

INFLUENCE DES TECHNIQUES CULTURALES SUR L'EXPRESSION VÉGÉTATIVE DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* : CARACTÉRISATION DES HUILES ESSENTIELLES ET ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIVECTORIELLE

GUESMI Fadhila^{1*}, MERSELLEM Saida¹, BOUNEDJAR Chafiqua¹, BOULESSNAM Abd El Malek², MERAH Othmane^{3,4}
et DJAZOULI Zahr-Eddine¹

1. Laboratoire de Biotechnologie des Productions Végétales, Université de Blida 1, B.P. 270, route de Soumaa, Ouled yaich, Blida, Algérie

2. Institut de Criminologie et de Criminologie de la Gendarmerie National - PB 194 - 16002 Alger, Algérie

3. Université de Toulouse, INP-ENSIACET, LOI (Laboratoire de Chimie Agro-industrielle), F-31030 Toulouse, France

4. Université Paul Sabatier- IUT A- Département Génie Biologique, France

Reçu le 05/05/2022, Révisé le 16/10/2022, Accepté le 03/12/2022

Résumé

Description du sujet : La conduite culturale peut être introduite dans la conception des programmes d'agriculture durable, visant la préservation des ressources phylogénétique ainsi que l'équilibre biocénotique. Dans ce contexte, le recours aux biostimulants s'avèrent représenter une nouvelle voie de soutien aux diverses méthodes de protection des plantes médicinales et aromatiques dans le cadre d'une culture conventionnelle ou biologique.

Objectifs : Notre objectif consiste d'une part, à stimuler l'expression végétative ainsi que le rendement en huiles essentielles du romarin (*Rosmarinus officinalis*) soumis à différents type d'apport de lombricompost et de solution saline. L'étude prévoit une application foliaire par l'utilisation de, l'eau de ville, du jus de lombricompost, du thé de lombricompost, de solution saline comparé à un témoin sans apport. D'autres parts, les potentialités larvicides des huiles essentielles issues des différents modes d'apport appliqués ont été évaluées à l'égard des formes larvaires de *Culex pipiens*.

Méthodes : Les plantes d'alignement de *Rosmarinus officinalis* ont été pulvérisées par apport répété une fois par quinzaine durant trois mois, par de l'eau de ville, du jus de lombricompost, du thé de lombricompost, d'une solution saline (50 mM) comparé à un témoin sans irrigation. Avant chaque apport, 10 cm de l'inflorescence a été échantillonnée. Une estimation du poids frais, du poids sec et du taux de cendres a été réalisée. Les inflorescences séchées ont servies à l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation. Les huiles essentielles ont été caractérisées par CG/SM-MS. Une formulation à 7% de matière active (HEs) a été préconisée dans le but d'évaluer leurs effets larvicides à l'égard des formes larvaires de *Culex pipiens*. Trois dilutions aux concentrations respectives (D1=0,5ml /100ml d'eau. D2=1ml/100ml d'eau. D3=1,5ml/100ml d'eau) ont été testées. La période de suivi étant de 6h avec des lectures du taux de mortalité chaque 30 minute.

Résultats : Les résultats ont fait apparaître que la nutrition organique, par l'apport du jus de lombricompost et du thé de lombricompost a engendré entraînaient un gain plus élevé en poids frais et sec tandis que la pulvérisation par l'eau de ville a exprimé une meilleure teneur en cendres. Le rendement en huile essentielle le plus élevé a été obtenu à partir de plants de romarin soumis à un stress salin. Les taux de mortalités les plus important enregistrées chez les larves L4 de *Culex pipiens* sont proportionnels au degré de concentration des dilutions utilisées, obéissant à un gradient positif D1<D2<D3 pour l'huile essentielle formulée de *Rosmarinus officinalis* en fonction de cinq modes d'irrigation.

Conclusion : Les différences qualitatives et quantitatives des composants de l'huile essentielle du romarin mises en évidence par le stress salin et la nutrition organique ont conduit à un effet larvicide très marqué à l'égard des L4 de *Culex pipiens*. La durée de la toxicité des bioproduits formulés est corrélée à la concentration du principe actif et au type d'irrigation. Ses conclusions ouvrent l'horizon aux contrôles des bioagresseurs des végétaux par l'utilisation des composés terpéniques exprimés par les différents types de stress.

Mots clés : Expression végétative, Formulation, Huile essentielle, Lombricompost, Mortalité observée.

INFLUENCE OF CULTIVATION TECHNIQUES ON THE VEGETATIVE EXPRESSION OF *ROSMARINUS OFFICINALIS*: CHARACTERIZATION OF ESSENTIAL OILS AND STUDY OF THE ANTIVECTORIAL ACTIVITY

Abstract

Description of the subject: The cultural conduct can be introduced in the conception of sustainable agriculture programs, aiming at the preservation of the phylogenetic resources as well as the biocenotic balance. In this context, the use of biostimulants is a new way to support the various methods of protection of medicinal and aromatic plants within the framework of a conventional or organic culture.

Objectives: Our objective is to stimulate the vegetative expression as well as the yield of essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) submitted to different types of vermicompost and saline solution. The study provides for foliar application using city water, vermicompost juice, vermicompost tea, and saline solution compared to a control with no input. In addition, the larvicidal potential of essential oils from the different applied methods of application was evaluated with respect to the larval forms of *Culex pipiens*.

Methods: *Rosmarinus officinalis* plants were sprayed with city water, vermicompost juice, vermicompost tea, saline solution (50 mM), and a control without irrigation, once a fortnight for three months. Before each application, 10 cm of the inflorescence was sampled. Fresh weight, dry weight and ash content were estimated. The dried inflorescences were used for the extraction of essential oils by hydrodistillation. The essential oils were characterized by GC/MS-MS. A formulation with 7% of active matter (HEs) was recommended in order to evaluate their larvicidal effects on the larval forms of *Culex pipiens*. Three dilutions with respective concentrations (D1=0,5ml /100ml of water. D2=1ml/100ml of water. D3=1,5ml/100ml of water) were tested. The follow-up period was 6h with readings of the mortality rate every 30 minutes.

Results: The results showed that the organic nutrition, through the addition of vermicompost juice and vermicompost tea resulted in higher fresh and dry weight gain while the city water spray expressed a better ash content. The highest essential oil yield was obtained from rosemary plants subjected to salt stress. The highest mortality rates recorded in L4 *Culex pipiens* larvae were proportional to the degree of concentration of the dilutions used, obeying a positive gradient D1<D2<D3 for the formulated essential oil of *Rosmarinus officinalis* as a function of five irrigation modes.

Conclusion: Qualitative and quantitative differences in the components of rosemary essential oil as evidenced by salt stress and organic nutrition led to a very marked larvicidal effect on *Culex pipiens* L4. The duration of toxicity of the formulated bioproduits is correlated to the concentration of the active ingredient and the type of irrigation. His findings open the horizon to the control of plant pests by the use of terpene compounds expressed by different types of stress.

Keywords: Vegetative expression, Formulation, Essential oil, Vermicompost, Observed mortality.

* Auteur correspondant: GUESMI Fadhila, E-mail: guesmifadhila2808@gmail.com

INTRODUCTION

L'étude de la chimie des plantes a toujours été d'une grande actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante de molécules bioactives. Parmi ces composés, on retrouve les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les terpènes et les coumarines [1]. Dans les campagnes de lutte anti-moustique, les matières actives des insecticides utilisés appartiennent aux organophosphorés, pyrèthroïdes et carbamates de synthèse. Ces préparations, bien qu'elles soient très efficaces sur les moustiques culicidés, présentent plusieurs inconvénients. En effet, en plus de leur coût élevé, elles peuvent être à l'origine de divers problèmes environnementaux [2]. L'accumulation significative de matières actives dans les écosystèmes traités, aquatiques et terrestres est un problème de pollution. Par ailleurs, les substances actives des produits utilisées présentent un large spectre d'action et n'épargnent pas les organismes non ciblés. A tous ces inconvénients s'ajoute aussi un grand problème de développement de résistance aux insecticides chimiques, chez les insectes traités [3, 4]. Pour assurer une meilleure intervention, tout en préservant au maximum le milieu naturel, de nouvelles méthodes préventives ainsi que de nouveaux produits sont constamment recherchés. Ainsi, pour contribuer à une gestion durable de l'environnement, la mise en place de d'alternatives innovantes pour contrôler les moustiques est davantage encouragée. Les substances naturelles qui présentent un large spectre d'action en pharmacologie, comme bactéricides, fongicides, acaricides, etc., peuvent aussi être utilisées comme insecticides de remplacement. L'utilisation des huiles essentielles des plantes comme insecticides est répandue depuis longtemps. En effet, le pyrèthre, la nicotine et la roténone sont déjà connus comme agents de lutte contre les insectes [5]. Dans certaines régions d'Afrique noire, les feuilles du romarin malaxées dans l'eau étaient utilisées pour lutter contre les moustiques [6]. D'après Jacobson [6], plus de 2000 espèces végétales possédant une activité insecticide sont déjà identifiées. Les huiles essentielles peuvent être appliquées comme une alternative aux insecticides synthétiques pour les programmes de lutte antivectorielle [7]. En général, les huiles essentielles de plantes se sont avérées comme une ressource importante naturelle d'insecticides [8]. Le niveau de bio activités des huiles essentielles des plantes est tributaire de la variation de leurs profil de biosynthèse des

composés qui s'avèrent être influencés par les facteurs génétiques, l'évolution, la variation géographique, les conditions environnementales, les variations physiologiques et le stade de développement [9]. De même, la variabilité phytochimique pourrait être fortement liée à plusieurs facteurs, tant qu'abiotiques (conditions géographiques, nutriments et disponibilité de l'eau) que biotiques (pathogènes et herbivores), dont les caractéristiques génotypiques et la nutrition organique sont des éléments clés affectant directement le profil phytochimique des plantes [10]. La valorisation des composés actifs des plantes ainsi que leurs activités de défense à tolérer certains stress (ex: un stress salin, stress hydrique) nécessite une connaissance de leur composition chimique et du profil toxicologique dépendant des variations génétiques et de l'influence de la nutrition organique. Ces facteurs intrinsèques, instaurent un paradigme quantitatif et qualitatif en termes de rendement et d'accumulation en substances bioactives [11]. L'utilisation de la conduite culturale peut entrer dans la conception des programmes d'agriculture durable visant la préservation de la flore algérienne et l'équilibre biocénotique. Dans ce cadre, les biostimulateurs s'avèrent représenter une nouvelle voie de soutien aux diverses méthodes de protection des plantes médicinales et aromatiques dans le cadre d'une culture conventionnelle ou biologique. Cette étude a été l'occasion de développer un travail méthodologique et appliqué totalement complémentaire. Le but était de mettre en prouesse l'effet par application foliaire des stimulateurs (application du jus de lombricompost, thé de lombricompost, application d'une solution saline 50mM et application de l'eau de ville) sur *Rosmarinus officinalis* ainsi que sur le rendement en huile essentielle et l'accumulation des composés phytochimiques et de leurs activités de défense vis-à-vis des moustiques (stress abiotique), afin d'optimiser les programmes de récolte pour avoir des ressources de qualité et de quantité en substances actives.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Localisation et caractéristiques climatiques du site d'étude

La conduite des différents types d'apport foliaires et la cueillette du matériel végétal (*Rosmarinus officinalis*) ont été réalisées au niveau du carré botanique du jardin d'essai, qui se déploie sur environ 32 hectares à 36°44'56, latitude Nord, 3°04'33, longitude Est, et à une altitude de 261mètres.

Il s'étend en amphithéâtre des abords immédiats de la rue Hassiba Benbouali à la colline des arcades du côté de la rue Belouizdad. Sa situation géographique lui confère un climat exceptionnel et unique en Afrique du Nord [12]. Les conditions climatiques ont été enregistrées dans la zone d'étude pendant une décennie (2009-2019) afin d'évaluer l'impact des conditions pluviales sur la croissance des plantes. En effet, la température moyenne annuelle était plus élevée plus de 13°C, les précipitations étaient inférieures soit 58 mm. La température moyenne n'est jamais descendue en dessous de 13°C alors que janvier et février étaient généralement les mois les plus froids. Il apparaît clairement que les conditions climatiques ont été rudes et qu'elles pourraient être considérées comme des conditions de stress hydrique et thermique.

2. Préparation des bio engrais et de la solution saline

-Jus de lombricompost de déchets ménagers :

Ce jus est un liquide provenant essentiellement de la dégradation des déchets ménagers par un ver de terre anécique *Eisenia foetida*. En plus de l'eau chargée de nutriments minéraux et d'oligo-éléments assimilés contenue dans les déchets, il renferme le mucus intestinal riche en protéines, en polysaccharides, en matières organiques et minérales, en acides aminés ainsi qu'en symbiotes microbiens (bactéries, protozoaires et micro-fungis). Il a été utilisé après dilution V : 10V (Jus lombricompost de déchets ménagers : Eau de ville) [13].

-Thé de lombricompost : Le thé de lombricompost est obtenu selon le procédé de macération. Le protocole prévoit la macération de 300 g de vermicompost solide brut dans un litre d'eau de ville durant 72 h. Le pathosystème microbien renfermé dans le lombricompost brut impliquera une multiplication dans le milieu du macérât. L'étape de macération est suivie par une agitation et filtration. La phase liquide obtenue constitue le thé de lombricompost, qui a été utilisé après dilution V : 10V (Thé de lombricompost fermenté : Eau de ville) [13].

-Solution saline : Les plants de romarin ont été irrigués avec une solution saline de 50 mM l'équivalent de 2,77g/10L d'eau [14], ce qui représente une pression osmotique de 0,34 MPa. La solution saline a été utilisée par application foliaire.

3. Influence des techniques culturales sur l'expression végétative et en huiles essentielles

3.1. Dispositif expérimental et conduite de l'essai

L'étude a été conduite selon la méthode d'échantillonnage par transect linéaires décrite par Waddell [15, 16]. En bref, sur une zone expérimentale, chaque ligne est appelée transect, cette approche conventionnelle permet de collecter du matériel végétal de bonne qualité et des informations spatialisées. Le positionnement des transects est de type systématique avec un point de départ aléatoire afin d'obtenir une surface d'échantillonnage suffisante tout en restant dans l'homogénéité de la zone expérimentale. Ainsi, 5 transects de 50 m en lignes parallèles, un espace entre eux de 10 m ont été utilisés [16].

L'essai a été mis en œuvre sur des plantes matures de *Rosmarinus officinalis* (plus de 5 ans) ; le dispositif expérimental est composé de 5 transects. Les traitements sont effectués par application foliaire comme suit : transect 1 : application foliaire par l'eau de ville EC, transect 2 : Jus de lombricompost TL (application foliaire par le JL à raison de : 75ml /1L d'eau), transect 3 : Thé de lombricompost (application foliaire par TL à raison de : 50g/1L d'eau) , transect 4 : Une solution saline (application foliaire par le ES à raison de :50 mM l'équivalent de 2,77g/10L d'eau) et transect 5 : Témoin sans apport ST. Les apports sont renouvelés chaque 15 jours, soit 5 apports durant les 3 mois de l'expérimentation (Février -Avril). Un prélèvement des parties aériennes a été opéré avant chaque apport.

3.2. Expression végétative

-Calcul du poids frais, ce paramètre a été réalisé par la pesée de 10 jeunes rameaux frais en gramme à l'aide d'une balance [17].

-Calcul du poids sec, il a été mesuré après le dessèchement des échantillons de 10 rameaux frais de la plante mis dans une étuve à 70°C jusqu'à la stabilisation du poids sec que nous avons pesé [17].

-Détermination du taux de cendres, la teneur des cendres a été déterminée par l'incinération de 10 jeunes rameaux sec dans un four à moufle entre 500 et 550°C pendant 6 heures jusqu'à la disparition totale de toutes les particules carbonneuses et l'obtention des cendres blanches. Après 24 heures, les cendres sont introduites dans un dessiccateur pendant 15minutes avant d'être pesée [18]. Les teneurs de tous les échantillons ont été calculées en rapportant à 100g de matière sèche (MS) selon la formule suivante : $T(\%) = (Pc / Pm) \times 100$.

Avec : **Pc**: Poids des cendres, **Pm**: Poids sec de la matière végétale.

3.3. Expression végétative et en huiles essentielles

-Extraction des huiles essentielles :

L'extraction de l'huile essentielle a été accomplie par la technique d'hydrodistillation sur un appareil de type Clevenger selon la méthode recommandée dans la Pharmacopée européenne [19]. Au cours de chaque essai, 80g de la partie aérienne séchée ont été traités pendant une durée de 3 heures. Après sa récupération par décantation, l'huile essentielle a été stockée à 4°C dans l'obscurité en présence de sulfate de sodium anhydre pour être analysée.

-Calcul du rendement : Le calcul du rendement de chaque essence s'est effectué selon la relation suivante : $R=100 \times (m/M)$ [20]. Où m et M représentent respectivement la masse de l'huile essentielle et la masse de la charge végétale.

-Caractérisation chimique (Analyse qualitative et approximative) des huiles essentielles par Couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CPG/SM-MS) : Une fois les différentes huiles essentielles obtenues, l'analyse chimique permet d'identifier et de quantifier les produits qui les composent. L'analyse de la partie volatile est assurée par les techniques chromatographiques (CPG/SM-MS). La quantification des composants des huiles essentielles a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse de type Agilent 7890A gaz Chromatographe, équipé d'un détecteur FID. Un échantillonneur automatique et une entrée multimode à refroidissement par air sont implémentés sur l'appareil GC utilisé. La température du vaporisateur est réglée à 280 °C. Le volume d'injection est de 1 µL en mode split et le rapport de ce dernier a été fixé à 10:1, la concentration de l'huile injectée est de 1% dans l'hexane. Une colonne capillaire HP-5MS (longueur de 30 m ; diamètre intérieur de 0,25 mm ; épaisseur de film de 0,25 µm) est utilisée, avec recours à l'hélium de haute pureté (N60) comme gaz porteur à un débit de 1 mL/min. La température du four est maintenue à 50 °C pendant 1 minute, augmentée de 9 °C/min jusqu'à 280 °C. La température finale est conservée pendant 5 minutes. Le pourcentage des composés de l'huile essentielle a été calculé en fonction de l'aire des pics chromatographiques et l'indice de rétention relatif aux n-alcane des composants a été calculé en utilisant les chromatogrammes résultant de l'analyse par GC-FID.

Dans les mêmes conditions chromatographiques de GC-FID, l'identification des composants de l'huile essentielle est déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC/MS-MS) à l'aide d'un instrument Agilent 7000 à triple quadripôle, qui combine un GC 7890A pour la séparation et un spectromètre de masse à triple quadripôle (QqQ) fonctionnant à 70V pour effectuer la spectrométrie de masse en tandem. L'identification des constituants a été réalisée avec le logiciel MassHunter (MH) Workstation Qualitative Analysis Workflows (version B.10.00, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA). Les composés ont été découverts par déconvolution des chromatogrammes avec les paramètres par défaut ; les substances ont été mises en évidence à l'aide de la recherche dans la bibliothèque MS (NIST17).

4. Influence des techniques culturales sur l'activité antivertorielle des huiles essentielles

4.1. Matériel animal

Le matériel biologique destiné à l'évaluation de l'efficacité des huiles essentielles formulées de *Rosmarinus officinalis* sous l'effet des différents stimulateurs est limité au 4^e stade larvaire du nuisible à la santé publique *Culex pipiens*, prélevés du début du mois d'avril jusqu'à la fin du mois de mai 2021, à partir d'un plan d'eau stagnante, au niveau de la station expérimentale de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Blida 1, dans la localité de Soumaa à 45 km au sud d'Alger (3630036.34" N et 252026.05" E), Algérie.

4.2. Méthode d'échantillonnage

Le prélèvement des larves de *Culex pipiens* (Culicidae) a été réalisé selon la méthode préconisée par Rioux [21], connue sous le nom de coup de louche « Dipping ». La méthode consiste à plonger, en plusieurs endroits du gîte larvaire, un récipient prolongé par un manche assez long pour pouvoir atteindre les endroits difficiles d'accès. Par ailleurs, la collecte des larves a été exécutée en s'approchant lentement du gîte car toute perturbation est susceptible de faire plonger les larves et les nymphes au fond du gîte et les rendre ainsi inaccessibles. Cette collecte consiste à se positionner face au soleil de sorte que l'ombre ne balaie pas la surface du gîte, en restant immobile, pendant quelques secondes, pour permettre aux larves de reprendre leur activité normale et de plonger la louche doucement dans l'eau suivant un angle de 45°C et la retirer d'un mouvement uniforme en évitant les remous.

Le contenu de la louche est versé dans un contenant (bouteille en plastique) en prenant soin de bien l'étiqueter et de ne pas fermer les bouteilles hermétiquement pour permettre aux larves de respirer et enfin transcrire sur le carnet d'annotation toutes les informations concernant le gîte avant de les rapporter au laboratoire.

4.3. Identification des larves de *Culex pipiens*

Cette étape de l'étude a été accomplie au laboratoire de Phytopharmacie (département des Biotechnologies, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Blida1, Algérie). Elle consiste à identifier morphologiquement les larves de *Culex* par la méthode isolement-éclaircissement-montage. Seules les larves du 4^e stade ont été utilisées pour l'identification vue leur facilité de manipulation et leur chétotaxie [22]. Le montage des larves, conservées dans de l'alcool, se fait en premier lieu, par leur réhydratation dans un bain d'eau distillée pendant quelques minutes. Puis, leur éclaircissement dans une solution de potasse caustique (KOH) à 10% pendant environ 10 minutes, puis leur rinçage à l'eau distillée (3 bains de 2 à 5 minutes), suivi de leur déshydratation par passage dans de l'alcool à concentration croissante (70°, 90° et 100°) pendant 15 minutes pour éliminer l'eau contenue dans l'échantillon. Enfin, leur montage entre lame et lamelle dans une goutte de baume du Canada, en sectionnant à l'aide d'une fine aiguille la larve au niveau du 7^e segment abdominal en deux parties. La partie antérieure est montée face dorsale et la partie postérieure est montée latéralement. Les larves préparées seront examinées sous un microscope photonique [23].

4.5. Méthodes d'étude

- Formulation des huiles essentielles : Afin d'optimiser l'activité biologique des huiles essentielles, nous avons opté pour une formulation liquide qui consiste à mélanger un tensioactif et un mouillant avec l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* comme principe actif, en raison de leur stabilité de stockage, de leur bonne miscibilité avec de l'eau et de leur application pratique [24]. Trois doses de concentrations ascendantes ont été préparées par les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*, soit D1 (0,5ml/100ml), D2 (1ml/100ml) D3 (1,5ml/ 100ml). L'effet des différentes dilutions est comparé aux témoins négatifs relatifs (l'eau stagnante du gîte), ainsi que du témoin positif (sans matière active) appliqués avec trois doses différentes D1 (0,5 ml formulation Mère/100ml d'eau du gîte) et D2 (1,5ml formulation Mère/100ml d'eau du

gîte) et D3 (3ml formulation Mère/100ml d'eau du gîte).

-Présentation du Spinosad: Le spinosad est un insecticide d'origine biologique composé d'un mélange de deux métabolites (spinosynes A et D) synthétisés par la bactérie *Saccharopolyspora spinosa*, du groupe des actinomycètes. Le mode d'action du spinosad est unique car il agit à la fois sur les récepteurs GABA et nicotiniques [25]. Le spinosad possède une très faible toxicité pour les mammifères [(DL50 pour le rat par ingestion de 3 783 à 5 000 mg/kg [26], l'environnement et la faune non ciblés [27]. Il est par exemple 100 à 1 000 fois moins toxique pour la faune aquatique et en particulier les poissons que les insecticides de la famille des pyréthrinoides [28]. Sur les souches sensibles aux insecticides de trois moustiques d'intérêt médical : *Aedes aegypti*, *Anopheles gambia* et de *Quinque fasciatus*, les concentrations létales 50 (CL₅₀) ont été respectivement de 0,35 ; 0,01 et 0,093 mg/L. Une autre étude réalisée avec un concentré émulsifiable (EC) de spinosad titrant 4,8 % de matière active a donné des CL₅₀ de 0,0096 mg/L sur *Aedes aegypti*, de 0,0064 mg/L sur *Culex pipiens* et de 0,039 mg/L sur *Anophels stephensi* [29]. Les doses préconisées pour le Spinosad sont comme suit : PSD1 (0,5ml/100ml d'eau), PSD2 (1 ml/100ml d'eau) et PSD3 (1,5ml/100ml d'eau).

- Bio essais larvicides : Les tests sont effectués au laboratoire dans des gobelets de 5cm de diamètre à une température moyenne de 24±1°C et une humidité relative de 85±5%. Cependant, l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* sous l'effet de différents stimulateurs sont diluées à 3 concentrations à savoir D1 (0,5ml/100ml), D2 (1ml/100ml) D3 (1,5ml/ 100ml). L'effet des différentes dilutions est comparé aux témoins négatifs relatifs (l'eau stagnante du gîte) ainsi que du témoin positif (sans matière active) appliqués avec trois doses différentes D1 (0,5 ml formulation Mère/100ml d'eau du gîte) et D2 (1,5ml formulation Mère/100ml d'eau du gîte) et D3 (3ml formulation Mère/100ml d'eau du gîte). La mortalité des larves de *Culex pipiens* est estimée selon le protocole de l'OMS [24]. Chaque gobelet contenant 10 larves de moustiques, cinq répétitions sont réalisées pour tous les tests. La période de suivi est de 6 heures après traitement avec une lecture à 15 minutes, 30 minutes, 45 minutes, 1 heure, 2 heures, 3 heures, 4 heures, 5 heures et 6 heures. L'efficacité de chaque dose a été estimée par le biais du taux de mortalité.

-Calcul des taux de la mortalité : Le pourcentage de mortalité observée des larves de *Culex pipiens* est calculé par la formule suivante : **Mortalité Observée MO(%)=Nombre d'individus morts / Nombre total des individus $\times 100$** [30]. La mortalité observée a été exprimée suivant la formule d'Abbott [23, 31]. En mortalité corrigée, il y a eu prise en considération de la mortalité naturelle observée dans les lots témoins. La formule de Mortalité corrigée (MC) est comme suit : **MC(%)=M2-M1 / 100-M1 $\times 100$** , avec : **M1** : Pourcentage de mortalité dans le témoin, **M2** : Pourcentage de mortalité dans le lot traité, **MC** : Pourcentage de mortalité corrigé.

5. Analyses statistiques

Les analyses de la variance sont faites sur des moyennes homogènes adoptées sur la base d'un coefficient de variance (C.V. <15%). La signification des comparaisons des moyennes a été confirmée par un test de comparaison par paire (Test Tukey). Les contributions significatives retenues sont au seuil d'une

probabilité de 5%, les calculs ont été déroulés par le logiciel XLSTAT vers. 9 (SPSS, 2016) [32]. La tendance de la variation temporelle des mortalités corrigées de *Culex pipiens* par rapport à leurs réactions aux différents bioproduits à base des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* nous a été établie par une analyse en composante principale (A.C.P.). La projection des variables sur les deux axes de l'analyse multivariées a été conduite par le logiciel (PAST vers. 1.37) [33].

RESULTATS

1. Poids frais des inflorescences de *Rosmarinus officinalis*

La production de la biomasse était de 12,88 ; 17,55 ; 21,05 ; 20,83 et 11,53 g par plante pour EC, ES, JL, TL et ST respectivement (Fig. 1). Il apparaît clairement que les deux conditions de nutrition organique TL et JL engendraient respectivement un gain en poids frais plus élevée 20,83g et 21,05g (Fig. 1).

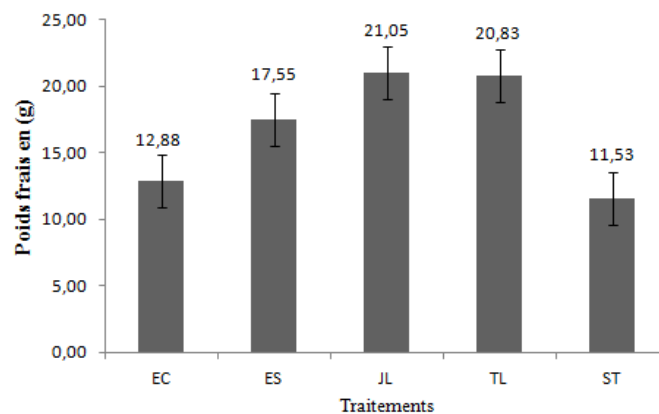


Figure 1: Variation du poids frais en fonction de cinq modes d'irrigation appliqués.

EC : Eau de ville, ES : Eau saline, JL: Jus de lombricompost, TL: Thé de lombricompost, et ST: Sans traitement.

2. Poids sec des inflorescences de *Rosmarinus officinalis*

L'estimation du poids sec était de 11,6 ; 15,5 ; 19,5 ; 18,9 et 10,9 g par plante pour EC, ES, JL, TL et ST respectivement (Fig. 2).

Il ressort distinctement que les deux conditions de nutrition organique JL et TL entraînaient respectivement une production importante en poids sec 19,5g et 18,9g (Fig. 2).

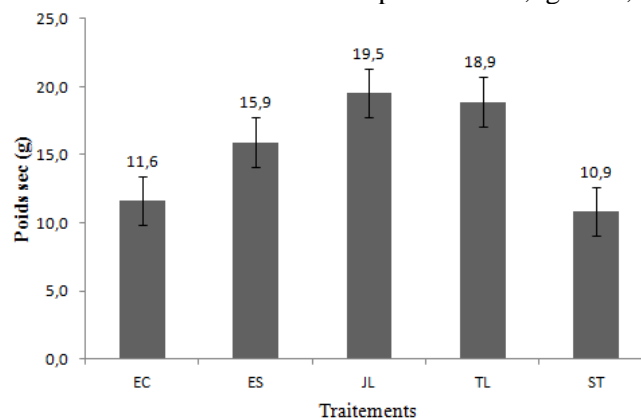


Figure 2 : Variation du poids sec en fonction de cinq modes d'irrigation appliqués.

EC : Eau de ville, ES : Eau saline, JL: Jus de lombricompost, TL: Thé de lombricompost, et ST: Sans traitement.

3. Taux de cendre de *Rosmarinus officinalis*

Le taux de cendres était de 38,10 ; 35,00 ; 26,62 ; 27,17 et 16,48 % par irrigation pour EC, ES, JL, TL et ST respectivement. Ceci montre

que les deux régimes de pulvérisation foliaire par EC et ES donnent un taux de cendres très important (Fig. 3)

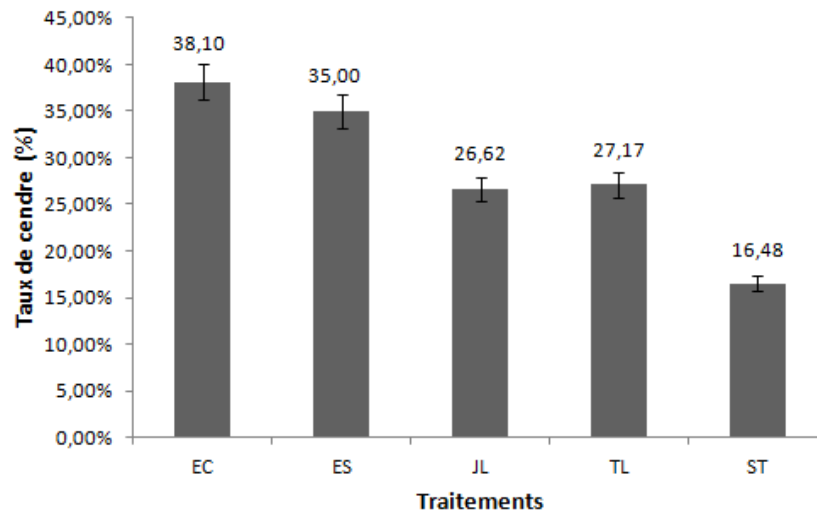


Figure 3: Variation de taux de cendre de cinq modes d'irrigation appliqués.

EC : Eau de ville, ES : Eau saline, JL: Jus de lombricompost, TL: Thé de lombricompost, et ST: Sans traitement.

4. Rendement en huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*

Selon les résultats présentés dans la Figure 4, les modes de pulvérisation foliaire ont eu un impact très hautement significatif ($p < 0,0049$, $p < 5\%$) sur le rendement en huile essentielle. Cet impact a été révélé par le rendement en huile le plus élevé obtenu pour les plantes de romarin soumises à une pulvérisation par de l'eau saline

(1,25% en ES), suivi par la pulvérisation du jus de lombricompost et du thé de lombricompost (1,00% en TL < 1,01% en JL), un ordre de rendement en huile essentielle pour les plantes soumises à une pulvérisation par l'eau de ville et sans traitement (en sec) (0,80% en ST < 0,90 en EC).

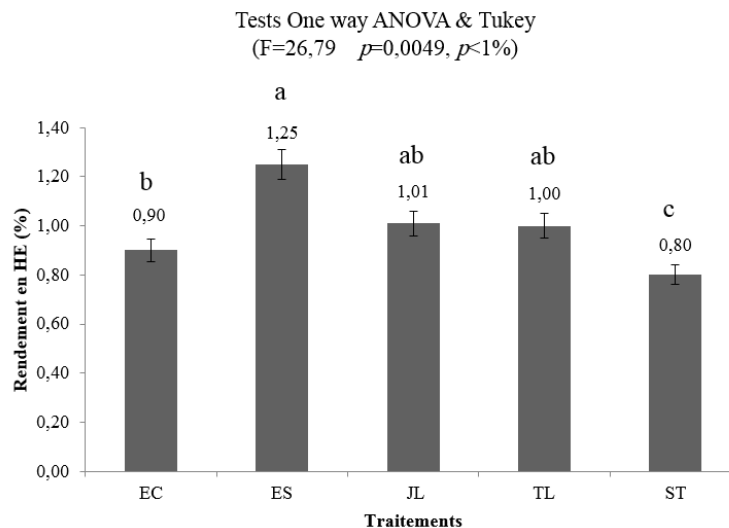


Figure 4: Variation de rendement en huile essentielle en fonction de cinq modes d'irrigation appliqués.

EC : Eau de ville, ES : Eau saline, JL: Jus de lombricompost, TL: Thé de lombricompost, et ST : Sans traitement.

5. Caractérisation des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* par CG/MS-MS

L'huile essentielle du romarin obtenue après hydrodistillation a travers les différentes conduites a été caractérisée par GC/MS-MS. L'analyse chimique a permis de décrire le profil

de l'huile essentielle du romarin, provenant de plantes soumises aux régimes EC, ES, JL, TL et ST. Les résultats analytiques sont résumés dans le (Tableau 1), où vingt-quatre composés ont été identifiés.

Tableau 1 : Caractérisation des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* par CG/MS-MS

Cpd	Formula	Name	RT	ST	EC	JL	TL	ES
1	C ₁₀ H ₁₆	β-Pinene	5,9	30,0	31,7	35,3	35,9	31,2
2	C ₁₀ H ₁₆	Camphene	6,1	6,9	6,1	6,3	6,8	6,6
3	C ₁₀ H ₁₄	α-thujene	6,1	0,7	0,8	1,0	0,8	0,8
4	C ₁₀ H ₁₆	β-Terpinene	6,5	1,2	0,8	0,6	1,0	1,0
5	C ₁₀ H ₁₆	α-Pinene	6,7	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8
6	C ₁₀ H ₁₆	α-Fellandrene	7,2	0,6	0,6	0,7	1,0	0,5
7	C ₁₀ H ₁₄	Prehnitol	7,3	2,5	2,4	2,5	1,7	3,0
8	C ₁₀ H ₁₆	D-Limonene	7,4	3,4	3,6	4,0	3,9	3,7
9	C ₁₀ H ₁₈ O	1,8-Cineole	7,5	1,0	0,4	-	-	0,3
10	C ₁₀ H ₁₆	γ-Terpinene	7,9	1,3	1,4	1,2	2,0	1,2
11	C ₁₀ H ₁₆	α-Terpinene	8,4	0,7	0,8	0,9	1,1	0,8
12	C ₁₀ H ₁₆	δ-3-Carene	8,5	0,5	0,5	0,4	-	0,4
13	C ₁₀ H ₁₆ O	2,3,3-Trimethyl-3-cyclopentene acetaldehyde	9,1	0,7	0,4	0,5	0,5	0,6
14	C ₁₀ H ₁₆ O	Camphor	9,5	11,6	11,3	10,3	10,4	9,6
15	C ₁₀ H ₁₄ O	Pinocarvone	9,7	1,6	1,6	1,3	1,5	1,5
16	C ₁₀ H ₁₈ O	4-Thujanol	10,0	1,7	1,6	1,4	1,5	1,8
17	C ₁₀ H ₁₈ O	α-Terpineol	10,2	1,3	1,2	1,1	1,0	1,2
18	C ₁₁ H ₁₈ O	Nopyl acetate	10,5	6,8	7,1	7,9	5,7	6,6
19	C ₁₀ H ₁₄ O	D-Verbenone	10,6	8,5	11,3	11,2	10,3	8,5
20	C ₁₀ H ₁₈ O	Shisool	10,9	0,7	0,6	0,6	0,6	0,7
21	C ₁₀ H ₁₈ O	Thujol	11,0	1,0	0,9	0,8	0,8	1,0
22	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	Bornyl acetate	11,7	2,3	1,8	1,3	2,1	2,1
23	C ₁₅ H ₂₄	Caryophyllene	13,7	1,6	1,1	1,0	1,3	1,7
24	C ₁₅ H ₂₄	α-Humulene	14,2	0,6	0,4	0,4	0,5	0,7
Groupes chimiques (%)				ST	EC	JL	TL	ES
Monoterpenes hydrocarbons				48,5	49,8	53,6	55,0	50,0
Sesquiterpenes hydrocarbons				2,2	1,5	1,4	1,8	2,4
Alcools				4,8	4,3	3,9	3,8	4,7
Ketone				21,7	24,2	22,8	22,2	19,6
Esters				9,1	8,9	9,2	7,8	8,6
Aldehydes				0,7	0,4	0,5	0,5	0,6
Ethers				1,0	0,4	-	-	0,3
Total des composés identifiés (%)				88,0	89,5	91,4	91,1	86,2

EC: Eau de ville, ES : Eau saline, JL: Jus de lombricompost, TL: Thé de lombricompost, et ST: Sans traitement.

Les résultats montrent que 22 composés caractérisent l'huile essentielle des plantes du romarin soumises au régime TL, tandis que 23 composés caractérisent l'huile essentielle des plantes soumises au régime JL et 25 composés caractérisent l'huile essentielle des plantes soumises au régime ST, EC et ES. Les résultats dévoilent que l'huile essentielle contient un mélange complexe composé principalement d'hydrocarbures de monoterpènes (1,4% à 2,4), sesquiterpènes oxygénés (48,5% à 55%), cétones (19,6% à 24,7) et esters (7,8% à 9,1%). Les principaux composants fondés de l'huile de plantes du romarin soumises aux régimes ST, EC, JL, TL et ES étaient le β-Pinene (30% à 35,9%), le Camphor (9,6% à 11,6%), le D-Verbenone (8,5% à 11,3), le Nopyl acetate (5,7% à 7,9%) et le Camphene (6,1% à 6,9%). Le pourcentage de ces principaux composants varie en fonction du régime d'irrigation. En effet, des différences de pourcentages des composants ont été observées (Tableau 1).

Six composés étaient plus élevés aux régimes d'irrigation JL, TL et ES par rapport aux deux autres régimes d'irrigation. En revanche, le régime d'irrigation TL était caractérisé par la prédominance de vingt-deux composés et l'absence de 1,8-Cineole et le δ-3-Carene tel que le régime d'irrigation JL qui était caractérisé par l'absence totale de 1,8-Cineole. En revanche, les éthers étaient présents aux régimes d'irrigation ES, EC et ST.

6. Evaluation de l'activité larvicide des huiles essentielles

Les larves L4 de *Culex pipiens* enregistrent des mortalités observées plus imposantes selon le degré de concentration des dilutions utilisées, obéissant à un gradient positif D1 < D2 < D3 pour l'huile essentielle formulée de *Rosmarinus officinalis* en fonction de cinq modes d'irrigation et le produit de synthèse (Tableau 2). Une différence très hautement significatives entre les cinq modes d'irrigation et le produit de synthèse montre une différence non significative.

Tableaux 2: Variation des mortalités corrigées des larves L4 de *Culex pipiens* selon le facteur dose d'huile essentielle formulée en fonction de cinq modes d'apport par comparaison a un produit de synthèse (Moyenne arithmétique±CV)

	D1	D2	D3	F	p
EC	33,0(0,04)b	42,5(0,10)b	69,8(0,12)a	45,01	$2,65 \times 10^{-6}$
ES	15,00(0,17)c	29,2(0,15)b	57,5(0,17)a	24,44	$5,88 \times 10^{-5}$
TL	54,4(0,12)b	61,3(0,04)a	61,7(0,07)a	10,93	0,002
ST	29,8(0,05)c	48,8(0,03)b	55,9(0,07)a	31,64	$1,64 \times 10^{-5}$
JL	36,1(0,07)b	50,5(0,05)a	50,1(0,02)a	19,98	$4,8 \times 10^{-4}$
PS	13,5(0,12)	17,5(0,16)	17,8(0,18)	1,29	0,308 ^{NS}

EC: Eau de ville, ES : Eau saline, JL: Jus de lombricompost, TL: Thé de lombricompost, et ST: Sans traitement. PS: Produit de synthèse. TM-: Témoin positif, TM+: Témoin négatif D1=0,5ml /100ml d'eau .D2=1ml/100ml d'eau.D3=1,5ml/100ml d'eau

Les résultats obtenus (Tableau 3) montrent que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* traitée par le TL suivi par ST, JL et EC sont révélées les plus toxiques à l'égard du 4^e stade larvaire de *Culex pipiens* à la dose D1 et le TL et JL sont révélées très toxique à la dose D2.

Cependant, le EC, ES, TL, ST sont les plus toxiques à la forte dose D3. En bref, le PS affiche des mortalités observées faibles par rapport à l'effet des autres traitements en termes de mortalité minimale (Tab.3).

Tableau 3: Variation des mortalités corrigées des larves L4 de *Culex pipiens* selon le facteur type d'huile essentielle formulée apportée par comparaison a un produit de synthèse (Moyenne arithmétique±CV)

	D1	D2	D3
EC	33,0(0,04)b	42,5(0,10)b	69,8(0,12)a
ES	15,00(0,17)c	29,2(0,15)c	57,5(0,17)a
TL	54,4(0,12)a	61,3(0,04)a	61,7(0,07)a
ST	29,8(0,05)b	48,8(0,03)ab	55,9(0,07)a
JL	36,1(0,07)b	50,5(0,05)a	50,1(0,02)b
PS	13,5(0,12) c	17,5(0,16) d	1,78(0,18)c
F	30,76	51,49	24,38
p	$1,08 \times 10^{-9}$	$4,73 \times 10^{-12}$	$1,112 \times 10^{-8}$

EC: Eau de ville, ES:Eau saline, JL: Jus de lombricompost, TL:Thé de lombricompost, et ST:Sans traitement. PS: Produit de synthèse. TM-: Témoin positif, TM+: Témoin négatif D1=0,5ml/100ml d'eau.D2=1ml/100ml d'eau.D3=1,5ml/100ml d'eau

L'analyse en composantes principales (A.C.P), (Fig. 6) effectuée sur la base des valeurs des mortalités corrigées des L4 de *Culex pipiens* est satisfaisante pour les paramètres étudiés (facteur temps et facteur dose) dans la mesure où plus de 90% de la variance est exprimée sur les deux premiers axes.

La projection des valeurs des mortalités corrigées des larves de *C. pipiens* sur le premier axe 1 (97,24%) montre que les différentes doses de l'huile essentielle formulée de *Rosmarinus officinalis* en fonction de cinq modes d'apport par comparaison au produit de synthèse, annoncent une corrélation positive avec le

temps d'exposition (Fig. 6). Les projections des vecteurs relatifs aux mortalités corrigées informent que l'huile essentielle formulée montre leur potentiel larvicide à l'égard des larves L4 de *C. pipiens* dès 3h 30min d'exposition. Les fortes doses D2 ET D3 du bioproduit formulé à base d'huile essentielle de *R. officinalis* ainsi que la forte dose du produit de synthèse, affichent leur taux de mortalité le plus important dans la plage temporelle 3h 30min – 5 h d'exposition. Cependant, les faibles doses D1_HE et D1, D2_PS n'affichent cette toxicité qu'à partir 5h30minutes d'exposition et au-delà.

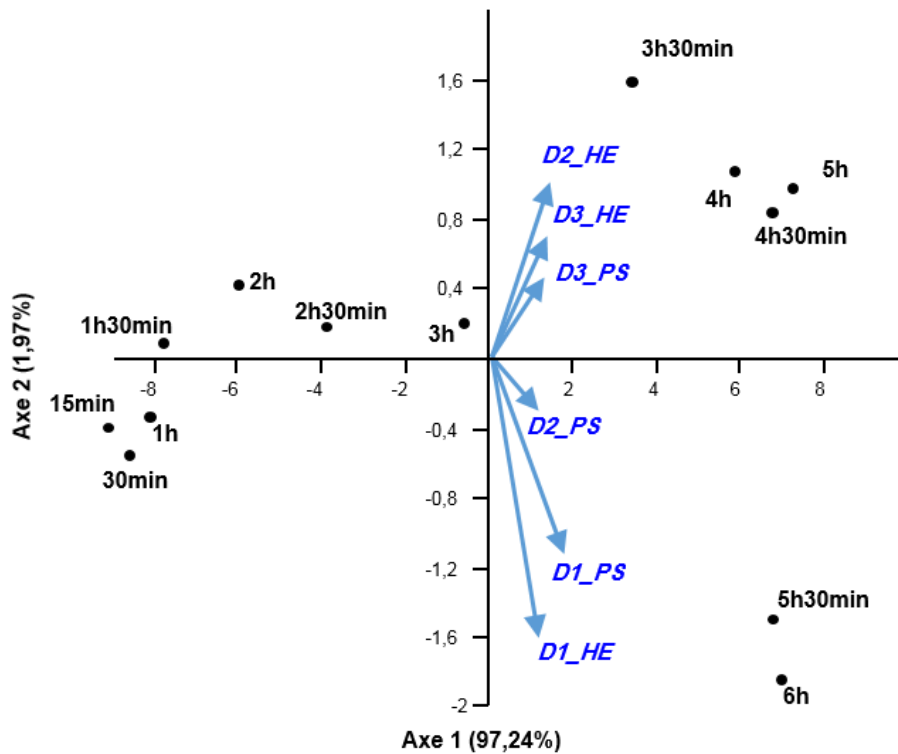


Figure 5: Analyse en composantes principales (A.C.P) effectuée sur la base des valeurs des mortalités observées des L4 de *Culex pipiens* en fonction de cinq modes d'irrigation appliqués et un produit de synthèse

EC: Eau de ville, ES: Eau saline, JL: Jus de lombricompost, TL:Thé de lombricompost, et ST: Sans traitement.PS: Produit de synthèse. TM-: Témoin positif, TM+: Témoin négatif D1=0,5ml/100ml d'eau.D2=1ml/100ml d'eau.D3=1,5ml/100ml d'eau

DISCUSSION

Le romarin *Rosmarinus officinalis* est une importante plante aromatique sauvage de la région méditerranéenne qui possède également des propriétés thérapeutiques très variées. Sa croissance et ses propriétés chimiques peuvent être modifiées par les pratiques agricoles, notamment la nutrition organique, le stress salin et l'irrigation. Une expérience a été entreprise pour déterminer l'efficacité d'application foliaire de différentes solutions (EC: Eau de ville, ES : Eau saline, JL: Jus de lombricompost, TL: Thé de lombricompost et ST : Sans traitement). Selon les résultats obtenus, les modes d'apport ont eu un impact très significatif sur le rendement en huile essentielle. Cet impact a été révélé par le rendement en huile le plus élevé obtenu pour les plantes de romarin soumises à une pulvérisation en eau saline (1,25% en ES), suivi par la pulvérisation par le jus de lombricompost et le thé de lombricompost (1,00% en TL <1,01% en JL). Un ordre de rendement très réduit en huile essentielle pour les plantes soumises à une pulvérisation par l'eau de ville et conduite en sec (0,80% en ST <0,90 en EC). La production de biomasse était 12,88 ; 17,55 ; 21,05 ; 20,83 et 11,53 g par plante pour EC, ES, JL, TL et ST respectivement. Il apparaît clairement que les

deux conditions de nutrition organique TL et JL et le stress salin ES ont entraîné une production plus élevée 20,83 ; 21,05 et 17,55g respectivement. Nos résultats sont cohérents avec ceux de Tounekti et al. [34], où le niveau de salinité affecte le rendement en huile essentielle et la production de la biomasse et le poids sec de *Rosmarinus officinalis*. Contrairement à certains auteurs qui ont montré que l'irrigation saline par le NaCl de *Rosmarinus officinalis* a diminué la teneur en HE et la biomasse [16, 35, 36]. Il est apparu que le romarin est modérément tolérant au sel. Cette tolérance est apparemment due à la capacité de ces plantes à accumuler du Na⁺ dans leurs vieilles feuilles et à maintenir un rapport K⁺ : Na⁺ dans les feuilles par rapport aux racines. Pendant la période d'étude, le niveau de salinité de la solution du sol a affecté la composition des huiles essentielles. En effet, les auteurs montrent que la teneur en 1,8-cinéole diminue jusqu'à 50% avec l'augmentation de la concentration en NaCl (de 25 à 200%), Khalid et al. [37], montrent que le traitement avec différents niveaux d'eau d'irrigation saline (de 0,39 à 9,38 dS m⁻¹) composée de NaCl, CaCl₂ et MgCl₂ ont augmenté la teneur en l'huile essentielle et ses principaux composants.

Nos résultats corroborent les résultats précédents ainsi comme la plupart des cultures lorsque le romarin est irrigué avec de l'eau modérément salée, sa survie n'est généralement pas en question, mais la croissance et le rendement sont les principales préoccupations. C'est une caractéristique typique des non-halophytes [36]. Cependant des différences qualitatives ont été constatées entre les traitements par le JL et TL qui ont montré un pourcentage significativement plus élevé de β -pinène. En effet, Gikuru et al. [38], ont prouvé par leurs résultats, l'effet des extraits d'algues marines pulvérisé à un pourcentage significativement plus élevé de β -pinène. Le rendement en biomasse et en huile essentielle du romarin a été significativement augmenté par l'irrigation de jus de JL et le thé de TL. Des résultats similaires rapportés pour le patchouli [39]. En revanche, d'autres études ont rapporté que le lombricompost ou le VCL peuvent stimuler de manière significative la croissance des plants de tomate en termes de longueur des racines et des tiges, de teneur en sucre des racines ainsi que des tiges [40, 41, 42, 43].

Les moustiques servent de vecteurs à une grande variété d'agents pathogènes et de parasites humains et vétérinaires. Ils sont à l'origine d'une morbidité et d'une mortalité importante et représentent un fardeau économique majeur dans les pays où les maladies sont endémiques. La protection contre les moustiques repose sur les insecticides. Cependant, les effets négatifs des insecticides de synthèse sont devenus le principal moteur de la recherche rapide de nouvelles alternatives, qui seraient acceptables à la fois pour l'environnement et la santé publique. L'utilisation d'insecticides à base d'extraits de plantes est actuellement très prometteuse du point de vue protection contre les insectes. Parmi les extraits de plantes qui contiennent des substances ayant des effets insecticides, on trouve également un grand groupe d'huiles dites essentielles (HE). Il ressort de nos résultats, qu'après avoir exposé pendant 6 heures les L4 de *Culex pipiens* aux différentes doses de l'huile essentielle formulée de *Rosmarinus officinalis*, ces larves enregistrent des mortalités plus imposantes selon le degré de concentration des dilutions utilisées, obéissant à un gradient positif $D1 < D2 < D3$ pour l'huile essentielle formulée de *Rosmarinus officinalis* en fonction de cinq modes d'apport par rapport à un produit de synthèse. Une différence très hautement significatives entre les cinq modes de pulvérisation.

Quant au produit de synthèse, celui-ci montre une différence non significative, ce résultat est comparable aux résultats des études précédentes, Prajapati et al. [44], ont rapporté que les huiles essentielles extraites de 10 plantes médicinales ont été évaluées pour leurs activités larvicide, adulticide, ovicide, dissuasive d'oviposition et répulsive envers trois espèces de moustiques : *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* et *Culex quinquefasciatus*. Les huiles essentielles de *Juniperus macropoda* et de *Rosmarinus officinalis* se sont révélées très efficaces comme larvicide et ovicide. Ces huiles essentielles ayant une activité et efficacité prometteuse leur ont valu une augmentation de leur application par rapport aux produits commerciaux. En ce qui concerne le mode d'action, plusieurs mécanismes par lesquels les huiles essentielles produisent des effets neurotoxiques ont été proposés, comme l'action des HE sur les récepteurs du GABA, les récepteurs de l'octopamine ou l'acétylcholinestérase [45]. Relativement à d'autres plantes, les huiles essentielles ont démontré une activité contre les larves d'*Aedes aegypti* (24 h), *Xylopiya aromatica* (CL50 12,1 $\mu\text{g/mL}$), *Myrcia dictyophylla* (CL50 17,6 $\mu\text{g/mL}$), *Campomanesia adamantium* (CL50 18,0 $\mu\text{g/mL}$) et *Aedes aegypti* adultes (après 4 h d'exposition) [46].

CONCLUSION

L'étude a mis en évidence certaines différences dans le profil chimique de l'huile essentielle du romarin sous différents régimes de stress. Le rendement en huile essentielle le plus élevé a été obtenu à partir de plants de romarin soumis à un stress salin (ES) suivi par le rendement soumis à une nutrition organique par le lombricompost. Ce résultat confirme que le stress salin et la nutrition organique stimulent la production d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, en sa présence sauvage dans divers environnements. Le romarin peut être considéré comme une plante prometteuse pour les terres marginales, les nouveaux sols récupérés en Algérie. L'analyse par GC/MS a montré que 22 et 23 composés volatils ont été identifiés respectivement dans l'huile essentielle du romarin soumises aux régimes TL, JL, tandis que 25 composés caractérisent l'huile essentielle des plantes soumises aux régimes ST, EC et ES. De plus, parmi ces composés, β -Pinene, Camphor, Nopyl acetate D-Verbenone étaient les principaux composants de l'huile.

L'étude du pouvoir biocide de l'huile essentielle formulée de *Rosmarinus officinalis* sous l'effet de différents régimes d'irrigation sur les L4 de *Culex pipiens* en vue de contribuer dans la lutte antivectorielle a montré clairement que la durée de l'effet toxique est corrélée à la concentration de la matière active dans la formulation et à l'effet stimulateur. L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* traitée par le TL suivie par ST, JL et EC sont révélées les plus toxiques à l'égard du 4^e stade larvaire de *Culex pipiens* à la dose D1. Quant aux TL et JL, ils se sont révélés très toxique à la dose D2. Cependant, le EC, ES, TL, ST sont les plus toxique à la forte dose D3. En bref, le PS affiche des mortalités observées faible par rapport à l'effet des autres traitements en termes de mortalité minimale.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1].Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C. and Pinkas M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung.* 46(11):1086-1089.
- [2].Barbouche N., Hajjem B., Lognay G. and Ammar M. (2001). Contribution à l'étude de l'activité biologique d'extraits de feuilles de *Cestrum parqui* L'Hérit. (*Solanaceae*) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 5 (2): 85–90.
- [3].Georghiou GP., Ariaratnam V., Pasternak ME. and Lin CS. (1975). Organophosphorus multiresistance in *Culex pepins quinquefasciatus* in California. *J. Econ. Entomol.* 68(4):461–467.
- [4].Sinagre G., Jilien JL. and Gaven B. (1977). Acquisition progressive de la résistance au chlorpyrifos chez les larves de *Culex pipiens* (L.) dans le Midi de la France. *Parasitologia*, 19 (1/2): 79–94.
- [5].Crosby DG. (1966). Natural pest control agents. *Advances in Chemistry*, 53:1-16.
- [6].Jacobson M. (1989). Botanical pesticides, past present and future In Arnason JT. et al. (Ed.). *Insecticides of plant origin*. Washington, D.C.: American Chemical Society Symposium, series 387: 1-10.
- [7].Govindarajan M., Sivakumar R., Rajeswary M. and Yogalakshmi K. (2013). Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Experimental Parasitology*, 134 :7–11.
- [8].Gbolade A.A., Oyedele, A.O., Sosan, M.B., Adewayin, F.B. and Soyela, O.L. (2000). Mosquito repellent activities of essential oils from two Nigerian *Ocimum* species. *J. Trop. Med. Plants*, 1(1/2):146–148.
- [9].Boussoussa H., Khacheba I., Djeridane A., Mellah N. and Yousfi M. (2016). Antibacterial activity from *Rhanterium adpressum* flowers extracts, depending on seasonal variations. *Industrial Crops and Products* ,83: 44-47.
- [10].Fillipini R., Piovani A., Borsarini A. and Caniato R. (2010). Study of dynamic accumulation of secondary metabolites in three subspecies of *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia*, 81(2): 115-119.
- [11].Gobbo-Neto L. and Lopes NP. (2007). Medicinal plants: factors influence on the content of secondary metabolites. *Quim. Nova*, 30(2): 374–381.
- [12].Carra P. et Gueit M. (1952). *Le Jardin d'essai du Hamma*. Direc. agri., Gouv. gén. Algérie, Alger, 114p.
- [13].Guermache L. et Djazouli Z.E. (2021). Effets de la fertilisation à base de la biomasse vermicompostée sur les performances agronomiques du haricot vert (*Phaseolus vulgaris* L.) en culture irriguée, *Agrobiologia*, 11(1):2394-2405.
- [14].Tounekti T., Vadel A.M., Bedoui A., Khemira H. (2008). NaCl stress affects growth and essential oil composition in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Jour. of Horti. Science and Biotechnology*, 83(2): 267-273.
- [15].Waddell K.L. (2002). Sampling coarse woody debris for multiple attributes in extensive resource inventories. *Ecol. Ind.* 1(3): 139–153.
- [16].Sarmoum R., Haid S., Biche M., Djazouli Z.E., Zebib B., Merah O. (2019). Effect of salinity and water stress on the essential oil Rosemary essential oil composition (*Rosmarinus officinalis*) *Argonomy*, 9: 214 .
- [17].Régis P., Clément N. F., Mama N., Raphaël M., Matieu H., Vincent M. (2007). Évaluation du stock de carbone et de la productivité en bois d'un parc à karités du Nord-Cameroun. *BOIS ET FORETS DES TROPIQUES* ,294: 39-50
- [18].Martin –Prevel .P., Gagnard J., Gautier P. et Drouineau G. (1984). *L'analyse variétale de l'alimentation des plantes tempérées et tropicales*. Lavoisier, Paris.
- [19].European Pharmacopoeia, (2004). (5th ed.), Council of Europe: Strasbourg Cedex, France. 2.8.12:217–218.
- [20]. Verma R., Padalia R., Chauhan A., Upadhyay R.K., Singh V.R. (2020). Productivité et composition en huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) récolté à différents stades de croissance sous la région subtropicale du nord de l'Inde , *Jour.Essent. huile rés.*,32 :144 – 149 .
- [21].Rioux J.A., Golvan Y.J., Croset H., Tour S., Houin R., Abonnet E., Petitdidier M., Volhardt Y., Dedet J.P., Albert J.L., Lanotte G. and Quilici M. (1965). *Epidémiologie des leishmanioses dans le Sud de la France*. Paris : Ed INSERM ; Montpellier INSERM 37, 223p
- [22].Bouabida H., Djebbar M. 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.
- [23].Messai N., Berchi S., Boulkenafed F. et Louadi K. (2012). Inventaire systématique et diversité biologique de Culicidae (Diptera : Nematocera) dans la région de Mila (Algérie), *Entomologie faunistique- Faunistic Entomology*, 63(3) : 203-206.
- [24].Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2017). Procédures pour tester la résistance aux insecticides chez les moustiques vecteurs du paludisme. Seconde édition du comité OMS d'experts des insecticides, Genève : OMS, ISBN 978-92-4-251157-4, 48p.
- [25].Salgado V.L. (1998). Studies on the mode of action of spinosad : insect symptoms and physiological correlates. *Pesticide Biochemistry and physiology*, 60(2) : 91-102.
- [26].Tomlin C.D.S. (2000). The pesticide manual. 12th ed. British Cro Protection Council, London, United Kingdom.
- [27].Elanco D. (1994). Spinosad technical Guide. DowElanco, Indianapolis, IN. USA.
- [28].Bret B.L., Larson L.L., Schoonover J.R., Parks T.C. and Thompson G.D. (1997). Biological properties of spinosad. *Dow to Earth*, 52(1): 6-13.
- [29].Romi R., Proietti S., Di-Luca M. and Cristofar M., (2006). laboratory evaluation of the bio insecticide spinosad for mosquito control. *Jour. of american mosquito control association*, 22(1): 93-96.

- [30]. Marmonnier P., Lagadeuc Y. and Aquilina L. (2006). *Introduction à l'écologie*, Ed. ENVAM, 36p.
- [31]. Abbott W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2):265-267.
- [32]. SPSS, Inc. (2016). SYSTAT 4.00 for windows, statistics and graphics.
- [33]. Hammer Øyvind, David A.T., Harper D.A. et Ryan P.D. (2001). Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4 (1) 4:9p
- [34]. Tounekti T., Vadel A., Bedoui A. and Khemira H. (2015). NaCl stress affects growth and essential oil composition in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Jour. Hortic. Sci. Biotechnol.* 83(2):267–273.
- [35]. Alarcón J. J., Morales M. A., Ferrández T. and Sánchez-Blanco M. J. (2015). Effects of water and salt stresses on growth, water relations and gas exchange in *Rosmarinus officinalis*. *Jour. Hortic. Sci. Biotechnol.* 81(5): 845-853.
- [36]. Petropoulos S.A., Daferera D., Moschos G., Polissiou M.G. and Passam H. C. (2009) "The effect of salinity on the growth, yield and essential oils of turnip-rooted and leaf parsley cultivated within the Mediterranean region." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(9): 1534-1542.
- [37]. Khalid K. and da Silva J.A.T. (2010). Yield essential oil and pigment content of *Calendula officinalis* L., flower heads cultivated under salt stress conditions, *Sci. Hortic.* 126(2): 297–305.
- [38]. Gikuru M., Samuel M., Josiah G. and Phyllis M. (2022). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) growth rate, oil yield and oil quality under differing soil amendments, *Heliyon*, 8 (4): e09277
- [39]. Singh M. (2012). Effect of organic and inorganic fertilizers on growth, yield and nutrient uptake of Patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] in semi-arid tropical climate. *Jour. Spices and Aromatic Crops*, 20 (1): 48–51.
- [40]. Chinsamy M., Kulkarni M.G. and Van Staden J. (2014). Vermicompost leachate reduces temperature and water stress effects in tomato seedlings. *Hortic. Science*, 49(9):1183–1187.
- [41]. Haghighi M., Barzegar M. R., and da Silva, J. A. T. (2016). The effect of municipal solid waste compost, peat, perlite and vermicompost on tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) growth and yield in a hydroponic system. *International journal of recycling of organic waste in agriculture*, 5(3): 231-242.
- [42]. Mengistu T., Gebrekidan H., Kibret K., Woldetsadik K., Shimelis B. and Yadav H. (2017). The integrated use of excreta-based vermicompost and inorganic NP fertilizer on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit yield, quality and soil fertility. *Int. Jour. of Recycl. of Org Waste in Agricult.*, 6(1): 63-77.
- [43]. Benazzouk S., Djazouli Z.E. and Lutts S. (2018). Assessment of the preventive effect of vermicompost on salinity resistance in tomato (*Solanum lycopersicum* cv. Ailsa Craig). *Acta Physiol Plant*, 40(6):1-11
- [44]. Prajapati V., Tripathi A.K., Aggarwal K.K. and Khanuja S.P.S. (2005). Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*, *Bioresour. Technol.*, 96 (16): 1749–1757.
- [45]. Rants'o T.A., Koekemoer L.L., Panayides J. L. and Van Zyl R.L. (2022). Potential of Essential Oil-Based Anticholinesterase Insecticides against Anopheles Vectors: A Review, *Molecules*, 27(20): 7026.
- [46]. Raquel L., Silva Thiago R.B., Mello João Paulo B., Sousa Lorena C., Albernaz Natália M.G. Magalhães Lais S., Morais Larissa R., Francisco Walter S. and Leal Laila Espindola S. (2022). Brazilian Cerrado biome essential oils to control the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*, *Industrial Crops and Products*, 178: 114568.