République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la vie
Département Des Sciences de La Nature et de la Vie

N° d'ordre…… **N° de série……..**

Mémoire
Présenté pour l'obtention du diplôme de Master
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Thème

Etude de l'effet de la toxicité induite par les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* (Linné, 1753) chez l'espèce de moustique *Culiseta longiareolata* (Aitken, 1954)

Présenté par :

Maassem Aymene **Hadjeres Bilal** **Kouache Houssem**

Devant le jury :

Président : Dr Ayat Abderahmane	**Université Oum el Bouaghi**
Examinateur : Dr Derouiche Kamel	**Université Oum el Bouaghi**
Rapporteur : Dr Zeghib Fouad	**Université Oum el Bouaghi**

Année universitaire : 2022-2023

بِسْمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحْمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

﴿ ۞ إِنَّ ٱللَّهَ لَا يَسْتَحْيِۦٓ أَن يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۚ فَأَمَّا ٱلَّذِينَ ءَامَنُوا۟
فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ ٱلْحَقُّ مِن رَّبِّهِمْ ۖ وَأَمَّا ٱلَّذِينَ كَفَرُوا۟ فَيَقُولُونَ مَاذَآ أَرَادَ ٱللَّهُ بِهَٰذَا مَثَلًا ۘ
يُضِلُّ بِهِۦ كَثِيرًا وَيَهْدِى بِهِۦ كَثِيرًا ۚ وَمَا يُضِلُّ بِهِۦٓ إِلَّا ٱلْفَٰسِقِينَ ﴿٢٦﴾ ﴾

[سُورَةُ البَقَرَةِ:٢٦]

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents, vous représentez pour moi le symbole de soutien, de courage et de la patience, qui m'ont beaucoup aidés durant ma vie et soutenue surtout dans mes études.

À mes chers frères

À ma sœur

À toute ma famille

À mes amis

À toutes personnes qui m'ont encouragé ou aidé à mes études

Ainsi qu'à tous les étudiants de ma promotion 2023, Merci à tous.

Maassem Aymene

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents pour leurs soutiens et leurs sacrifices. Ce travail soit le témoignage de ma gratitude pour l'amour et la sollicitude que vous avez su me prodiguer depuis toujours.

À mes chers frères

À ma sœur

À toute ma famille

À mes amis

À mes collègues de l'université, Merci à tous.

Hadjeres Bilal

Dédicace

Je dédie ce travail à ma chére mére, tu représentes pour moi le symbole de courage et de Soutien, et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager durant toutes mes études.

À mes chers frères

À mes chères soeurs

À toute ma famille

À mes amis

À tous mes collègues

À tous ceux qui m'ont aidé et m'ont encouragé, Merci à tous.

Kouache Houssem

Remerciement

*Nos remerciements s'adressent d'abord à **ALLAH**, le tout puissant de nous avoir donné courage et volonté pour accomplir ce travail.*

*Nos plus vifs remerciements à notre encadreur **Dr Zeghib Fouad,** pour son encadrement et son soutien durant toute la période de l'établissement de ce travail. Merci pour ses encouragements, ses conseils et sa patience. Du fond du coeur : Merci.*

Un grand remerciement aux honorables membres du jury

***Dr Ayat Abderahmane**, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury.*

***Dr Derouiche Kamel** , pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous n'oublions pas de remercier vivement **Pr Zellagui** le directeur de laboratoire des molécules bioactives et améliorations des plantes ainsi les ingénieurs de laboratoire et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Enfin nous veux dire merci à tous les enseignants du département de biologie l'Université Larbi Ben M'hidi -Oum el Bouaghi- pour l'aide pendant notre formation d'étude.

Table des matières

Listes des figures

Listes des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Partie bibliographique

Chapitre 1 : présentation de la plante

1. Généralité 3

2. Description botanique 3

3. Systématique de la plante 4

4. Origine et distribution 4

5. L'utilisation en médecine traditionnelle 4

6. Les compositions chimiques 5

7. Activité biologique 5

7.1. Activité antioxydante 5

7.2. Activité antibactérienne 6

7.3. Activité antiviral 6

7.4. Activité anti-prolifèrative 6

7.5. Activité anti-inflammatoire 7

7.6. Activité antidiabétique 7

7.7. Activité insecticide 7

Chapitre 2 : présentation de moustique

1. Généralité 9

2. Présentation de l'espèce *Culiseta longiareolata* 9

3. Position systématique 10

4. Le cycle de développement 11

4.1. Les œufs 11

4.2. Les larves 12

4.3. Les nymphes 12

4.4. Les adultes 13

5. Aperçu général sur les moyens de lutte contre les moustiques 14

6. Différents myens de lutte antivectorielle 14
6.1. Lutte biologique 14
6.2. Lutte chimique 14
6.3. Lutte physique 15
6.4. Lutte génétique 15

Partie pratique

Matériels et méthodes

1. Objectif 16
2. Matériel et réactifs 16
3. Présentation de l'espèce végétale 16
3.1. Collecte de la plante 16
3.2. Méthode d'extraction 17
4. Présentation de l'insecte 18
4.1. L'échantillonnage 18
4.2. Tri des larves 20
4.3. Technique d'élevage de moustiques 21
4.3.1. Elevage des larves et des nacelles 21
5. Essais toxicologiques et activité larvicide 22
6. Détermination du taux de mortalité 23
7. Étude morphologique 23
8. Analyse statistique 24

Résultats

1. Essais toxicologiques et activité larvicide 25
1.1. Etude de l'effet de «concentration» et de «temps d'exposition» 25
1.2. Toxicité de l'huile essentielle de *R. officinalis* après 24 h d'exposition 27
1.2.1. Etude de l'effet de «concentration» après 24 h d'exposition 28
1.2.2. Détermination des concentrations létales après 24 h d'exposition 28
1.3. Toxicité de l'huile essentielle de *R. officinalis* après 48 h d'exposition 29
1.3.1. Etude de l'effet de «concentration» après 48 h d'exposition 29
1.3.2. Détermination des concentrations létales après 48 h d'exposition 30
1.4. Toxicité de l'huile essentielle de *R. officinalis* après 72 h d'exposition 31
1.4.1. Etude de l'effet de «concentration» après 72 h d'exposition 31

1.4.2. Détermination des concentrations létales après 72 h d'exposition 32
2. Étude morphologique 33

Discussion

1. Essais toxicologiques et activité larvicide 35
2. Étude morphologique 36

Conclusion 37
Références bibliographiques 38
Résumé

Listes des figures

N°	Titre	Page
01	La plante *Rosmarinus officinalis.*	**3**
02	**A :** Taches d'écailles sombres sur l'aile (flèche) de *Cs. longiareolata***; B :** Trois bandes blanches longitudinales (flèche) de *Cs. longiareolata*; **C :** Dents du peigne siphonal (flèche) de larve de *Cs. longiareolata.*	**10**
03	Cycle de développement de *Cs. longiareolata.*	**11**
04	Les œufs de *Cs. longiareolata*.	**12**
05	Les larves de *Cs. longiareolat*a.	**12**
06	La nymphe de *Cs. longiareolata.*	**13**
07	L'adulte de *Cs. longiareolata.*	**13**
08	Montage de l'hydrodistillateur de type clevenger.	**17**
09	L'huile essentielle de *R. officinalis* (photo originale).	**17**
10	Site 1 (la residence universitaire Hassani Aissa) (photo originale).	**19**
11	Site 2 (la residence universitaire 2000 lits) (photo originale).	**19**
12	Site 3 (parc) (photo originale).	**19**
13	Site 4, gite 1 (chantier AADL) (photo originale).	**19**
14	Site 4, gite 2 (chantier AADL) (photo originale).	**19**
15	Site 4, gite 3 (chantier AADL) (photo originale).	**19**
16	Cristallisoir contenant les œufs et les larves de *Cs. longiareolata* (photo originale).	**20**
17	Larve de stade L4 de *Cs. longiareolata* (X25) (photo originale).	**20**
18	La tête de larve de *Cs. longiareolata* (X25) (photo originale).	**20**
19	Le siphon de larve de *Cs. longiareolata* (X25) (photo originale).	**20**
20	L'élevage des nacelles et des larves de *Cs. longiareolata* (photo originale).	**21**
21	L'élevage des adultes de *Cs. longiareolata* (photo originale).	**21**
22	Les test de toxicité (photo originale).	**22**
23	Une lame péparée (photo originale).	**24**
24	Stéréo-microscope (photo originale).	**24**

25	Effets de l'huile essentielle de *R. officinalis* appliquée sur les larves L4 de *Cs. longiareolata* : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité observée en fonction du logarithme des doses.	**25**
26	Histogramme représente la toxicité des différentes concentrations de l'huile essentielle de *R. officinalis*, appliquée sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* en fonction à différentes périodes : Mortalité observée (%) (m ± EC, n=4 répétitions de 20 individus chacune).	**26**
27	Histogramme représente la variation de la moyenne de pourcentage de mortalité observée des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de *R. officinalis* après 24 h d'exposition. Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey. Les concentrations suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative à p> 0.05.	**28**
28	Histogramme représente la variation de la moyenne de pourcentage de mortalité observée des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de *R. officinalis* après 48 h d'exposition. Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey. Les concentrations suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative à p> 0.05.	**30**
29	Histogramme représente la variation de la moyenne de pourcentage de mortalité observée des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de *R. officinalis* après 72 h d'exposition. Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey. Les concentrations suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative à p> 0.05.	**32**
30	**1 :** Larve témoin de *Cs. longiareolata***; 2 :** Larve traitée de *Cs. longiareolata* (X8) (photo originale).	**33**
31	Les différences morphologiques entre la larve témoin (1) et la larve traitée (2) de *Cs. longiareolata* au niveau de la tête (A) et le thorax (B) (X25) (photo originale).	**33**
32	Les différences morphologiques entre la larve témoin (1) et la larve traitée (2) de *Cs. longiareolata* au niveau de l'abdomen (X25) (photo originale).	**34**

33	Les différences morphologiques entre la larve témoin (1) et la larve traitée (2) de *Cs. longiareolata* au niveau de segment anal (A) et le siphon (B) (X25) (photo originale).	**34**

Listes des tableaux

N°	Titre	Page
01	Position systématique de *R. officinalis.*	**4**
02	Position systématique de *Cs. longiareolata.*	**10**
03	Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis* appliquée sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* à différentes périodes de temps (24, 48 et 72 h) **:** Moyenne de pourcentage de mortalité observée (%).	**26**
04	Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis* et de temps d'exposition (24, 48 et 72 h) sur la moyenne de pourcentage de mortalité observée des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata*.	**27**
05	Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis* appliquée sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* après 24 h d'exposition **:** Pourcentage de mortalité observée (%) (M ± EC, n= 4 répétitions comportant chacune 20 individus).	**27**
06	Efficacité de l'huile essentielle de *R. officinalis* (ppm) appliquées sur des larves L4 de *Cs. longiareolata* après 24 h d'exposition : Analyse des probits et détermination des concentrations létales CL_{25}, CL_{50} et la CL_{90} et leurs intervalles de confiance (95%).	**29**
07	Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis* appliquée sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* après 48 h d'exposition **:** Pourcentage de mortalité observée (%) (M ± EC, n= 4 répétitions comportant chacune 20 individus).	**29**
08	Efficacité de l'huile essentielle de *R. officinalis* (ppm) appliquées sur des larves L4 de *Cs. longiareolata* après 48 h d'exposition : Analyse des probits et détermination des concentrations létales CL_{25}, CL_{50} et la CL_{90} et leurs intervalles de confiance (95%).	**30**
09	Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis* appliquée sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* après 72 h d'exposition **:** Pourcentage de mortalité observée (%) (M ± EC, n= 4 répétitions comportant chacune 20 individus).	**31**

10	Efficacité de l'huile essentielle de *R. officinalis* (ppm) appliquées sur des larves L4 de *Cs. longiareolata* après 72 h d'exposition : Analyse des probits et détermination des concentrations létales CL_{25}, CL_{50} et la CL_{90} et leurs intervalles de confiance (95%).	**32**

Liste des abréviations

Cs. longiareolata: *Culiseta longiareolata.*

R. officinalis: *Rosmarinus officinalis.*

HE: Huile Essentielle.

M ± EC : Moyenne ± écart type

p : Niveau de Significative.

n : Nombre de répétitions**.**

CL: Concentration Létale.

CL_{25} : Concentration létale qui cause la mort de 25 % de la population d'insectes traités.

CL_{50} : Concentration létale qui cause la mort de 50 % de la population d'insectes traités.

CL_{90} : Concentration létale qui cause la mort de 90 % de la population d'insectes traités.

ppm : partie par million.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

Ad : Adulte.

L : Larve.

H : Heure.

***Cx. pipiens* :** *Culex pipiens.*

***Ae. aegypti* :** *Aedes aegypti*.

ml: Millilitre.

mg : Milligramme.

Introduction

Introduction

Les moustiques sont des insectes hautement développés qui se nourrissent de sang et figurent parmi les vecteurs importants de maladies humaines (Cetin et *al.*, 2012). Les maladies transmises par les moustiques telles que le paludisme, la filariose, la fièvre du Nil occidental, la dengue, la fièvre jaune, le chikungunya et l'encéphalite japonaise sont largement répandues dans le monde (Mehlhorn et *al.*, 2012). Selon l'Organisation mondiale de la santé, 80 % de la population mondiale est exposée à au moins une maladie à transmission vectorielle, avec plus de 700 000 décès associés à ces maladies chaque année dans le monde. Les maladies à transmission vectorielle représentent environ 17 % de toutes les maladies infectieuses (WHO, 2017).

Culiseta longiareolata (Diptera : Culicidae) est l'une des espèces de moustiques les plus abondantes en Algérie, en particulier dans les régions arides (Bouaziz et *al.*, 2011). Cette espèce de moustique est un vecteur de paludisme aviaire et d'arbovirus tels que la fièvre du Nil occidental. Elle est distribuée en Europe, en Asie,et en Afrique, ainsi qu'en Méditerranée (Khalig et *al.*, 2020).

L'utilisation d'insecticides est un élément essentiel dans la lutte de contrôle mondial des vecteurs de maladies. L'utilisation fréquente de insecticides synthétiques pendant plusieurs années pour contrôler les vecteurs de maladies a conduit à l'émergence de la résistance chez certaines espèces (Soltanbeiglu et *al.*, 2022). En plus, les insecticides synthétiques utilisés ont un impact néfaste sur l'environnement et la santé humaine. Ces substances synthétiques ont été remplacées par d'autres, à savoir les insecticides botaniques, qui sont des alternatives naturelles provenant de sources végétales (Maggi et Benelli, 2018). Afin de réduire les effets néfastes des insecticides conventionnels, les insecticides botaniques (biocides à base de plantes) tels que les huiles essentielles peuvent être utilisés en tant qu'alternative bénéfique et en tirant parti de leurs caractéristiques souhaitables (Campos et *al.*, 2018).

Rosmarinus officinalis (Romarin) est une plante aromatique de la famille des Lamiacées qui pousse spontanément dans de nombreux pays méditerranéens. Le romarin est largement utilisé depuis l'antiquité dans les produits culinaires, cosmétiques et médicinaux (Oualdi et *al.*, 2021). L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est importante pour ses utilisations médicinales et ses puissantes propriétés antimutagènes, anti-inflammatoire, antibactériennes, antifongiques,

anticancéreuses, antioxydantes et insecticides (Ben Abada et *al.*, 2020).

L'utilisation d'extraits de plantes en tant qu'insecticides naturels, comme solution alternative pour contrôler les insectes, en particulier les moustiques en raison des maladies qu'ils transmettent, a suscité un grand intérêt chez les chercheurs. Dans ce contexte, notre étude vise à évaluer l'activité larvicide de l'huile essentielle extraite de *Rosmarinus officinalis* sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de l'espèce de moustique *Culiseta longiareolata* dans la région d'Oum El bouaghi.

Partie bibliographique

Chapitre 1 : présentation de la plante

1. Généralité

Rosmarinus officinalis est une plante aromatique qui appartient à la famille des Lamiacées qui est connus depuis l'oligocène. C'est l'une des familles les plus répandues dans le bassin méditerranéen et spécialement en Algérie. Elle comprend plus de 3300 espèces et environ 200 genres (Zoubeidi, 2004).

Le romarin est une plante qui se trouve dans les lieux rocheux de la région méditerranéenne et même un peu plus au sud jusqu'aux confins sahariens. Il était utilisé en médecine depuis l'antiquité. Il a été employé essentiellement pour améliorer et stimuler la mémoire (Adouane, 2016).

2. Description botanique

R. officinalis est un arbrisseau touffu, plus commun dans tout le bassin méditerranéen. Cette plante possède des feuilles sessiles, persistantes, opposées, linéaires et coriaces, enroulées sur les bords, chagrinées à la face supérieure, tomenteuses à la face inférieure (Bruneton, 2009). Ses fleurs, le plus souvent d'une teinte bleu pâle, maculées intérieurement de violet s'agrègent en courtes grappes s'épanouissent presque tout au long de l'année (Bekkara et *al.*, 2007).

Nom français : Romarin.
Nom Anglais : Rosemary.
Nom vernaculaire : Iklil al jabal, Klil, Hatssalouban, Hassalban, Lazir, Azîir, Ouzbir, Aklel, Touzala (Fedjer et *al.*, 2022).

Figure 1. La plante *Rosmarinus officinalis* (Bernard, 2014).

3. Systématique de la plante

Tableau 1. Position systématique de *R. officinalis* (Begum et *al.*, 2013).

Régne	*Plantae*
Sous règne	*Tracheobionta*
embranchement	*Spermatophyta*
Sous embranchement	*Magnoliophyta*
Classe	*Magnoliopsida*
Sous classe	*Asteridae*
Ordre	*Lamiales*
Famille	*Lamiaceae*
Genre	*Rosmarinus L.*
Espéce	*Officinalis*
Nom binominal	*Rosmarinus officinalis.L* (Linné, 1753)

4. Origine et distribution

Le romarin, est originaire du bassin Méditerranéen. Il pousse à l'état sauvage dans les îles et les régions côtières : le sud et le centre de l'Italie, le sud de la France, en Dalmatie, le sud et l'est de l'Espagne, au Portugal, au nord du Maroc, la Tunisie, l'Algérie, et en Grèce, constituant l'une des essences typiques des garrigues. Cette plante peut être trouvée à différentes altitudes en fonction des étages bioclimatiques où il est possible pour le profane de la confondre avec *Rosmarinus tournefortii* de Noé (Yahiaoui, 2010).

5. L'utilisation en médecine traditionnelle

R. officinalis est une plante aromatique très populaire principalement en raison de ses utilisations en médecine traditionnelle comme anti-inflammatoire, diurétique et antimicrobien, ainsi que dans la prévention et le traitement des maladies (Pérez-Mendoza et *al.*, 2019).

Le romarin a également été utilisé empiriquement comme agent cholérétique et hépatoprotecteur en médecine traditionnelle (Rašković et *al.*, 2014).

Il a été traditionnellement utilisé comme carminatif, antispasmodique, analgésique, tonique circulatoire, pour stimuler la croissance des cheveux et pour améliorer les dysfonctionnements de la mémoire dans la région du Kurdistan et en Iraq, le romarin (kurde : Rozmari, arabe : Aklil al jabal) a été largement utilisé sous forme de thé pour les maux de tête, la circulation sanguine et l'amélioration de la mémoire ainsi que dans les produits manufacturés et comme plante ornementale (Ahmed et Babakir-Min, 2020).

6. Les compositions chimiques

Les volatils distillés à l'eau du romarin cultivé à Cuba ont été analysés par la chromatographie en phase gazeuse (GC) et la chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (GC/MS). Parmi les 29 composés identifiés, le camphre (34,81%), le 1,8-cinéole (11,00%) et le bornéol (11,63%) étaient les principaux constituants (Pino et *al.*, 1998).

Plusieurs composés phytochimiques présentant des activités pharmacologiques peuvent être isolés à partir d'huiles essentielles et d'extraits de *R. officinalis L.*, en faisant varier la concentration de ces molécules dans chaque spécimen de la plante. Les composés phytochimiques les plus signalés sont l'acide caféique, l'acide carnosique, l'acide chlorogénique, l'acide monomère, l'acide oléanolique, l'acide rosmarinique, l'acide ursolique, l'alpha-pinène, le camphre, le carnosol, l'eucalyptol, le rosmadial, le rosmanol, les rosmaquinones A et B, le secohinokio et les dérivés de eugénol et lutéoline (De Oliveira et *al.*, 2019).

7. Activité biologique

7.1. Activité antioxydante :

Les antioxydants naturels suscitent un grand intérêt chez les chercheurs, non seulement dans l'alimentation, mais également en médecine préventive. Ils constituent l'une des sources importantes pour guérir les maladies associées aux dommages oxydatifs (Lee et Shibamoto, 2002).

R. officinalis est utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques et organoleptiques qui sont liées à ses métabolites secondaires (Yeddes et *al.*, 2018). Elle constitue une source particulièrement intéressante de phytochimiques biologiquement actifs, car elle contient une variété de composés phénoliques y compris, l'acide carnosique et le carnosol, qui sont les constituants antioxydants les plus actifs (Botsoglou et *al.*, 2010).

7.2. Activité antibactérienne :

Les effets des extraits aqueux et méthanoliques du romarin, sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyltransferase ont été étudiés par les résultats ont suggéré que les extraits du romarin peuvent empêcher la lésion de la carie en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus* et peuvent aussi éliminer les plaques dentaires par suppression de l'activité de la glucosyltransférase (Tsai et *al.,* 2007).

Les effets antimicrobiens des extraits des composés isolés de certaines plantes dont le romarin, sur l'ensemble de 29 bactéries et levures avec pertinence dermatologiques l'extrait obtenu par le dioxyde de carbone (CO_2) qui supercritique du romarin, a présenté un large spectre antimicrobien. La croissance de 28 sur 29 germes a été empêchée par cet extrait d'acide carnosique (Weckesser et *al.,* 2007).

7.3. Activité antiviral :

L'évaluation de l'activité antivirale de l'extrait commercial de romarin a indiqué qu'il ya une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) à la concentration très basses. Cependant, le carnasol a montré une activité anti-HIV à une concentration modérée qui n'était pas cytotoxique (Aruoma et *al.,* 1996). L'acide carnosique a une activité antivirale contre le virus respiratoire syncytial humain (hRSV), bloquant efficacement la réplication de ce virus (Shin et *al.,* 2013).

L'extrait de romarin a montré une efficacité antivirale contre l'adénovirus, le virus de l'herpès simplex (HSV-1 et HSV-2) (Christopoulou et *al.,* 2021).

7.4. Activité anti-prolifèrative :

De nombreuses études ont fait état des mécanismes anticancéreux de *R. officinalis*. Le romarin a montré des activités anti-prolifératives significatives contre plusieurs lignées de cellules cancéreuses humaines. Il a été démontré que les principaux composés de l'extrait de plante, tels que l'acide carnosique, le carnosol et l'acide rosemarinique, induisent l'apoptose dans ces cellules cancéreuses, éventuellement par la production d'oxyde nitrique. L'acide carnosique semble être le plus puissant promoteur de l'apoptose. L'extrait de romarin a également une activité antitumorigène intrigante. Dans une étude, l'extrait s'est avéré fortement inhiber la tumorigenèse cutanée chez la souris en empêchant les cancérigènes de se lier à l'ADN

epidermique (Rafie et *al.,* 2017).

L'activité anti-angiogénique, les 31 extraits de plantes jordaniennes étudiées ont une activité sélective contre la prolifération des cellules endothéliales et une activité inhibitrice directe contre une étape clé de l'angiogenèse tumorale. L'extrait de romarin a été particulièrement efficace dans un modèle utilisant des cellules endothéliales de veine ombilicale humaine, suggérant un potentiel anti-angiogénique (Zihlif et ***al.,*** 2011).

7.5. Activité anti-inflammatoire :

Les propriétés anti-inflammatoires de l'acide rosmarinique et d'un extrait méthanolique de *R. officinalis* dans l'inflammation locale ont été évaluées, ainsi que l'effet protecteur de l'acide rosmarinique dans les modèles d'inflammation systémique chez les rats, à savoir le modèle d'ischémie hépatique et le modèle de lésion thermique. L'administration d'acide rosmarinique et d'extrait à la dose de 25 mg/kg a réduit l'oedème de la patte de plus de 60% à 6h, présentant un effet dose-réponse, suggérant que l'acide rosmarinique a été le principal contributeur à l'effet anti-inflammatoire (Joao et *al.,* 2014).

7.6. Activité antidiabétique :

L'acide carnosique, un composant bioactif majeur des feuilles de romarin régule le métabolisme des acides gras chez les souris obèses déficientes en leptine, suggérant un potentiel anti-obésité et antidiabétique (Mi-young et *al.,* 2014).

Le romarin a montré des changements favorables dans les profils lipidiques et la glycémie sanguine chez les patients diabétiques type 2, en exerçant un effet hypoglycémie (Al Jamal et *al.,* 2014). Les contributeurs de l' effet hypoglycémie sont les polyphénols de l'extrait de romarin, l'acide carnosique et l'acide rosmarinique (Naimi et *al.,* 2017).

7.7. Activité insecticide :

L'activité insecticide des huiles essentielles de romarin contre divers insectes parasites (*Trichoplusia ni*) de végéteaux a été étudiée, avec des résultats prometteurs. Il a été démontré que l'huile essentielle de romarin peut offrir une alternative intéressante dans le contrôle des insectes nuisibles, ainsi que pour le développement commercial de produits antiparasitaires plus favorables (Tak et *al., 2015).*

L'huile essentielle de romarin s'est avérée un agent ovicide contre trois espèces de moustiques *Anopheles stephensi, Aedes aegypti* et *Culex quinquefasciatus* (Prajapati et *al.*, 2005), et cette huile essentielle présente une activité répulsive contre l'espèce de moustiques *Aedes aegypti*. Les résultats suggèrent que limonène et camphre sont les principaux composants responsable de cette activité (Gillij et *al.*, 2007).

Chapitre 2 : présentation de moustique

1. Généralité

Les moustiques ou les Culicidés sont des insectes mécoptéroïdes diptères nématocères remarquables par l'évolution progressive qui affecte parallèlement l'imago et la larve. Ils occupent la première place, soit par le rôle de vecteur d'organismes pathogènes de certains de ses représentants, soit par la nuisance d'autres (Merabeti et Ouakid, 2011). La famille des *Culicidae* est composée de 113 genres et 3570 espèces avec une large distribution à travers le monde (Khaligh et *al.*, 2020). Le peuplement culicidien de l'Afrique méditerranéenne est composé de 67 espèces appartenant à deux sous-familles et à 7 genres (Brunhes et *al.,* 2000). La faune Culicidienne d'Algérie est riche de 48 espèces appartenant à deux sous-familles: *Anophelinae* et *Culicinae* (Hamaidia et Berchi, 2018). Elle a fait l'objet d'un grand nombre de travaux qui s'intéressent plus particulièrement à la systématique, la biochimie, la morphométrie, la lutte chimique et biologique à l'égard des moustiques (Bouabida et *al.,* 2012) .

2. Présentation de l'espèce *Culiseta longiareolata*

Culiseta longiareolata appartient à la famille des Culicidés. Elle est une des espèces les plus communes de l'Afrique du Nord. C'est une espèce multivoltine, thermophile et ornithophile. (Khalig et *al.,* 2020). Elle 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 maximum de densité au printemps et automne (Tine-Djebbar et *al.*, 2016).

Cs. longiareolata a une taille qui varie de 3 à 5 mm, elle possède un corps mince et des pattes longues et fines avec des ailes membraneuses longues et étroites (Sahli, 2018), et la présence au moins d'une tache d'écailles sombres sur l'aile, le thorax avec trois bandes blanches longitudinales. La larve est caractérisée par un peigne siphonal dont ses dents sont implantées irrégulièrement (Tine-Djebbar et *al.*, 2016).

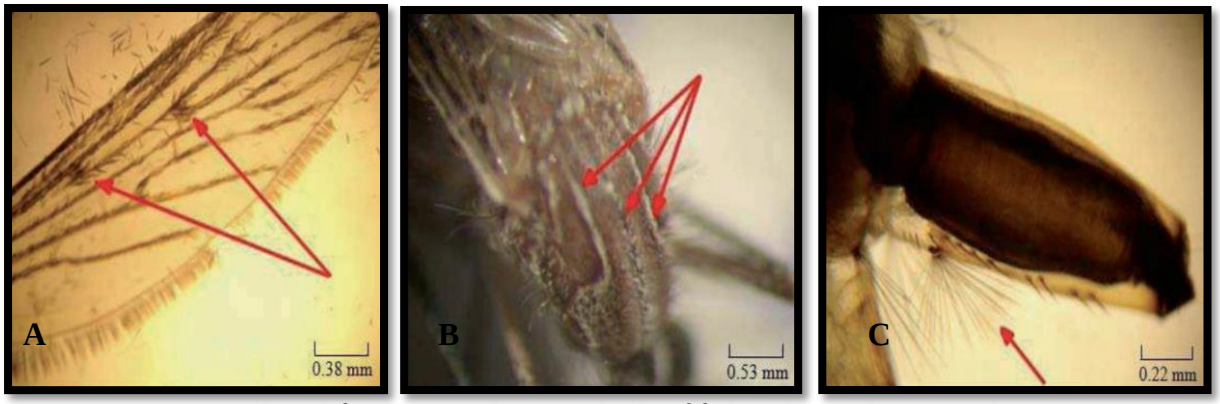

Figure 2. A : Taches d'écailles sombres sur l'aile (flèche) de *Cs. longiareolata***; B :** Trois bandes blanches longitudinales (flèche) de *Cs. longiareolata*; **C :** Dents du peigne siphonal (flèche) de larve de *Cs. longiareolata* (Tine-Djebbar et *al.*, 2016).

3. Position systématique

Comme tous les Diptères, les Culicidés sont des holométaboles qui présentent des métamorphoses complètes (Mouchet et Carnevale, 1991).

Tableau 2. Position systématique de *Cs. longiareolata* (Aitken, 1954).

Règne	*Animalia*
Sous-règne	*Metazoa*
Embranchement	*Arthropoda*
Sous-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	*Culiseta*
Espéce	*Culiseta longiareolata* (Aitken, 1954)

4. Le cycle de développement

Les moustiques responsables des piqûres sont les femelles, car après l'accouplement, elles ont besoin d'un repas sanguin pour porter leurs œufs à maturité (Cassar, 2019). Les moustiques passent au cours de leur vie par quatre stades successifs: œuf, larve, nymphe, et adulte ou imago. Les trois premiers stades sont aquatiques, les adultes mènent une vie aérienne (Mouchet et Carnevale, 1991).

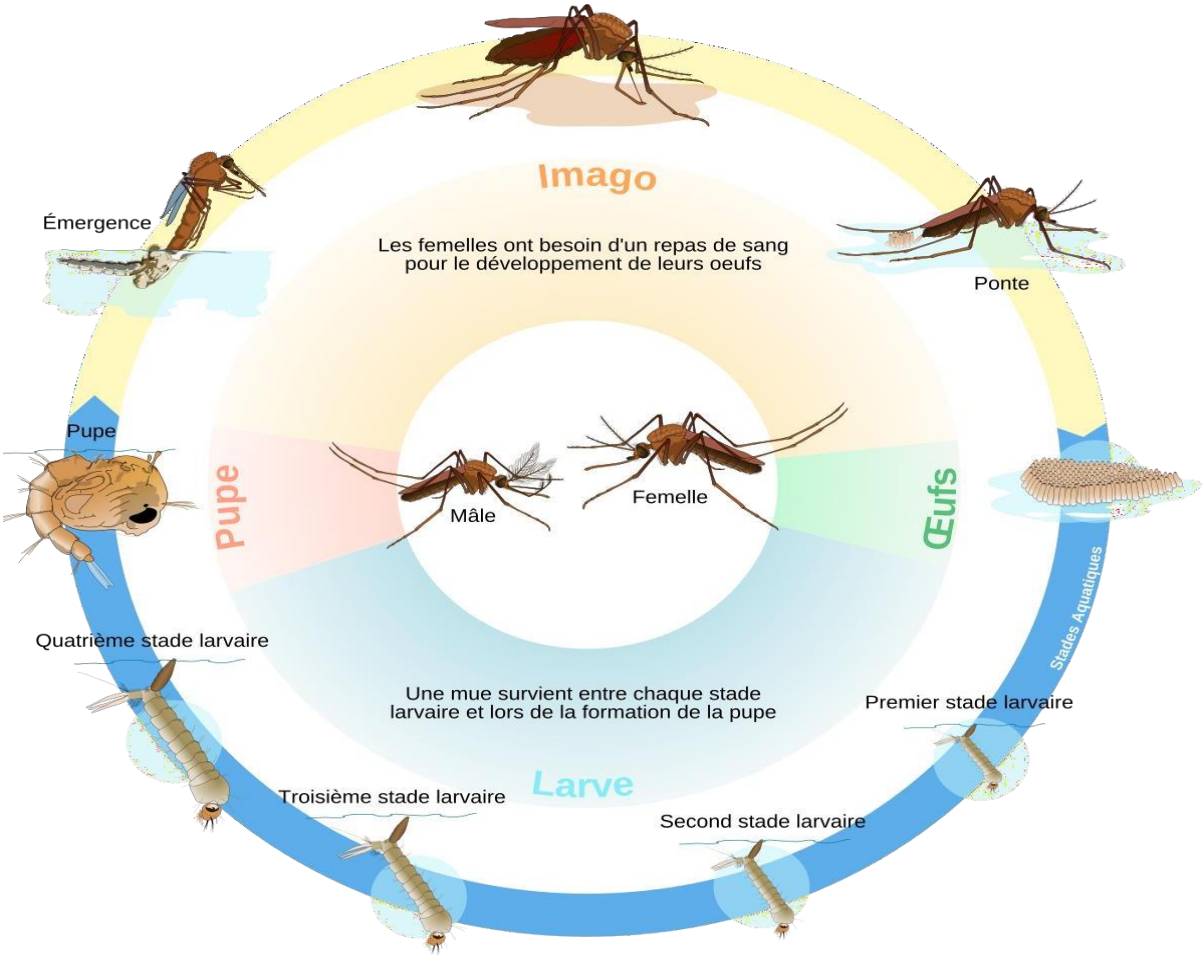

Figure 3. Cycle de développement de *Cs. longiareolata* (Source : study.com).

4.1. Les œufs :

L'œuf comprend de l'intérieur vers l'extérieur ; l'embryon, la membrane vitelline pellucide, un endo-chorion épais et un exo-chorion plus ou moins pigmenté et ornementé, il est de 0.5 mm de taille (Boulkenafet, 2006). Les œufs de diverses formes (fusiformes, allongés, renflées dans leur milieu et parfois munis de minuscules flotteurs latéraux) sont pondus par la femelle dans différents milieux. La ponte est souvent de l'ordre de 100 à 400 œufs et le stade ovulaire

durer deux à trois jours dans les conditions de température du milieu, pH de l'eau, nature et abondance de la végétation aquatique de même que la faune associée (Merabti, 2016).

Figure 4. Les œufs de *Cs. longiareolata* (Khaligh et *al.*, 2020).

4.2. Les larves :

Les larves sont aquatiques et leur évolution comporte 4 stades de taille variant du mm au cm (Boulkenafet, 2006). Elle est divisée distinctement en trois parties: la tête, le thorax et l'abdomen (Hassaine, 2002). La tête distincte avec une paire d'antennes, des yeux composés et des brosses buccales proéminentes, utilisées pour se nourrir de matière organique. Les larves aspirent de l'air à travers un siphon respiratoire situé à l'avant-dernier segment abdominal (Urquhart et *al.*, 1996).

Figure 5. Les larves de *Cs. longiareolat*a (Pradera, 2016).

4.3. Les nymphes :

A la fin du 4ème stade larvaire se produit la nymphose. La cuticule de la larve se fend dorsalement et laisse échapper une nymphe très mobile. La nymphe ne se nourrit pas, elle respire l'air atmosphérique par des trompettes situées sur le céphalothorax (coalescence de la tête et du thorax).

Le stade nymphal dure souvent moins de 48 heures. Durant cette période, l'insecte subit de remaniements morphologiques et l'adulte est préformé à la fin de ce stade (Mouchet et Carnevale, 1991).

Figure 6. La nymphe de *Cs. longiareolata* (Pradera, 2013).

4.4. Les adultes :

Les adultes comme tous les diptères, présentent une seule paire d'ailes membraneuses longues et étroites pourvues d'écailles le long de ses nervures. Au repos, ces ailes sont repliées horizontalement. La deuxième paire est réduite à une paire de balanciers. Le corps mince qui se compose en trois parties : la tête, le thorax, et l'abdomen. Les femelles se distinguent facilement des mâles par la présence des antennes plumeuses sur la tête et la présence de longues pièces buccales de type piqueur-suceur (Dris, 2019). En général, les femelles ne s'accouplent qu'une seule fois mais pondent périodiquement pendant toute leur existence. Pour y parvenir, la plupart d'entre elles doivent prendre un repas de sang. Les mâles ne sont pas hématophages, ils se nourrissent de sucs d'origine végétale (OMS, 1999).

Figure 7. L'adulte de *Cs. longiareolata* (Pradera, 2016).

5. Aperçu général sur les moyens de lutte contre les moustiques

Les moustiques sont des vecteurs de nombreuses maladies, et parmi les plus mortelles d'entre elles. C'est pourquoi on met davantage l'accent sur la stratégie principale de lutte contre les vecteurs lorsqu'il s'agit des moustiques. La lutte contre les vecteurs consiste en des actions intentionnelles effectuées visant à modifier l'habitat d'un vecteur afin de le rendre moins habitable, réduisant ainsi l'exposition des vecteurs et le risque d'infection (Gromek et *al.*, 2020).

Les campagnes de démoustication régulières sont menées contre ces insectes pour la réduction des nuisances au niveau des centres urbain et touristique. L'efficacité des diverses méthodes de lutte est tributaire de la connaissance de la bioécologie de ces insectes (Bouabida et *al.*, 2012).

6. Différents moyens de lutte antivectorielle

Les circonstances locales et les préférences de la population sont des facteurs clés pour déterminer la méthode de lutte antivectorielle à appliquer dans une communauté donnée. Il est essentiel que les différentes communautés soient informées des diverses possibilités disponibles à elles et qu'elles participent activement au choix et à l'exécution des activités de lutte adaptées à leur situation particulière (OMS, 1999).

La lutte contre les moustiques a toujours été une préoccupation majeur pour se protéger contre l'agression de ces insectes hématophages, c'est un outil essentiel de la prévention contre les maladies vectorielles et de contrôle des insectes nuisibles (Hamaidia et Berchi, 2018).

6.1. Lutte biologique :

La lutte biologique utilise de différents entomopathogènes des stades pré-imaginaux. Elle consiste à introduire dans leur habitat des espèces qui sont leurs ennemies naturelles : poissons larvivores et bactéries larvicides (Bassoum, 2021).

6.2. Lutte chimique :

Les moyens de lutte chimique reposent sur l'utilisation des produits chimiques à effet larvicide, répulsif ou insecticide. Ces produits peuvent être d'origine naturelle ou synthétique. Les larvicides tuent les insectes par contact, par ingestion ou par suffocation. Quant aux adulticides, ils tuent par contact, et peuvent avoir également un effet excito-répulsif sur les insectes (Azondekon, 2007).

6.3. Lutte physique :

Il s'agit d'une modification intentionnelle du biotope ayant pour objectif de faire disparaître ou de réduire par des moyens physiques les nappes d'eau de surface dans lesquelles les moustiques se développent : le drainage, la mise en boîte, le captage des résurgences, le comblement, le boisement et la rectification des berges (Bassoum, 2021).

6.4. Lutte génétique :

Elle consiste à la manipulation du patrimoine génétique des moustiques afin d'obtenir des individus transgéniques qui sont soit stériles, soit réfractaires aux parasites qu'ils transmettent habituellement (Merabti, 2016).

Cette méthode de lutte doit également s'appuyer sur une connaissance parfaite de l'écologie environnementale mais aussi de la dynamique et de la génétique des populations de moustiques à combattre (Darriet, 1998).

Partie pratique

Matériels et méthodes

1. Objectif

Ce travail avait pour objectif d'évaluer l'activité larvicide de l'huile essentielle extraite de *R. officinalis* contre les larves du quatrième stade de l'espèce nouvellement exuviées de moustique *Cs. longiareolata*.

2. Matériel et réactifs

- Stéréo-microscope.
- Balance de précision.
- Vortex.
- Micropipettes.
- Pipettes en plastique.
- Eau déchlorurée.
- Eau distillée.
- Le cristallisoir et les récipients.
- Les flacons en verre.

3. Présentation de l'espèce végétale

Le matériel végétal utilisé pour cette étude est la partie aérienne (tiges et feuilles) de l'espèce *R. officinalis*, qui appartient de la famille Lamiaceae.

3.1. Collecte de la plante :

La plante *R. officinalis* a été collectée à la wilaya de Tébessa. Le site appartient à un milieu tempéré. La plante a été rincée et séchée à l'ombre pendant quinze jours.

Celles-ci ont été ensuite pesées et récupérées dans des sacs en papier afin de les conserver jusqu'au moment de l'expérience.

L'identification botanique de l'espèce a été réalisée au niveau du département de biologie des êtres vivants, Université Cheikh Larbi Tebessi, par Mme Hayoune Soraya .Un échantillon de référence est conservé au niveau du laboratoire des biomolécules actives et applications.

3.2. Méthode d'extraction :

Notre étude porte sur la partie aérienne de *R. officinalis* (Tiges et feuilles). L'extraction de l'huile essentielle de cette plante a été effectuée par hydrodistillation, dans un appareil de type Clevenger (Fig. 8). L'huile est fournie par notre encadrant dans de petits flacons opaques (Fig. 9) et stockée à -20 °C.

Figure 8. Montage de l'hydrodistillateur de type clevenger.

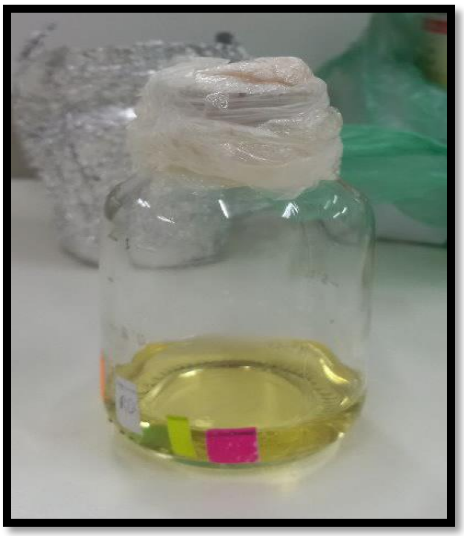

Figure 9. L'huile essentielle de *R. officinalis* (photo originale).

4. Présentation de l'insecte

Dans cette étude, les larves utilisées pour les expérimentations sont les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de l'espèce de moustique *Cs. longiareolata*.

4.1. L'échantillonnage :

Les œufs et les larves de moustiques sont récoltés durant la période du mois d'avril et de mai 2023, dans des différentes sites urbains de la ville d'Oum El Bouaghi :

- **Site 1 :** La residence universitaire Hassani Aissa (35°52'05''Nord et 7°08'11''Est) de l'université Larbi Ben M'hidi..
- **Site 2 :** La residence universitaire (2000 lits) (35°52'54''Nord et 7°05'20''Est) de l'université Larbi Ben M'hidi.
- **Site 3 :** Parc (35°52'45''Nord et 7°06'25''Est).
- **Site 4 :** Chantier (AADL) (35°51'48''Nord et 7°08'27''Est). Ce denier site présente plusieurs gites riches en espèce de moustique ciblée.

Le prélèvement est réalisé par l'immersion en eau contenant des œufs et des larves, qui sont repérés à l'aide d'une louche en plastique. Les échantillons sont récupérés dans des récipients et transportés au laboratoire où ils sont mis en élevage.

Figure 10. Site 1 (la résidence universitaire Hassani Aissa) (photo originale).

Figure 11. Site 2 (la résidence universitaire 2000 lits) (photo originale).

Figure 12. Site 3 (parc) (photo originale).

Figure 13. Site 4, gite1 (chantier AADL) (photo originale).

Figure 14. Site 4, gite 2 (chantier AADL) (photo originale).

Figure 15. Site 4, gite 3 (chantier AADL) (photo originale).

4.2. Tri des larves :

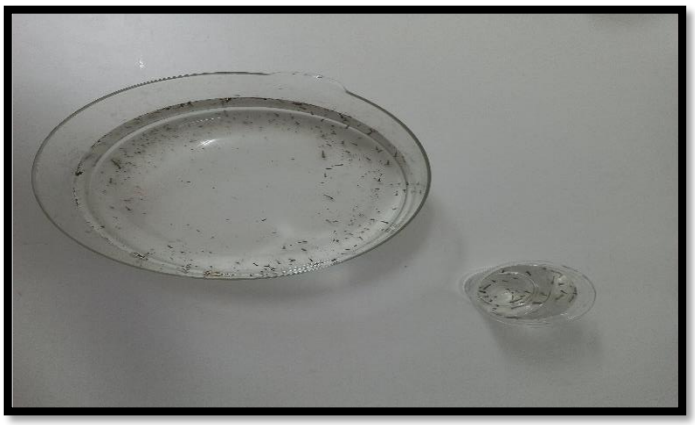

Figure 16. Cristallisoir contenant les nacelles (œufs) et les larves de *Cs. longiareolata* (photo originale).

Figure 17. Larve de stade L4 de *Cs. longiareolata* (X25) (photo originale).

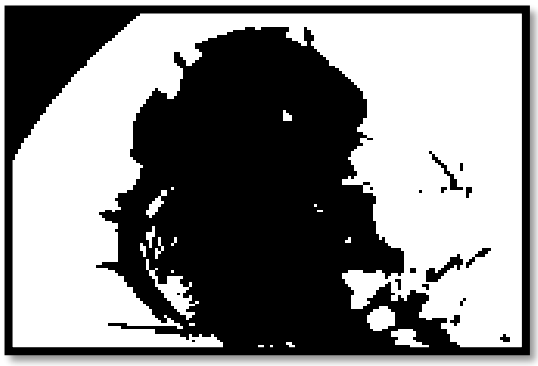

Figure 18. La tête de larve de *Cs. longiareolata* (X25) (photo originale).

Figure 19. Le siphon de larve de *Cs. longiareolata* (X25) (photo originale).

4.3. Technique d'élevage de moustiques :

4.3.1. Elevage des larves et des nacelles :

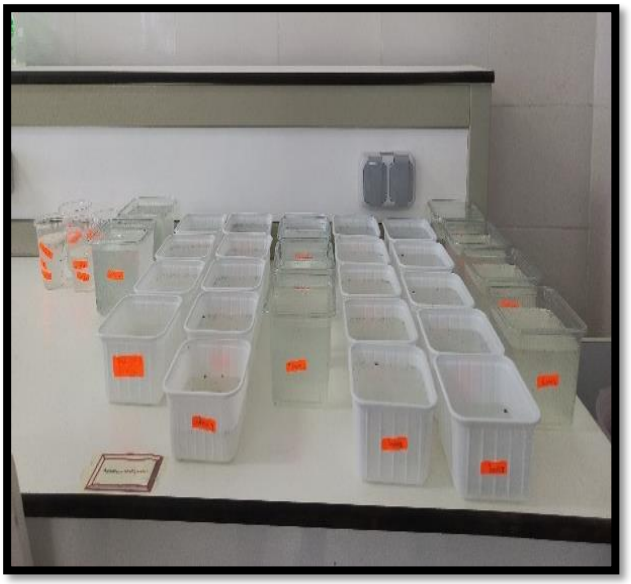

Figure 20. L'élevage des nacelles et des larves de *Cs. longiareolata* (photo originale).

Figure 21. L'élevage des adultes de *Cs. longiareolata* (photo originale).

5. Essais toxicologiques et activité larvicide

Les tests de toxicité ont été effectués au niveau du Laboratoire de recherche biomolécules végétales et amélioration des plantes à l'université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi.

Selon la méthode décrite par l'Organisation mondiale de la santé (WHO, 2005), les tests ont été réalisés sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata*. Les larves ont été exposées à des concentrations de l'huile essentielle de *R. officinalis.*

Les concentrations ont été appliquées dans des gobelets en plastique. Pour chaque concentration, nous effectuons 6 répétitions. En parallèle, on prépare des séries des témoins :

- Témoin positif.
- Témoin négatif.

Figure 22. Les test de toxicité (photo originale).

La lecture de mortalité des larves a été réalisé après 1, 3, 6, 24, 48 et 72 h d'exposition.

6. Détermination du taux de mortalité

Les mortalités ont été enregistrées après exposition à l'huile essentielle de *R. officinalis*. Le pourcentage de mortalité observée chez les larves traitées et témoins du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Mortalité observée (\%)} = \frac{\text{Nombre des larves mortes}}{\text{Nombre de larves introduites}} \times 100$$

Si le pourcentage de mortalité chez les témoins est dépassé 20 %, le test doit être répété. S'il est compris entre 5 % et 20 %, le test est valide avec une correction des pourcentages de mortalité observée doit être réalisée (WHO, 2005), en utilisant la formule d'Abbott (Abbott, 1925) :

$$\text{Mortalité corrigée (\%)} = \frac{\text{Mortalité des larves traitées (\%)} - \text{Mortalité des larves témoins (\%)}}{100 - \text{Mortalité des larves témoins (\%)}} \times 100$$

7. Étude morphologique

L'étude morphologique a été effectuée par la comparaison morphologique entre les larves vivantes de témoin négatif et les larves traitées mortes du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* qui ont été exposées à l'huile essentielle de *R. officinalis*. L'observation des larves fixées sur lame (Fig. 23) a été réalisée à l'aide de stéréo-microscope (Fig. 24).

Figure 23. Une lame péparée (photo originale).

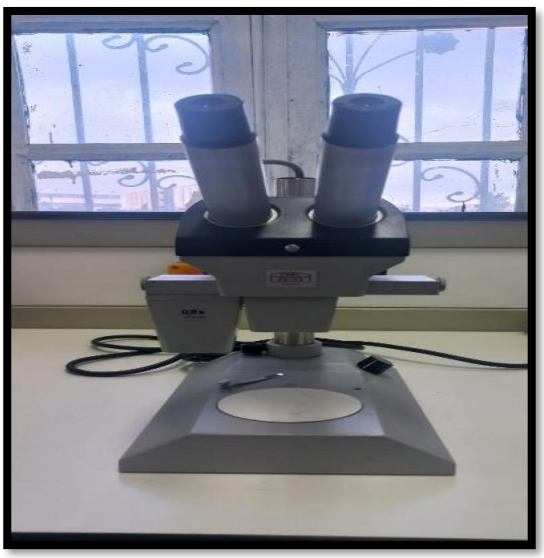

Figure 24. Stéréo-microscope (photo originale).

8. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type (EC). Le nombre d'individus et de répétitions pour chaque série est mentionné avec les résultats appropriés. L'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA), est utilisé pour déterminer les différences significatives ($p < 0.05$) entre les moyennes de groupes.

Résultats

1. Essais toxicologiques et activité larvicide

Les essais toxicologiques ont été menées afin de déterminer l'efficacité de l'huile essentielle de *R. officinalis* contre les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* et cela à 24, 48 et 72 heures après traitement.

Un screening test réalisé à partir d'une solution mère a permis de retenir cinq concentrations mg/ml appliquées sur les larves L4 de *Cs. longiareolata*. Des séries témoins négatifs et témoins positifs sont réalisées en parallèle.

L'application de l'huile essentielle de *R. officinalis* à différentes concentrations sur les larves a montré une activité larvicide avec une relation dose-réponse (Fig. 25).

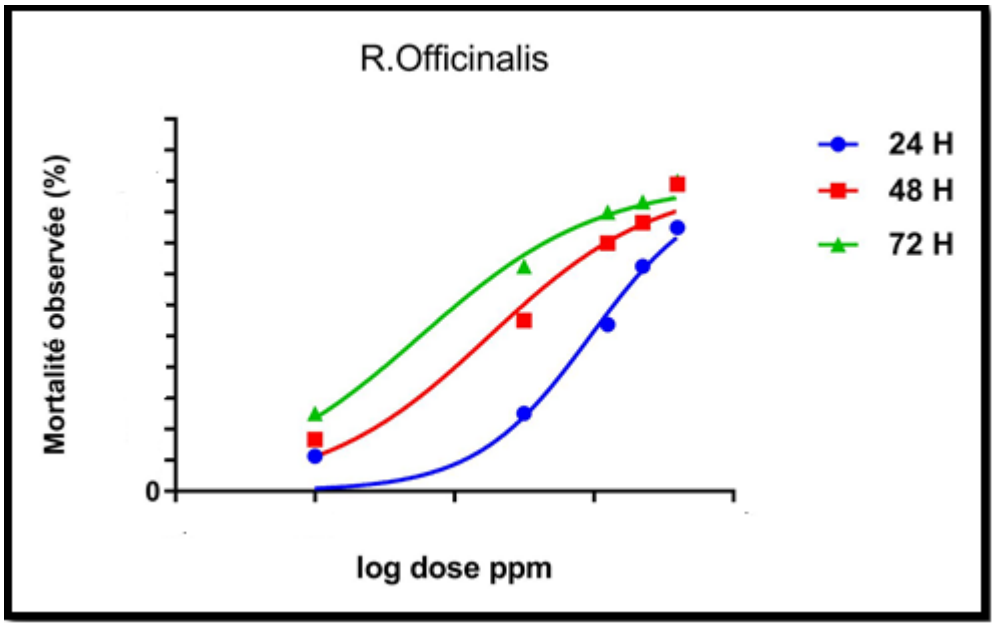

Figure 25. Effets de l'huile essentielle de *R. officinalis* appliquée sur les larves L4 de *Cs. longiareolata* : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité observée en fonction du logarithme des doses.

1.1. Etude de l'effet de «concentration» et de «temps d'exposition» :

Les taux de mortalités observées enregistrées au cours des tests de toxicité affiche une augmentation à 24, 48 et 72 h après traitement en fonction des concentrations appliquées. Il varie de % à la dose la plus à % à la dose la plus forte à 24 h, de jusqu'à 48 h et de jusqu' à 72 h (Tab. 3).

Tableau 3. Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis* appliquée sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* à différentes périodes de temps (24, 48 et 72 h) **:** Moyenne de pourcentage de mortalité observée (%).

Concentration (mg/ml)	Moyenne de pourcentage de mortalité à chaque temps de contact (%)		
	24 h	48 h	72 h
C1	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
C2	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
C3	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
C4	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
C5	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)

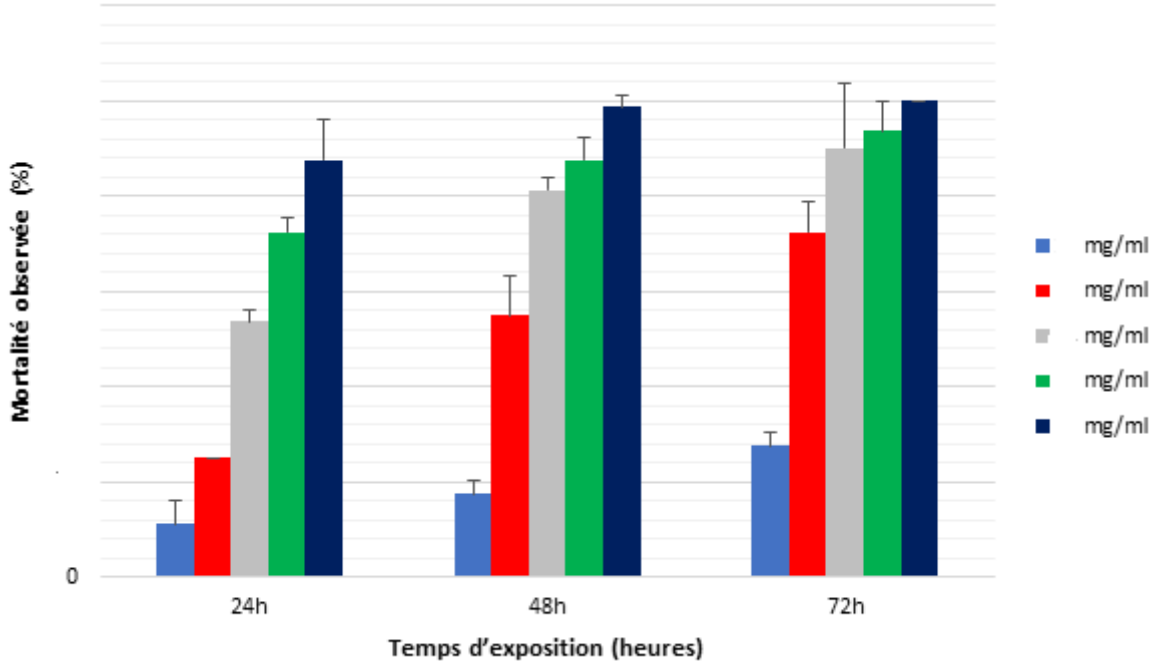

Figure 26. Histogramme représente la toxicité des différentes concentrations de l'huile essentielle de *R. officinalis*, appliquée sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* en fonction à différentes périodes : Mortalité observée (%) (m ± EC, n=4 répétitions de individus chacune).

L'analyse de la variance à deux facteurs (Tab. 4) de la moyenne de pourcentage de mortalité observée des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* après 24, 48 et 72h d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *R. officinalis* révèle un effet-concentration, un effet-temps et interaction entre les deux facteurs très hautement significatif $p < 0.0001$ ($p < 0.05$).

Tableau 4. Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis* et de temps d'exposition (24, 48 et 72 h) sur la moyenne de pourcentage de mortalité observée des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata*.

Source de variation	SCE	DDL	CM	Valeur F	p
Interaction (F1 × F2)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
Facteur 1 (concentration)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
Facteur 2 (temps)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
Erreur	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
Totale	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)

SCE : Sommes des carrés des écarts; DDL : Degré de liberté; CM : Carrés moyens;
F : Valeur de F de Fisher (F observée); p : Niveau de significative

1.2. Toxicité de l'huile essentielle de *R. officinalis* après 24 h d'exposition :

Les pourcentage de mortalité observée des larves de *Cs. longiareolata* en fonction de l'huile essentielle de *R. officinalis* avec des différentes concentrations sont mentionné dans le tableau 5 après 24 h d'exposition. Les résultats sont exprimés par la moyenne et l'écart-type.

Tableau 5. Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis* appliquée sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* après 24 h d'exposition **:** Pourcentage de mortalité observée (%) (M ± EC, n= 4 répétitions comportant chacune individus).

Concentration (mg/ml)	C1	C2	C3	C4	C5
R1	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
R2	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
R3	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
R4	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
M ± EC	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)

1.2.1. Etude de l'effet de «concentration» après 24 h d'exposition :

L'analyse de la variance à un facteur suivie d'un test post-hoc de différence significative honnête (HSD) de Tukey, de pourcentage de mortalité observée des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* après 24 h d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *R. officinalis* révèle un effet-concentration très hautement significatif $p < 0.0001$ ($p < 0.05$). Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 5 groupes de concentration pour le romarin (Fig. 27).

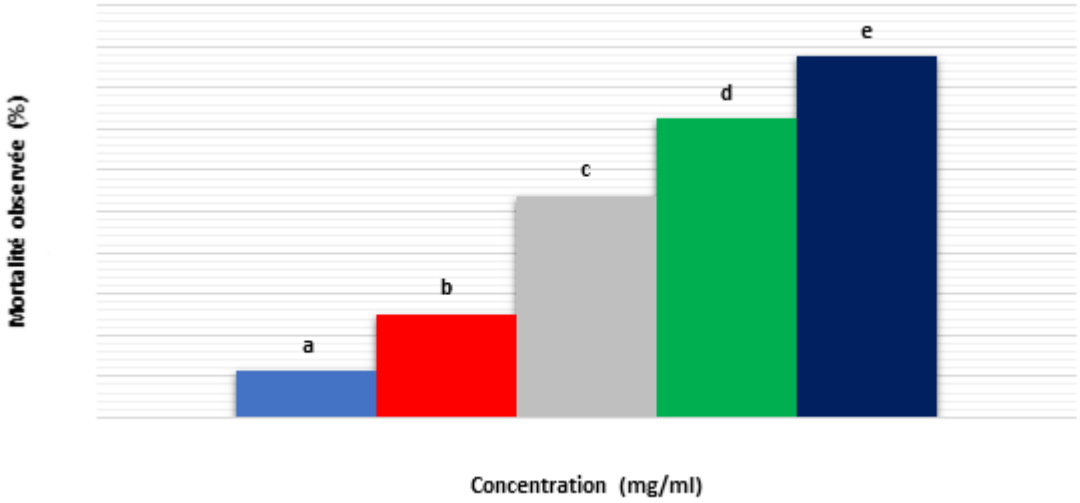

Figure 27. Histogramme représente la variation de la moyenne de pourcentage de mortalité observée des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de *R. officinalis* après 24 h d'exposition. Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey. Les concentrations suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative à $p > 0.05$.

1.2.2. Détermination des concentrations létales après 24 h d'exposition :

L'analyse des Probits a permis de déterminer les concentrations létales (CL_{25}, CL_{50} et CL_{90}), les limites de confiance à 95% (CL) et le Hill Slope comme mentionné dans le Tableau 6. Les résultats ont montré que les concentrations létales marquent également des variations selon les périodes post-expositions.

Tableau 6. Efficacité de l'huile essentielle de *R. officinalis* (ppm) appliquées sur des larves L4 de *Cs. longiareolata* après 24 h d'exposition : Analyse des probits et détermination des concentrations létales CL_{25}, CL_{50} et la CL_{90} et leurs intervalles de confiance (95%).

Temps	CL_{25} (ppm) IC (95%)	CL_{50} (ppm) IC (95%)	CL_{90} (ppm) IC (95%)	Slope	R^2
24 h	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)

1.3. Toxicité de l'huile essentielle de *R. officinalis* après 48 h d'exposition :

Les pourcentage de mortalité observée des larves de *Cs. longiareolata* en fonction de l'huile essentielle de *R. officinalis* avec des différentes concentrations sont mentionné dans le tableau 7 après 48 h d'exposition. Les résultats sont exprimés par la moyenne et l'écart-type.

Tableau 7. Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis* appliquée sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* après 48 h d'exposition **:** Pourcentage de mortalité observée (%) (M ± EC, n= 4 répétitions comportant chacune individus).

Concentration (mg/ml)	C1	C2	C3	C4	C5
R1	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
R2	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
R3	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
R4	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)
M ± EC	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)

1.3.1. Etude de l'effet de «concentration» après 48 h d'exposition :

L'analyse de la variance à un facteur suivie d'un test post-hoc de différence significative honnête (HSD) de Tukey, de pourcentage de mortalité observée des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* après 48 h d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *R. officinalis* révèle un effet-concentration très hautement significatif $p< 0.0001$ ($p< 0.05$). Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 4 groupes de concentration pour le romarin (Fig. 28).

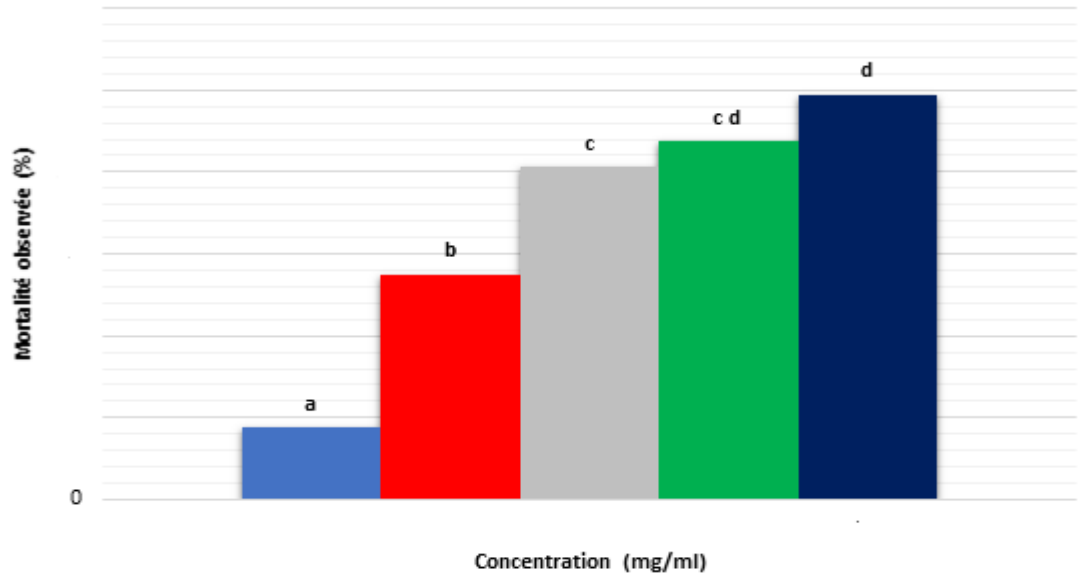

Figure 28. Histogramme représente la variation de la moyenne de pourcentage de mortalité observée des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de *R. officinalis* après 48 h d'exposition. Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey. Les concentrations suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative à p> 0.05.

1.3.2. Détermination des concentrations létales après 48 h d'exposition :

L'analyse des Probits a permis de déterminer les concentrations létales (CL_{25}, CL_{50} et CL_{90}), les limites de confiance à 95% (CL) et le Hill Slope comme mentionné dans le Tableau 8. Les résultats ont montré que les concentrations létales marquent également des variations selon les périodes post-expositions.

Tableau 8. Efficacité de l'huile essentielle de *R. officinalis* (ppm) appliquées sur des larves L4 de *Cs. longiareolata* après 48 h d'exposition : Analyse des probits et détermination des concentrations létales CL_{25}, CL_{50} et la CL_{90} et leurs intervalles de confiance (95%).

Temps	CL_{25} (ppm) IC (95%)	CL_{50} (ppm) IC (95%)	CL_{90} (ppm) IC (95%)	Slope	R^2
48 h	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)

1.4. Toxicité de l'huile essentielle de *R. officinalis* après 72 h d'exposition :

Les pourcentage de mortalité observée des larves de *Cs. longiareolata* en fonction de l'huile essentielle de *R. officinalis* avec des différentes concentrations sont mentionné dans le tableau 9 après 72 h d'exposition. Les résultats sont exprimés par la moyenne et l'écart-type.

Tableau 9. Effet de l'huile essentielle de *R. officinalis* appliquée sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* après 72 h d'exposition **:** Pourcentage de mortalité observée (%) (M± EC, n= 4 répétitions comportant chacune individus).

Concentration (mg/ml)	**C1**	**C2**	**C3**	**C4**	**C5**
R1	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)
R2	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)
R3	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)
R4	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)
M ± EC	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)	(**Données non affichées**)

1.4.1. Etude de l'effet de «concentration» après 72 h d'exposition :

L'analyse de la variance à un facteur suivie d'un test post-hoc de différence significative honnête (HSD) de Tukey, de pourcentage de mortalité observée des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* après 72 h d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *R. officinalis* révèle un effet-concentration très hautement significatif $p < 0.0001$ ($p < 0.05$). Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 3 groupes de concentration pour le romarin (Fig. 29).

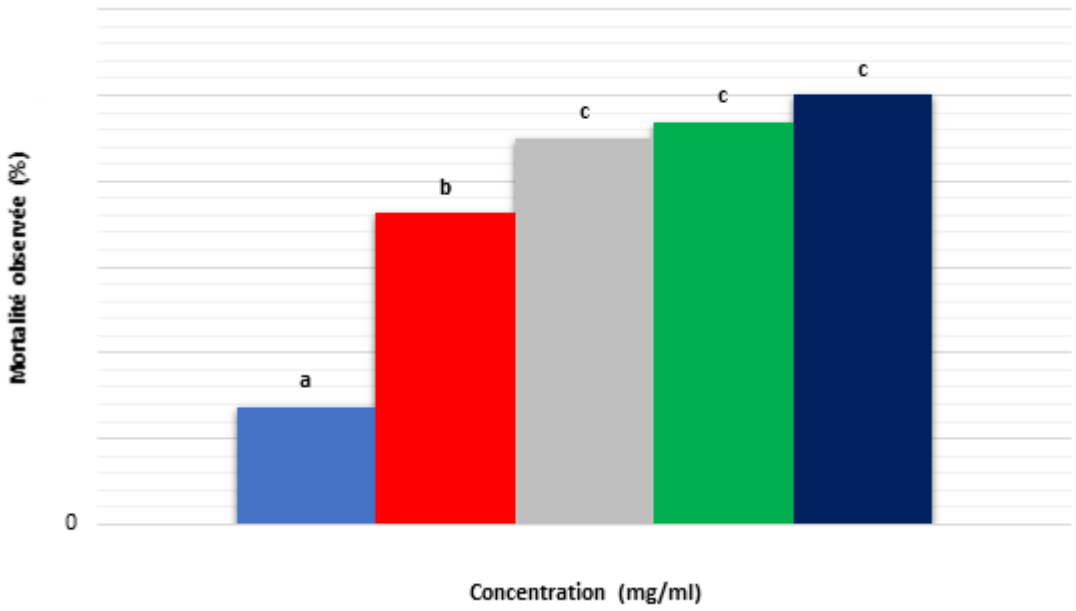

Figure 29. Histogramme représente la variation de la moyenne de pourcentage de mortalité observée des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de *R. officinalis* après 72 h d'exposition. Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey. Les concentrations suivies de la même lettre ne présentent pas de différence significative à $p > 0.05$.

1.4.2. Détermination des concentrations létales après 72 h d'exposition :

L'analyse des Probits a permis de déterminer les concentrations létales (CL_{25}, CL_{50} et CL_{90}), les limites de confiance à 95% (CL) et le Hill Slope comme mentionné dans le Tableau 10. Les résultats ont montré que les concentrations létales marquent également des variations selon les périodes post-expositions.

Tableau 10. Efficacité de l'huile essentielle de *R. officinalis* (ppm) appliquées sur des larves L4 de *Cs. longiareolata* après 72 h d'exposition : Analyse des probits et détermination des concentrations létales CL_{25}, CL_{50} et la CL_{90} et leurs intervalles de confiance (95%).

Temps	CL_{25} (ppm) IC (95%)	CL_{50} (ppm) IC (95%)	CL_{90} (ppm) IC (95%)	Slope	R^2
72 h	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)	(Données non affichées)

2. Étude morphologique

L'observation des larves mortes du quatrième stade de *Cs. longiareolata* exposées à l'huile essentielle de *R. officinalis* sous un stéréo-microscope a révélé **(Données non affichées).** Chez les larves vivantes de témoin négatif, on observe l'absence de déformation morphologiques.

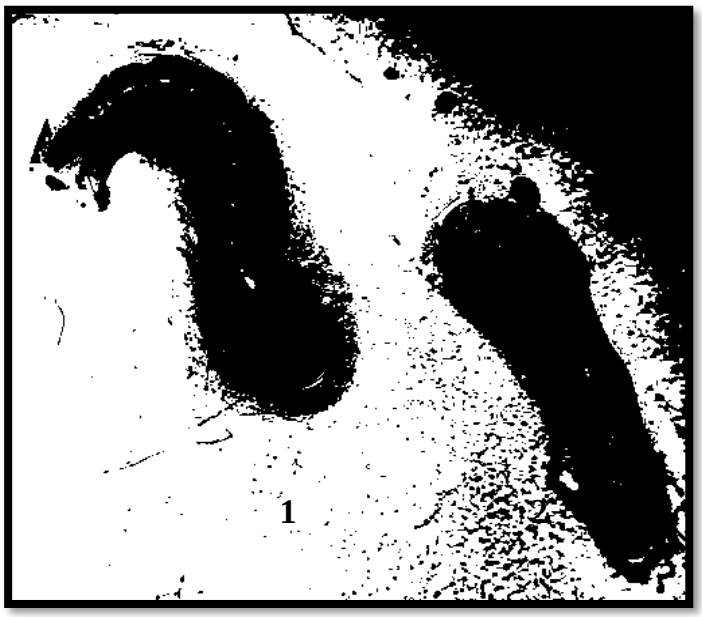

Figure 30. 1 : Larve témoin de *Cs. longiareolata***; 2 :** Larve traitée de *Cs. longiareolata* (X8) (photo originale).

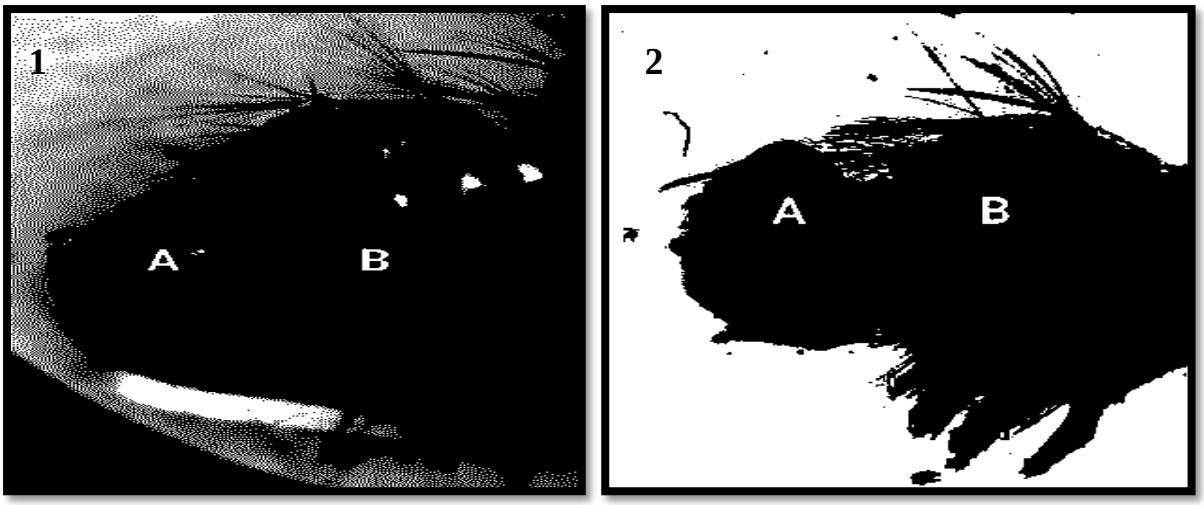

Figure 31. Les différences morphologiques entre la larve témoin (1) et la larve traitée (2) de *Cs. longiareolata* au niveau de la tête (A) et le thorax (B) (X25) (photo originale).

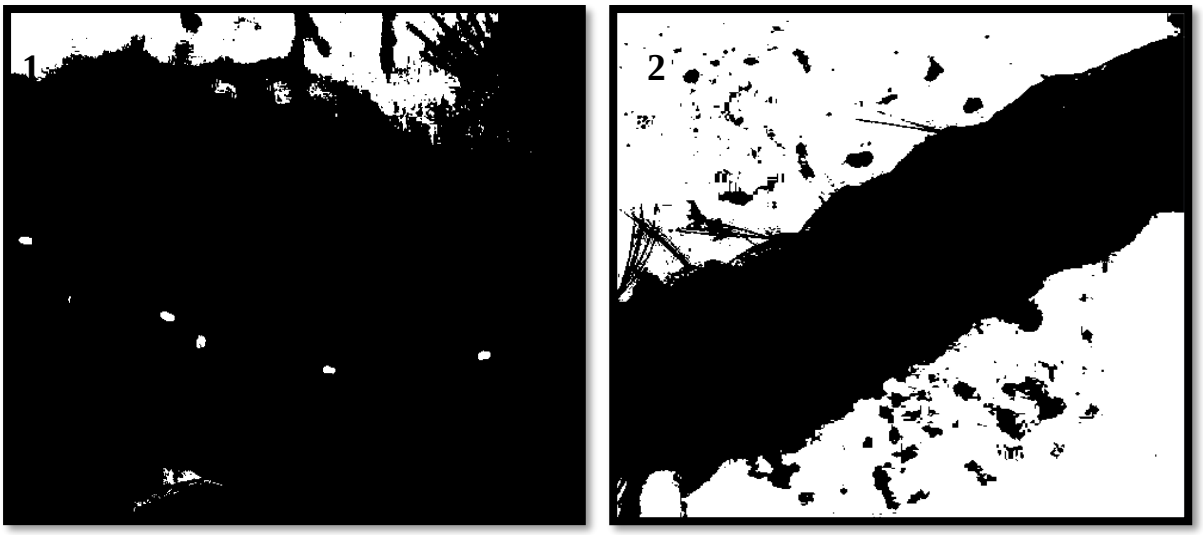

Figure 32. Les différences morphologiques entre la larve témoin (1) et la larve traitée (2) de *Cs. longiareolata* au niveau de l'abdomen (X25) (photo originale).

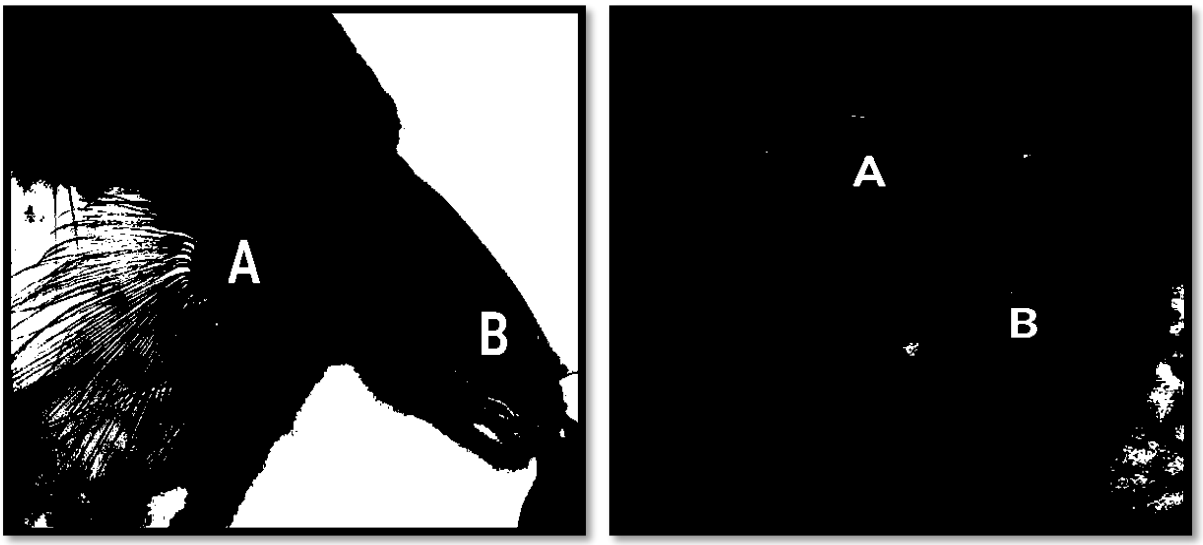

Figure 33. Les différences morphologiques entre la larve témoin (1) et la larve traitée (2) de *Cs. longiareolata* au niveau de segment anal (A) et le siphon (B) (X25) (photo originale).

Discussion

1. Essais toxicologiques et activité larvicide

Les tests de toxicité ont confirmé que l'huile essentielle de la plante aromatique *R. officinalis* présente une activité larvicide modeste contre les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata*. Les résultats montrent que les concentrations létales après 24, 48 et 72 h d'exposition étaient (**Données non affichées**) respectivement.

Plusieurs études ont montré les propriétés larvicides des huiles essentielles contre les moustiques. Cependant, un seul rapport a montré l'activité larvicide de l'huile essentielle de *R. officinalis* contre les larves de *Cs. longiareolata*. Par rapport à d'autre étude menée sur la même plante et le même espèce de moustique, nos résultats ont montré que l'huile essentielle de *R. officinalis* utilisée présente une activité larvicide contre les larves de *Cs. longiareolata* (**Données non affichées**) que l'huile essentielle de *R. officinalis* utilisée dans l'étude de Nabti et Bounechada, (2019) avec CL_{50} de 64.18 ppm et CL_{90} de 96.55 ppm.

En comparant nos résultats aux autres études antérieures menées sur la même plante dans les pays méditerranéens. En Algérie, l'étude de Zeghib et *al.,* (2020) a montré que l'huile essentielle de *R. officinalis* a un effet larvicide efficace sur les larves de stade L4 de *Culex pipiens*, où les valeurs $CL_{25,}$ CL_{50} et CL_{90} étaient 39.47, 51.33 et 86.77 ppm respectivement et 100% de mortalité à 99.34 ppm. En Italie, Conti et *al.,* (2010) ont rapporté que l'huile essentielle de *R. officinalis* à la dose la plus élevée (300 ppm) a montré une mortalité larvaire d'*Aedes albopictus* significativement plus faible, où la valeur CL_{50} était supérieure à 250 ppm.

Les travaux de Yu et *al.,* (2013) ont rapporté que l'huile essentielle de *R. officinalis* a montré une forte activité larvicide efficace contre les larves de *Culex quinquefasciatus* avec CL_{50} de 38.3 ppm et CL_{95} de 97.0 ppm. Par ailleurs, cette l'huile essentielle avait une très haute activité larvicide significative contre les larves de stade L3 d'*Aedes aegypti*, où les valeurs $CL_{25,}$ CL_{50} et CL_{90} étaient 0.18, 0.23 et 0.35 ppm .respectivement (Laojun et Chaiphongpachara, 2020)

De plus, l'étude de Dris et *al.,* (2017) a montré que l'huile essentielle de la plante *Lavandula dentata* de la famille des Lamiacées a une activité larvicide sur les larves de stade L4 de *Cs. longiareolata* avec CL_{50} de 77.09 ppm et CL_{90} de 104.45 ppm.

À partir de ces comparaisons, on peut conclure que l'activité insecticide de l'huile essentielle présente des différences de réponses qui est influencée par sa composition chimique. Les huiles essentielles présentent dans leur composition plus d'un composant actif effectue un mode d'action spécifique sur les insectes (Maggi et Benelli, 2018). Les variations de la composition chimique des huiles sont principalement corrélées aux régions, aux conditions environnementales et agronomiques, au moment de la récolte, aux stades de développement des plantes et à la méthode d'extraction (Ben Abada et *al.,* 2020).

2. Étude morphologique

La comparaison morphologique entre les larves témoins et les larves traitées indique que l'huile essentielle de *R. officinalis* a un effet sur la morphologie de les larve du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata*. (**Données non affichées**)

Dans des études antérieures, les auteurs ont signalé des observations similaires en utilisant d'autres plantes et des espèces de moustique. L'étude de Khater et Shalaby, (2008) a montré que les pigments et les déformations sur les corps des larves de *Cx. pipiens* sont apparus après l'application des huiles des 06 plantes : *Trigonella foenum-grecum, Cyperus esculentus, Eruca sativa, Carum ptroselinum, Brassica compestris et Boswellia serrata.*

L'étude de Ahbirami et *al.,* (2014) a indiqué que l'bservation morphologique des larves *d'Ae. aegypti* exposées à des concentrations élevées d'extrait d'acétone d'*Ipomoea cairica* a montré des effets tels que l'assombrissement ou le noircissement de l'abdomen et des larves présentant un abdomen tordu.

De plus, l'étude de Yu et *al.,* (2015) a montré que les aberrations morphologiques observées chez les larves d'*Ae. aegypti* traitées avec l'extrait méthanolique de *Bryopsis pennata*, *Padina australis et Sargassum binderi* étaient un noircissement et une rétraction de la cuticule des papilles anales, un corps déformé et assombri, ainsi qu'une structure destructrice au niveau de l'apex du siphon.

Les travaux de de Nityasree et *al.,* (2020) ont rapporté que le corps des larves d'*Ae. aegypti* traitées avec l'extrait méthanolique de *Solanum lycopersicum* a été endommagé avec une tête rétrécie et des taches sombres après 24 h d'exposition.

Conclusion

Conclusion

Les moustiques (Diptera : Culicidae) sont une menace majeure dans le monde, une source de nuisance et transmettant des maladies infectieuses telles que le paludisme, la filariose, la fièvre du Nil occidental, la dengue et la fièvre jaune qui causent des millions de décès chaque année. L'utilisation d'insecticides synthétiques est l'une des méthodes les plus couramment utilisées contre les moustiques, mais ils ont des effets néfastes sur la santé humaine et l'environnement et stimulent également la résistance de plusieurs espèces. La lutte contre les moustiques est un important problème de santé publique dans le monde. C'est pourquoi de nombreuses études ont été menées pour rechercher des alternatives naturelles à partir d'extraits de plantes qui sont efficaces contre les moustiques et pour réduire les effets néfastes causés par les produits chimiques.

Au cours de cette étude, l'huile essentielle de la plante aromatique *Rosmarinus officinalis* à différentes concentrations a été utilisée pour évaluer l'effet larvicide contre les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*. De plus, l'impact sur la morphologie des larves traitées a également été étudié.

Les résultats de cette étude ont montré qui l'huile essentielle de la plante aromatique *Rosmarinus officinalis* (**Données non affichées**). D'après nos résultats et les résultats d'autres études antérieures, on peut affirmer que les extraits de plantes tels que les huiles essentielles peuvent à l'avenir devenir des insecticides naturels alternatives à usage courant pour la lutte antivectorielle.

À l'avenir, il serait intéressant de poursuivre cette recherche en testant expérimentalement l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* sur d'autres espèces de moustiques dans le domaine des stratégies de lutte contre les moustiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abbott W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. **18**:265–267.

Adoune S. (2016). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès**.** Mémoire de Magistère en sciences agronomiques. Université Mohamed Khider – Biskra-. 239p.

Ahbirami R, Zuharah WF, Thiagaletchumi M, Subramaniam S and Sundarasekar J. (2014). Larvicidal efficacy of different plant parts of railway creeper, Ipomoea cairica Extract Against Dengue Vector Mosquitoes, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Insect Sci*. **14**: 180.

Ahmed H.M and Babakir-Mina M. (2020). Investigation of rosemary herbal extracts (*Rosmarinus officinalis*) and their potential effects on immunity. *Phytotherapy Research*. p1-9.

Al Jamal A. (2014). Effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on lipid profiles and blood glucose in human diabetic patients (type-2*). African Journal of Biochemistry Research*. **8**(8): 147-15**.**

Aruoma O.I., Spencer J.P.E., Rossi R., Aeschbach R., khan A., Mahmood N., Munoz A., Murcia A., Butler J and Hallwell B. (1996). An Evaluation of the Antioxidant and antiviral action of extracts of rosmery and Provencal Herbs. *Food and Chemical Toxicology***. 34**: 449-456.

Atiken T.H.G. (1954). The Culicidae of Sardinia and Corsica (Diptera). *Bulletin of Entomologie Research*. **45**: 437-494.

Azondekon G.R. (2007). Contrôle de qualité des moustiquaires impregnées commercialisées ou distribuées au Bénin. Mémoire pour l'obtention du Diplôme d'Ingénieur des Travaux. Université d'Abomey -Calavi-.

Bassoum A. **(2021).** Evaluation de l'efficacité des appâts de sucre toxique attrayant sur *Aedes aegypti*. These de Doctorat en Pharmacie. Universite des sciences des techniques et des technologie de Bamako. 90p.

Begum A., Sandhya S., Ali S.SH.A., Vinod K.R., Reddy S and Banji D. (2013). An in-depth review on the medicinal flora Rosmarinus officinalis (Lamiaceae). *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*. **12**(1): 61-73.

Bekkara A., Bousmaha F., Taleb B.L., Boti S.A et Casanova J. (2007). Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Bio & San*. **7**: 6-11.

Ben Abada M.,Haouel Hamdi S., Masseoud C., Jroud H., Bousshih E and Mediouni Ben Jemâa J. (2020). Variations in chemotypes patterns of Tunisian *Rosmarinus officinalis* essential oils and applications for controlling the date moth Ectomyelois ceratoniae (Pyralidae). *South African Journal of Botany*. **128**:18-27.

Botsoglou N., Taitzoglou I., Zervos I., Botsoglou E., Tsantarliotou M and Chatzopoulou P.S. (2010). Potential of long-term dietary administration of rosemary in improving the antioxidant status of rat tissues following carbon tetrachloride intoxication. *Food and Chemical Toxicology*. **48**: 944-950.

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

Bouaziz A., Boudjelida H and Soltani N. (2011). Toxicity and perturbation of the metabolite contents by a chitin synthesis inhibitor in the mosquito larvae of *Culiseta longiareolata*. *Annals of Biological Research*. **2** (3):134-142.

Boulkenafet F. (2006). Contribution à l'étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (*Diptera : Culicidae*) dans la région de Skikda. Mémoire de Magister en entomologie. Université Mentouri -Constantine-. 190p.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. 4 éme edtition. Editions Tec & Doc. Paris. 1289p.

Brunhes J., Hassaïne K., Rhaiem A and Hervy J.P. (2000). Les Culicides de l'Afrique méditerranéenne : espèces présentes et répartition (Diptera,Nematocera). *In: Bulletin de la Société entomologique de France*. **105**(2): 195-204.

Campos E.V.R., Proençaa P.L.F., Oliveiraa J.L., Bakshic M., Abhilashc P.C and Fracetoa L.F. (2018). Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: Future perspectives. *Ecological Indicators*.

Cassar M. (2019). Piqûres d'arthropodes et manifestations dermatologiques à l'officine. These de Doctorat en Pharmacie. Faculte de Pharmacie de Marseille. 90p.

Cetin H., Tufan-Cetina O., Turkb A.O., Tayc T., Candanb M., Yanikoglua A and Sumbula H. (2012). Larvicidal activity of some secondary lichen metabolites against the mosquito *Culiseta longiareolata* Macquart (Diptera: Culicidae*). Natural Product Research*. **26**(4): 350-355.

Christopoulou S.D., Androutsopoulou C., Hahalis, P., Kotsalou C., Vantarakis A and Lamari F.N. (2021). Rosemary Extract and Essential Oil as Drink Ingredients: An Evaluation of Their Chemical Composition, Genotoxicity, Antimicrobial, Antiviral, and Antioxidant Properties. *Foods*. **10**: 3143.

Conti B., Canale A., Bertoli A., Gozzini F & Pistelli L. (2010). Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res*.**107**:1455–1461.

Darriet F. (1998). La lutte contre les moustiques nuisants et vecteurs de maladies : L'évaluation de nouveaux insecticides utilisables contre les moustiques en Afrique tropicale. Éditions KARTHALA. Paris. France. 124p.

De Oliveira J.R.,Camargo S.E.A and De Oliveira L.D. (2019). *Rosmarinus officinalis L*. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of Biomedical Science*. **26**(5): 1-22.

Dris D., Tine-Djebbar F and Soltani N. (2017). Lavandula dentata essential oils: chemical composition and larvicidal activity against *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *African Entomology*. **25**(2): 387–394.

Dris D. (2019). Etude de l'activité larvicide des extraits de trois plantes : *Mentha piperita*, *Lavandula dentata* et *Ocimum basilicum* sur Les larves de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* (Linné) et *Culiseta longiareolata* (Aitken). These de Doctorat en Biologie Animale. Universite Badji Mojhtar – Annaba-. 181p.

Fedjer Z., Mazari A et Blama A. (2022). Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de Souk-Ahras Cas du romarin à Taoura et du figuier de Barbarie à Sidi-Fredj. *Recherche Agronomique*. **20**(1): 43-60.

Gillij Y.G., Gleiser R.M and Zygaldo J.A. (2007). Mosquito repellent activity of essentiel oils of aromatic plants growing in Argentina. *Bioresour Technol*. **99**: 2507-2515.

Gromek K., Hung M., Montero N and Pinto G.S. (2020). Maladies à transmission vectorielle : Un manuel pour les pharmaciens prévention, contrôle, gestion et traitement des maladies. Fédération internationale pharmaceutique (FIP). 61p.

Hamaidia H et Berchi S. (2018). Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Souk-Ahras (Algérie). *Entomologie Faunistique – Faunistic Entomology*. **71**.

Hassain K. (2002). Biogéographie et biotypologie des Culicidae (*Diptera – Nematocera)* de l'Afrique méditerranéenne : Bioécologie des espèces les plus vulnérantes (*Aedes caspius, Aedes detritus, Aedes mariae et Culex pipiens*) de la région occidentale d'Algérie. These de doctorat en Écologie Animale. Universite Abo-Bakr Belkaid -Tlemcen-. 216p.

Joao R., Maria E., Andreia B., Adelaide F., Dora B., Rosario B., Catarina D., Teresa S., Rui P., Marisa F., Eduarda F., Beatriz S., Helder M and Bruno S. (2014). Anti-inflammatory Effect of *Rosmarinus officinalis* in Rat Models of Local and Systemic Inflammation. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. **116**(5): 398-413.

Khaligh F.G., Naghian A., Soltanbeiglou S and Gholizadeh S. (2020). Autogeny in *Culiseta longiareolata* (Culicidae:Diptera) mosquitoes in laboratory conditions in Iran. *BMC Research Notes*. **13**: 81.

Khater H.F and Shalaby A.A.S. (2008). Potential of biologically active plant oils to control mosquito larvae (*Culex pipiens*, Diptera: Culicidae) from an Egyptian locality. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo.* **50**(2): 107-112.

Laojun S and Chaiphongpachara T. (2020). Comparative study of larvicidal activity of commercial essential oils from aromatic rosemary, vanilla, and spearmint against the mosquito *Aedes aegypti*. *Biodiversitas.* **21**(6): *2383-2389.*

Lee K.G and Shibamoto T. (2002). Determination of Antioxidant Potential of Volatile Extracts Isolated from Various Herbs and Spices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **50**: 4947−4952.

Maggi F and Benelli G. (2018). Essential Oils from Aromatic and Medicinal Plants as Effective Weapons Against Mosquito Vectors of Public Health Importance. In : Benelli G., Mehlhorn H (eds). Mosquito-borne Diseases. Parasitology Research Monographs. Springer, Cham. p69-129.

Mehlhorn H., Al-Rasheid K.A.S., Al-Quraishy S & Fathy Abdel-Ghaffar. (2012). Research and increase of expertise in arachno-entomology are urgently needed. *Parasitol Res*. **110**:259–265.

Merabeti B et Ouakid M.I. (2011). Countribution a l'etude des moustiques (Diptera : Culicidae) dans les oasis de la region de Biskra (Nord-est d'Algerie). *Actes du Séminaire International sur la Biodiversité Faunistique en Zones Arides et Semi-arides*. p185-188.

Merabti B. (2016). Identification, composition et structure des populations culicidiénne de la région de Biskra (Sud-est Algérien). Effets des facteurs écologiques sur l'abondance saisonnière. Essais de lutte. These de Doctorat en sciences biologiques. Universite Kasdi Merbah - Ouargla-. 196p.

Mi-Young P and Mi-kyung S. (2014). Carnosic acid attenuates obesity-induced glucose intolerance and hepatic fat accumulation by modulating genes of lipid metabolism in C57BL/6J-ob/ob mice. *J Sci Food Agric*. **95**(4): 828-35.

Mouchet J et Carnevale P. (1991). Les vecteus et la transmission. Dans : Danis M et Mouchet J. Paludisme**.** Editions Ellipses. Paris. p35-59.

Nabti H and Bounechada M. (2019). Larvicidal Activities of Essential Oils Extracted from Five Algerian Medicinal Plants against *Culiseta longiareolata* Macquart. Larvae (Diptera: Culicidae). *Eur J Biol*. **78**(2).

Naimi M., Vlavcheski F., Shamshoum H and Tsiani E. (2017). Rosemary Extract as a Potential Anti-Hyperglycemic Agent: Current Evidence and Future Perspectives. *Nutrients*. **9**: 968.

Nityasree B.R, Chalannavar R.K, Ghosh S.K, Divakar M. S and Sowmyashree K. (2020). Effect of *Solanum lycopersicum* leaf extracts against larvicidal activity of *Aedes aegypti* L. *Biomedicine.* **40**(4): 467- 473.

OMS. (1999). La lutte antivectorielle : Méthodes à usage individuel et communautaire. Sous la direction de Jan A. Rozendaal. Organisation mondiale de la Santé. Genève. 540p.

Oualdi I., Brahmi F., Ouafae Mokhtari O., Abdellaoui S., Tahani A and Oussaid A. (2021). *Rosmarinus officinalis* from Morocco, Italy and Fran.ce: Insight into chemical compositions and biological properties. *Materials Today: Proceedings.* **45**:7706–7710

Pérez-Mendoza M.B., Llorens-Escobar L., Vanegas-Espinoza P.E., Cifuentes A., Ibáñez E and Villar-Martínez A.A.D. (2019). Chemical characterization of leaves and calli extracts of *Rosmarinus officinalis* by UHPLC-MS. *Electrophoresis.* p1-8.

Pino J.A.,Estarrón M and Fuentes V. (1998). Essential Oil of Rosemary (*Rosmarinus officinalis L*) from cuba. *Journal of Essential Oil Research* . **10**: 111-112.

Prajapati V., Tripathi .K., Aggarwal K.K and Khanuja S.P.S. (2005). Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activityof selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus. Bioresource Technology*. **96**: 1749–1757.

Rafie H., Soheila H and Grant E. (2017). *Rosmarinus Officinalis* (Rosemary): A Novel Therapeutic Agent for Antioxidant, Antimicrobial, Anticancer, Antidiabetic, Antidepressant, Neuroprotective, AntiInflammatory, and Anti-Obesity Treatment. *Biomed J Sci & Tech Res*. **1**(4): 1-6.

Rašković A.,Milanović I.,Pavlović N.,Ćebović T.,Vukmirović S and Mikov M. (2014). Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis L*.) essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. **14**: 225.

Rehimi N and Soltani N. (1999). Laboratory evolution of alsystine. A chitin synthesis inhibitor agonist *Culex pipieus* L. (Diptera: Culicidae). Effects on development and cuticule secretion. *J. Appl. Ent*.**123**: 437-441.

Sahli R. (2018). Etude de l'effet de l'huile essentielle de Petroselinum sativum sur deux espèces de moustique *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* : Durée de développement et anomalies morphologiques. Mémoire de Master en sciences biologiques. Université Larbi Tébessi –Tébessa-. 64p.

Shin H.B., Choi M.S., Ryu B., Lee N.R., Kim H.I., Choi H.E., Chang J., Lee K.T., Jang D.S and Inn K.S. (2013). Antiviral activity of carnosic acid against respiratory syncytial virus. *Virology Journal*. **10**:303.

Soltanbeiglu S., Mulood Mohammadi Bavani M.M., Vahedi M and Chavshin A.R. (2022). Susceptibility of *Culiseta longiareolata* to insecticides in West Azerbaijanprovince, northwestern Iran. *Veterinary Research Forum*. **13**(3):435 – 437.

Tak J.H., Jovel E and Isman M.B. (2015). Comparative and synergistic activity of *Rosmarinus officinalis L.* Essentiel oil constituents against the larvae and an ovarian cell line of the cabbage looper , *Trichoplusia ni* (Lep., Noctuidae). *Pest Management Science*. **72**(3): 474-480.

Tine-Djebbar F., Bouabida H et Soltani N. (2016). Répartition spatio-temporelle des Culicidés dans la région de Tébessa : Inventaire des Culicidés dans la région de Tébessa (Nord-Est Algérien). Éditions universitaires européennes. 104p.

Tsai P.J.,Tsai T.H and Ho S.C. (2007). In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of Streptococcus sobrinus. *Food Chemistry*. **105**(1): 311-316.

Urquhart G.M., Armour J., Duncan J.L., Dunn A.M and Jennings F.W. (1996). Veterinary Parasitology. Second Edition. Blackwell sciences. 314p.

Weckesser S.,Engel K.,Haarhaus B.S.,Wittmer A.,Pelz K and Schempp C.M. (2007). Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedcine*. **14** :508-516.

WHO. (2005). Guidelines for laboratory and fieldtesting of mosquito larvicides. World Health Organization. Geneva. 41p.

WHO. (2017). Global vector control response 2017–2030. World Health Organization. Geneva. 64p.

Yahiaoui H. (2010). Caractéristiques Biochimiques des Antioxydants du Romarin (*Rosmarinus officinalis)* de l'Ouest Algérien et leurs Effets sur la Conservation des Viandes. Mémoire de Magister en sciences agronomique. Universte Abdelhamid ibn Badis –Mostaganem-. 183p.

Yeddes W., Wannes W.A., Hammami M., Smida M., Chebbi A., Marzouk B and Tounsi M.S. (2018). Effect of Environmental Conditions on the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from Rosmarinus officinalis L. Growing Wild in Tunisia. *TEOP*. **21**(4): 972 - 986.

Yu J., Liu X.Y., Yang B., Zhang F.Q., Feng Z.L., Wang C.Z and Fan Q.S. (2013). Larvicidal activity of essential extract of *Rosmarinus officinalis* against *Culex quinquefasciatus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*. **29**(1): 44–48.

Yu K.X, Wong C.L, Ahmad R and Jantan I. (2015). Larvicidal activity, inhibition effect on development, histopathological alteration and morphological aberration induced by seaweed extracts in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. **8**(12): 1006-1012.

Zeghib F., Tine-Djebbar F., Zeghib A., Bachari K., Sifi K and Soltani N. (2020). Chemical Composition and Larvicidal Activity of *Rosmarinus officinalis* Essential Oil Against West Nile Vector Mosquito *Culex pipiens* (L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. **23**(6):1463 - 1474.

Zihlif M., Afifi F., Muhtaseb R., Al-Khatib S., Abaza I and Naffa R. (2011). Screening the antiangiogenic Activity of Medicinal Plants Grown and Sold in Jordan. *Thieme Planta Medica*. **78**(3): 297-301.

Zoubeidi CH. (2004). Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus Officinalis.Labiatea***.** Mémoire de Magistère en chimie organique. Université de Ouargla. 67p.

Site web :

https://study.com/learn/lesson/mosquito-types-anatomy-life-cycle.html .

Bernard C. (**2014).** Le romarin : antioxydant vraiment souverain : https://www.plantes-et-sante.fr/articles/jardin-medicinal/115-le-romarin-vraiment-souverain .

Pradera C. (2013). *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae) en un cubo en Barcelona : https://desinsectador.com/2013/06/28/mosquitos-culiseta-sp-en-un-cubo/ .

Pradera C. (2016). Imágenes de larvas y adultos de *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae) : https://desinsectador.com/2016/08/01/imagenes-de-larvas-y-adultos-de-culiseta-longiareolata-diptera-culicidae/ .

Résumé

Abstract

The present study aims to evaluate the larvicidal activity of essential oil extracted from *Rosmarinus officinalis* against the fourth instar larvae of *Culiseta longiareolata*, the most abundant mosquito species in Algeria. In addition, the impact on the morphology of the larvae treated was also investigated.

Larvicidal activity tests : The current study has confirmed that the essential oil extracted from the aromatic plant *Rosmarinus officinalis* with different concentrations present a lower larvicidal activity against the fourth instar larvae of *Culiseta longiareolata*, where the values of lethal concentrationafter after 24, 48 and 72 h of exposure were **(Data not shown).**

Morphological study : Morphological observation of the larvae treated with essential oil extracted from *Rosmarinus officinalis* revealed **(Data not shown).**

Key words : *Rosmarinus officinalis, Culiseta longiareolata*, essential oil, larvicidal activity, toxicity, Morphology.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم نشاط مبيد لليرقات للزيت الأساسي المستخرج من *Rosmarinus officinalis* ضد يرقات الطور الرابع من بعوض *Culiseta longiareolata*، وهي أكثر أنواع البعوض انتشارا في الجزائر. بالإضافة إلى ذلك، تم أيضًا دراسة التأثير على مورفولوجيا اليرقات المعالجة.

اختبارات نشاط مبيد لليرقات : أكدت الدراسة الحالية أن الزيت الأساسي المستخرج من النبات العطري *Rosmarinus officinalis* بتركيزات مختلفة يقدم نشاطًا مبيد لليرقات ضعيفا ضد يرقات الطور الرابع من بعوض *Culiseta longiareolata*، حيث قيم التركيز المميت بعد 24 و 48 و 72 ساعة من التعرض كانت **(نتائج و معطيات غير منشورة.)**

الدراسة المورفولوجية : كشفت الملاحظة المورفولوجية لليرقات المعالجة بالزيت الأساسي المستخرج من *Rosmarinus officinalis* عن **(نتائج و معطيات غير منشورة.)**

الكلمات المفتاحية : *Rosmarinus officinalis*، *Culiseta longiareolata*، زيت أساسي، نشاط مبيد لليرقات، سمية، مورفولوجيا.