A. (2015). Un regard inédit sur une plante aromatique ancestrale : le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.). *Tendances en science et technologie alimentaires* , 45 (2), 355-368.

-S-

Schaffner F., Weigand A., Ries C. 2023. – Atlas and catalogue of the mosquitoes (*Diptera, Culicidae*) of Luxembourg. Ferrantia 87, Musée national d'histoire naturelle, Luxembourg, 117 p.

-T-

Tine-Djebar, F., &Soltani, N. (2008). Activité biologique d'un agoniste non stéroïdien de l'hormone de mue sur *Culiseta longiareolata* : analyses morphométrique, biochimique et énergétique. Synthèse : Revue des Sciences et de la Technologie, 18, 23-34.

-Z-

Zeghad N. 2008. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt Economique (*Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité Antibactérienne. Mémoire magister. Université Mentouri Constantine, 96p.