



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de 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: Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option: Biochimie

Thème:

Activité biologique d'huile essentielle de *Salvia officinalis* chez deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*

Présenté par :

Melle.Bouaoune Dhikra

Melle. Cherayette Hafidha

Devant le jury:

Dr. BOUABIDA Hayette	MCA	Université de Tébessa	Présidente
Dr. DRISS djemaa	MCA	Université de Tébessa	Rapporteuse
M^{me}. HAMIRI Manel	MAA	Université de Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance : 14 juin 2022

Note:.....

Mention:.....

ملخص

يوصى بشدة بمكافحة البعوض بواسطة المبيدات الحشرية البيولوجية، من بين هذه الطرق استخدام المستخلصات النباتية والزيوت الأساسية. في هذا السياق، يهدف هذا العمل إلى تقييم استجابة الزيت الأساسي ل الميرامية على نوعين من البعوض *Culiseta longiareolata* و *Culex pipiens* الأكثر توفرا في منطقة تبسة .

اعطى محصول المادة الجافة للنبات كمية كبيرة من الزيت الاساسي تقدر ب (0.44 ± 1.20%) و يعطي هذا الزيت قوة مضادة للأكسدة ذات فعالية معتبرة باستخدام DPPH محصورة بين (5,28 و 28,24%).

تظهر نتائج الدراسة السمية ان الزيت الاساسي المستخرج له خصائص مبيد حشري وخصائص سامة ضد البعوض بنصف التركيز $2,75\mu\text{L/ml}$ و $12,34\mu\text{L/ml}$ على اليرقات ذات الطور الرابع ل *Culiseta longiareolata* و *Culex pipiens*

الكلمات المفتاحية : الزيوت الأساسية ، *Culiseta longiareolata* ، *Culex pipiens* ، السمية ، *Salvia Officinalis* مضادة للأكسدة .

Abstract

Abstract

The control of mosquitoes by biological insecticides is strongly recommended, among these methods the use of plant extracts and essential oils. In this context, this work aims to evaluate the essential oil response of *Salvia officinalis* on two species of mosquitoes *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata* the most spread in the region of Tebessa.

The yield of the essential oil of the plant has given a significant amount estimated to $1.20 \pm 0.44\%$ dry mater and has a more effective antioxidant power using the DPPH between (5.28 et 28.24%).

The results of the toxicological study showed that the extracted oil has pesticide and toxic properties against mosquitoes with LC_{50} of $12.34 \mu\text{L/ml}$ and $2.75 \mu\text{L/ml}$ for L_4 larvae of *Cs longiareolata* and *Cx pipiens* respectively.

Keywords: Essential oils, *Salvia officinalis*, *Culex pipiens*, *Culiseta longiareolata*, Effective antioxidant, toxicological.

Résumé

La lutte contre les moustiques par les insecticides biologiques est fortement recommandée, parmi ces méthodes l'utilisation des extraits végétaux et des huiles essentielles. Dans ce contexte, ce travail vis à évaluer la réponse d'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* les plus réponsus dans la région de Tébessa.

Le rendement de l'huile essentielle de la plante a donné une quantité importante estimée à $1,20 \pm 0,44\%$ de la substance sèche et présente un pouvoir antioxydant plus efficace à l'aide de la DPPH comprises entre (5,28 et 28,24%).

Les résultats de l'étude toxicologique montrent que l'huile extraite possède des propriétés pesticides et toxiques contre les moustiques avec des CL_{50} de $12,34 \mu\text{L/ml}$ et $2,75 \mu\text{L/ml}$ pour les larves L_4 de *Cs longiareolata* et *Cx pipiens* respectivement.

Mots clés: Huiles essentielles, *Salvia officinalis*, *Culex pipiens*, *Culiseta longiareolata*

Pouvoir antioxydante, toxicologique.

Liste des tableaux :

Numéro de tableau	Titre de tableau
Tableau 01	La classification du <i>Salvia officinalis</i>
Tableau 02	Les Composition chimique des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i>
Tableau 03	Classification du <i>Culiseta longiareolata</i>
Tableau 04	La classification de <i>Culex pipien</i>
Tableau 05	Pourcentage d'inhibition d'HE de <i>Salvia officinalis</i> à l'activité oxydante
Tableau 06	Effet d'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> appliquées sur les larves de <i>Culiseta longiareolata</i> : Mortalité corrigée % ($m \pm SD$, n = 3 répétitions comportant chacune 15 individus).
Tableau 07	Effet d'huile essentielle de <i>salvia officinalis</i> appliquées sur les larves de <i>Culex</i> : Mortalité corrigée % ($m \pm SD$, n = 3 répétitions comportant chacune 15 individus)

Liste des figures

Liste des figures :

Figures	Titre
01	La famille lamiacée
02	La plante <i>Salvia officinalis</i>
03	Sauge - <i>Salvia officinalis</i> L
04	Plante entière, feuilles, fleurs et graines
05	La répartition géographique de la plante dans le monde (Walker et al, 2004)
06	Quelque produit du <i>Salvia officinalis</i>
07	Extraction de l'HE par l'hydrodistillateur
08	L'huile essentielle du <i>Salvia officinalis</i>
09	Male de <i>Culiseta longiareolata</i>
10	Femele de <i>Culiseta longiareolata</i>
11	<i>Culex pipiens</i>
12	Cycle de développement des moustiques
13	Œuf de <i>Cx pepien</i>
14	Œuf de <i>Cs longiareolata</i>
15	Larve <i>Cs longiareolata</i>
16	Larve <i>Cx pepien</i>
17	Nymphe de <i>Cs longiareolata</i>
18	Nymphe de <i>Cx pepien</i>
19	Adulte male <i>Cs longiareolata</i>

Liste des figures

20	Adulte male <i>Cx pepien</i>
21	Tête <i>Cs longiareolata</i>
22	Tête <i>Cx pepien</i>
23	Thorax <i>Cx pepien</i>
24	Abdomen <i>Cs longiareolata</i>
25	Abdomen <i>Cx pepien</i>
26	Les étapes de l'extraction de l'HE
27	Les étapes de test de l'activité antioxydant d'HE de <i>Salvia officinalis</i>
28	Site d'élevage El Hammamet
29	Récepteur des moustiques
30	Les étapes de test de toxicité
31	Courbe présentant les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées traités par l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> en fonction des différentes concentrations
32	Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées traités par l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> en fonction des différentes concentrations.
33	Courbe présentant les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées traités par l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> en fonction des différentes concentrations
34	Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées traités par l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> en fonction des différentes concentrations

Liste des abréviations

Liste des abréviations

HE	Huile essentielle
M	Moyenne
Sd	Ecart-type
mm	Mili mètre
ml	Mili litre
µl	Micro litre
mg	Mili gramme
Cm	Centi-mètre
H	Heur
CO ₂	Dioxy-carbone
UV	Ultra-violet
R	Rendment
PB	Poid de HE
PA	Poid de matière sèche
Ab	Absorbance de la témoin
As	Absorbance du composé testé
Min	Minute
Na ;SO ₄	Sulfate de sodium
DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl
ROS	Reactive oxygen species
Cx	Culex
Cs	Culiseta
Fig	Figure
A	Les soin antennaire
C	La capsule céphalique
FMC	Food Machinery Corporation –in-line
SFE	Extaction par fluide supercritique
SFME	Solvent Free Microwave Extraction
CL	Concentration létale
DL	Dose létale
L4	Larve de stade 4

Dédicace 01

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

Mes chers parents, mon père Cherayett Djamel et ma mère Fatima. mes chers qui m'ont donné la possibilité de poursuivre mes études, pour l'espoir qu'ils me donnent, pour leurs conseils, leur guide affectueux dans la vie et leur soutien et encouragements durant mes années d'études, et j'espère que je puisse leur rendre le minimum de bonheur qu'ils m'ont offert, et que Allah les protège et les garde à mes côtés.

A mes frères Saddam et sa femme Lamyia et Ramzi qui ont partagés avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail, merci pour votre présence. J'espère avoir été à la hauteur de vos estimations.

A toute la famille maternelle et paternelle, et à ce qui me donnent de l'amour et de vivacité.

A ma chère binôme, Dhikra, et à toute sa famille, avec qui j'ai partagé les meilleurs moments. je dédie ce travail à toute notre préparation, nos déceptions et nos éclats de joie, Merci ma chérie.

A tous mes amis et collègues, et particulièrement Roumaïssa. Pour leurs soutiens et leurs précieux aides.

A mes chères amies : Randa, Salma Amina et Hinda.

A tous mes enseignants du primaire à l'université.

A tous ceux qui me sont chères et ont une place dans mon cœur

A moi-même

Hafidha

Dédicace 02

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

Mes chers parents, mon père Bouaoune Torki et ma mère zina. mes chers qui m'ont donné la possibilité de poursuivre mes études, pour l'espoir qu'ils me donnent, pour leurs conseils, leur guide affectueux dans la vie et leur soutien et encouragements durant mes années d'études, et j'espère que je puisse leur rendre le minimum de bonheur qu'ils m'ont offert, et que Allah les protège et les garde à mes côtés.

A mes frères Zahri et Abd El Alim aussi Brahim et Walid qui ont partagés avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail, merci pour votre présence. J'espère avoir été à la hauteur de vos estimes.

A mes sœurs Hanifa, Lobna ,Manel et Chahinez mes belles merci pour votre bonté et générosité de cœur et votre aide si précieuse quia rendu possible la soutenance de ce mémoire.

A toute la famille maternelle et paternelle, et à ce qui me donnent de l'amour et de vivacité.

A ma chère binôme, Hafidha, et à toute sa famille, avec qui j'ai partagé les meilleurs moments. je dédie ce travail a toute notre préparation, nos déceptions et nos éclats de joie, Merci ma chérie.

A tous mes amis et collègues, et particulièrement Roumaïssa. Pour leurs soutiens et leurs précieux aides.

A mes chères amies : Randa ,Salma ,Amina, Samar ,Aïcha et hadjer .

A tous mes enseignants du primaire à l'université.

A tous ceux qui me sont chères et ont une place dans mon cœur

A moi-même

Dhikra

Remerciements

Avant tout, Nous remercions notre Dieu qui nous a donné le courage et la volonté.

Nous remercions notre encadreuse Dris Djemaa, pour leurs conseils, vos encouragements, tout en nous laissant une grande indépendance.

Nous souhaitons aussi adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire spécialement : Docteur Bouabida Hayette pour présider le jury et madame Hamiri Manel à examiner ce travail.

Nous remercions tous les enseignants qui nous ont fait profiter de leur savoir, tout au long de nos études.

Les techniciens du laboratoire des sciences Souad et Souhila pour leur aide.

Enfin, nos remerciements vont à tous ceux qui ont collaboré à l'achèvement de ce travail.

Table de matière

ملخص	
Abstract	
Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figure	
Liste des abréviation	
Dédicace 01	
Dédicace 02	
Remerciement	
Introduction	01 - 03
Chapitre I : L'espèce végétale	04 - 17
I.1. Généralité sur la famille lamiacée	05
I.2. genre Salvia	05
I.3. Toxicité du Salvia	06
I.4. Espèce Salvia officinalis	06
I.4.1. Définition	06
I.4.2. Discription botanique	07
I.4.3. Répartition géographique de la plante	08
I.4.4. Classification	08
I.4.5. Principe active de la plante	09
I.4.6. Utilisation traditionnelle de Salvia officinalis	09
I.4.7. Usages alimentaires	10
I.5. Définition d'huile essentielle	10
I.5.1. Méthodes d'obtention de l'huile essentielle	10
I.5.1.1. Entraînement à la vapeur d'eau	11
I.5.1.2. Expression à froid	11
I.5.1.3. Extraction par fluide à l'état supercritique	12
I.5.1.4. Extraction assistée par micro-ondes	12
I.5.1.5. Extraction par l'hydrodistillation (water distillation)	13
I.6. Huile essentielle de la sauge	14
I.6.1. Définition	14
I.6.2. Composition chimique de l'huile essentielle de Salvia officinalis	15
I.6.3. Activités biologiques d'huile essentielle de Salvia officinalis	16
I.6.3.1. Activité antioxydant	16
I.6.3.2. Principe	16
I.6.3.3. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	17
I.6.3.4. Réaction entre le radicale libre DPPH et l'antioxydant	17
I.7. Activité antibactérienne	17
Chapitre II. L'espèce animale	18 – 31
II.1. Généralité sur la famille culicidae	19
II.2. Présentation de Culex pipiens et Culiseta longiareolata	19
II.2.1. Définition de Culiseta longiareolata	19
II.2.2. Caractéristique du Culiseta longiareolata	20
II.2.3. Position séstymatique du Culiseta longiareolata	21
II.3. Définition de Culex pipiens	21
II.3.1. Caractéristiques de Culex pipiens	22
II.3.2. Position systématique de Culex pipiens	23
II.4. Cycle de développement	23
II.4.1. œufs	24
II.4.2. Larve	25

Table de matière

II.4.3. Nymphe	26
II.4.4. Adulte	27
II.5. Morphologie des larves Culicidae	28
II.5.1. Tête	28
II.5.3. Abdomen	30
Chapitre III: Matériel et Méthode	32 - 37
III.1. Matériels utilisés	33
III.2. Méthodologie	33
III.2.1. Extraction et rendement des huiles essentielles	33
III.2.1.1. Séchage	33
III.2.1.2. Hydrodistillation	33
III.2.2. Rendement	34
III.2.3. Test d'activité anti-oxydante	35
III.2.3.1. Dosage d'huile essentielle en utilisant une solution de DPPH	35
III.3. Techniques d'élevage	36
III.4. Test de toxicité	36
III.5. Analyse statistique	37
Chapitre IV: Résultats	38 – 43
IV.1. Rendement en huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i>	39
IV.2. Test d'activité antioxydant	39
IV.3. Test de toxicité	39
IV.3.2 Toxicité des huiles essentielles extraites de <i>Salvia officinalis</i> sur <i>Culex pipiens</i>	41
V. Discussion	44 – 45
V.1. Rendement en huile essentielle	45
V.2. Teste d'activité antioxydante	45
V.3. Test de toxicité	45
Conclusion et perspectives	46 - 47
Références Bibliographiques	48 - 57

Introduction

Introduction

L'intérêt majeur porté sur les moustiques concerne leur implication dans la transmission d'agents pathogènes à humains. Ils peuvent être vecteurs de parasites ou de virus responsables de maladies infectieuses à fort impact humain et animal. Les Arthropodes, forment un embranchement qui englobe plusieurs classes comme la classe des insectes, ce groupe contient plusieurs ordres mais le plus massivement représenté dans le monde c'est bien diptera. Les diptères sont présents (parfois très abondants) dans le monde entier, des régions subarctiques aux régions subantarctiques. Leur taille varie de 0,3 à 70 mm. Ils forment un groupe extrêmement diversifié, en Algérie, les culicidés constituent les insectes piqueurs les plus nuisibles aux populations et continuent de transmettre des maladies infectieuses (**Bouabida, 2014**) comme le virus Chikungunya et le West Nile.

Le contrôle des moustiques courant est l'utilisation d'insecticides chimiques de synthèse, comme le chlorpirifos, dichlorvos, Cypermethrine (**Dahchar, 2017**). L'être humain cherche, depuis longtemps, à lutter contre les moustiques vecteurs de maladies, par l'utilisation des extraits de plantes et les huiles essentielles comme bioinsecticides, pour remplacer les insecticides chimiques qui ont un effet nocif sur l'environnement et la santé des êtres vivants (**Brakni & douib, 2019**).

En tant que biopesticides l'utilisation répandue des insecticides synthétiques amené à beaucoup de conséquences négatives (la résistance des insecticide, la toxicité sur la faune auxiliaire, les problèmes de résidu et la pollution environnemental) ayant pour résultat l'attention croissante étant donnée aux produits naturels (**Isman & Machial, 2006**). Les plantes peuvent fournir des solutions de rechange potentielles aux agents actuellement utilisés contre les insectes parce qu'elles constituent une source riche en produits chimiques bioactifs. Beaucoup d'effort a été donc concentré sur les matériaux dérivés de plante pour les produits potentiellement utiles en tant qu'agents commerciaux de lutte contre les insectes (**Kim et al., 2000**).

Les plantes aromatiques sont parmi les insecticides les plus efficaces d'origine botanique et les huiles essentielles constituent souvent la fraction bioactive des extraits des plantes (**Shaaya et al., 1997**).

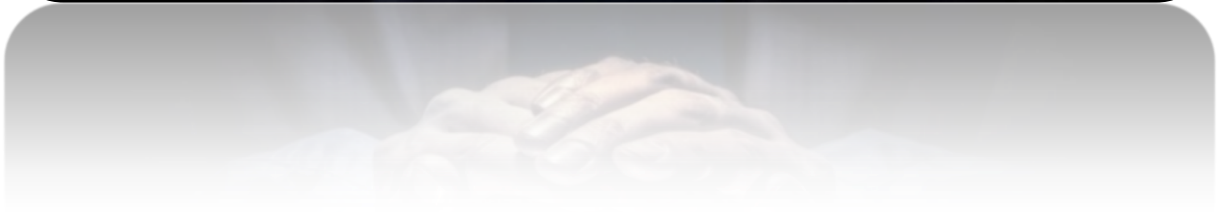
Depuis la période préhistorique, les plantes ont été à la base de plusieurs thérapies (**Mostafa, 2011**) dont les plantes aromatiques étaient utilisées depuis l'antiquité pour leurs propriétés curatives et médicinales, et pour donner arôme et saveur à la nourriture (**çakmaci et al., 2020**). Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales algériennes, et compte tenu

Introduction

des vertus thérapeutiques que représentent les lamiacées, nous sommes intéressés à l'extraction des huiles essentielles de *Salvia officinalis* provenant de la région de Tébessa. Notre choix est porté sur cette plante aromatique, car elle est très répandue en Algérie et largement utilisée en médecine traditionnelle et essentiellement dans la lutte anti moustique.

En Algérie, *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* sont considérées parmi les espèces les plus abondantes (**Aissaoui et Boudjelid, 2014**). Dans ce contexte, nous proposons d'évaluer l'activité larvicide d'huile essentielle de *Salvia officinalis* et l'étude pratique de leur toxicité sur deux espèces de moustiques.

Chapitre I: L'espèce végétale



I.1. Généralité sur la famille lamiacée

La famille des lamiacées connue également sous le nom des labiées dérive du nom latin « *labium* » qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles (**Dupont et Guignard, 2012**). Elle comporte environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites, mais dont la plupart se concentrent dans le bassin méditerranéen tel que le thym, la lavande, le romarin (**Botineau, 2010**).



Fig 01 : La famille lamiacée

I.2. Genre *Salvia*

Le *Salvia* comprend des espèces annuelles, bisannuelles ou vivaces. Les tiges sont généralement quadrangulaires inclinées comme les autres membres de la famille des lamiacées. Les feuilles sont généralement entières, mais parfois dentées ou pennées. Les hampes florales portent de petites bractées inégales (**Scully, 2008**). Le genre *Salvia* (Sauge) fait partir des genres les plus importants de la famille des Lamiacées, comprenant près de 900 espèces réparties dans le monde entier. L'Algérie compte 23 espèces du genre *Salvia* (**Quezel et Santa, 1963**).

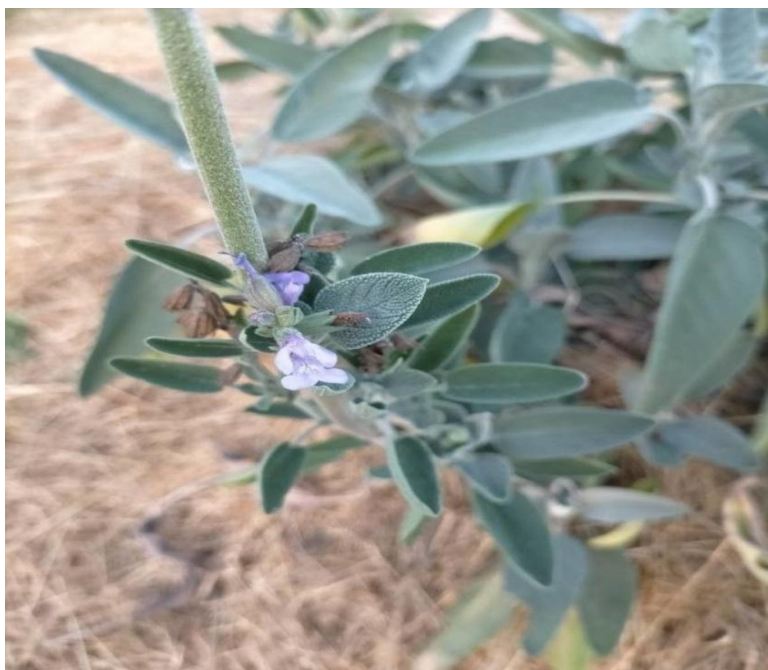


Fig 02: La plante *Salvia officinalis*

I.3. Toxicité du *Salvia*

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise (concentration) concernent principalement des enfants et en dehors du cadre classique d'utilisation. Ces expositions se font par ingestion, par contact, par inhalation qui peut induire ou aggraver des problèmes respiratoires (une diminution de la fonction pulmonaire et une augmentation de la sensation de poitrine oppressée, une respiration sifflante et augmenter l'asthme chez les populations sensibles). Le manque évident de données sur la toxicité des huiles pour l'homme invite cependant à la prudence quant aux conclusions à tirer (Anne-claire *et al*, 2008)

I.4. Espèce *Salvia officinalis*

I.4.1. Définition

«*Qui a de la sauge dans son jardin, n'a pas besoin d'un médecin*» latin *salvare*.

La Sauge, *Salvia officinalis*, de la famille des labiées, aussi appelée Sauge de Grèce, Herbe sacrée, Genre Sauge, Thé de Grèce, Thé de France, Thé d'Europe, Salel, Sauge franche, Thé sacré.

La sauge est une espèce végétale appartenant à la famille des *Lamiaceae*. C'est une famille cosmopolite d'arbres contenant environ 31 genres et 2700 espèces. En Algérie, 30 espèces végétales sont répertoriées dans diverses régions et classées selon leurs

caractéristiques morphologiques. (Longaray *et al.*, 2007 ; Maksinovic *et al.*, 2007). Cette plante a été largement utilisée dans la préparation de nombreux aliments ; en effet dans la médecine traditionnelle, elle a été utilisée pour le traitement de divers types de troubles, notamment convulsions, ulcères, goutte, rhumatismes, inflammations, vertiges (Ghorbani Esmailizadeh, 2017)



Fig 03 : Sauge - *Salvia officinalis* L

I.4.2. Description botanique

La sauge est une plante vivace à tige ligneuse à la base, avec un dessous blanchâtre et vert grisâtre au-dessus, atteignent généralement une hauteur de 30 à 70 cm (Pereira *et al.*, 2018). Les tiges forment quadrangulaires (Benkherara *et al.*, 2011), et caractérisée par de nombreux rameaux dressés et droits avec l'apparence des noeuds, sur lesquels les feuilles sont placées (Amirouche et Belkolai, 2013). Les feuilles assez grandes, épaisses, vert-blanchâtres, et opposées ; les fleurs bleu-violacés clairs en épis terminaux lâches, elles sont disposées par 3 à 6 en verticilles espacés. Le calice campanulé à 5 dents longues et corolle bilabée supérieure en casque et lèvre inférieure trilobée ; les fruits en forme de tétra akènes (Madi, 2010). Casque et lèvres inférieures trilobées (Hans, 2007), font leur apparition vers le mois de mai, le début de l'été et restent ouvertes au début de l'automne (Kintzios, 2000). Les fruits sont des petits akènes reposant sur des cupules ouvertes (Paris et Hurabiel, 1981). Les graines sont petites brunes et rondes (Vilmorin *et al.*, 1883).



Fig 04 : Plante entière, feuilles, fleurs et graines

I.4.3. Répartition géographique de la plante

Cette plante vivace est originaire des régions méditerranéennes orientales. Elle préfère les terrains chauds et calcaires. Elle croît de manière spontanée et en culture de long de tout le bassin méditerranéen, depuis l'Espagne jusqu'à la Turquie, et dans le nord de l'Afrique. Espèce Euro-méditerranéenne, assez commune en Algérie (cultivée) (Khair-Eddine, 2013)

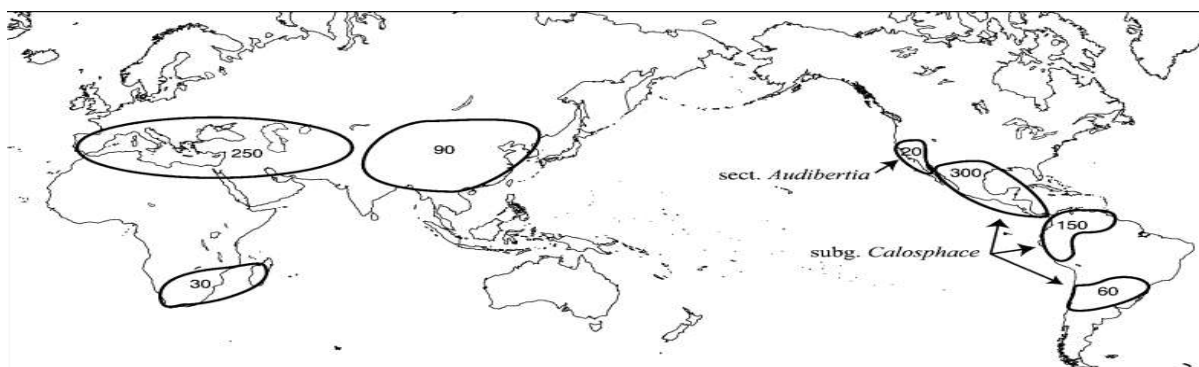


Fig 05: La répartition géographique de la plante dans le monde (Walker et al, 2004)

I.4.4. Classification

- Nom scientifique : *Salvia officinalis* L.
- Nom commun: Sauge officinale (Français), Agourin Imeksaouen, Tazzourt, marramia (Berbère), Souak El-nabi (Arabe).

Tableau N01 : La classification du *Salvia officinalis*(Quezel et Santa 1963)

Règne	Végétale
Embranchement	Spermatophyte
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédone
Sous classe	Astéridés
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Salvia officinalis</i>

I.4.5. Principe active de la plante

La plante contient de l'huile essentielle (les cétones monoterpéniques sont considérées des constituantes principales), des tanins catéchiques, des acides polyphénol carboxyliques (rosmarinique, caféique, chlorogénique, p-comarique, férulique), des principes amers diterpénique, des triterpènespenta cycliques (acides ursolique, crategolique, oléanolique etc.), des phytostérols, des flavones (Said *et al*, 2002).

I.4.6. Utilisation traditionnelle de *Salvia officinalis*

La sauge (*salvia. officinalis*) est une des plantes les plus utilisées, vu ses propriétés importantes ; elle est considérée comme un stimulant pour les gens anémiques, aussi pour les personnes stressées et déprimées, elle est conseillée pour les étudiants en période d'examen. Pour usage externe, elle est appliquée en gargarisme contre les inflammations de la bouche, les abcès et aussi pour le nettoyage et la cicatrisation des plaies (Djerroumi et Nacef, 2004). Les espèces *Salvia* ont un grand intérêt en cosmétologie, dont les extraits de *S. officinalis* et *S. lavandula* efolia sont largement introduits dans les produits de beauté et les parfums. La sauge et peut être utilisée comme compresse ou infusion ou même dans les préparations des masques de visage et leurs crèmes sont souvent appliquées sur des lésures superficielles près de bouches (Radulescu et Silvia *et al*, 2004).



Fig 06 : Quelques produits du *salvia officinalis*

I.4.7. Usages alimentaires

Au Mexique et en Amérique latine, les graines de quelques espèces de sauge sont intensivement employées par les Américains indigènes comme source de nourriture et aussi pour préparer ses boissons. La découverte des antioxydants a augmenté l'usage des extraits de sauge officinale connue par son activité antioxydante élevée. La sauge officinale est riche en huiles essentielles que l'on extrait par distillation ; vu ses propriétés importantes, elle est l'une des plantes les plus utilisées (**Radulescu et al, 2004**).

I.5. Définition d'huile essentielle

Une huile essentielle est un extrait liquide et aromatique obtenu généralement par distillation à la vapeur d'eau à partir d'une plante, et qui en concentre les actifs volatils. Elle représente la quintessence de la plante, sous forme de concentré, riche d'une très grande variété de substances actives identifiées très précisément par analyse chromatographique (**web1**).

I.5.1. Méthodes d'obtention de l'huile essentielle

Il existe différentes méthodes pour l'extraction des essences végétales, cette diversité est due à la variété des matières premières et à la sensibilité considérable de leurs constituants (**Garnero, 1977**).

I.5.1.1. Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Dans le cas de l'hydrodiffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau – huile essentielle » dispersé dans la matière végétale. Comme pour contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de va l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion présente l'avantage de ne pas mettre en peur (**web2**).

I.5.1.2. Expression à froid

La technique est réservée à l'extraction des essences volatiles contenues dans les péricarpes d'agrumes en déchirant ces dernières par un traitement mécanique. Elle consiste à rompre ou dilacérer les parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste sous l'écorce du fruit, l'épicarpe, pour en recueillir le contenu qui n'a subi aucune modification. Les essences de Citrus ont longtemps été extraites manuellement, la mécanisation et l'industrialisation de la technique d'expression à froid ne s'étant effectuées qu'au début du XXe siècle, afin de diminuer les coûts de production et d'améliorer les rendements pour faire face à l'augmentation de la demande. Les systèmes récents, comme la « Food Machinery Corporation-in-line » (FMC), permettent d'extraire le jus de fruit et l'essence de manière quasi-simultanée sans contact des deux. C'est pourquoi l'expression à froid est la méthode de choix pour extraire ces essences, d'autant que la distillation n'est plus une technique très appropriée. En effet, la distillation produit des huiles aromatiques de moindre qualité

principalement due à une présence importante d'aldéhydes, composés sensibles à l'oxydation et à la chaleur (Belsito et Carbone *et al*, 2007).

I.5.1.3. Extraction par fluide à l'état supercritique

L'originalité de la technique d'extraction par fluide supercritique, dite SFE, provient de l'utilisation de solvants dans leur état supercritique, c'est-à-dire dans des conditions de températures et de pressions où le solvant se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquide et gazeuse et présente des propriétés physico-chimiques différentes, notamment un pouvoir de solvation accru. Si, en pratique, de nombreux solvants peuvent être employés, 90% des SFE sont réalisées avec le dioxyde de carbone (CO₂), principalement pour des raisons pratiques. En plus de sa facilité d'obtention due à ses pression et température critiques relativement basses, le CO₂ est relativement non toxique, disponible à haute pureté et à faible prix, et il possède l'avantage d'être éliminé aisément de l'extrait (Gomes et Mata, 2007). La SFE est une technique dite « verte » utilisant pas ou peu de solvant organique et présentant l'avantage d'être bien plus rapide que les méthodes traditionnelles. Les compositions chimiques des HE ainsi obtenues peuvent présenter des différences, qualitatives et quantitatives, avec celles issues de l'hydro distillation (Gomes et Mata, 2007 ; Paterson et Machmudah *et al* 2006 ; Pereira et Meireles, 2010).

I.5.1.4. Extraction assistée par micro-ondes

L'avantage de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et d'incrémenter le rendement. Toutefois, aucun développement industriel n'a été réalisé à ce jour. La distillation assistée par micro-ondes fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée parce qu'elle présente beaucoup d'avantages : technologie verte, économie d'énergie et de temps, investissement initial réduit et dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées (Lucchesi, 2005 ; Olivero-Verbel et Gonzalez-Cervera, 2010).

L'emploi des micro-ondes constitue, par ailleurs, une méthode d'extraction à part entière en plein développement. A titre d'exemple, La SFME (Solvent Free Microwave Extraction) est une combinaison originale des techniques de chauffage par micro-ondes et de distillation sèche. Elle consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur au sein d'un four micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant (Le chauffage interne de l'eau contenue dans la plante permet d'en dilater ses cellules et conduit à la rupture des glandes et des réceptacles oléifères. L'HE ainsi libérée à l'intérieur des cellules peuvent alors s'écouler librement à l'extérieur du tissu biologique, et l'HE est alors entraînée par la vapeur d'eau (Farhat, 2010 ;

Lucchesi, 2005) ont extrait des HE par SFME de trois herbes aromatiques: basilic, menthe et thym. Avec cette technique, ils ont isolé et concentré les composés volatiles en une seule étape, sans ajout de solvant ou d'eau. Les HE extraites sont plus riches en composés oxygénés, comparativement à la méthode conventionnelle. En fait, l'abondance des composés oxygénés dans l'HE est liée au chauffage rapide des substances polaires avec les micro-ondes et à la faible quantité d'eau dans le milieu, ce qui empêche la dégradation des composés par réactions thermiques et hydrolytiques. Cette technique offre plusieurs avantages comme un temps d'extraction plus courts, une réduction de la quantité de solvant, une très bonne reproductibilité avec de bons rendements. Les HE obtenues par distillation ne représentent jamais exactement l'arôme et le parfum existants naturellement dans la plante. L'extraction assistée aux micro-ondes, une nouvelle technique innovante et écologique, peut permettre de résoudre certains problèmes de la distillation.

1.5.1.5. Extraction par l'hydrodistillation (water distillation)

Cette méthode est la plus simple et la plus anciennement utilisée. Elle se produit dans l'appareil de Clevenger. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition, pour briser les cellules végétales et libérer les molécules aromatiques volatiles qui constitueront finalement l'huile essentielle de cette plante. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans le serpent, long et fin tube de verre hélicoïdal plongé dans de l'eau froide. On recueille enfin l'eau chargée de principes actifs dans un récipient spécial appelé « vase florentin », où va s'opérer la séparation de l'hydrolat et de l'huile essentielle. Etant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat, qui finira par surnager du simple fait de sa densité inférieure à celle de l'eau (sauf quelques rares exceptions, où on la recueillera au fond du vase). La distillation est relativement rapide (1 heure 30 suffit généralement pour extraire la majeure partie des composés volatils d'une plante) (**Piollet, 2010**).



Fig 07 : Extraction de l'HE par l'hydrodistillateur.

I.6. Huile essentielle de la sauge

I.6.1. Définition

Plus de 50 composés ont été identifiés dans les huiles essentielles de tiges et de feuilles de la plante *Salvia officinalis L.* (**Santos-Gomes et Fernandes-Ferreira, 2001**). La teneur en huiles essentielles des feuilles sauvages séchées est entre 1,5 et 3,5% (**Raal et al, 2007**). Les huiles essentielles de la sauge ont été étudiées pour leurs activités antimutagènes, antimicrobiennes, antivirales, conservatrices, antifongiques, antioxydant et antiseptiques (**Arceusz et al, 2020**). Ces huiles sont appliquées dans le traitement d'un large éventail de maladies telles que le système nerveux, la circulation cardiaque, les maladies respiratoires, digestives, métaboliques et endocriniennes (**Radulescu et al, 2004**).

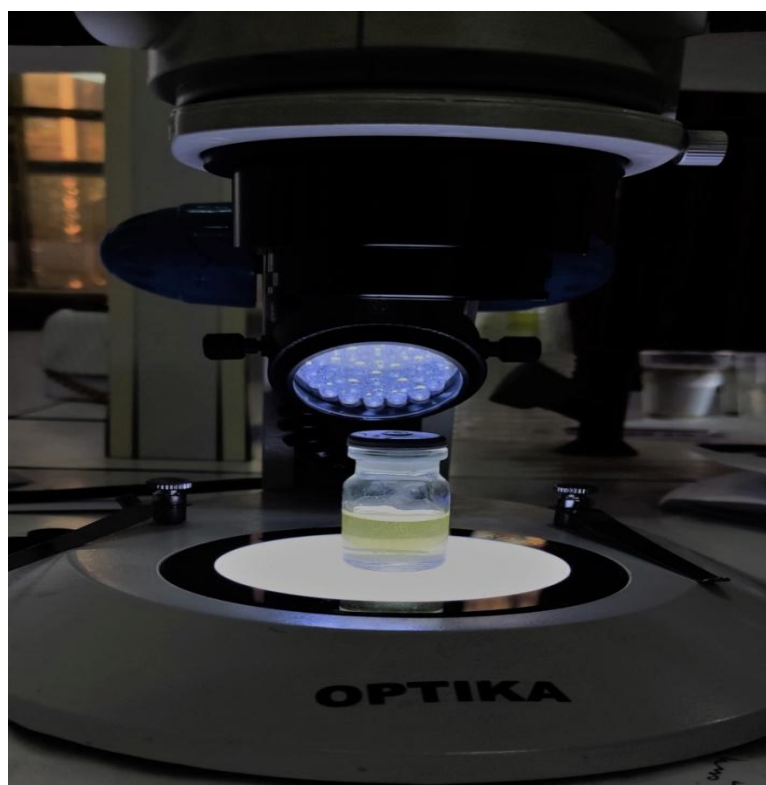


Fig 08 :L'huile essentielle de *salvia officinalis*

I.6.2. Composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*

Les compositions chimiques des huiles essentielles de *Salvia officinalis* sont résumé dans le tableau 2 (Khedher *et al*, 2017).

Tableau N02 : Les Composition chimique des huiles essentielles de *Salvia officinalis*

Constituant	Quantité (%)
Camphre	25,14%
α -pinène	1,7 à 13,1%
β -pinène	0,5 à 17,9%
1,8-cinéole	14,14%
β -thujone	4,46%
-thujone	18,83%
Viridiflorol	7,98%
β -caryophyllène	3,30%

Bornéol	2,81%
α -humulène	2,48%
β -myrcène	1,93%
Limonène	1,43%
α -terpinéol	1,33%
Acétate de bornyle	1,05%

I.6.3. Activités biologiques d'huile essentielle de *Salvia officinalis*

I.6.3.1. Activité antioxydant

Le stress oxydatif joue un rôle important dans l'initiation et la progression de plusieurs maladies, comme le cancer, les troubles cardiovasculaires, le diabète et les maladies neurologiques (Toyokuni, 2016).

Les antioxydants naturels protègent les cellules contre la ROS, alors que plusieurs études suggèrent que *Salvia officinalis* possède de puissantes activités antioxydantes (Horvathova *et al.*, 2016).

I.6.3.2. Principe

L'oxydation des lipides contenus dans les aliments est responsable de la formation des mauvaises odeurs et des composés chimiques indésirable nocifs pour la santé humaine. Les antioxydants sont utilisés dans les industries alimentaires pour retarder le processus d'oxydation. La méthode du DPPH, consiste à utiliser un radical stable, le 2,2-diphényle -1-picrylhydrazyl, dans un solvant organique généralement le méthanol (Devairauskaite *et al.*, 1985). Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre de couleur violacée qui absorbe dans l'UV-visible à la longueur d'onde de 517. Il fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques (Wooton-beard.P *et al*) Il possède un électron non approprié sur un atome du pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères. Le radical DPPH reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire (Osmana, 1980).

I.6.3.3. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sánchez-Moreno, 2002).

I.6.3.4. Réaction entre le radical libre DPPH et l'antioxydant

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 514nm provoqué par la présence des extraits (Porovici *et al.*, 2009). Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Dans ce test, le substrat est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule antioxydant, transforme en DPPH –H {(1,1-diphényle-2-(2, 4,6-trinitrophenyl) hydrazine avec perte de son absorbance caractéristique à 517nm. Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu alcoolique, qui permet une bonne solubilisation de la plus part des antioxydants ce test est très utilisé, car il est rapide et facile.

I.7. Activité antibactérienne

L'huile essentielle de sauge inhibe la croissance de certaines bactéries à gram+: *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*. Ces résultats sont d'autant plus intéressants, que certaines de ces souches peuvent être pathogènes chez l'homme et présentent des résistances aux antibiotiques classiques (Ben Kheder *et al.*, 2017). Les acides oléaniques et ursoliques, testés séparément, permettent d'inhiber la croissance de certaines bactéries multi-résistantes comme *Streptococcus pneumonia* résistant à la pénicilline, les enterococci résistants à la vancomycine et *Streptococcus aureus* résistant à la méthicilline (Ghorbani et Esmailizadeh, 2011).

Chapitre II : L'espèce animale



II.1. Généralité sur la famille culicidae

Les moustiques appartiennent au règne Animal, au sous-règne des Métazoaires ou animaux formés de plusieurs cellules, à l'embranchement des Arthropodes et à la classe des Insectes. Ces Insectes Ptérygotes (sous-classe) ou à métamorphose plus ou moins complète, et de l'ordre des Diptères sont caractérisés par deux paires d'ailes dont la deuxième est transformé en haltère (**Qutubuddin, 1960; Stoll et al., 1961; Stone et al., 1959**). C'est au sous ordre des Nématocères (pièces buccales modifiées pour piquer ou sucer), à la famille des Culicidae qu'appartiennent les moustiques. Ils se distinguent des autres Nématocères piqueurs par leur trompe longue et la présence d'écaillés sur les nervures des ailes. Leur développement comme celui de tout insecte à métamorphose complète (holométabole) se déroule en deux phases à savoir (**Roth, 1980**).

- La phase aquatique regroupant: l'œuf, les quatre stades larvaires et la nymphe.
- La phase aérienne qui concerne l'adulte ailé ou imago.

II.2. Présentation de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*

II.2.1. Définition de *Culiseta longiareolata*

Les moustiques ont toujours été considérés comme source de nuisance pour l'homme, principalement en raison du fait qu'ils peuvent être des vecteurs de maladies. *Culiseta longiareolata* est un insecte nuisible à métamorphose complète, plus abondant dans les régions chaudes. Il fait partie des Diptères, famille des *Culicidés*. Ce moustique est d'une taille qui varie de 3 à 5mm. Il possède un corps mince, et des pattes longues, et fines avec des ailes membraneuses, longues, et étroites (**Villeneuve et Desire, 1965**)



Fig 09: Male de *Culiseta longiareolata*

Fig 10: Femele de *Culiseta longiareolata*

II.2.2. Caractéristique du *Culiseta longiareolata*

- *Cs longiareolata* est multivoltine, peut présenter une diapause hivernale chez les imagos femelles (régions froides) et chez les larves (régions tempérées).
- Les adultes sont présents toute l'année avec un max de densité au printemps et un autre en automne (**Brunhes et al, 1999**).
- Les œufs de *Culiseta* groupés en nacelle sont cylindro-coniques, porte environ 50 à 400 œufs (**Boulkenafete, 2006**).
- Les femelles sont sténogrammes et autogènes. Elles piquent de préférence les vertébrés surtout les oiseaux, très rarement l'humain, l'espèce est considérée comme un vecteur Plasmodium d'oiseau.
- La larve est caractérisée par un peigne siphonal dont ses dents sont implantées irrégulièrement.
- Chez l'adulte, on remarque la présence au moins d'une tache d'écailles sombres sur l'aile, le thorax avec trois bandes blanches longitudinales et l'absence des soies longues et fortes au niveau du lobe basal du gonocoxite (**Brunhes et al., 1999**).

II.2.3. Position systématique du *Culiseta longiareolata*

La position systématique de *Cs longiareolata* comme suit (Altiken, 1954)

Tableau 03 : Classification du *Culiseta longiareolata*

Règne	Animalia
Sous-règne	Metazoa
Embranchement	Arthropoda
S-Embranchement	Hexapoda
Super-classe	Protostomia
Classe	Insecta
Sous-classe	Pterygota
Infra-classe	Neoptera
Super-ordre	Endopterygota
Ordre	Diptera
Sous- ordre	Nematocera
Infra-ordre	Culicomorpha
Famille	Culicidae
Sous-famille	Culicinae
Genre	<i>Culiseta</i>
Espèce	<i>Culiseta longiareolata</i>

II.3. Définition de *Culex pipiens*

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 (Fig 11). Pour lutter contre ce moustique on utilise des insecticides ou la réintroduction de prédateurs naturels (Pierrick, 2014).



Fig 11: *Culex pipiens*

II.3.1. Caractéristiques de *Culex pipiens*

Il possède ces principales caractéristiques :

- palpes allongés chez le male (plus longs que la trompe) et légèrement recourbes vers le haut.
- palpes plus courts que la trompe chez la femelle (environ un quart de sa taille).
- au repos, l'abdomen des adultes est quasiment parallèle au support.
- larves avec antennes allongées, siphon respiratoire des larves long.
- Comprenant presque 800 espèces, on retrouve les *Culex* dans de nombreuses régions du globe, notamment dans les régions tropicales, en Australie et en Europe (**Bussieras et Chermette, 1991**).
- *Cx pipiens* est une espèce relativement commune en France, et surtout en région méditerranéenne.
- On la retrouve également dans toutes les régions tempérées de l'hémisphère nord (**Wallet Shearer, 1992**).

Chapitre II : L'espèce animale

II.3.2. Position systématique de *Culex pipiens*

La position systématique de *Culex pipiens* et la suivante a été proposée par (**Linné, 1758**) comme suit :

Tableau 04 : La classification de *Culex pipiens*

Règne	Animalia
Embranchement	Arthropoda ³
Sous Embranchement	Antennata
Classe	Insecta
Sous Classe	Pterygota
Ordre	Diptera
Sous Ordre	Nematocera
Famille	Culicidae
Sous Famille	Culicinae
Genre	<i>Culex</i>
Espèce	<i>Culex Pipiens</i>

II.4. Cycle de développement

Les moustiques sont des insectes holométaboles, passent par plusieurs stades de développement. Les premiers stades du développement représentés par les oeufs, les larves et les nymphes sont aquatiques, cependant le stade adulte à une vie aérienne (Fig.12). La femelle adulte est hématophage, après son émergence d'une durée estimée à 24-72h, pique les vertébrés pour sucer leur sang contenant des protéines nécessaires à la maturation des œufs, (**Klowden, 1990**). Pendant la piqûre, la femelle injecte de la salive anticoagulante qui provoque, chez l'homme, une réaction inflammatoire plus ou moins importante selon les individus (**Reinert, 2000**).

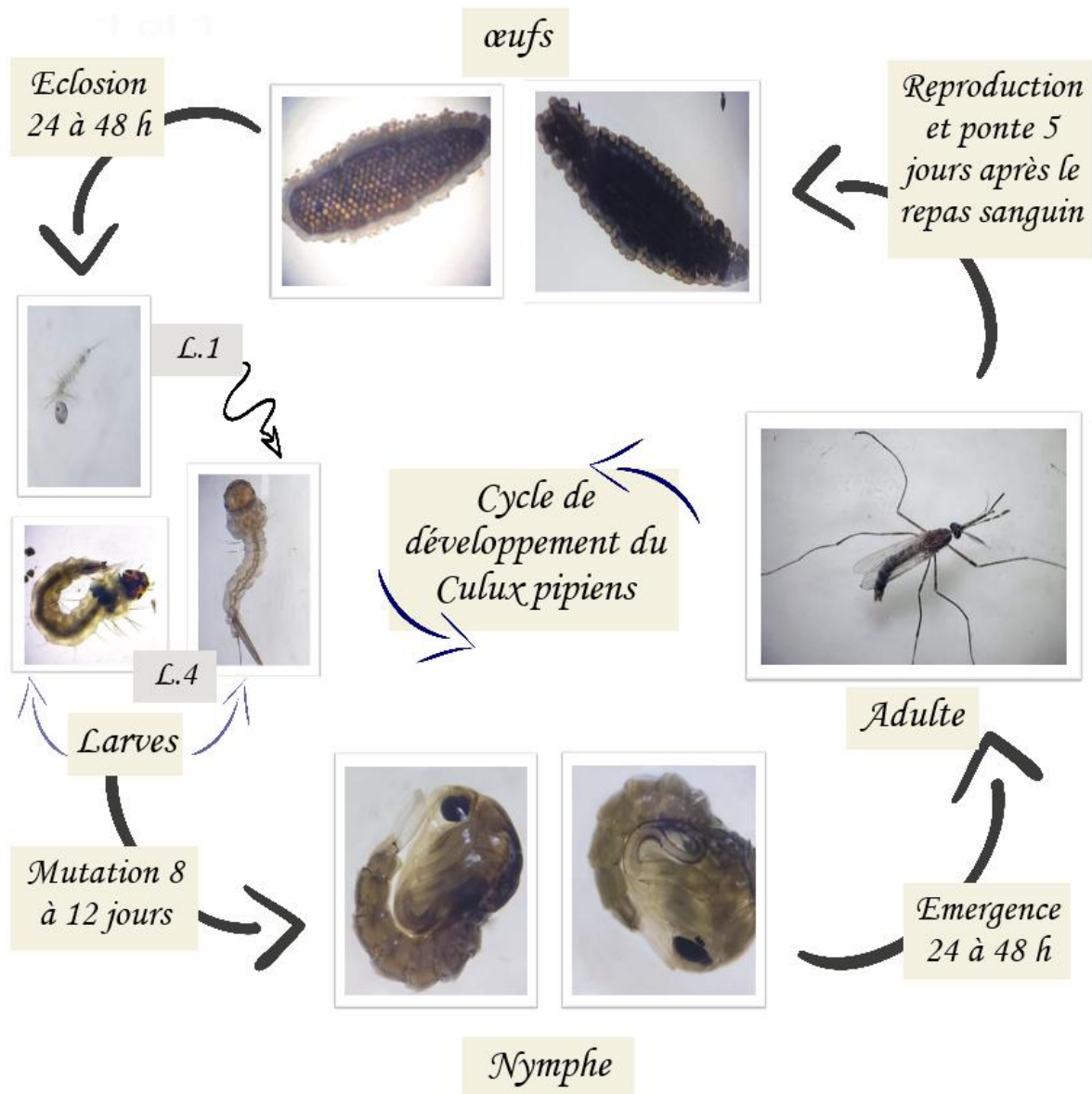


Fig 12 : Cycle de développement des moustiques

II.4.1. œufs

Les femelles pondent de nombreux œufs de ce qu'on appelle des radeaux sur la surface des gîtes différents (bassins, mers, étangs, canaux, citernes, eau de pluie...), dont l'état de l'eau est toujours stagnant et riche en matières organiques (Paul, 2009). Les œufs sont fusiformes, ils ont une taille de 0.5 à 1mm (Peterson, 1980). Une Corolla est présent au niveau du pôle inférieur d'œuf (Fig 13 et 14.), réunis par 200 à 400 en nacelle dont l'arrangement leur permet d'être insubmersibles (Anonyme). Normalement, les œufs sont

blancs lors de la première déposée, puis foncés et noirs après un jour. Les œufs éclosent d'un à trois jours en fonction de la température (**Rodain et Perez, 1985**).



Fig 13 : œuf de *Cx pipiens*



Fig 14 : œuf de *Cs longiareolata*

II.4.2. Larve

Le développement des larves à ce stade est exclusivement aquatique, et leur évolution comporte quatre stades (**Boulkenafet, 2006**). D'aspect vermiforme, son corps se divise en trois segments: tête, thorax trapu et dépourvu d'appendices locomoteurs, abdomen souple. Sa taille varie de 2mm à 12mm en moyenne en fonction des stades (Fig 15et 16). Les larves vivent environ 10 jours (**Peterson, 1980**). Elle est dépourvue d'appareil locomoteur, ce qui ne signifie pas qu'elle soit immobile. Son extrémité caudale est munie d'un siphon, ou tube respiratoire, long et étroit affleurant a la surface de l'eau; ce tube est muni de 5 clapets qui s'ouvrent sur deux orifices par ou l'air pénètre à l'intérieur quand la larve monte à la surface de l'eau, et se rabattent quand elle gagne les profondeurs (**Kettle, 1995 et Andreo, 2003**).



Fig 15 : Larve *Cs longiareolata*



Fig 16 : Larve *Cx pipiens*

II.4.3. Nympe

La nymphe ou pupa est en forme de virgule, mobile, présente un céphalothorax fortement renflé avec deux trompettes respiratoires (Fig 17 et 18) (**Boulkenafet, 2006**). La nymphe, également aquatique, éphémère (de 1 à 5 jours), ne se nourrit pas. Il s'agit d'un stade de transition, au métabolisme extrêmement actif, au cours duquel l'insecte subit de profondes transformations morphologiques et physiologiques préparant le stade adulte (**Peterson, 1980**).

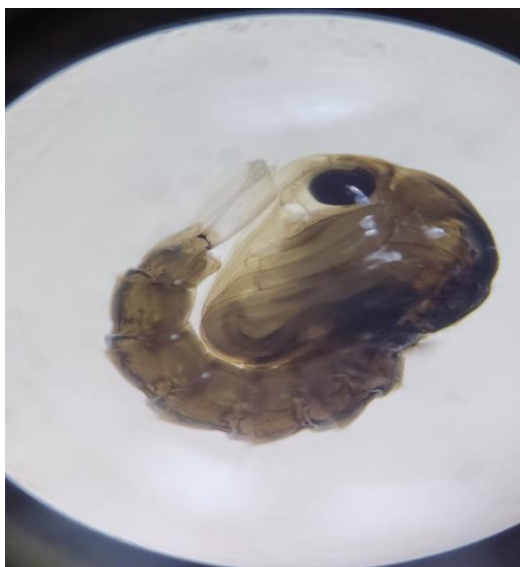


Fig 17 : Nymphe de *Cs longiareolata*

Fig 18 : Nymphe de *Cx pipiens*

II.4.4. Adulte

L'adulte, une fois métamorphosé, provoque une cassure au niveau de la tête nymphale et émerge à la surface de l'eau (Fig 19 et 20). Les mâles atteignent leur maturité sexuelle au bout d'un jour alors que les femelles l'atteignent au bout de 1 à 2 jours (**Clements, 1999**). Les moustiques, comme beaucoup d'insectes se nourrissent de nectar, source d'énergie. Seules les femelles sont hématophages; elles n'ont pas besoin de sang pour leur propre survie mais en retirent les protéines nécessaires à la maturation de leurs œufs. La fécondation des œufs s'effectue lors de la ponte grâce au stockage du sperme des mâles par la femelle dans une spermathèque. En général, la durée de vie des moustiques adultes varie d'une semaine à plus d'une trentaine de jours. Deux éléments permettent de distinguer le mâle de la femelle à l'œil nu; les palpes maxillaires sont très courts et effilés chez la femelle, contrairement au mâle où ils sont plus longs que la trompe et ses antennes sont plus développées et très poilues (**Urquhart et al, 1996; Euzéby, 2008**).



Fig 19: Adulte male *Cs logiareolata*



Fig 20 : Adulte male *Cx pipiens*

II.5. Morphologie des larves *Culicidae*

II.5.1. Tête

La capsule céphalique est formée d'une plaque chitineuse médiane, le frontoclypéus et de deux plaques latérales épicroâniennes. Au frontoclypéus est rattachée une plaque antérieure étroite (*préclypéus*) portant les brosses buccales. Les pièces buccales sont broyeuses, et principalement composées par des mandibules épaisses à pointes aiguës, et d'une plaque mentonnière triangulaire et dentelée appelée mentum (**Seguy, 1955 ; Rodhain et Perez, 1985**). *Préclypéus* et *frontoclypéus* portent 18 paires des soies symétriques codées de 0-C à 17-C (la lettre C désigne les soies qui se trouvent sur les plaques de la tête). La forme et le nombre des branches de ces soies présentent un grand intérêt taxonomique notamment les soies *péclypéales*, *clypéales*, frontales et occipitales. Deux paires des yeux sont situées sur la partie médio-latérale des plaques épicroâniennes. Les deux yeux antérieurs en forme de taches noirâtres, constituent les yeux composés primordiale du futur adulte. Derrière ceux-ci, se trouvent les deux petits yeux des larves ou stemmata. Les antennes qui se posent dans les angles antéro-latéraux de la tête, sont plus ou moins minces et légèrement effilées. Elles peuvent être plus courtes que la tête et droites ou légèrement incurvées ou aussi longues voire plus longues que la tête et prendre la forme d'une courbe régulière. Le tégument des antennes est souvent couvert des poils et des spicules. Les soies antennaires, nommées de 1-A à 6-A, sont très utiles pour la reconnaissance des genres et certaines espèces appartenant au genre *Culex* (**Becker et al, 2003**).

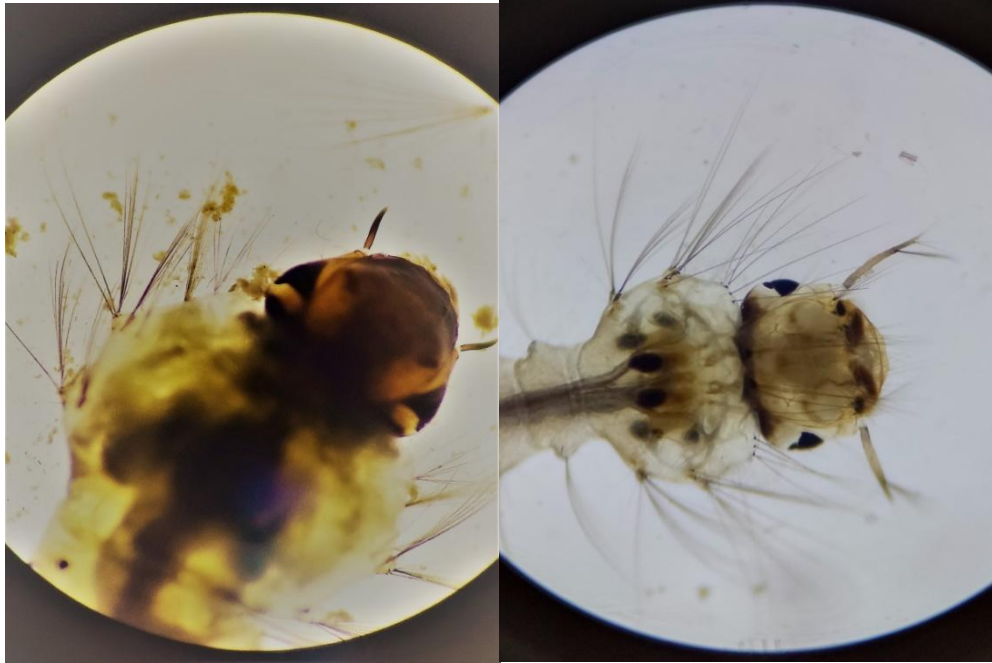


Fig 21 : Tête *Cs longiareolata*

Fig 22 : Tête *Cx pipiens*

II.5.2. Thorax

Le thorax est large et trois séries successives de soies plus ou moins ramifiées en marquent les trois régions autrement indistinctes. Les paires de soies symétriques sont numérotées 0-P à 14-P sur le prothorax, 1-M à 14-M sur le mésothorax et 1-T à 13-T sur le métathorax (**Becker *et al.*, 2003**). Signalent que seules les soies pro-thoraciques présentent un intérêt taxonomique. Chez les *Uranotaenia*, quelques soies méso-thoraciques et métathoraciques peuvent aussi être modifiées et participer à la distinction des espèces (**Ramos et Brunhes, 2004**).



Fig 23: Thorax *Cx pipiens*

II.5.3. Abdomen

Caractérisé par une forme allongée et sub-cylindrique, l'abdomen des larves de Culicidés est composé de dix segments individualisés. Les sept premiers se ressemblent entre eux, où chaque segment est orné de 15 paires de soies (excepté le segment I où se trouvent seulement 13 paires de soies). La majorité de ces soies sont très peu utilisées en taxinomie, hormis chez les anophèles où l'abdomen est recouvert par certains caractères spécifiques, notamment, les soies palmées et les plaques tergales. Sur le huitième segment abdominal qui possède un intérêt majeur en taxinomie, deux structures très importantes sont annexées. La première, c'est le peigne qui est constitué par un ensemble d'épines ou d'écailles, variables dans leur forme, leur nombre et leur disposition. Le nombre d'écailles varie de 5 à plus de 100 et peuvent être arrangées en une seule ligne, en double lignes, en forme irrégulière ou encore en forme triangulaire. Celles-ci, s'insèrent sur le bord postérieur d'une plaque chitineuse chez les Uranotaenia et les Anophèles. La deuxième structure correspond aux deux ouvertures spiraculaires qui s'ouvrent soit directement au niveau du tégument (comme c'est le cas chez les Anophelinae) soit à l'extrémité apicale d'un organe chitinisé de forme troconique, appelé le siphon respiratoire, principal caractère des Culicinae. Il s'agit d'un des caractères les plus utilisés pour l'identification des espèces constituant les Culicinae. Plus ou moins long, ce siphon porte de part et d'autre une rangée d'épines (peigne de siphon) et selon les genres et

Chapitre II : L'espèce animale

les espèces, une ou plusieurs touffes de soies. Le dernier segment ou segment anal projeté ventralement, ne se trouve pas dans le prolongement du corps, mais forme avec celui-ci un angle de 130°. Il est entouré sur la partie dorso-latérale, d'un renforcement chitineux qui constitue la selle. Cette dernière est ornée d'épines et d'une paire de soies, de paires de longues soies disposées en une brosse dorsale, d'une ligne de soie et d'une brosse disposée ventralement. Au niveau du bord postérieur de la selle, quatre papilles anales saillantes entourent l'anus, qui est terminal (Callot et Helluy, 1958; Rodhain et Perez, 1985 ; Becker *et al*, 2003; Ramos et Brunhes, 2004).

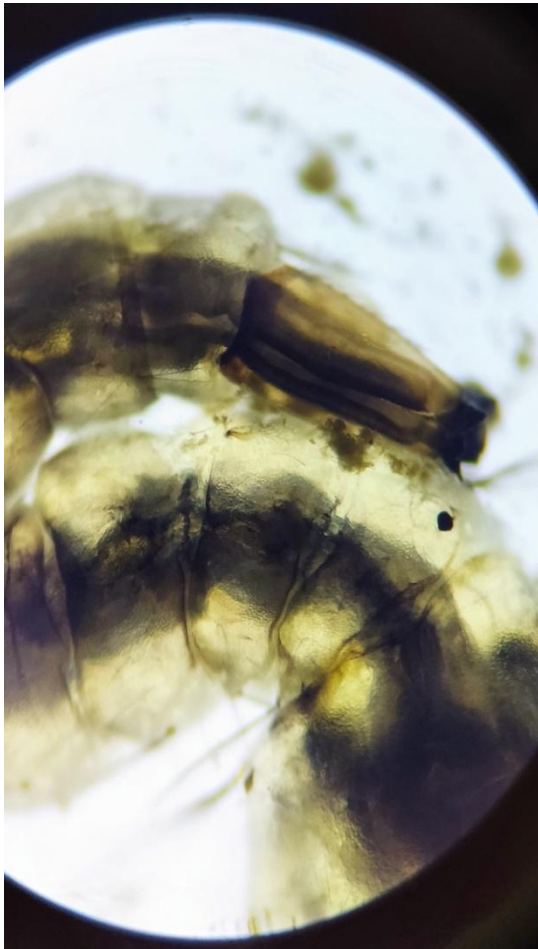


Fig 24 : Abdomen *Cs longiareolata*



Fig 25 : Abdomen *Cx pipiens*

Chapitre III:

Matériel et Méthode

III. Matériel et Méthode

III.1. Matériels utilisés

Durant notre travail expérimental, nous avons utilisé comme matériel végétale : la plante *Salvia officinalis* présentée dans le chapitre précédent et comme matériel animale deux espèces de moustiques *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens* précédemment décrites.

III.2. Méthodologie

III.2.1. Extraction et rendement des huiles essentielles

III.2.1.1. Séchage

Les plantes, fraîchement récoltées, ont été nettoyées par l'eau distillée. Les feuilles sont ensuite séparées puis séchées à l'air libre, à l'abri de la lumière et l'humidité. Celles-ci ont été ensuite pesées, réduites (coupée en petites parties) pour augmenter la surface de contact avec de l'eau et récupérées dans des sacs en papier afin de les conserver jusqu'au moment de l'expérience.

III.2.1.2. Hydrodistillation

La partie aérienne de la plante (feuilles) a été récoltées dans la région de Tébessa au mois de janvier (2022). Les huiles essentielles (HE) ont été isolées par hydrodistillation. En utilisant un appareillage de type Clevenger (Fig. 07). L'extraction a durée 2 à 3heures pour un mélange de 100g de matériel végétal sèche avec 100ml d'eau distillée, l'ensemble est ensuite porté à ébullition dans un ballon à 3 cols ou fiole d'un litre surmonte d'une colonne de 60cm de longueur reliée à un réfrigérant. Les vapeurs chargées d'huile et qui traversent le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter. L'eau et l'huile se séparent par différence de densité (**Bencheikh, 2012**). Les huiles essentielles recueillie par décantation à la fin de la distillation, en présence de sulfate de sodium (NaSO_4) on élimine les traces d'eau résiduelles, et l'huile essentielle de (*Salvia officinalis*) sera par la suite récupérée et stockée à 4°C à l'obscurité dans un flacon en verre approprié, hermétiquement fermé et couvert d'une feuille d'aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière. La quantité d'essence obtenue est pesée pour le calcul du rendement (**Bougueraa et Ali, 2002**).

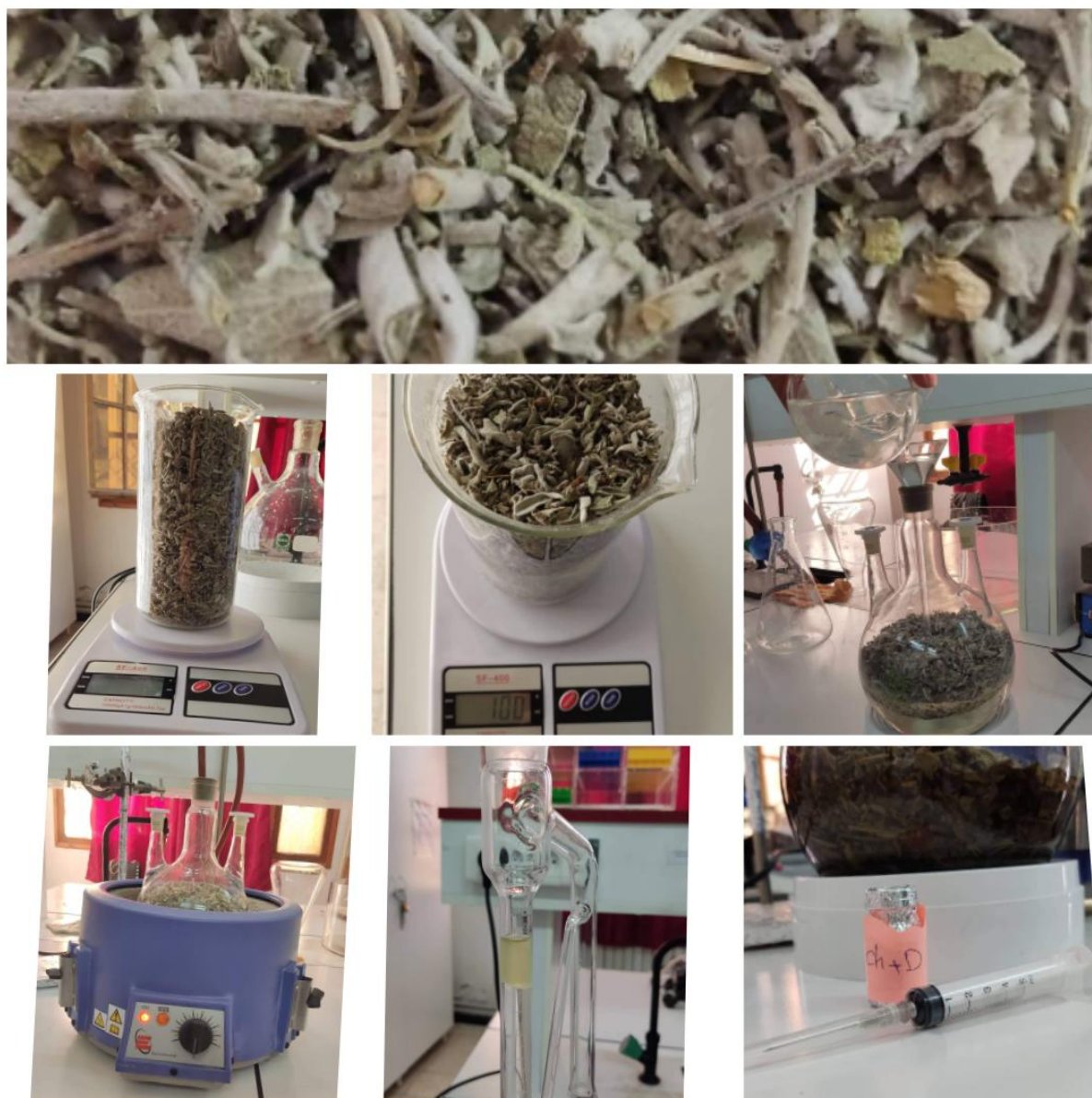


Fig 26: Les étapes de l'extraction de l'HE

III.2.2. Rendement

Le rendement de l'huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante, évalué à partir de 3 échantillons de 1g séchés jusqu'au poids constant pendant 48 heures à l'étuve à 105°C. Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

$$R = PB / PA * 1.0$$

Ou

$$R = [PPB / SPA] \times 100$$

Chapitre III: Matériel et Méthode

R: Rendement en *HE* en %

PB: Poids d'*HE* en g.

PA: Poids de matière sèche de la plante en g

III.2.3. Test d'activité anti-oxydante

III.2.3.1. Dosage d'huile essentielle en utilisant une solution de DPPH

L'activité de piégeage du DPPH a été évaluée selon la méthode de Blois (1958). En bref, 160µl de solution de DPPH (0,04mg/ml) ont été ajoutés à 40µl de différentes dilutions de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*. Le mélange a été incubé pendant 30 min dans l'obscurité et l'absorbance de chaque solution a été lue à 517 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques. Le pourcentage d'inhibition a été calculé comme suit :

$$I (\%) = (A_b - A_s / A_b) \times 100$$

Où : A_b est l'absorbance de la réaction témoin / A_s est l'absorbance du composé testé

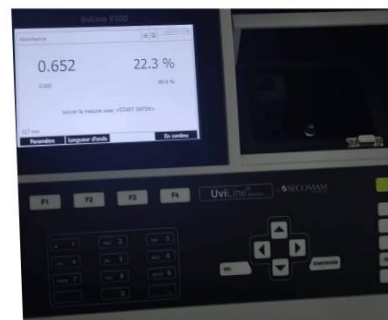
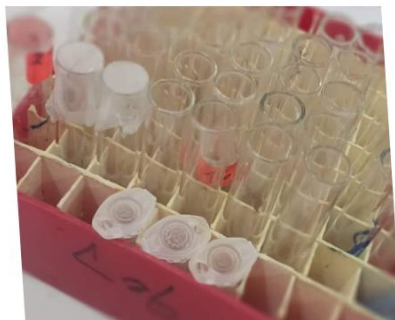


Fig 27 : Les étapes de test de l'activité antioxydant d'HE de *Salvia officinalis*

III.3. Techniques d'élevage

Les larves de moustiques sont élevées dans des mares temporaires situées dans la région d'El Gaageaa, El Hammamet et El Wiame de la ville de Tébessa. Les larves sont élevées au laboratoire dans des récipients en verre contenant d'eau déchlorurée et nourries avec du mélange biscuit 75% - levure 25% (**Rehimi et Soltani, 1999**). L'eau est renouvelée chaque deux jour.



Fig 28 : Site d'élevage Hammamet



Fig 29 : Récipient des moustiques

III.4. Test de toxicité

Différentes doses d'huiles essentielles de la sauge (1, 2, 4, 5, 10, 15, 20 et 25 ul/ml) ont été appliquées dans des gobelets de 50cm de diamètre contenant chacun 150ml d'eau et 15 larves des quatrièmes stades nouvellement exuvies. Des expériences préliminaires ont permis de sélectionner cette gamme de concentration. Pour ce faire, des solutions mères d'huiles ont été préparées dans 1ml d'éthanol.

Trois gobelets témoins négatif et positif ont été également constitués dans les conductions identiques aux gobelets tests. Le témoin négatif ne contenait que de l'eau tandis que le témoin positif renfermait un millilitre de l'éthanol sans traces d'huiles essentielles. Le couplage des larves a été réalisé après 24h d'exposition à l'extrait volatil. Les larves ne sont pas alimentées pendant les bioessais (**Boyer, 2006**).



Fig 30 : Les étapes de test de toxicité

III.5. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne \pm l'écart-type (SD). L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel GRAPHPAD Prism Version 7.00. L'ANOVA I et le test de Tuckey ont été réalisés).

Chapitre IV:

Résultats

IV. Résultats

IV.1. Rendement en huile essentielle de *Salvia officinalis*

Les huiles essentielles de *Salvia officinalis* obtenues par hydrodistillateur de type Clevenger sont: huiles à couleur jaune, odeur Agréable et avec un rendement ($1,20 \pm 0,44$ %) de la matière sèche de la partie aérienne de la plante.

IV.2. Test d'activité antioxydant

L'HE de *Salvia officinalis* inhibe l'activité oxydante avec un pourcentage allant de 5,28% (à 0,2mg/ml) jusqu'à 28,24% (à 3,2mg/ml).

Tableau 5 : Pourcentage d'inhibition d'HE de *Salvia officinalis* à l'activité oxydante

Concentration (mg/ml)	3,2	1,6	0,8	0,4	0,2
Pourcentage d'inhibition	28.24 ± 0.46	19.47 ± 0.76	17.58 ± 0.90	9.90 ± 0.55	5.28 ± 4.32

IV.3. Test de toxicité

IV.3.1. Toxicité d'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur *Culiseta longiareolata*

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité des huiles essentielles, évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles. Les tests de toxicité sont appliqués sur des larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuvies de *Culiseta longiareolata* (2, 5, 10, 15, 20,25 μ l) pendant 24h. La mortalité observée est corrigée à parti d'une mortalité naturelle en pourcentage avec une relation dose-réponse.

Différentes concentrations sont appliquées sur des larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuvies, pendant 24 heures, ces concentrations ont été retenues après un screening préalable. La mortalité observée est notée durant les 24 heures qui suivent le traitement.

Les huiles essentielles extraites de *Salvia officinalis* ont été appliquées sur des larves du quatrième stade nouvellement exuvies à une dose létale: 1 μ l correspondant à la DL₅₀. L'effet de cet insecticide a été évalué à différentes périodes (24 heures). Les résultats obtenus à partir d'une courbe de référence.

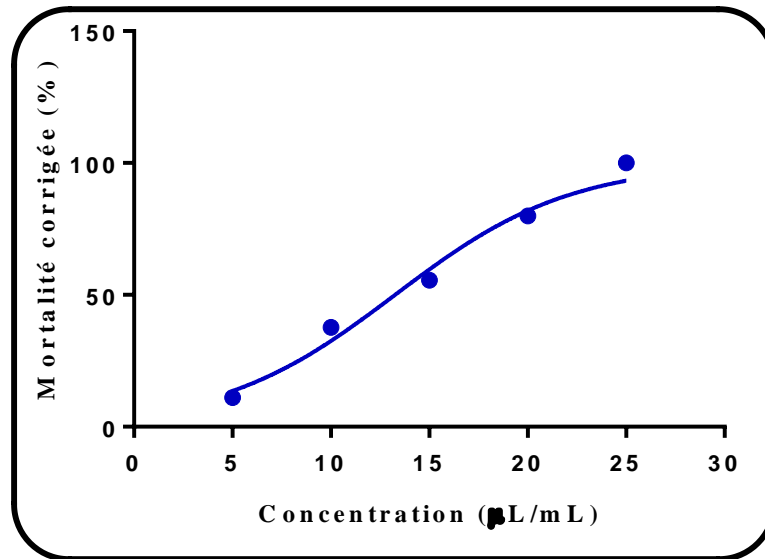


Fig 31: Courbe présentant les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuvies traités par l'huile essentielle de *Salvia officinalis* en fonction des différentes concentrations

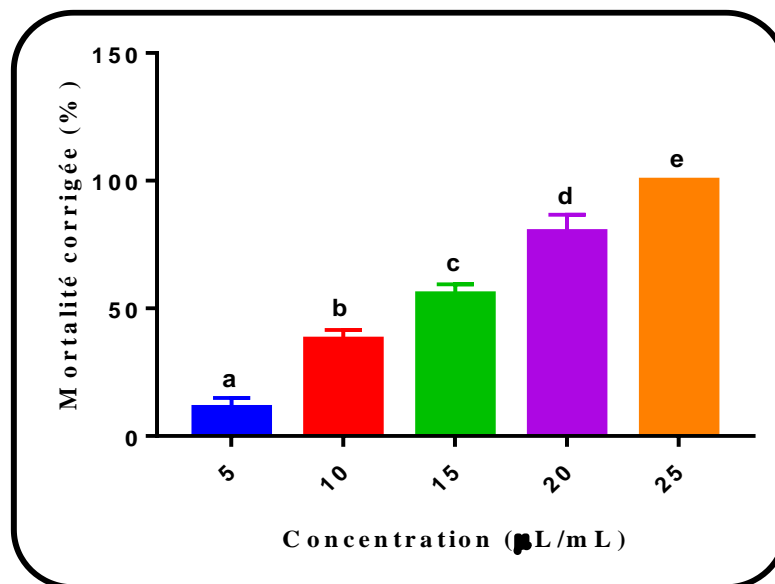


Fig 32 : Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuvies traités par l'huile essentielle de *Salvia officinalis* en fonction des différentes concentrations.

L'huile essentielle de *Salvia officinalis* a été appliquée sur des larves du stade L4 à concentration létales, CL₂₅, CL₅₀, et la CL₉₀ (qui provoque la mortalité de 25%, 50 %, et 90 % de population ciblée). Les concentrations CL₂₅, CL₅₀ et CL₉₀ déterminées sont respectivement(8,485) de l'intervalle (4,568 – 12,31) et (12,34) de l'intervalle (8,885 – 15,71) ; et(26,12) de l'intervalle (17,34 to 55.19), avec un Slope de 0,67 (Tableau 6).

Tableau 06 : Effet d'huile essentielle de *Salvia officinalis* appliquées sur les larves de *Culiseta longiareolata* : Mortalité corrigée % ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 15 individus).

Concentration	5	10	15	20	25
R1	13,33	33,33	53,33	73,33	100
R2	6,66	40	60	86,66	100
R3	13,33	40	53,33	80	100
m±SD	11,10 ± 3.85	37,77 ± 3.85	55,55 ± 3.85	79,99 ± 6.66	100 ±0

IV.3.2. Toxicité des huiles essentielles extraites de *Salvia officinalis* sur *Culex pipiens*

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité des huiles essentielles, évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles. Les tests de toxicité sont appliqués sur des larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuvies de *Culex pipiens* (1,5, 15, 20,25 μ l) pendant 24h. La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle en pourcentage avec une relation dose-réponse.

Différentes concentrations sont appliquées sur des larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuvies, pendant 24 heures, ces concentrations ont été retenues après un screening préalable. La mortalité observée est notée durant les 24 heures qui suivent le traitement.

Les huiles essentielles extraites de *Salvia officinalis* ont été appliquées sur des larves du quatrième stade nouvellement exuvies à une dose létale: 1 μ l correspondant à la DL_{50} . L'effet de cet insecticide a été évalué à différentes périodes (24heures). Les résultats obtenus à partir d'une courbe de référence.

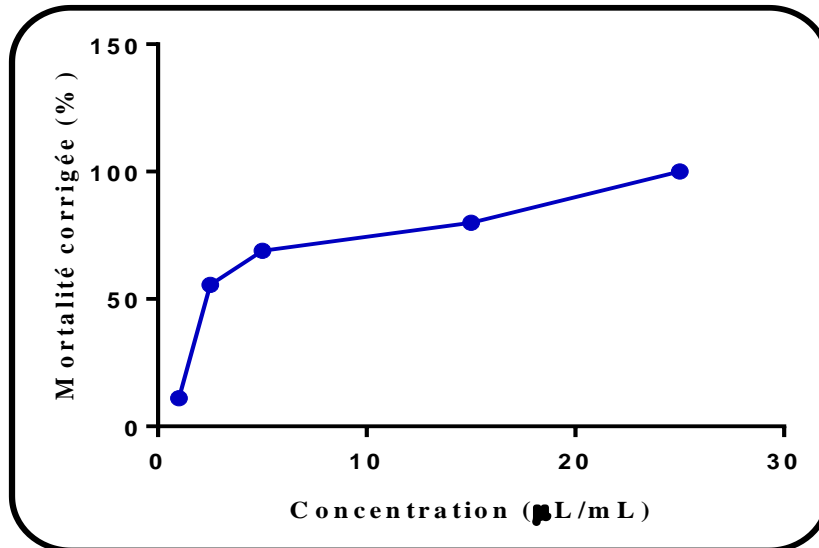


Fig 33 : courbe présentant les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées traités par l'huile essentielle de *Salvia officinalis* en fonction des différentes concentrations

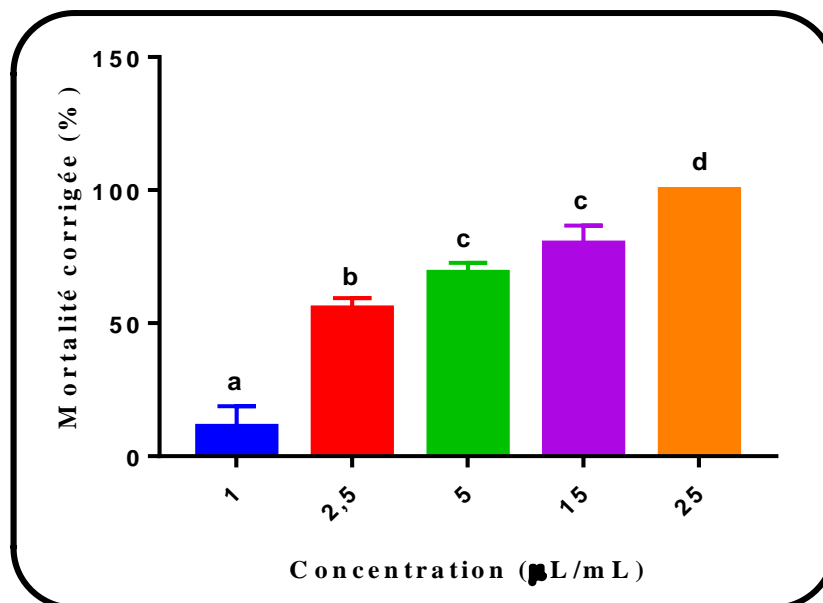


Fig 34: Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées traités par l'huile essentielle de *salvia officinalis* en fonction des différentes concentrations.

L'huile essentielle de *Salvia officinalis* a été appliquée sur des larves du stade L4 à concentration létales, CL₂₅, CL₅₀, et la CL₉₀ (qui provoque la mortalité de 25%, 50 %, et 90 % de population ciblée). Les concentrations CL₂₅, CL₅₀ et CL₉₀ déterminées sont respectivement (1,245) de l'intervalle (0,2429 to 2,544) et(2,754) de l'intervalle (1,323 to 5,318) ; et(13,48) de l'intervalle(3,663 to 130,1) , avec un Slope de 0,3819 (Tableau 07).

Tableau 07 : Effet d'huile essentielle de *Salvia officinalis* appliquées sur les larves de Culex : Mortalité corrigée % ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 15 individus)

Concentration	2,5	5	15	25	1
R1	60	66,66	80	100	20
R2	53,33	66,66	73,33	100	6,66
R3	53,33	73,33	86,66	100	6,66
$m \pm SD$	$7 \pm 3,85$	$68,88 \pm 3,85$	$79,99 \pm 6,66$	100 ± 0	$11,10 \pm 7,70$

Chapitre V :

Discussion

V. Discussion

V.1. Rendement en huile essentielle

Nous rappelons que le rendement d'extraction en huiles essentielles de *Salvia officinalis* a été de (1,20±0,44) de la matière sèche de la plante. ce rendements prouve que quantitativement le *Salvia officinalis* renferme plus d'essence que certaines plantes, il est plus élevé que celui de la rose (0,1-0,35%), la menthe poivrée (0,5-1%), le néroli (0,5-1%) et moins élevé que celui de l'anise (1-3%) et le thym (2-2,75%) (**koba et al., 2009 ; Benchequroun et al., 2012**).

Les résultats obtenus illustrent que nos rendement en huile essentielle de *Salvia officinalis* est variable, cette différence serait liée au fait que l'extraction a été faite sur des feuilles sèches alors que les autres études l'ont faite sur des feuilles fraîches. Cette variabilité de rendement pourrait également être liée au processus de tarissement, période de récolte, aux facteurs édaphiques et climatiques ou alors à l'état physiopathologique de la plante, aussi elle peut être liée au type de la technique d'extraction et aux étapes de la récupération (**wogiatzi et al., 2011**)

V.2. Teste d'activité antioxydante

L'HE de *Salvia officinalis* inhibe l'activité oxydante avec un pourcentage de 28,24% (à 3,2mg/ml).

V.3. Test de toxicité

On considère que ces mécanismes sont uniques et que les bioinsecticides à base d'huiles essentielles peuvent être des outils de choix dans les programmes de gestion de la résistance des ravageurs aux pesticides. Avec ces mécanismes d'action particuliers, ces les bioinsecticides peuvent être utilisés seuls et à répétition sans potentiellement incite le développement de la résistance chez les ravageurs. Ils peuvent également être utilisés en alternance avec les pesticides de synthèse afin de prolonger la durée de vie de ces derniers. La toxicité est évaluée à partir du haut de mortalité enregistré après traitement et qui dépend des doses administrée. Notre résultats montrent une toxicité importante d'huile essentielle de *Salvia officinalis* à l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuvies de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*, avec des CL₅₀ de 2,75et de12.34 respectivement, Par rapport d'autre travail (Chettat, 2013) sur la *Laurus nobilis*, les concentrations létales des huiles essentielles extraites (10.76µl) pour de *Culex pipiens* et (13.98µl) pour de *Culiseta longiareolata*, correspondant à la CL50.

Conclusion et Perspectives

Conclusion et perspectives

Le but de la présente étude était d'évaluer l'effet toxique d'huile essentielle de la plante *Salvia officinalis* sur des larves de moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*,) et de déterminer l'effet antioxydant de cet huile.

L'hydrodistillation a donné un rendement de 1,20% de la matière sèche de cette plante. Le traitement par l'HE de la plante chez les larves de stades L4 nouvellement exuvies permis de donner des concentrations létales CL_{50} qui sont 2.74 et 12.34 respectivement.

L'huile essentielle de *Salvia officinalis* montre une activité antioxydant plus moins importante avec une inhibition de 28,24%.

Les huiles essentielles présentent donc des propriétés intéressantes. Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour son application dans la production des biopesticides. Nous envisageons de poursuivre cette étude afin de préciser la nature du ou des composé (s) responsable (s) de cette activité par fractionnement mené en parallèle avec les tests biologiques. La voie donc reste ouverte vers la découverte de nouvelles plantes et par la suite de nouvelles molécules à effet phytosanitaire. Il serait très important d'étendre les investigations à d'autre espèce des plantes pour voir l'effet de ces biopesticides sur d'autres insectes nuisibles. A l'avenir il serait intéressant de compléter cette recherche en évaluant des huiles essentielles de *Salvia officinalis* sur d'autres mécanismes de résistance, essentiellement les enzymes de détoxification tels que les estérases.

Références Bibliographiques



A

- Aissaoui, I. (2008).** Etude systématique et lutte biologique avec *Le Bacillus thuringiensis* Vectobac (W. D. G.) contre les moustiques. (Memoire de master, Université Chikh –Alaarabi Tbessi,tébessa. 8p.
- Anne-Claire, D., Ianis, D., Marie-Alix, V. (2008).**Atelier sante environnement Risques et bénéfices possibles des Huiles Essentielles. Ingéniorat du Génie Sanitaire. p 87
- Ahmad Ghorbani, Mahdi Esmailzadeh., 2017.** Pharmacological Prophéties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditionnel and Complementary Médecine*, 433-440.
- Amirouche R., Belkolai F., 2013.** Effet in vitro de l'association des huiles essentielles de *Salvia Officinalis*, *Melaleuca alternifolia* et deux composes majoritaire sur les bactéries, Mémoire de Master, Université de Bejaia.
- Arceusz, A., Occhipinti, A., & Capuzzo, A. (2020).** extraction methods for the determination of alpha-and beta-thujone in sage (*Salvia officinalis* L.) herbal tea. *Journal of separation science*. 36 pp: 3130-3134
- AITKEN, T. H. G. (1954)** - The culicidae of Sardinia and Corsica (Diptera). *Bull. Ent. Res.*, 45(3): 437-494

B

- BECKER N., PETRIC D., ZGOMBA M., BOASE C, DAHL C., LANE J. AND KAISER A.(2003)** - Mosquitoes and their control. Ed. Kluwer Academic, New York, p498
- Balenghien T. (2007).**Les moustiques vecteurs de la Fièvre du Nil Occidental
- BOULKENAFET F. (2006)** - Contribution à l'étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera : Culicidae) dans la région de Skikda. Présentation pour l'obtention du Diplôme de Magister en entomologie (option; application agronomique et médicale). 191p.
- Bouabida Hayette, 2014.** Inventaire des moustiques de la région de Tébessa et bioactivité du spiromésifene sur la reproduction de *Cs longiareolata* et *Cx pipiens* : aspects écologique

Références Bibliographiques

biochimique. Thèse doctorat en Biologie Animal, université.Bedji Mokhtar, Annaba (Directeur de thèse Pr. N. SOLTANI).132p

BUSSIERAS J., CHERMETTE R. (1991) - Parasitologie Veterinaire, Entomologie, Service de Parasitologie, ENVA.58-61.

BALENGHIEN T.(2006) - De l'identification des vecteurs du virus West Nile à la modélisation du risque d'infection dans le sud de la France. Thèse de Doctorat, Grenoble, Université J. Fourier: 235 p,

Boulkenafet F. (2006) - Contribution à l'étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera:Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera : Culicidae) dans la région de Skikda. Présentation pour l'obtention du Diplôme de Magister en entomologie (option ; application agronomique et médicale). 191

BRUNHES J., RHAIM A., GEOFFROY B., ANGEL G. ET HERVY J.P. (1999)- Les Culicidae d'Afrique méditerranéenne. Logiciel de l'Institut de Recherche pour le Développement (I.R.D.), Montpellier, ISBN 2-7099-1446-8.

Ben Kheder, M. R. Ben Khedher, S. Ben Kheder, I. Chaieb, (2017) "Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia". EXCLI Journal, vol 16, pp 160-173.

Belsito, E. L., Carbone, C., Di Gioia, M. L.,Leggio, A., Liguori, A., Perri, F., & Viscomi, M.

Bouguerra, A. Ali, M. (2021) - Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill .en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Thèse Magister: biotechnologies alimentaire. Constantine: Université Mentouri (I.N.A.T.A.A.), 111p.

Boudjelal, A. (2013). Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. (Thèse doctorat: biochimie appliquée. Université Badji Mokhtar Annaba). 30 p.

C

- Callot J., Helluy J. (1958).** Parasitologie médicale. Ed. Médicales Flammarion, Paris, 645 p
- Clement A,N. (1999)** - The Biology of Mosquitoes: Sensory Reception and Behaviour. CAB International Publishing, p 576.
- C. (2007).** Comparison of the volatile constituents in cold-pressed bergamot oil and a volatile oil isolated by vacuum distillation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(19), 7847.

D

- Dahchar,Z. (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 de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba).182p.
- Devairauskaite et al. Characterization of steam volatiles in the essential oil of black currant bud extracts. J. Agric. Food Chem., (1985).**
- Durbeck K., 1997 :** The distillation of essential oils. Manufacturing and plant Construction Handbook. Eschborn, Federal Republic of Germany, Protrade, Department of foodstuffs & Agriculturak Products.

E

- Euzeby, J. (2008)** - Grand dictionnaire illustre de parasitologie medicale et veterinaire. Paris: Editions Tec & Doc. p 818.
- Effet of the environmental condition on essential oil profile in two dinaric Salvia species Salvia brachyd on vandas and Salvia officinalis L. Biochemical Systematics and Ecology. 35, 473-478**

F

Farhat, A. (2010). Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Sciences des Procédés, Sciences des Aliments), Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & Ecole Nationale

G

Gomes, P. B., Mata, V. G., & Rodrigues, A. E. (2007). Production of rose geranium oil using supercritical fluid extraction. *Journal of Supercritical Fluids*, 41(1), 50-60.

Ghorbani, A et M. Esmailizadeh, "Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components". *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, col 7, n°4, pp 433-440.

Garnero J, 1991 : Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. Technique- Encyclopédie de médecine naturelle, paris, 2-20 p.

H

Hans W.K.2007. Plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. Pereira, O., Catarino, M., Afonso, A., Silva, A., & Cardoso, S., 2018. *Salvia elegans, Salvia greggii and Salvia officinalis Décoctions : Antioxydant Activités and Inhibition of Carbohydrate and Lipid Metabolic Enzymes. Molécules*, 23, 3169p.

Horvathova E., Srancíková A., Regendova-Sedlackova E, (2016). Enriching the drinking water of rats with extracts of *Salvia officinalis* and *Thymus vulgaris* increases their resistance to oxidative stress. *Mutagenesis*.31: 51-59Ingénieurs de Gabès (Tunisie).

I

Isman, M B., & Machial C M. (2006). Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. In: Rai, M., Carpinella, M.C. (Eds.), Rehim, N. & Soltani, N. (1999). Laboratory evolution of alsystine. A chitin synthesis.

K

Kim KS., Chung BJ., & Kim, HK. (2000). DBI-3204: A new benzoylphenyl urea insecticide with particular activity against whitefly. Proceedings of the British Crop Protection Council Conference, Pests and Diseases, (1): 41-46

Kettle, D.S. (1995) - Medical and Veterinary Entomology, 2^o edition, Wallingford: CAB international. 725 p.

Klowden, M.J. (1990) - The endogenous regulation of mosquito reproductive behavior

Khirdidine, H. (2013). Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie. these magister. Université M^oHamed Bougara.p : 11-13.

Kintzios, S.E., 2000. Sage the Genus Salvia ; Harwood Academic Publisher : Amsterdam, The Netherlands.

L

Longaray D A.P., Ivete T.M.P., Liane A., Luciana A.S., et Sergio E. (2007).

Lucchesi, M. E. (2005). Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Chimie), Faculté des Sciences et Technologies, Université de la Réunion, France

Lucchesi, M. E., Chemat, F., & Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. Journal of Chromatography A, 1043(2), 323-327.

Linné, C. (1758) - Systema naturae per regna fria naturae. Edition 10. Holmia, 1: 82.

M

Maksimovic M., Danijela V., Mladen M., Marija E.S., Sabaheta A., et Sonja S.Y. (2007).

Madi, A. (2010).Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques, Mémoire de Magister. Université Mentouri de Constantine.

Mémoire Sarra Houaoussa et Hana Arnaout Guelma 2020.

O

Osmana 1980. Evidence for the formation of a covalent adduct between DPPH and the oxidized form of the polyphenol. *Biochemical and biophysical research communications*.

Olivero-Verbel, J., González-Cervera, T., Güette-Fernandez, J., Jaramillo-Colorado, B., & Stashenko, E. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils isolated from Colombian plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(4), 568-574.

P

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

Peterson, E.L. (1980) -Alimit cycle interprétation of a mosquito circadian oscillator .J. theor. Biol. 84 : (281-310).

PIERRICK H. (2014) - Culex pipiens - Définition. Réalisé en collaboration avec des Polytechnique de Toulouse, 22-38

Porovici C et al, Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Rvue de genie industriel* (2009).

Peterson, A., Machmudah, S., Roy, B. C., Goto, M., Sasaki, M., & Hirose, T. (2006). Extraction of essential oil from geranium (*Pelargonium graveolens*) with supercritical

Références Bibliographiques

carbon dioxide. Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental Clean Technology, 81(2), 167-172.

Pereira, C. G., & Meireles, M. A. A. (2010). Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: fundamentals, applications and economic perspectives. Food and Bioprocess Technology, 3(3), 340-372.

Paris M., Hurabiel., 1981. Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome I. Masson. Paris. France.

Q

Quezel, P. et Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. C.N.R.S. Paris. P 603, 781-793.

Qutubuddin M. (1960) - Mosquito studies in the Indian subregion, Part I Taxonomy - Abrief review. 133p.

R

Raal, A., Orav, A., & Arak, E. (2007). Composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from various European countries. Natural product research, 21(5), 406-411.

Radulescu, V., Chiliment, S., & Oprea, E. (2004). Capillary gas chromatography–mass spectrometry of volatile and semi-volatile compound of *Salvia officinalis*. Journal of Chromatography A, 1027(1-2), 121-126.

ROTH M. (1980) - Initiation à la morphologie, la systématique et la biologie des insectes, ORSTOM, Paris. 259p.

Reinert, J.F. (2000) - New classification for the composite genus *Aedes* (Diptera: Culicidae: Aedini), elevation of subgenus *Ochlerotatus* to generic rank, reclassification of the other subgenera, and notes on certain subgenera and species. J. Am. Mosquito Control Assoc 175 :16 - 188.

Rodhain, F. Perez, C. (1985) - Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Ed. Maloine S. A., Paris, 458p.

Références Bibliographiques

Ramos H.-C. ET Bruhens J. (2004) - Insecta, Diptera, Culicidae, Uranotaenia. Faune de Madagascar 91. Ed. IRD Édition, CIRAD, MNHN-Paris, Montpellier, 463 p.

Rodhain F., PEREZ C. (1985) - Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Ed. Maloine S. A., Paris, 458p

S

Scully, R., (2008). Key to lamiaceae of colorado(MintFamily). Colorado, USAUniv Colorado Press.

Santos-Gomes, P. C., & Fernandes-Ferreira, M. (2001). Organ-and season-dependent variation in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L. cultivated at two different sites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 2908-2916

Sánchez-Moreno C., (2002). "Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems." *Food science and technology international* 8(3): 121-137.

Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J., & Sukprakan, C. (1997). Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research* 33, 7-15

Seguy E. (1955) - Introduction à l'étude Biologique et Morphologique des insectes Diptères. Ed. Muséum Nationale, Rio-de-Janeiro, 260 p.

Said, O., khalil, K., Fulder, S., Azaizels, H. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinalherbs in israil, the golenheight and the westbankregion ; *Journal of ethnopharmacological*, 83 :251-263.

T

Toyokuni S. (2016). Oxidative stress as an iceberg in carcinogenesis and cancer biology. *Arch BiochemBiophys*. 595: 46-49.

U

Urquhart G.M., ARMOUR J., DUNCAN J.L., DUNN A.M. AND JENNINGS F.W.

(1996) - Veterinary parasitology. 2nd edition. Oxford: Blackwell science. p 307.

V

Vilmorin-Andrieux et Cie., 1883. Les plantes potagères description et culture des principaux légumes des climats tempérés. Deuxième Edition, 546 p.

Villeneuve,F et Désiré,CH.1965.Zoologie.Bordas 1ere édition. 23pages.

W

Walker, J. B., Sytsma, K. J., Treutlein, J., & Wink, M. (2004). Salvia (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of Salvia and tribe Menthae. American Journal of Botany, 91(7), 1115-1125

Wijesekara R.O.B., Ratnatunga C.M., Durbeck K., 1997 : The distillation of essential oils. Manufacturing and plant Construction Handbook. Eschborn, Federal Republic of Germany, Protrade, Department of foodstuffs and Agricultural Products Wijesekara R.O.B., Ratnatunga C.M.,

Wooton-beard.P et al., Stability of the total antioxidants capacity and total polyphenol content of 23commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS. Food research international.

Wall R., shearer D. (1992) - Veterinary Entomology, Chapman & Hall. 88-191.rasitologie, ENVA.58-61.

(web1) <https://fr.puresentiel.com/blogs/conseils/huile-essentielle-definition>.

(web2) [EXTRACTION_ET_ETUDE_DES_HUILES_ESSENTIEL20151203-16016-17w6av](#) with-cover-page-v2 (1).