



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE DE BIOLOGIE ANIMALE APPLIQUEE

THESE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT EN
SCIENCES
Spécialité : BIOLOGIE ANIMALE

Intitulé

**Contribution à l'étude de l'activité larvicide des extraits de
certaines plantes sur les larves de trois espèces de
moustiques *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas) et
Culiseta longiareolata (Aitken).**

**Présentée par :
Mme. GUENEZ RADJA**

Jury :

Président : Mr. Noureddine SOLTANI	Professeur, Université d'Annaba.
Directeur de thèse : Mme. Fouzia TINE-DJEBBAR	Professeur, Université de Tébessa.
Examineur : Mme. Nassima REHIMI	Professeur, Université d'Annaba
Examineur : Mme. Fatiha BENDALI	Professeur, Université d'Annaba.
Examineur : Mme. Salima TALEB	MCA, Université de Tébessa.
Examineur : Mme. Kaouther HAMAIDIA	MCA, Université de Souk Ahras.

ANNEE UNIVERSITAIRE: 2019/2020



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ





Remerciements

Mes plus vifs remerciements et toute ma considération à M. Noureddine SOLTANI (Professeur au Département de Biologie, Université d'Annaba) qui m'a fait l'honneur de présider le présent jury.

C'est un devoir d'exprimer toute ma gratitude et une infinie reconnaissance à mon encadrant Mme Fouzia TINE (Professeur au Département de Biologie, Université de Tébessa). Elle a su guider et diriger cette thèse. Merci pour ses encouragements, ses conseils, sa patience et sa disponibilité à notre égard, du fond du cœur : merci.

Mes plus vifs remerciements et toute ma considération à Mme Fatiha BENDALI (Professeur à l'Université d'Annaba) qui a accepté d'être membre de ce jury et de me faire l'honneur de juger ce travail.

Toute ma considération à l'égard de Mme. Nassima REHIMI (Professeur Professeur à l'Université d'Annaba) et Mme Salima TALEB (Maître de conférences au Département de Biologie Appliquée, Université de Tébessa) qui m'ont fait l'honneur de juger le présent travail.

Mes plus vifs remerciements vont à Mme Kaouther HAMAIDIA (Maître de conférences au Département de Biologie, Université de Souk-Ahras) qui a bien voulu accepter d'être membre du jury et de me faire l'honneur de juger ce travail.

Nos remerciements s'adressent également à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.





Dédicace

- *A Mon Mari*

- *Ma fille*

- *Ma Famille*

- *Ma belle Famille*





TABLE DES MATIERES

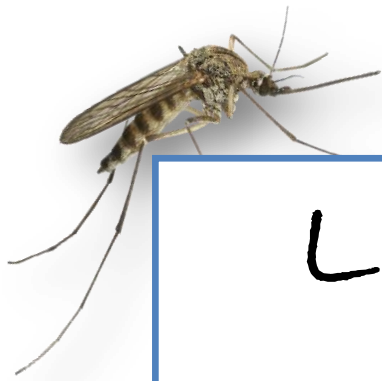
TABLE DES MATIERES

SOMMAIRE	Page
I.INTRODUCTION	1
II. MATERIEL ET METHODES	5
2.1. Présentation des plantes étudiées	5
2.1.1. <i>Laurus nobilis</i> (L., 1753)	5
2.1.2. <i>Mentha pulegium</i> (L., 1753)	6
2.2. Collecte des plantes et extraction	7
2.3. Analyse de la composition chimique des HEs	8
2.4. Présentation des Culicidés	9
2.5. Cycle de vie des Moustiques	9
2.5.1. Œuf	10
2.5.2. Larve	11
2.5.3. Nymphe	11
2.5.4. Stade adulte	12
2.6. Présentation des espèces de moustiques étudiées	13
2.6.1. <i>Aedes caspius</i> (Pallas, 1771)	13
2.6.2. <i>Culex pipiens</i> (Linné, 1758)	15
2.6.3. <i>Culiseta longiareolata</i> (Aitken, 1954)	16
2.7. Techniques d'élevage	18
2.8. Traitement et tests de toxicité	19
2.9. Dosage des biomarqueurs	19
2.9.1. Dosage de l'acétylcholinestérase	19
2.9.2. Dosage du glutathion	22

2.9.3. Dosage des glutathion S-transférases	24
2.10. Etude morphométrique.....	26
2.11. Extraction et dosage des principaux constituants biochimiques.....	26
2.11.1. Dosage des protéines totales.....	26
2.11.2. Dosage des lipides totaux.....	27
2.11.3. Dosage des glucides totaux.....	27
2.12. Analyse statistique.....	28
III. RESULTATS.....	29
3.1. Caractéristiques organoleptiques et rendement des huiles essentielles.....	29
3.2. Composition chimique des huiles essentielles.....	29
3.2.1. Composition chimique de <i>Mentha pulegium</i>	29
3.2.2. Composition chimique de <i>Laurus nobilis</i>	31
3.3. Toxicité des huiles essentielles	33
3.3.1. Toxicité des HEs extraites de <i>Mentha pulegium</i> à l'égard des moustiques.....	33
3.3.2. Toxicité des HEs extraites de <i>Laurus nobilis</i> à l'égard des moustiques.....	35
3.3.3. Efficacité comparée des huiles essentielles des deux plantes à l'égard des moustiques.....	37
3.4. Impact des huiles essentielles sur les biomarqueurs.....	37
3.4.1. Activité spécifique de l'acétylcholinestérase.....	38
3.4.1.1. Effet chez <i>Culiseta longiareolata</i>	38
3.4.1.2. Effet chez <i>Culex pipiens</i>	38
3.4.1.3. Effet chez <i>Aedes caspius</i>	39
3.4.2. Activité spécifique des glutathion S-transférases.....	40
3.4.2.1. Effet chez <i>Culiseta longiareolata</i>	40

3.4.2.2. Effet chez <i>Culex pipiens</i>	41
3.4.2.3. Effet chez <i>Aedes caspius</i>	41
3.4.3. Taux du Glutathion	42
3.4.3.1. Effet chez <i>Culiseta longiareolata</i>	42
3.4.3.2. Effet chez <i>Culex pipiens</i>	43
3.4.3.3. Effet chez <i>Aedes caspius</i>	44
3.5. Impact des HEs sur la croissance des moustiques.....	44
3.5.1. Effet sur la croissance pondérale	44
3.5.1.1. Effet chez <i>Culiseta longiareolata</i>	44
3.5.1.2. Effet chez <i>Culex pipiens</i>	45
3.5.1.3. Effet chez <i>Aedes caspius</i>	46
3.5.2. Effet sur la croissance linéaire des moustiques.....	46
3.5.2.1. Effet chez <i>Culiseta longiareolata</i>	46
3.5.2.2. Effet chez <i>Culex pipiens</i>	47
3.5.2.3. Effet chez <i>Aedes caspius</i>	47
3.6. Impact des HEs sur la composition biochimique des moustiques.....	48
3.6.1. Effet sur le contenu en protéines totales.....	48
3.6.2. Effet sur le contenu en glucides.....	50
3.6.3. Effet sur le contenu en lipides.....	51
VI. DISCUSSION	54
4.1. Rendement des huiles essentielles.....	54
4.2. Composition chimique des HEs	55
4.3. Toxicité des HEs à l'égard des moustiques.....	59
4.4. Impact des HEs sur les biomarqueurs.....	62

4.4.1. Effet sur l'activité spécifique de l'AChE.....	63
4.4.2. Effet sur l'activité spécifique des GSTs.....	66
4.4.3. Effet sur le taux de la GSH.....	68
4.5. Impact des HEs sur la croissance des moustiques.....	69
4.6. Impact des HEs sur les réserves énergétiques des moustiques.....	70
V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	74
VI. RESUMES	76
ABSTRACT	77
ملخص	78
VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	79
VIII. ANNEXES	113
PRODUCTION SCIENTIFIQUE	113



LISTE DES
TABLEAUX

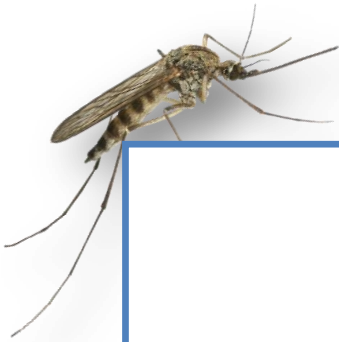
LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	Page
1	Dosage des protéines totales chez les moustiques: Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.	26
2	Dosage des lipides totaux chez les moustiques: Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.	27
3	Dosage des glucides totaux chez les moustiques: Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.	28
4	Caractéristiques organoleptiques et rendement des huiles essentielles extraites de <i>Mentha pulegium</i> et <i>Laurus nobilis</i> .	29
5	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>M. pulegium</i> : temps de rétention (TR) et concentrations (%) des différents constituants.	30
6	Principales familles chimiques de l'HE de <i>Mentha pulegium</i> .	30
7	Composition chimique de l'HE de <i>L. nobilis</i> : temps de rétention (TR) et concentrations (%) des différents constituants.	32
8	Principales familles chimiques de l'HE de <i>Laurus nobilis</i> .	33
9	Toxicité de l'HE de <i>M. pulegium</i> , appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> , <i>C. pipiens</i> et <i>A. caspius</i> : Détermination des concentrations létales et leurs intervalles de confiance (95%).	35
10	Toxicité de l'HE de <i>L. nobilis</i> , appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> , <i>C. pipiens</i> et <i>A. caspius</i> : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).	37
11	Efficacité comparée des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et de <i>L. nobilis</i> à l'égard des larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> , <i>C. pipiens</i> et <i>A. caspius</i> .	37
12	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur l'activité spécifique d'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SEM}$, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.	38
13	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur l'activité spécifique d'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de <i>C. pipiens</i> ($m \pm \text{SEM}$, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.	39
14	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur l'activité spécifique d'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 d' <i>A. caspius</i> ($m \pm \text{SEM}$, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.	39
15	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SEM}$, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus): Test	40

HSD de Tukey.		
16	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de <i>C. pipiens</i> ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.	41
17	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du quatrième stade d' <i>A. caspius</i> ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.	42
18	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le taux de la GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.	43
19	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le taux de la GSH (Mm/mg de protéines) chez les larves 4 de <i>C. pipiens</i> ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.	43
20	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le taux de la GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 d' <i>A. caspius</i> ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.	44
21	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le poids corporel (mg) des larves 4 de <i>C. longiareolata</i> à différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus): test HSD de Tukey.	45
22	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le poids corporel (mg) des larves 4 de <i>C. pipiens</i> à différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.	45
23	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le poids corporel (mg) des larves 4 d' <i>A. caspius</i> à différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.	46
24	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le volume corporel (mm^3) des larves 4 de <i>C. longiareolata</i> à différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.	47
25	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le volume corporel (mm^3) des larves 4 de <i>C. pipiens</i> à différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.	47
26	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le volume corporel (mm^3) des larves 4 d' <i>A. caspius</i> à différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.	48
27	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le contenu en protéines totales ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> , <i>C. pipiens</i> et <i>A. caspius</i> à différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.	50
28	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> , <i>C. pipiens</i> et <i>A. caspius</i> à différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.	51
29	Effet des HEs extraites de <i>M. pulegium</i> et <i>L. nobilis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le contenu	53

en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves 4 de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius* à différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus): Test HSD de Tukey.

- | | | |
|-----------|---|-----------|
| 30 | Constituants majoritaires des HEs de <i>M. pulegium</i> collectée dans différentes régions. | 58 |
| 31 | Constituants majoritaires des HEs de <i>L. nobilis</i> collecté dans différentes régions. | 59 |
-

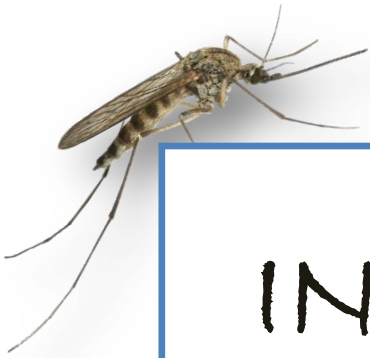


LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

N°	Titre	Page
1	<i>Laurus nobilis</i> L., 1753 (photo personnelle).	5
2	<i>Mentha pulegium</i> L., 1753 (photo personnelle).	6
3	Montage d'hydrodistillation (photo personnelle).	8
4	Cycle de vie des moustiques (Bouguerra, 2019).	10
5	(Eufs de moustique en nacelle (Anonyme, 1983).	11
6	Larve de moustique (Anonyme, 1983).	12
7	Aspect général d'une nymphe de <i>Culex pipiens</i> (Berchi, 2000).	12
8	Epines du peigne siphonal d' <i>Aedes caspius</i> (Gr: X55) (Tine-Djebbar, 2009).	14
9	Soie antennaire d' <i>Aedes caspius</i> (Gr: X150) (Tine-Djebbar, 2009).	14
10	Ecailles du 8 ^{ème} segment abdominal d' <i>Aedes caspius</i> (Gr: X500) (Tine-Djebbar, 2009).	14
11	Extrémité abdominale de la femelle d' <i>Aedes caspius</i> (Gr: X375) (Tine-Djebbar, 2009).	14
12	Tergites abdominaux d' <i>Aedes caspius</i> (Gr: X 260) (Tine-Djebbar, 2009).	14
13	Mentum de <i>C. pipiens</i> (Gr: X375) (Tine-Djebbar, 2009).	16
14	Ecailles du 8 ^{ème} segment abdominal de <i>C. pipiens</i> (Gr: X 200) (Tine-Djebbar, 2009).	16
15	Tergites abdominaux de <i>C. pipiens</i> (Gr: X15) (Tine-Djebbar, 2009).	16
16	Dents du peigne siphonal (flèche) de <i>Culiseta longiareolata</i> (Gr: X40) (Bouabida, 2014).	17
17	Taches d'écailles sombres sur l'aile (flèche) de <i>Culiseta longiareolata</i> (Gr: X60) (Bouabida, 2014).	17
18	Trois bandes blanches longitudinales (flèche) de <i>Culiseta longiareolata</i> (Gr: X40) (Bouabida, 2014).	18
19	Lobe basal du gonocoxite (flèche) de <i>Culiseta longiareolata</i> (Gr: X150) (Tine-Djebbar, 2009).	18
20	Sites de prélèvement des moustiques (photo personnelle).	18
21	Extraction et dosage de l'acétylcholinestérase (Ellman <i>et al.</i> , 1961).	21
22	Extraction et dosage du glutathion (GSH) (Weckberker & Cory, 1988).	23
23	Extraction et dosage des glutathion S-transférases (Habig <i>et al.</i> , 1974).	25

24	Chromatogramme (CPG-SM) de l'HE de <i>M. pulegium</i> (Abondance en fonction du temps en min).	31
25	Chromatogramme (CPG-SM) de l'HE de <i>L. nobilis</i> (Abondance en fonction du temps en min).	32
26	Toxicité de l'HE de <i>M. pulegium</i> (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> (A), <i>C. pipiens</i> (B) et <i>A. caspius</i> (C): Mortalités corrigées (%) ($m \pm SEM$, n=3 répétitions de 25 individus chacune). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.	34
27	Effet de l'HE de <i>M. pulegium</i> , appliquée sur les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> (A), <i>C. pipiens</i> (B) et <i>A. caspius</i> (C): Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.	34
28	Toxicité de l'HE de <i>L. nobilis</i> (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> (A), <i>C. pipiens</i> (B) et <i>A. caspius</i> (C): Mortalité corrigée (%) ($m \pm SEM$, n=3 répétitions de 25 individus chacune). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.	36
29	Effets de l'HE de <i>L. nobilis</i> , appliquée sur les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> (A), <i>C. pipiens</i> (B) et <i>A. caspius</i> (C): Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.	36



INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

Notre monde est confronté à des enjeux capitaux et l'un des défis les plus complexes de notre siècle est le changement climatique. Ce dernier peut entraîner l'élargissement de la gamme de la répartition géographique et de la dynamique des maladies à transmission vectorielle. Le réchauffement climatique et l'évolution du niveau de la mer peuvent entraîner une augmentation de l'intensité de la transmission et une extension de la distribution spatiale de ces maladies (Hongoh *et al.*, 2012) en influençant le taux de développement, la longévité des insectes et le taux de reproduction des vecteurs, créant de nouveaux défis dans le contrôle de ces insectes dans les zones où ils n'ont jamais été enregistrés auparavant (El Zayyat *et al.*, 2015).

Les moustiques, vecteurs importants en santé publique, sont impliqués dans la transmission du paludisme, de la fièvre jaune, de la dengue, des filarioses lymphatiques, et de certaines encéphalites (El Kady *et al.*, 2008 ; Anupam *et al.*, 2012). Ils regroupent plus de 3000 espèces réparties dans le monde entier dont la plupart se retrouvent dans les régions tropicales et subtropicales.

L'élargissement des aires de répartitions des insectes hématophages à l'origine de l'expansion de ces maladies est en grande partie liée aux changements globaux que subie le monde dont l'intensification des échanges, l'instabilité politique, les changements de techniques agro-pastorales et l'urbanisation, rendant ainsi les pays tempérés vulnérables aux maladies tropicales (Patz *et al.*, 1996 ; Gratz, 1999).

Face à ces menaces, et afin de contrer la propagation des insectes et des épidémies y découlant, plusieurs méthodes ont été envisagées et adoptées ; ces stratégies de lutte se sont appuyées dans les premiers temps sur l'utilisation d'insecticides chimiques.

La première catégorie d'insecticide élaboré est représentée par les organochlorés ou composés synthétiques de première génération. Ainsi, le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) a été pour la première fois synthétisé par Othman Zeidler en 1873. Il aurait provoqué une véritable révolution dans la lutte contre les insectes (Aouati, 2016). La deuxième catégorie d'insecticide est quant à elle représentée par les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoïdes de synthèse qui sont des insecticides de deuxième génération. Ces

insecticides chimiques sont très efficaces car ils ont une action directe sur le système nerveux central des insectes.

L'efficacité incontestée de ces insecticides de deuxième génération, soulève néanmoins un souci de taille qui est celui de la résistance des insectes à l'égard de ces molécules chimiques (Georghiou *et al.*, 1975 ; Sinegre *et al.*, 1977 ; Schoeters & Hoogenboom, 2006 ; Bonde *et al.*, 2008 ; Al Sarar, 2010 ; Ekström & Ekbohm, 2011). L'utilisation abusive de ces insecticides a entraîné plusieurs inconvénients écologiques au cours des dernières années. La toxicité et les effets résiduels de ces insecticides sont la principale préoccupation des scientifiques (El Zayyat *et al.*, 2015).

Suite à ces conséquences néfastes, la recherche a élaboré d'autres méthodes alternatives aux insecticides chimiques (kim *et al.*, 2000), ce qui a conduit au développement et utilisation de nouvelles molécules prenant en considération les paramètres biologiques, physiologiques et biochimiques des organismes vivants. Ces molécules sont sélectives, sans risques écotoxicologiques, biodégradables (Kebede *et al.*, 2010), et non toxiques pour les organismes non visés (Kostyukovsky *et al.*, 2000). Elles sont décrites comme étant la troisième génération d'insecticide, représentée par les toxines des bactéries *Bacillus thuringiensis var israelensis* (Bti), *Bacillus sphaericus*. L'avantage de cette bactérie réside dans son innocuité envers la faune non cible et les mammifères (De Barjac *et al.*, 1980 ; Shaddock, 1980).

Une deuxième méthode est devenue incontournable ces derniers temps, c'est l'utilisation de plantes dans la lutte anti vectorielle, en effet ces extraits de plantes aqueux ou sous forme d'huiles essentielles contiennent des molécules naturelles toxiques présentant un grand potentiel d'application contre les insectes et d'autres parasites des plantes et du monde animal (Guarrera, 1999).

Plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées (Grainge & Armed, 1988). Les espèces de la famille des Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Lamiaceae et Canellaceae sont les principales familles les plus prometteuses comme source de bioinsecticides (Benayad, 2008). Mais seulement 344 espèces ont une activité anti culicidienne (Sukumar *et al.*, 1991), particulièrement les plantes aromatiques du genre *Artemisia*, *Cympogon*, *Lavandula*, *Mentha*, *Oreganum*, *Ocimum*, *Rosmarinus*, *Thymus* et les arbres aromatiques du genre *Citrus*, *Eucalyptus*, *Eugenia* et *Melaleuca* (Andres *et al.*, 2012).

L'application des huiles essentielles (HEs) dans le domaine de la lutte a augmenté au cours des dernières années en raison de leur disponibilité et leurs propriétés biologiques. Le monde végétal constitue un riche entrepôt de phytochimiques qui sont largement utilisés comme alternatives aux insecticides synthétiques. Les métabolites secondaires obtenus à partir de plantes ont montré un réel potentiel de lutte contre les moustiques (Ramar *et al.*, 2013) et sont souvent classés en quatre groupes principaux : terpènes, dérivés du benzène, hydrocarbures et autres composés divers (Tripathi *et al.*, 2009). Les effets insecticides de ces extraits de plantes varient non seulement en fonction des espèces végétales, des espèces de moustiques, des variétés géographiques et des parties utilisées, mais également en raison de la méthodologie d'extraction adoptée et de la polarité des solvants utilisés (Ghosh *et al.*, 2012).

Une recherche bibliographique ainsi que l'étude des disponibilités locales, nous a permis de choisir deux plantes : *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis* (Linnée, 1753). Les activités des huiles essentielles décrites sur les moustiques sont variées : inhibiteurs de croissance et / ou larvicides, adulticides, ovicides ou répulsives (Sukumar *et al.*, 1991 ; Carvalho *et al.*, 2003 ; Cavalcanti *et al.*, 2004 ; Ansari *et al.*, 2005 ; Foko *et al.*, 2016 ; Vignesh *et al.*, 2016).

Ce travail vise à tester l'activité larvicide des extraits bruts de deux plantes aromatiques, *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis* L., qui appartiennent respectivement à la famille des Lamiacées et des Lauracées. Leurs huiles essentielles sont utilisées dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques, elles représentent récemment un sujet de recherche scientifique intéressant.

Dans ce contexte, notre étude a été consacrée dans une première partie à l'extraction des huiles essentielles de *L. nobilis* et *M. pulegium* ainsi qu'à la détermination de leur composition chimique par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). De plus, l'effet larvicide de ces huiles sur trois espèces de moustique, *Culex pipiens*, *Culiseta longiareolata* et *Aedes caspius*, les plus abondantes dans la région de Tébessa (Tine-Djebbar *et al.*, 2016) et la détermination des paramètres de létalité (CL₅₀ et CL₉₀) ont été étudiés.

La deuxième partie a été consacrée à l'étude de la réponse des moustiques, par la détermination d'un biomarqueur de neurotoxicité (acétylcholinestérase), des biomarqueurs de

la détoxification, les glutathion S-transférases (GSTs) et son cofacteur, le glutathion (GSH), chez les larves témoins et traitées aux huiles essentielles à différentes périodes.

La troisième partie traite l'impact de ces HEs sur la morphométrie (poids et volume corporel) et les réserves énergétiques (glucides, lipides et protéines) des larves du quatrième stade de ces espèces à différentes périodes 24, 48, et 72 heures.



MATERIEL ET METHODES

II. MATERIEL ET METHODES

2.1. Présentation des plantes étudiées

2.1.1. *Laurus nobilis* (L., 1753)

Le nom latin laurus signifiant « toujours vert » fait allusion au feuillage persistant de la plante et nobilis du latin « fameux » (Pariente, 2001). Le laurier, appelé aussi laurier-sauce est une espèce de la famille des Lauracées, unique représentant de la famille en région méditerranéenne. Actuellement, la plante est largement cultivée comme plante ornementale et pour la production commerciale dans beaucoup de pays tels que l'Algérie, la Turquie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les Etats Unis méridionaux (Barla *et al.*, 2007). Le Laurier est un arbuste ou arbre aromatique de 2 à 10m de hauteur à croissance lente, et au tronc droit ramifié à rameaux dressés, bois arborescents portent des feuilles denses, persistantes, coriaces, pointues, et elliptiques (Julve, 2017), dès la base avec un sommet conique, et s'arrondissant en fil du temps. L'écorce est noire à gris foncé et lisse. Ces branches remontent en oblique avec des jeunes pousses fines, glabres et brun rougeâtre dont les bourgeons sont étroits, verts rougeâtres et longs de 0,2 à 0,4cm (Quezel & Santa, 1963), fleurs dioïques, blanchâtres ou jaunes, odorantes, en petites ombelles axillaires pédonculées et involuquées. Dans les zones chaudes, les baies portent des fleurs peluches jaunes et des petits fruits noirs violacés et nus.



Figure 1. *Laurus nobilis* (L., 1753) (photo personnelle).

✚ La position systématique de *Laurus nobilis* (L., 1753) est la suivante :

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lurales
Famille	Lauraceae
Genre	Laurus
Espèce	<i>Laurus nobilis</i> L., 1753

2.1.2. *Mentha pulegium* (L., 1753)

Mentha pulegium L. est une plante aromatique appartenant à la famille des Lamiacées, également appelée "Flio". Originnaire d'Europe, d'Afrique du Nord et d'Asie tempérée, la menthe pouliot est répandue en Amérique. Elle pousse sur des sols humides et les lieux inondés en hiver en Afrique du nord (Iserin *et al.*, 2001). En Algérie, elle pousse surtout dans le Tell. La partie aérienne porte des trichomes glandulaires qui sont responsables de la sécrétion d'huile essentielle (Quezel & Santa, 1963 ; Rodrigues *et al.*, 2013). Le nom pulegium vient du latin pulex (puce) car on dit que la fumée du pouliot éloigne les puces (Oskuee *et al.*, 2011). Plante vivace de 10 à 40cm de hauteur, velue-grisâtre à glabrescente, à tiges généralement ascendantes rameuses, très aromatique ; feuilles ovales, d'environ 10mm de longueur, pétiolées et presque entières. Fleurs roses ou lilacées, disposées en pseudo-verticilles espacés, à l'aisselle 5 à 15 feuilles superposées ; calice bilabié, à gorge fermée par un anneau de poils ; corolle de 5 à 7mm de longueur, à 4 lobes égaux. Akènes ponctués d'alvéoles (Quezel & Santa, 1963).



Figure 2. *Mentha pulegium* (L., 1753) (photo personnelle).

✚ La position systématique de *Mentha pulegium* (L., 1753) est la suivante :

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Mentha
Espèce	<i>Mentha pulegium</i> L., 1753.

2.2. Collecte des plantes et extraction

Les feuilles de *M. pulegium* et *L. nobilis* ont été recueillies au cours de la période Mars-Mai 2014, dans la région de Bekaria (Sud-Est de Tébessa) (à 10Km de la ville de Tébessa). Une biomasse de 50g du matériel végétal et 500ml d'eau distillée est soumise à une hydrodistillation en utilisant un montage de type CLEVANGER durant 3 heures (Fig. 3). Les huiles essentielles recueillies par décantation à la fin de la distillation sont ensuite conservées à 4°C dans de petits flacons bien fermés en verre ombré jusqu'à l'utilisation.

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante (AFNOR, 1987). Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante:

$$R = P_B / P_A \times 100$$

$$R = [\Sigma P_B / \Sigma P_A] \times 100$$

R : Rendement en huile en %.

P_A : Poids de la matière sèche de la plante en g.

P_B : Poids de l'huile en g.

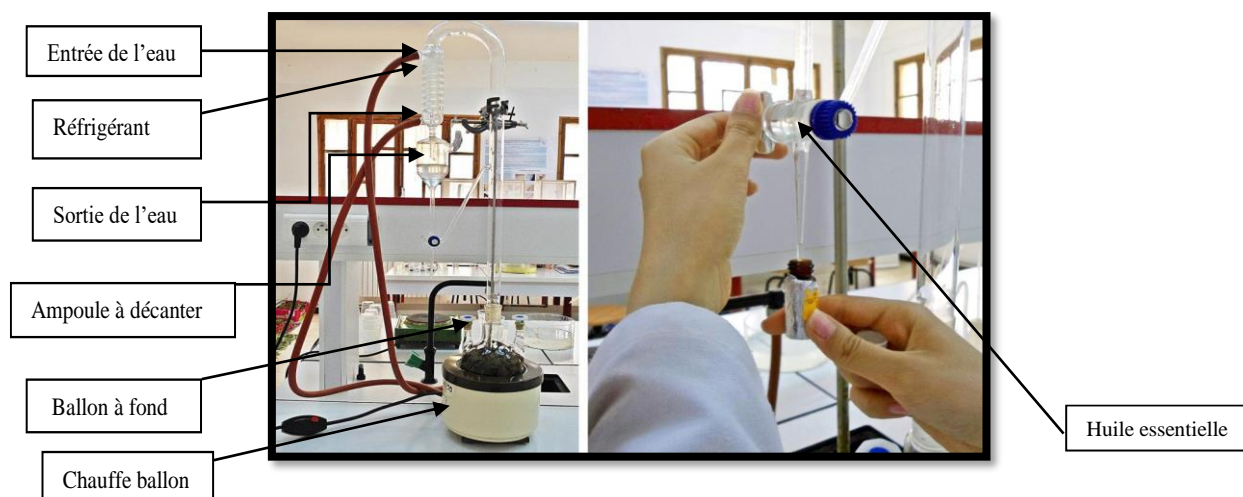


Figure 3. Montage d'hydrodistillation (photo personnelle).

2.3. Analyse de la composition chimique des HES

Les huiles de *M. pulegium* et *L. nobilis* ont été analysées au Laboratoire de Pharmacognosie, Département de Pharmacie, Faculté de médecine de Batna. L'analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) est faite sur un chromatographe de type Perkin Elmer. La colonne capillaire utilisée est de type HP-5 (30 m x 0,25mm ; épaisseur du film 0,2 μ m). Le gaz vecteur qui constitue la phase mobile est l'Hélium, réglé à un débit de 1,1ml/min. La température de l'injecteur est de 250°C, et l'injection se fait en mode Split. Initialement, la température du four est maintenue à 60°C en isotherme pendant 1 min, puis son augmentation se fait graduellement à raison de 3°C par min jusqu'à 200°C. Pour le spectromètre de masse, la température de détection est de 250°C. L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectres de masse. Les constituants de chaque huile essentielle sont identifiés par comparaison de leurs spectres de masses avec ceux des produits de référence de bases de données de Willey (McLafferty & Stauffer, 1994) et de NIST (NIST, 1999) aussi bien que par leurs indices de rétention calculés à l'aide d'alcane C5-C18 comparés aux indices des produits de référence et des données de la littérature (Kondjoyan & Berdagué, 1996 ; Adams, 2001).

2.4. Présentation des Culicidés

Les moustiques appartiennent au règne Animal, à l'embranchement des Arthropodes et à la classe des Insectes. Ces insectes ptérygotes (sous classe) de l'ordre des Diptères sont caractérisés par deux paires d'ailes dont la deuxième est transformée en haltère. C'est au sous ordre des Nématocères (pièces buccales modifiées pour piquer ou sucer), à la famille des Culicidés qu'appartiennent les moustiques. Ils se distinguent des autres Nématocères piqueurs par leur trompe longue et la présence d'écailles sur les nervures des ailes (Roth, 1980).

2.5. Cycle de vie des Moustiques

Les moustiques sont des insectes holométaboles, leur cycle biologique comprend une phase aquatique et une phase aérienne (Fig. 4). Les adultes ou imago, sont aériens alors que les œufs, les larves et les nymphes constituent les stades pré-imaginaux et vivent dans l'eau douce le plus souvent ou parfois saumâtre. La durée totale du développement, fortement influencée par la température, est de 10 à 15 jours pour les zones tropicales (Bendali, 2006). La femelle adulte est hématophage, elle pique les vertébrés pour sucer leur sang contenant des protéines nécessaires à la maturation des œufs (Klowden, 1990). Pendant la piqûre, elle injecte de la salive anticoagulante qui provoque, chez l'homme, une réaction inflammatoire plus ou moins importante selon les individus (Guimaraes, 1997).

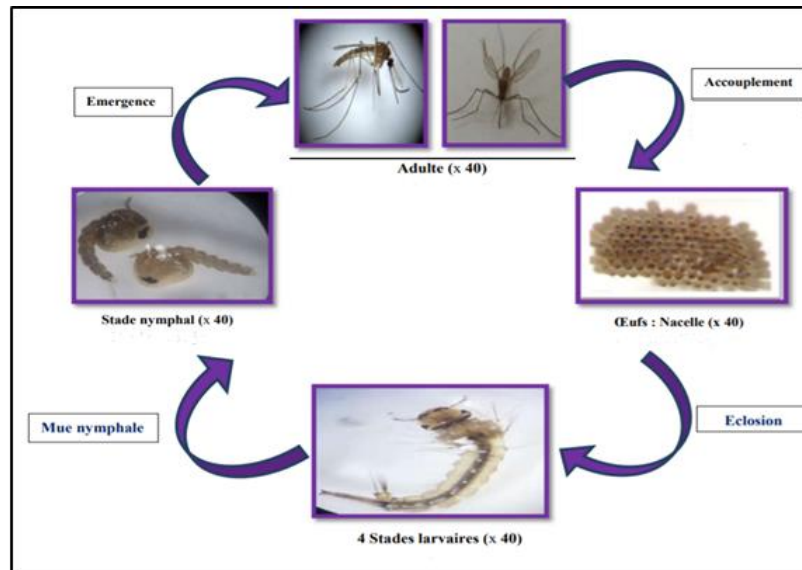


Figure 4. Cycle de vie des moustiques (Bouguerra, 2019).

2.5.1. Œuf

Suite à l'accouplement qui a eu lieu peu de temps après l'émergence des adultes, les femelles fécondées déposent entre 200 et 400 œufs (Bendali, 1989), perpendiculairement à la surface de l'eau (Urquhart *et al.*, 1996 ; Wall & Shearer, 1997). Fusiformes, ils mesurent environ 1mm de long. Blanchâtres au moment de la ponte, ils s'assombrissent dans les heures qui suivent (Fig. 5). Une corolla est présente au niveau du pôle inférieur de l'œuf.

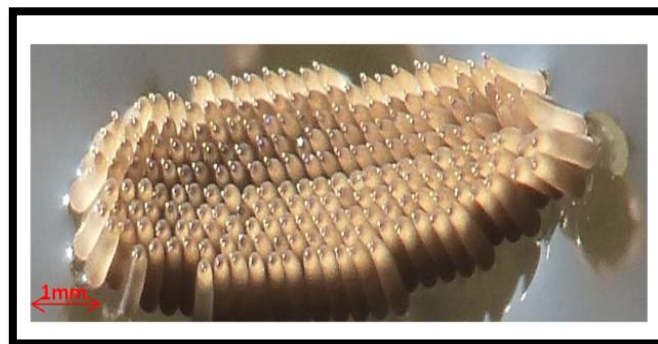


Figure 5. Œufs de moustique en nacelle (Anonyme, 1983)

2.5.2. Larve

Les larves de moustiques sont aquatiques. Elles se trouvent, au repos, sous la surface de l'eau, respirant l'air atmosphérique en faisant affleurer les spiracles qui s'ouvrent à l'extrémité du siphon respiratoire (Urquhart *et al.*, 1996 ; Andreo, 2003). Très mobiles, les larves plongent en profondeur lorsqu'elles se sentent menacées ou pour la recherche de leur nourriture. Les larves ont une croissance discontinue et subissent 4 mues, lui permettant de passer d'environ 2 à 12mm de long, la durée des 4 stades larvaires est habituellement de 8 à 12 jours lorsque les conditions de température sont favorables. A chaque mue, elles abandonnent dans l'eau, l'exuvie (tégument externe) du stade précédent et la dernière mue transforme la larve du 4^{ème} stade en nymphe (Sirivanakarn, 1977). D'aspect vermiforme, son corps se divise en trois segments : tête, thorax trapu dépourvu d'appendices locomoteurs et abdomen souple (Fig.6). Ses pièces buccales sont de type broyeur, adaptées à un régime saprophyte (alimentation de type particulière) (Kettle, 1995 ; Andreo, 2003).



Figure 6. Larve de moustique (Anonyme, 1983)

2.5.3. Nymphe

La nymphe, également aquatique, est mobile mais ne s'alimente pas durant toute la durée de ce stade, qui varie entre 2 à 5 jours. Elle prélève l'air atmosphérique grâce à deux trompettes respiratoires. Le stade nymphal est un stade de transition au métabolisme extrêmement actif, au cours duquel l'insecte subit de très profondes transformations morphologiques et physiologiques qui l'amènent du stade larvaire, aquatique et saprophyte, à la forme adulte, aérienne et habituellement hématophage chez les femelles (Guitsevitch *et al.*, 1974 ; Rhodain & Perez, 1985). La tête et le thorax fusionnent pour donner un céphalothorax (Fig.7). Sa forme globale rappelle celle d'un point d'interrogation. Les orifices anal et buccal

étant bouchés, la nymphe ne se nourrit pas. Ses palettes natatoires, situées sur l'abdomen, lui permettent de se déplacer (Vinogradova, 1990 ; 2000 ; 2003).

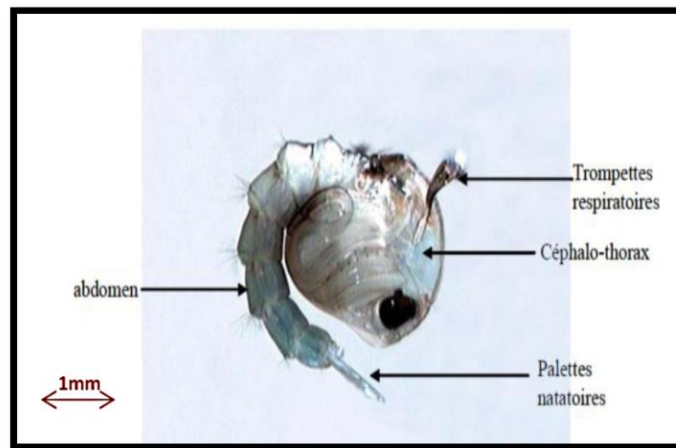


Figure 7. Aspect général d'une nymphe de *Culex pipiens* (Berchi, 2000).

2.5.4. Stade adulte

A la fin de ce stade, le tégument de la nymphe se fend sur le dos, suivant une ligne longitudinale. Par cette ouverture, le moustique adulte dégagera successivement son thorax, sa tête, ses pattes, son abdomen, abandonnant dans l'eau l'exuvie nymphale. Ce phénomène de l'émergence dure environ 15min durant lesquelles l'insecte se trouve exposé sans défenses à de nombreux prédateurs de surface (Rodhain & Perez, 1985).

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

2.6. Présentation des espèces de moustiques étudiées

2.6.1. *Aedes caspius* (Pallas, 1771)

Décrite pour la première fois en 1771 par Pallas, *Aedes caspius* est une espèce multivoltine, les gîtes sont très variés, le plus souvent de grande taille (mares, marais, rizières, canaux.) mais parfois de dimensions plus réduites (fossés, puits abandonnés.). La présence d'une abondante végétation est générale et l'éclosion différée de quelques œufs fait que les larves peuvent être présentes presque toute l'année dans les gîtes. Les femelles piquent tous les vertébrés à sang chaud, surtout à l'extérieur des habitations. Anthropophiles, elles sont souvent responsables de nuisance, même dans les cités éloignées des gîtes larvaires. Les imagos peuvent se déplacer sur plus de 40km pour rechercher leur repas sanguin. *Aedes caspius* est vecteur de filaires animales et d'arbovirus (Tahyna, virus de la myxomatose), peut être infecté naturellement par le virus West Nile et dissémine la tularémie (Schaffner *et al.*, 2001).

C'est un petit moustique long de 5mm environ, globalement roux avec des bandes longitudinales claires sur le thorax et des bandes blanches sur les pattes. Le siphon de la larve porte une touffe apicale, les épines du peigne siphonal sont implantées régulièrement, la soie antennaire est en touffe et les écailles du 8^{ème} segment sont toutes sans épines médianes (Fig. 8, 9 et 10). Chez l'adulte, l'extrémité abdominale de la femelle est effilée et le cerque est allongé, les tergites abdominaux claires ornés de deux croissants latéraux (Fig. 11 et 12).

✚ La position systématique d'*Aedes caspius* (Pallas, 1771) est la suivante :

Règne	Animalia
Embranchement	Arthropoda
Sous-embranchement	Hexapoda
Classe	Insecta
Sous-classe	Pterygota
Infra-classe	Neoptera
Super-ordre	Endopterygota
Ordre	Diptera
Sous-ordre	Nematocera
Infra-ordre	Culicomorpha
Famille	Culicidae
Sous-famille	Culicinae
Genre	<i>Aedes</i>
Espèce	<i>Aedes caspius</i> (Pallas, 1771).

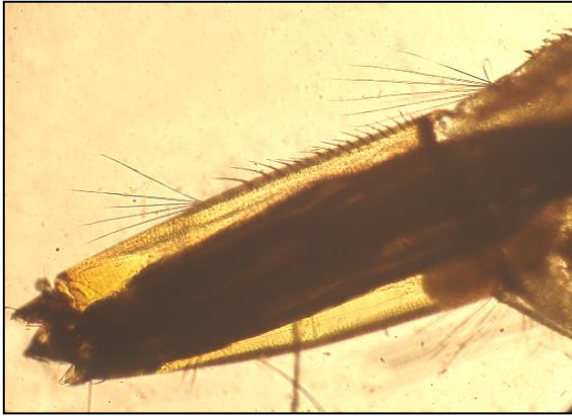


Figure 8. Epines du peigne siphonal d'*A. caspius* (Gr : X 55). (Tine Diebbar, 2009).



Figure 9. Soie antennaire d'*A. caspius* (Gr : X 150). (Tine Djebbar, 2009).

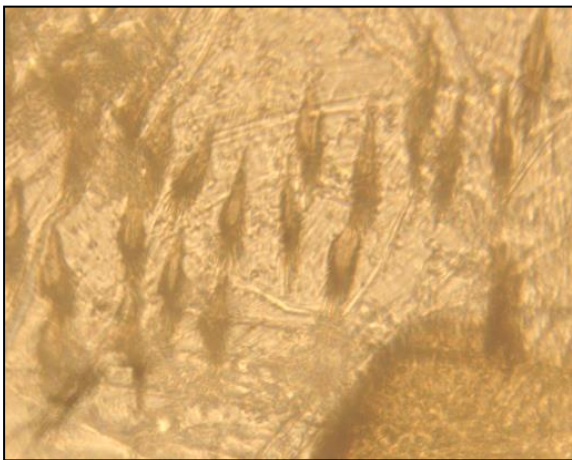


Figure 10. Ecailles du 8^{ème} segment abdominal d'*A. caspius* (Gr : X 500). (Tine-Djebbar, 2009).

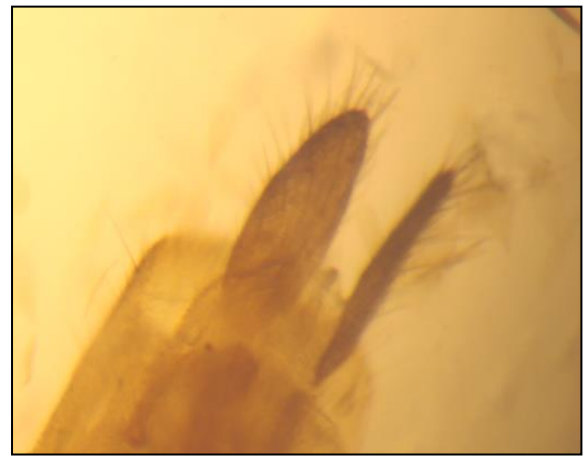


Figure 11. Extrémité abdominale de la femelle d'*A. caspius* (Gr : X 375). (Tine-Djebbar, 2009).



Figure 12. Tergites abdominaux d'*A. caspius* (Gr : X 260). (Tine-Djebbar, 2009).

2.6.2. *Culex pipiens* (Linné, 1758)

Le complexe *Culex pipiens* est le plus commun des moustiques du genre *Culex*. Il est d'une grande importance fondamentale, médicale et vétérinaire et vecteurs du virus du Nile Occidental dans l'Est des États-Unis. Comprenant presque 800 espèces, on trouve les *Culex* dans de nombreuses régions du globe, notamment dans les régions tropicales, en Australie et en Europe (Bussieras & Chermette, 1991). *C. pipiens* est une espèce relativement commune en France, et surtout en région méditerranéenne. On la retrouve également dans toutes les régions tempérées de l'hémisphère nord (Wall & Shearer, 1992). Cette espèce se caractérise chez la larve, d'un mentum qui contient 8 dents ou plus de part et d'autre de la dent médiane (Fig. 13) ; les écailles du 8^{ème} segment sont toutes sans épine médiane (Fig. 14) et la dent distale du peigne siphonal est formée de 3 à 5 denticules basaux (Bruhnes *et al.*, 1999) (Fig. 15). L'adulte de *C. pipiens* se caractérise par le tergite III avec une bande antérieure claire (Fig.15).

✚ La position systématique de *Culex pipiens* L., 1758 est la suivante :

Règne	Animalia
Embranchement	Arthropoda
Sous-embranchement	Hexapoda
Classe	Insecta
Sous-classe	Pterygota
Infra-classe	Neoptera
Super-ordre	Endopterygota
Ordre	Diptera
Sous-ordre	Nematocera
Infra-ordre	Culicomorpha
Famille	Culicidae
Sous-famille	Culicinae
Genre	<i>Culex</i>
Espèce	<i>Culex pipiens</i> (Linné, 1758)

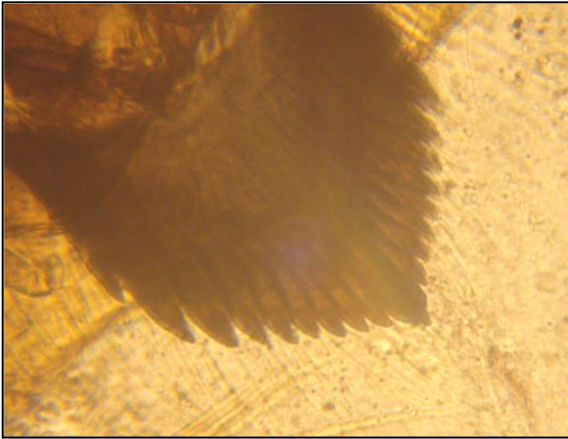


Figure 13. Mentum de *C. pipiens* (Gr : X 375). (Tine- Djebbar, 2009).



Figure 14. Ecailles du 8^{ème} segment abdominal de *C. pipiens* (Gr : X 200) (Tine-Djebbar, 2009).



Figure 15. Tergites abdominaux de *C. pipiens* (Gr : X 150). (Tine-Djebbar, 2009).

2.6.3. *Culiseta longiareolata* (Aitken, 1954)

C. longiareolata est multivoltine, peut présenter une diapause hivernale chez les imagos femelles (régions froides) et chez les larves (régions tempérées). Les adultes sont présents toute l'année avec un max de densité au printemps et un autre en automne (Bruhnes *et al.*, 1999). Les œufs de *Culiseta* groupés en nacelle sont cylindro-coniques, chaque nacelle porte environ 50 à 400 œufs (Boulkenafet, 2006). Les femelles sont sténogames et autogènes. Elles piquent de préférence les vertébrés surtout les oiseaux, très rarement l'humain, l'espèce est considérée comme un vecteur de *Plasmodium* d'oiseau (Bruhnes *et al.*, 1999). La larve est caractérisée par un peigne siphonal dont ses dents sont implantées irrégulièrement (Fig. 16). Chez l'adulte, on remarque la présence au moins d'une tache d'écaille sombre sur l'aile, le thorax avec trois bandes blanches longitudinales et l'absence des soies longues et fortes au

niveau du lobe basal du gonocoxite (Bruhnes *et al.*, 1999) (Fig. 17, 18 et 19). Thorax avec trois bandes blanches longitudinales et l'absence des soies longues et fortes au niveau du lobe basal du gonocoxite (Bruhnes *et al.*, 1999) (Fig. 17, 18 et 19).

✚ La position systématique de *C. longiareolata* (Aitken, 1954) est la suivante :

Règne	Animalia
Embranchement	Arthropoda
Sous-embranchement	Hexapoda
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
Espèce	<i>Culiseta longiareolata</i> (Aitken, 1954).



Figure 16. Dents du peigne siphonal (flèche) de *C. longiareolata* (Gr : X 40). (Bouabida, 2014).

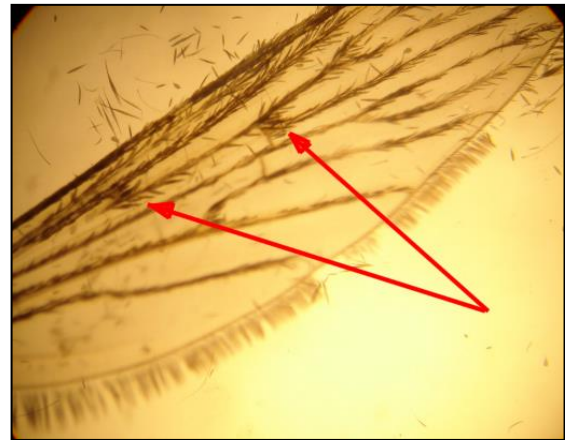


Figure 17. Ecailles sombres sur l'aile (flèche) de *C. longiareolata* Gr: X 60). (Bouabida, 2014).



Figure 18. Trois bandes blanches longitudinales (flèche) de *C. longiareolata* (Gr : X 40). (Bouabida, 2014).

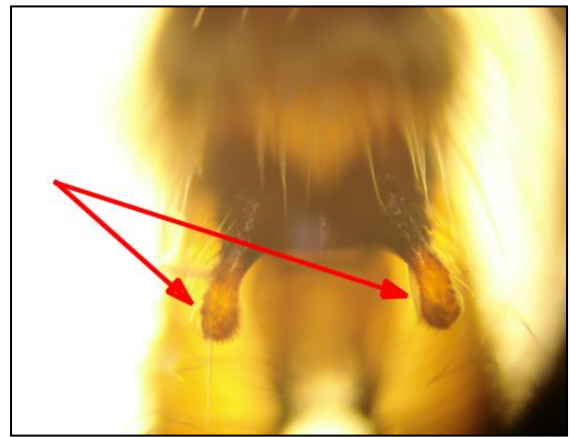


Figure 19. Lobe basal du gonocoxite (flèche) de *C. longiareolata* (Gr : X 150). (Tine-Diebbar, 2009).

2.7. Techniques d'élevage

Les œufs et les larves de moustiques sont récoltés dans des citernes (4m×1m×1m) présentes au niveau de la cité de l'aéroport dans la ville de Tébessa et dans des sites situés au niveau de différentes régions de la ville de Tébessa (Nord-Est d'Algérie). Les larves sont élevées au laboratoire dans des récipients en plastique contenant de l'eau déchlorurée et nourries avec du mélange biscuit 75% - levure 25% (Rehimi & Soltani, 1999). Le régime alimentaire joue un grand rôle dans la fécondité car les protéines permettent à la femelle de pondre plus d'œufs par rapport aux femelles nourries de sucre seulement (Wigglesworth, 1972). L'eau est renouvelée chaque deux jour.



Figure 20. Sites de prélèvement des moustiques (photos personnelles).

2.8. Traitement et tests de toxicité

Après un test de Screening, on a pu déterminer la gamme de concentrations des huiles essentielles de *Laurusnobilis* et de *Menthapulegium* qui sont de l'ordre de 12,5, 25, 50, 75 et 100ppm. Ces concentrations ont été appliquées à partir d'une solution mère (huile essentielle + éthanol) dans des pots contenant 150ml d'eau et 25 larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius*. Après 24 heures de traitement, selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé (Anonyme, 1983), les larves sont rincées et placées dans de nouveaux récipients contenant de l'eau propre et de la nourriture. Le témoin négatif ne contenait que de l'eau tandis que le témoin positif renfermait 1ml de solvant (éthanol). Le suivi de mortalité des larves a été réalisé à 24 heures après traitement. Dix répétitions comportant chacune 25 larves, ont été réalisées pour chaque concentration.

Le pourcentage de mortalité observée est corrigé par la formule d'Abbott (1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle et de déterminer la toxicité réelle des HEs. La détermination des concentrations létales (CL_{50} et CL_{90}) ainsi que leurs intervalles de confiance (95% IC) ont été faite grâce à un logiciel GRAPH PAD PRISM 7.

2.9. Dosage des biomarqueurs

Les larves du quatrième stade des séries témoins et traitées (CL_{50} et CL_{90}) ont été utilisées pour le dosage de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE), des glutathion S-transférases (GSTs) et du taux de glutathion (GSH). Tous les dosages ont été menés sur des échantillons biologiques prélevés à 24, 48 et 72 heures après traitement. Par ailleurs, la concentration en protéines totales des différents échantillons a été préalablement déterminée suivant la méthode de Bradford (1976), afin de pouvoir calculer les activités spécifiques des enzymes et le taux du glutathion. Des séries témoins sont réalisées parallèlement.

2.9.1. Dosage de l'acétylcholinestérase

Les échantillons des séries témoins et traitées (CL_{50} et CL_{90}) sont prélevés à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) puis pesés, ils sont ensuite homogénéisés dans 1ml de la solution détergente D [38,03mg EGTA (acide éthylène glycol-bis, β -aminoéthyl éther NNN'N' tétra-acétique), 1ml Triton X 100%, 5,845g NaCl (chlorure de sodium), 80ml tampon tris (10mM, pH 7)] qui solubilise les membranes. Après centrifugation (5000 trs/ min

pendant 5min), le surnageant est récupéré et servira comme source d'enzyme (Fig. 21). L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 25 individus avec une série témoin.

Le dosage de l'activité de l'AChE est réalisé selon la méthode d'Ellman *et al.* (1961) sur une fraction aliquote de 100µl à laquelle on ajoute 100µl de DTNB préparé extemporanément [39,6mg DTNB, 15mg CO₃HNa (bicarbonate de sodium), 1ml tampon tris (0,1M, pH 7)] et 1ml de tampon tris (0,1M, pH 7). Après 3 à 5 minutes, 100µl de substrat acétylthiocholine préparé extemporanément [23,6mg ASCh, 1ml eau distillée] sont ajoutés. La lecture des absorbances s'effectue toutes les 4mn pendant 20minutes à une longueur d'onde de 412nm contre un blanc où la solution détergente remplace le surnageant. L'activité spécifique est calculée selon la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do / mn}{1.36 \times 10^4} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

X: micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (µM/min/mg de protéines).

ΔDO: pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

1,36 x 10⁴: coefficient d'extinction molaire du DTNB (M⁻¹ cm⁻¹).

Vt: volume total dans la cuve : 1,3 ml [0,1 ml surnageant + 0,1 ml DTNB + 1 ml tampon tris (0,1 M, pH 7) + 0,1ml acétylthiocholine].

Vs: volume du surnageant dans la cuve : 0,1ml.

mg de protéines: quantité de protéines exprimée en mg.

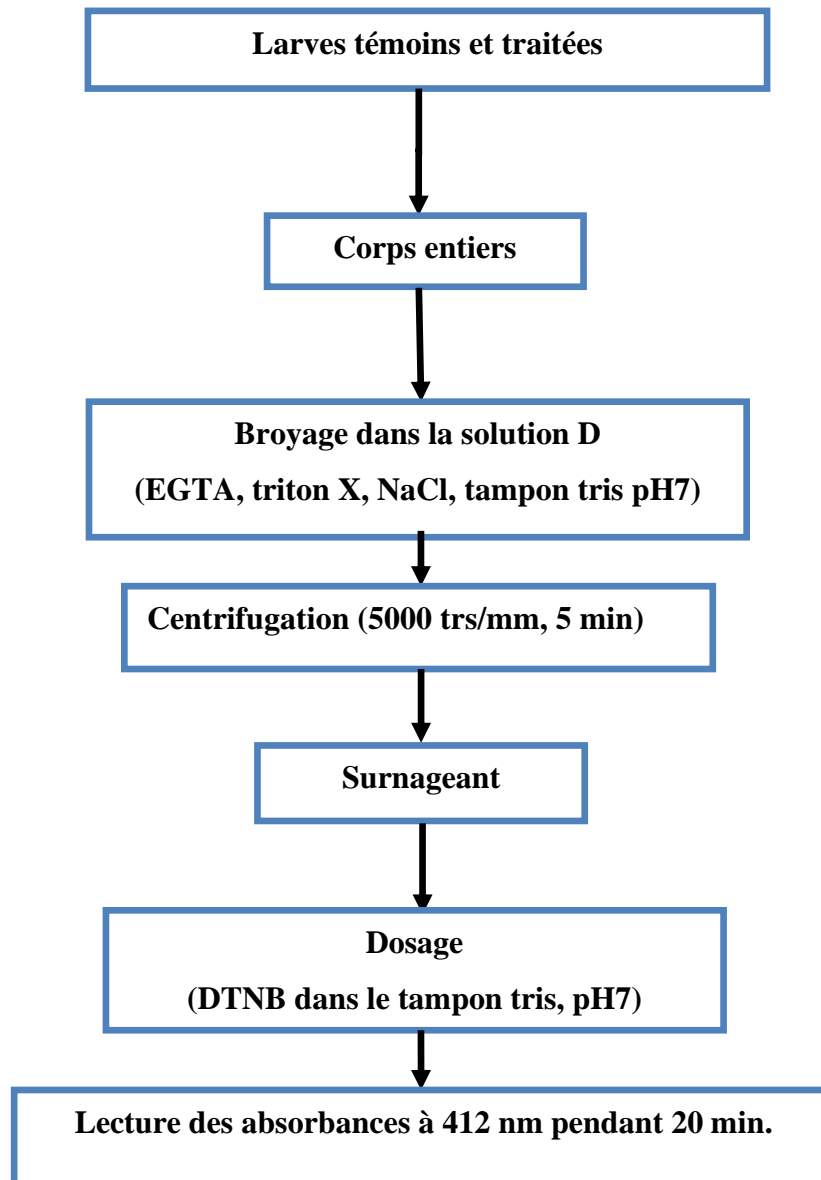


Figure 21. Extraction et dosage de l'acétylcholinestérase (Ellman *et al.*, 1961).

2.9.2. Dosage du glutathion

Le taux du glutathion (GSH) est quantifié selon la méthode de Weckberker & Cory (1988), dont le principe repose sur la mesure colorimétrique de l'acide 2-nitro 5-mercapturique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion mesuré à une longueur d'onde de 412nm.

Les larves du quatrième stade d'*A. caspius*, *C. pipiens* et *C. longiareolata*, témoins et traitées (CL₅₀ et CL₉₀) sont prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) puis pesées. Elles sont ensuite homogénéisées dans une solution d'EDTA (0,04M) [2,224g ECTA, 1000ml eau distillée] à raison de 0,4ml par 400mg de poids. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 25 individus avec une série témoin. L'homogénat (400µl) additionné d'acide sulfosalicylique (ASS) (400µl) est vortexé et laissé pendant 15min dans un bain de glace. Après centrifugation (1000trs/ mm pendant 5min), le surnageant est récupéré et utilisé comme source d'enzyme (Fig. 22).

Le dosage est réalisé comme suite : une aliquote de 500µl du surnageant récupéré est ajoutée à 1ml du tampon tris / EDTA (0,02M, pH 9,6) [63,04g tris, 7,4448g EDTA, 1000ml eau distillée] et 0,025ml de DTNB (0,01M) [3,96g DTNB, 1000ml méthanol absolu]. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 412nm après 5minutes de repos pour la stabilisation de la couleur contre un blanc où les 500µl de surnageant sont remplacés par 500µl d'eau distillée. Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta DO}{13,1} \times \frac{Vd}{Vh} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

X: micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (µM / mg de protéines).

Δ DO: différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

13,1: coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH) (mM⁻¹cm⁻¹).

Vd: volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation : 1ml [0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat].

Vh : volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation: 0,8ml.

Vt: volume total dans la cuve : 1,525 ml [0,5 ml surnageant + 1 ml tris / EDTA + 0,025 ml DTNB].

Vs: volume du surnageant dans la cuve : 0,5ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

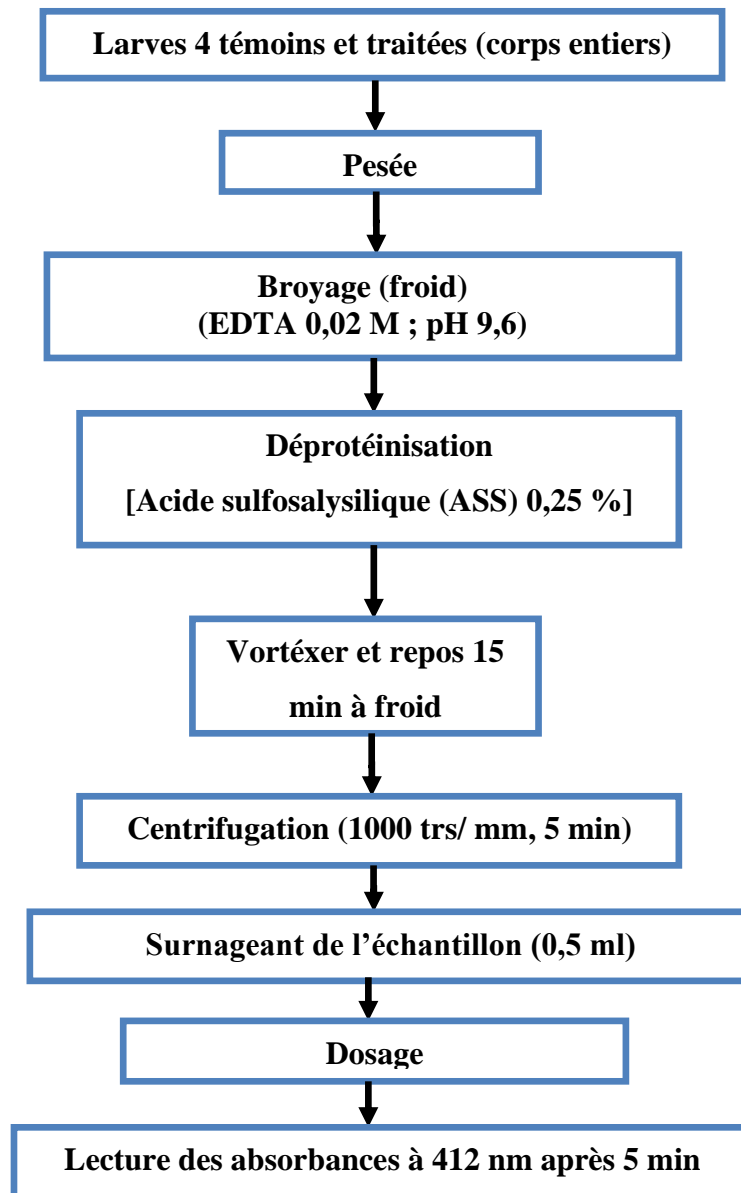


Figure 22. Extraction et dosage du glutathion (GSH) (Weckberker & Cory, 1988).

2.9.3. Dosage des glutathion S-transférases

Les glutathion S-transférases représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles, essentiellement cytosoliques, impliquées dans diverses opérations de transports et de biosynthèse intracellulaire. Les GSTs, jouent un rôle important dans la détoxification des xénobiotiques ; elles catalysent souvent la conjugaison des molécules électrophiles avec le glutathion réduit (GSH). Les produits sont ensuite métabolisés en acide mercapturique et excrétés au niveau de la bile et des urines (Habig *et al.*, 1974). Les larves 4 témoins et traitées de trois espèces, sont prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures), pesées puis broyées dans 1ml de tampon phosphate de sodium (0,1M, pH 6). L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 25 individus avec une série témoin. L'homogénat ainsi obtenu est centrifugé (13000trs/min à 2°C pendant 30min), le surnageant récupéré servira au dosage de l'activité des GSTs (Fig. 23).

Le dosage est réalisé selon la méthode de Habig *et al.* (1974), il consiste à faire réagir 200 µl de surnageant avec 1,2ml du mélange CDNB (1mM) /GSH (5mM) [20,26mg CDNB, 153,65mg GSH, 1ml éthanol, 100ml tampon phosphate (0,1M, pH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée toutes les 1mn pendant 5minutes à une longueur d'onde de 340nm contre un blanc contenant 400µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do / mn}{9,6} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

X: millimoles de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (mM/min/mg de protéines).

Δ Do: pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

9,6: coefficient d'extinction molaire du CDNB (mM⁻¹ cm⁻¹).

Vt: volume total dans la cuve : 1,4ml [0,2ml surnageant+1,2ml du mélange CDNB/GSH].

Vs: volume du surnageant dans la cuve : 0,2ml.

mg de protéines: quantité de protéines exprimée en mg.

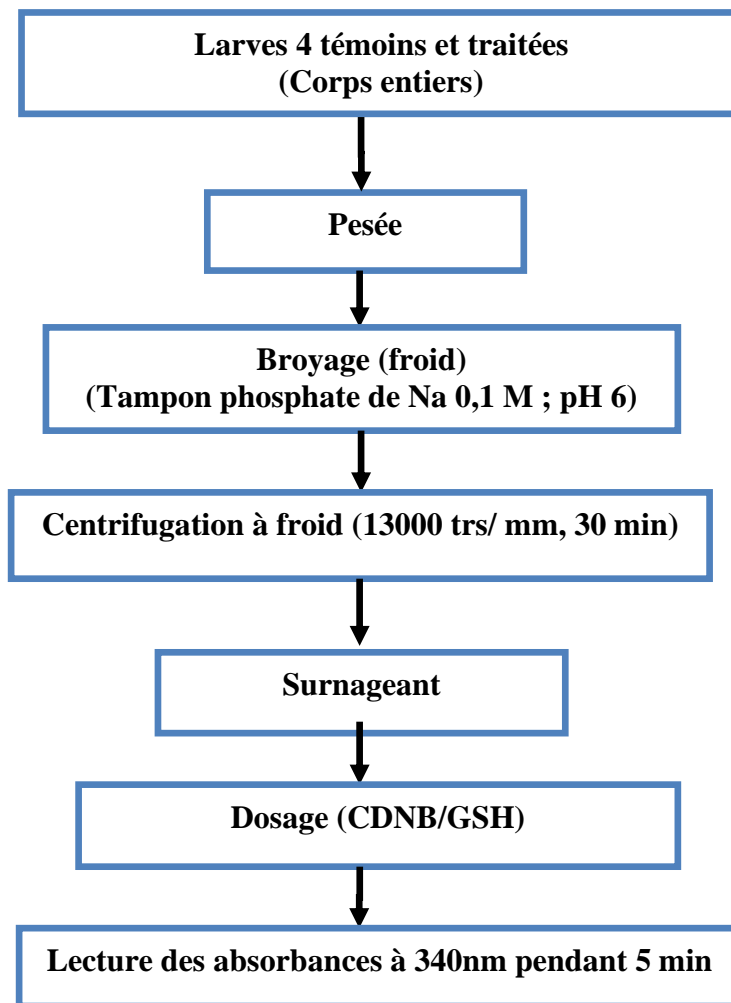


Figure 23. Extraction et dosage des glutathion S-transférases (Habig *et al.*, 1974).

2.10. Etude morphométrique

L'étude morphométrique est basée sur deux paramètres : le poids et le volume corporel des individus, calculé à partir de la valeur cubique de la largeur du thorax des larves et des pupes et la longueur des ailes des adultes mâles et femelles. Les mensurations ont été réalisées sous une loupe binoculaire préalablement étalonnée.

2.11. Extraction et dosage des principaux constituants biochimiques

Les individus témoins et traités (CL₅₀ et CL₉₀) ont été prélevés à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) et conservés dans 1ml de TCA (acide trichloracétique) à 20%. L'extraction des principaux constituants biochimiques (protéines, glucides et lipides) a été réalisée selon le procédé de Shibko *et al.* (1966) (Fig. 23). Après homogénéisation aux ultrasons, puis centrifugation (5000 tours/min à 4°C pendant 10min), le surnageant I obtenu servira pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de Duchateau & Florkin (1959). Au culot I, on ajoute 1ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides (Goldsworthy *et al.*, 1972) et le culot II, dissout dans de la soude (0,1N), servira au dosage des protéines selon Bradford (1976).

2.11.1. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976), dans une fraction aliquote de 100µl, à laquelle on ajoute 4ml de réactif du bleu brillant de commassie (BBC) G 250 (Merck). Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (BSA) titrant 1mg/ml (Tableau 1).

Tableau 1. Dosage des protéines totales chez les moustiques : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de BSA (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

2.11.2. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al.* (1972), en utilisant le réactif sulfophosphovanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100µl des extraits lipidiques ou de gamme étalon auxquelles on évapore totalement le solvant puis on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré, les tubes sont agités, et mis pendant 10min dans un bain de sable à 100°C. Après refroidissement, on prend 200µl de ce mélange auquel on ajoute 2,5ml de réactif sulfophosphovanillinique. Après 30min à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide ortho phosphorique, des complexes roses. La solution mère des lipides est préparée comme suit : on prend 2,5mg d'huile de table (tournesol, 99% triglycérides) dans un tube eppendorf et on ajoute 1ml d'éther chloroforme (1V/1V) (Tableau 2).

Tableau 2. Dosage des lipides totaux chez les moustiques : Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant (éther /chloroforme) (1V/1V) (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif de vanilline (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

2.11.3. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de Duchateau & Florkin (1959). Cette méthode consiste à additionner 100µl de surnageant contenu dans un tube à essai, 4ml du réactif d'anthrone et de chauffer le mélange à 80°C pendant 10min, une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucides présente dans l'échantillon. La lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620 nm. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1mg/ml) (Tableau 3).

Tableau 3. Dosage des glucides totaux chez les moustiques : Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.

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

2.12. Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel GRAPH PAD PRISM 7. Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne \pm l'écart-moyen (SEM). Les quantités des métabolites (protéines, glucides et lipides) sont déterminées à partir des courbes d'étalonnage dont l'équation de la droite de régression exprime l'absorbance en fonction de la quantité du standard utilisé (albumine, glucose et l'huile de tournesol). L'analyse de la variance à un de classification et le test HSD de Tukey ont été utilisés.



RESULTATS

III. RESULTATS

3.1. Caractéristiques organoleptiques et rendement des HEs

Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation de la partie aérienne de deux plantes, *Mentha pulegium* appartenant à la famille des Lamiacés, et *Laurus nobilis* appartenant à la famille des Lauracés, marquent un rendement de $1,56 \pm 0,05\%$ et $1,86 \pm 1,04\%$ respectivement. Ces huiles sont de couleur jaune pour la Menthe et transparent pour le Laurier avec une odeur agréable (Tableau 4).

Tableau 4. Caractéristiques organoleptiques et rendement des huiles essentielles extraites de *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis*.

Caractéristiques des HEs	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Laurus nobilis</i>
Odeur	Agréable	Agréable
Couleur	Jaune	Transparent
Rendement (%)	$1,56 \pm 0,05$	$1,86 \pm 1,04$

3.2. Composition chimique des huiles essentielles

Les composants des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis*, ont été identifiés par la technique de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

3.2.1. Composition chimique de *Mentha pulegium*

Les résultats de l'analyse chimique des huiles essentielles de *M. pulegium* sont présentés dans le tableau 5 et la figure 24. Quatorze constituants ont été identifiés, avec le Pulégone (72,50%) et l'Eucalyptol (10,44%) comme constituants majoritaires, suivie de P-Menthone 2-éthyl-5-propyle (5,46%) et de 2-Ethyl-5-propylcyclo pentanone (3,78%). Ces composés représentant 99,98% de l'huile totale, sont répartis en Monoterpènes oxygénés, monocycliques, bicycliques et en hydrocarbures (Tableau 6).

Tableau 5. Composition chimique de l'huile essentielle de *M. pulegium* : temps de rétention (TR) et concentrations (%) des différents constituants.

Pic	Composants	TR	Concentration %
1	α - Pinène	6,33	0,26
2	β - Phellandrène	7,44	0,38
3	3-Carène Bicyclo (3.1.0) Hexane	7,55	0,32
4	Eucalyptol	9,38	10,44
5	L-B-Pinène	11,90	1,90
6	P-Menthone 2-Ethyl-5-Propyle	14,09	5,46
7	2-Ethyl-5-propylcyclo Pentanone	14,53	3,78
8	Menthol	14,87	0,68
9	Isopulégone	14,99	1,12
10	α - Terpinéol	15,64	0,63
11	Pulégone	17,87	72,50
12	Pipériténone	21,99	1,51
13	D-Limonène	22,33	0,63
14	Eugénol Méthyl Ether	24,62	0,37
Total			99,98

Tableau 6. Principales familles chimiques de l'HE de *Mentha pulegium*.

Groupes chimiques	Total (%)	Constituants
Monoterpènes oxygénés cétones	80,59	Pulégone
		P-Menthone 2-Ethyl-5-propyle
		Pipériténone
		Isopulégone
Monoterpènes oxygénés alcools et éthers	15,90	Eucalyptol
		2-Ethyl-5- propylcyclo Pentanone
		Eugénol méthyl éther
		Menthol
		α - Terpinéol
Monoterpènes monocycliques	0,63	D-Limonène
Monoterpènes bicycliques	2,16	L-B-Pinène
		α - Pinène
Hydrocarbures	0,38	β - Phellandrène
Autres	0,32	3-Carène bicyclo (3.1.0) hexane
Total	99,98	

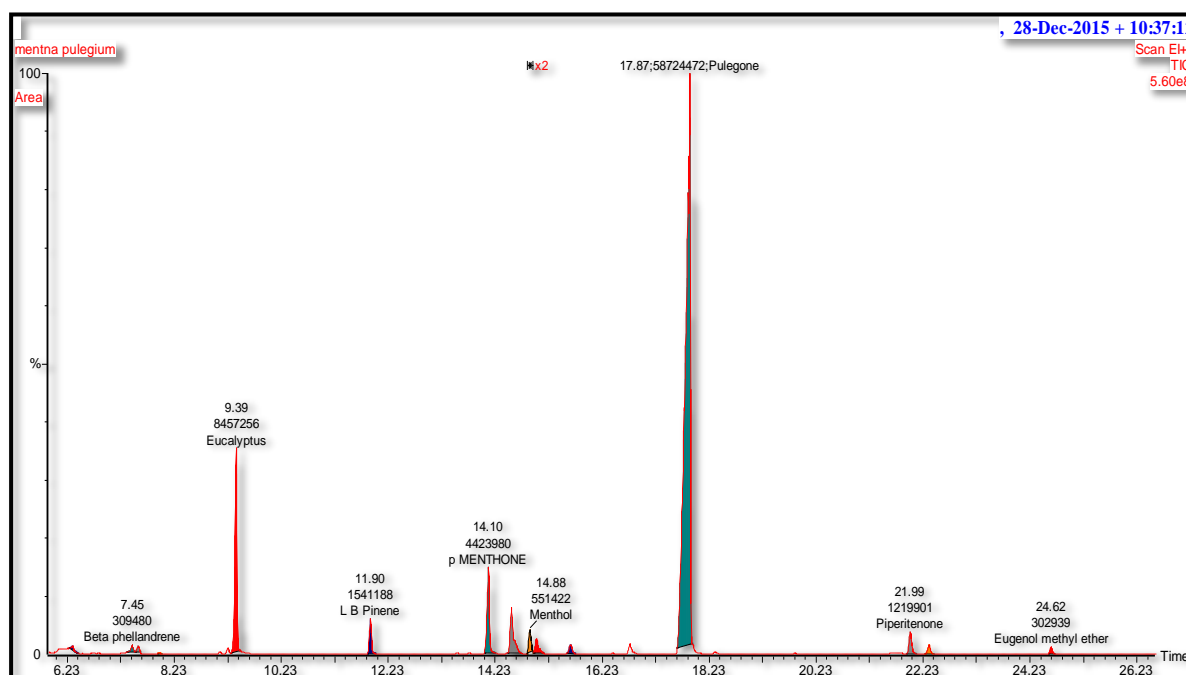


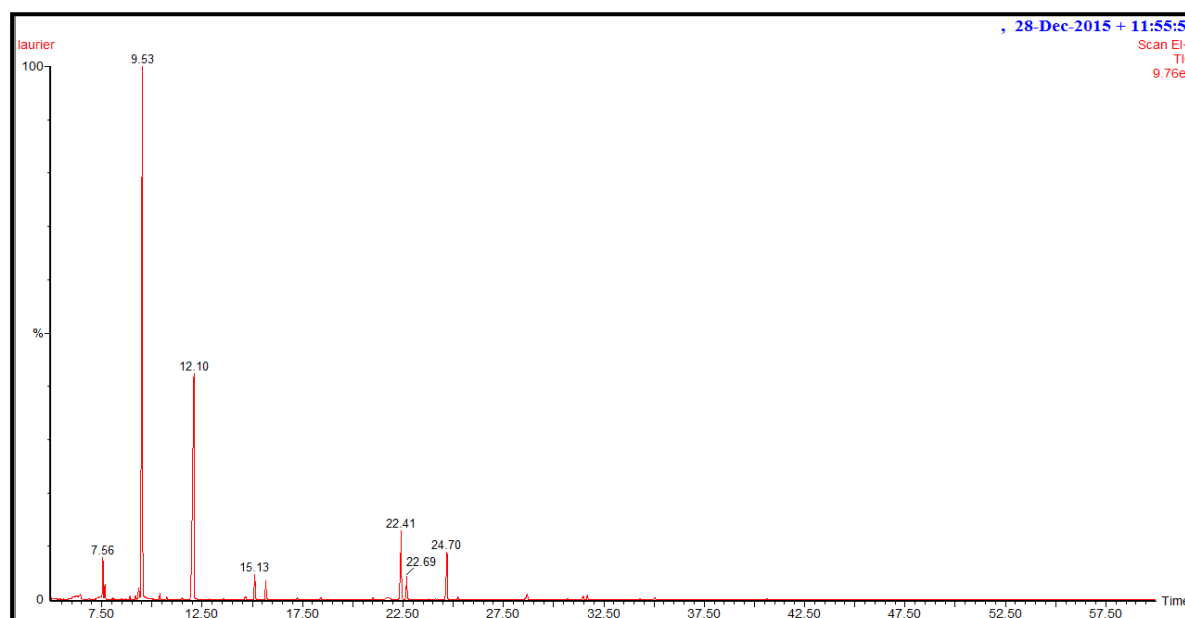
Figure 24. Chromatogramme (CPG-SM) de l'HE de *M. pulegium*
(Abondance en fonction du temps en min).

3.2.2. Composition chimique de *Laurus nobilis*

Les composants de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* représentent 99,83% de la totalité de l'huile (Tableau 7 ; Fig. 25). Les Monoterpènes constituent le groupe chimique majoritaire. Cette huile comprend dix-neuf composants, avec la prédominance d'oxyde terpénique (1,8-Cinéole) (47,35%), du Monoterpène bicyclique (35,81%) avec un constituant majoritaire, le L- β -Pinène (31,14%). Le reste des constituants présentent des pourcentages considérables tels que: l'Ester (Cyclopentène,3-isopropenyl-5,5-dimethyl) (0,13%); le Phénol (Eugénol) (1,92%); l'Ether (Eugénol méthyl éther et Cinnamaldéhyde) (4,91%); les Monoterpènes oxygénés cétones (P-menth-1-en 4-ol et α -Terpinéol) (2,17%); les Hydrocarbures isomériques (Sylvestrène et β -Terpinène) (6,75%) et les Monoterpènes oxygénés alcools (β -Thujène, Terpinolène, α -Thujène, γ - Terpilène et Pulégone) (0,79%) (Tableau 8).

Tableau 7. Composition chimique de l'HE de *L. nobilis* : temps de rétention (TR) et concentrations (%) des différents constituants.

Pic	Composants	TR	%
1	α -Thujène	6,248	0,08
2	3-Carène	7,564	2,19
3	α - Pinène	7,673	0,75
4	Terpinolène	8,915	0,17
5	Eucalyptol	9,529	47,35
6	γ - Terpilène	10,395	0,30
7	β -Terpinène	10,743	0,16
8	L- β -Pinène	12,100	31,14
9	α -Terpinéol	14,679	0,31
10	P-Menth-1-en 4-ol	15,129	2,04
11	2-Methyl bicyclo [4, 3, 0] non -1(6) -ene	15,681	1,57
12	Cyclopentène, 3-isopropenyl-5,5-Dimethyl	17,25	0,13
13	Pulégone	17,714	0,03
14	β - Thujène	18,41	0,21
15	Cinnamaldéhyde, (E)	18,949	0,02
16	Pseudolimonène	21,016	0,16
17	D-Sylvestrène	22,414	6,59
18	Eugénol	22,694	1,92
19	Eugénol méthyl éther	24,699	4,89
Total			99,83%

**Figure 25.** Chromatogramme (CPG-SM) de l'HE de *L. nobilis*

(Abondance en fonction du temps en min).

Tableau 8. Principales familles chimiques de l'HE de *Laurus nobilis*.

Groupes chimiques	Total (%)	Composants
Monoterpènes cycliques (oxydes terpéniques)	47,35	Eucalyptol (1,8-Cinéole)
Monoterpènes bicycliques	35,81	L-β- Pinène
		3-Carène
		2-Methyl bicyclo [4, 3, 0] non -1(6) -ene
		Pseudolimonène
Ester	0,13	α- Pinène
		Cyclopentène, 3-isopropenyl-5,5-Diméthyl
Phénol	1,92	Eugénol
Ether	4,91	Eugénol méthyl éther
		Cinnamaldéhyde
Monoterpènes oxygénés cétones	2,17	P-Menth-1-en 4 -ol
		α-Terpinéol
Monoterpènes oxygénés alcools	0,79	β- Thujène
		Terpinolène
		α-Thujène
		γ- Terpilène
		Pulégone
Hydrocarbures Isomériques	6,75	Sylvestrène
		β-Terpinène
Total	99,83%	

3.3. Toxicité des huiles essentielles

3.3.1. Toxicité de l'HE extraite de *Mentha pulegium* à l'égard des moustiques

Après un test de screening, différentes concentrations de l'HE de *M. pulegium* (12,5, 25, 50, 75 et 100ppm) ont été appliquées sur les larves du quatrième stade de *C. longiareolata*, de *C. pipiens* et d'*A. caspius*. Des séries témoins négatifs (eau seulement) et témoins positifs (eau+1ml d'éthanol) sont réalisées en parallèles. Aucune mortalité n'a été observée dans les deux séries pour les trois espèces testées. Les mortalités corrigées enregistrées au cours des tests de toxicité augmentent en fonction des concentrations appliquées avec une relation dose-réponse. De plus, les résultats obtenus montrent une mortalité plus importante chez *A. caspius* traduisant une grande sensibilité de cette espèce à l'action de l'HE de la menthe par rapport aux autres espèces étudiées. Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 5 groupes, chacun est représenté par un traitement et cela pour *C. longiareolata* et *C. pipiens* et 4 groupes pour *A. caspius* (Fig. 26).

La courbe dose-réponse exprimant les pourcentages de mortalité en fonction du logarithme des doses appliquées (Fig. 27) a permis l'estimation des concentrations létales (CL) ainsi que leurs intervalles de confiance (Tableau 8).

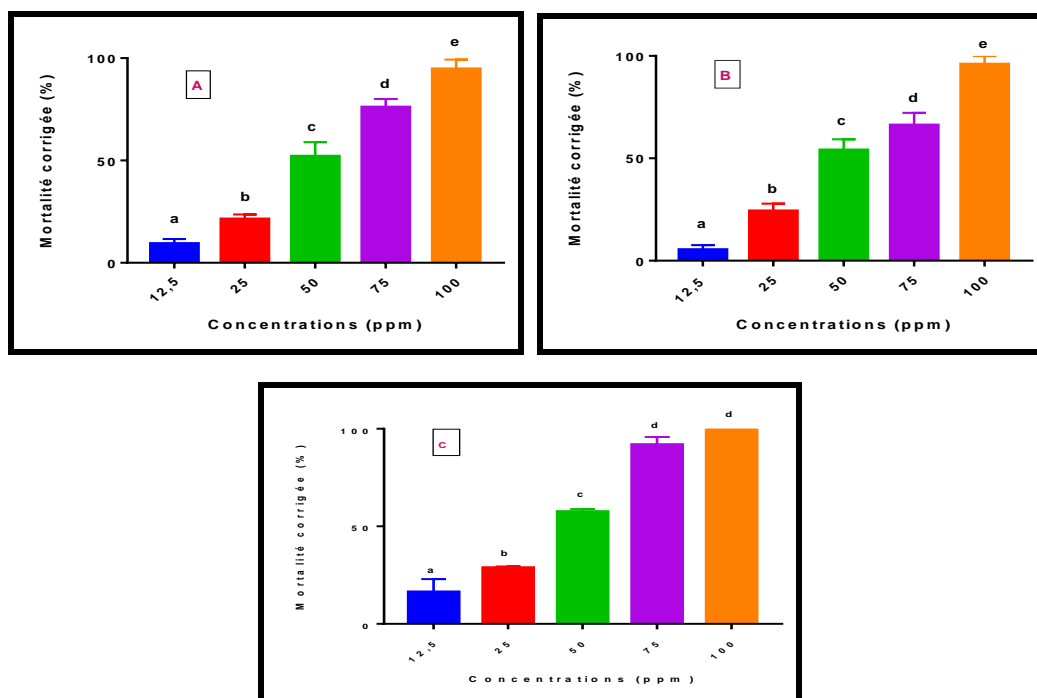


Figure 26. Toxicité de l'HE de *M. pulegium* (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuvées de *C. longiareolata* (A), *C. pipiens* (B) et *A. caspius* (C) : Mortalités corrigées (%) ($m \pm SD$, $n=3$ répétitions de 25 individus chacune). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.

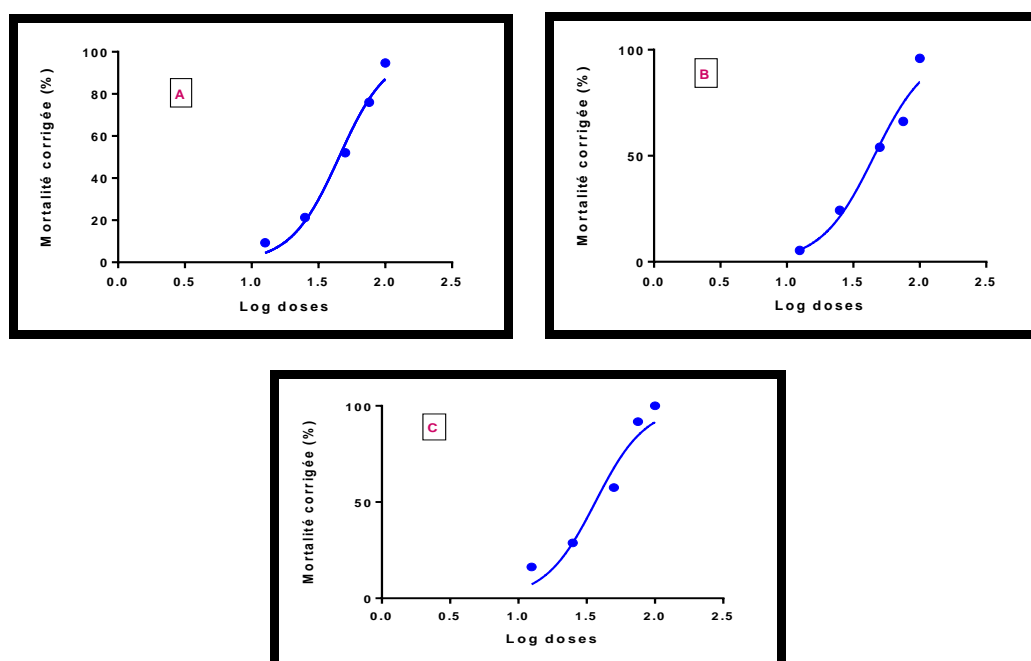


Figure 27. Effet de l'HE de *M. pulegium*, appliquée sur les larves 4 de *C. longiareolata* (A), *C. pipiens* (B) et *A. caspius* (C) : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.

Tableau 9. Toxicité de l'HE de *M. pulegium*, appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius*: Détermination des concentrations létales et leurs intervalles de confiance (95 %).

Espèces	R ²	HillSlope	Concentrations létales (ppm)	
			LC ₅₀ (95% IC)	LC ₉₀ (95% IC)
<i>C. longiareolata</i>	0,97	2,40	45,16 [35,14 - 56,08]	112,80 [78,17 - 196,30]
<i>C. pipiens</i>	0,98	2,18	38,75 [35,71 - 42,04]	85,91 [70,71 - 104,37]
<i>A. caspius</i>	0,99	2,37	28,16 [25,86 - 30,65]	53,75 [43,37 - 66,61]

3.3.2. Toxicité de l'HE extraite de *Laurus nobilis* à l'égard des moustiques

Après un test de screening, différentes concentrations de l'HE de *L. nobilis* (12,5, 25, 50, 75 et 100ppm) ont été appliquées sur les larves du quatrième stade de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius*. Des séries témoins négatifs (eau seulement) et témoins positifs (eau+1ml d'éthanol) sont réalisées en parallèles. Aucune mortalité n'a été observée dans les deux séries témoins pour les trois espèces testées. Les mortalités corrigées enregistrées au cours des tests de toxicité augmentent en fonction des concentrations appliquées avec une relation dose-réponse (Fig. 28). De plus, les résultats obtenus montrent que l'espèce *A. caspius* est la plus sensible au traitement par rapport à *Culex* et *Culiseta*.

Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 5 groupes, chacun est représenté par un traitement et cela pour *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius* (Fig. 28).

La courbe dose-réponse exprimant les pourcentages de mortalité en fonction du logarithme des doses appliquées (Fig. 29) a permis l'estimation des concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) ainsi que leurs intervalles de confiance (Tableau 10).

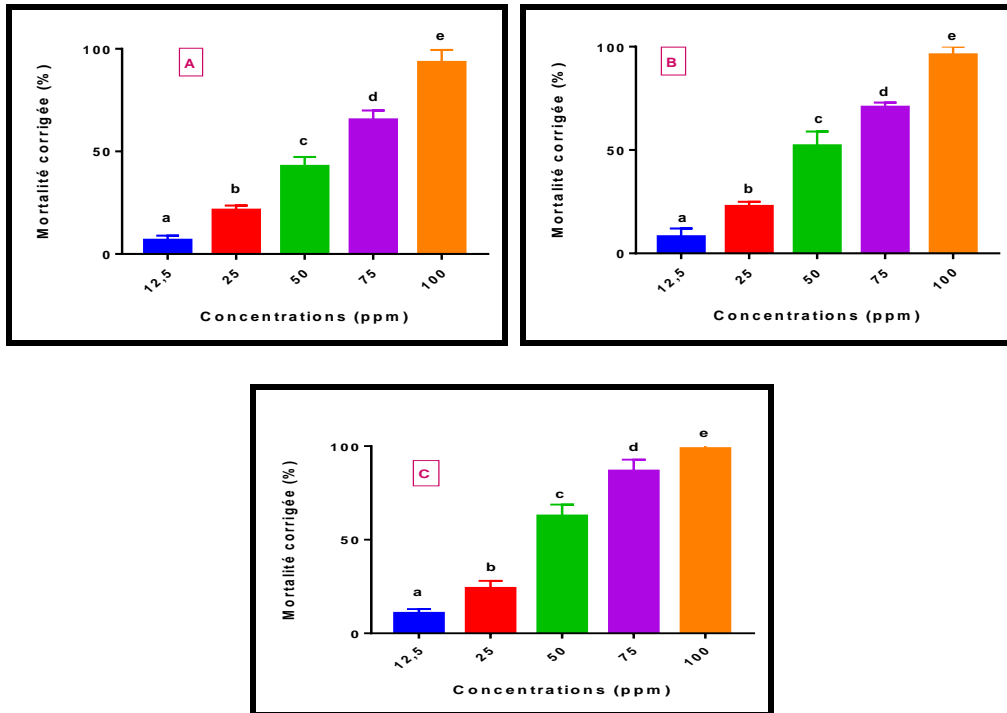


Figure 28. Toxicité de l'HE de *L. nobilis* (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata* (A), *C. pipiens* (B) et *A. caspius* (C) : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n=3$ répétitions de 25 individus chacune). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.

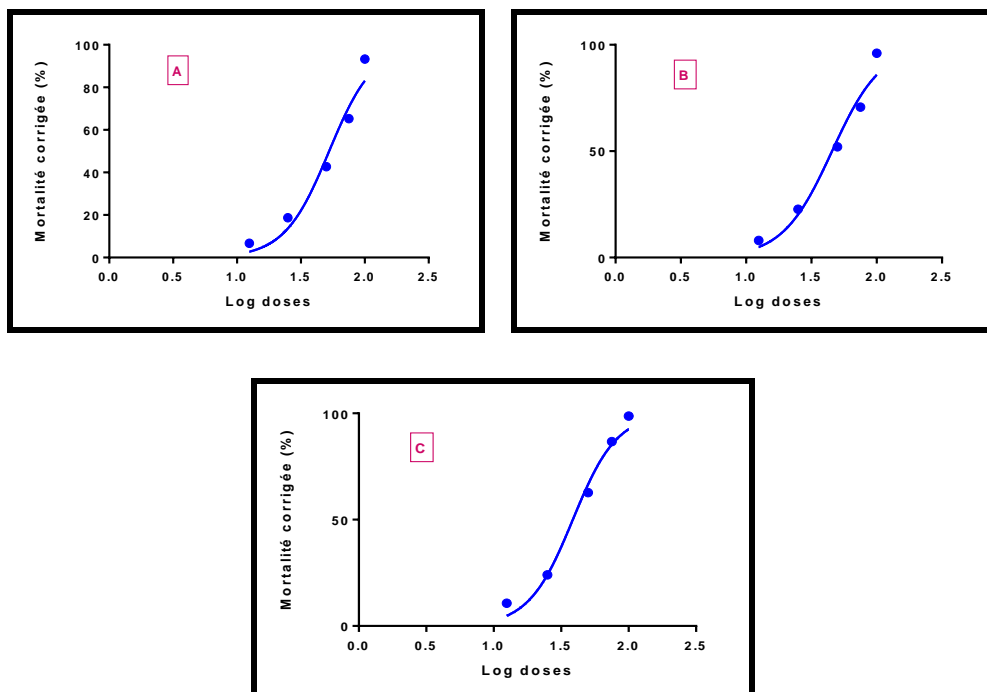


Figure 29. Effets de l'HE de *L. nobilis*, appliquée sur les larves 4 de *C. longiareolata* (A), *C. pipiens* (B) et *A. caspius* (C) : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.

Tableau 10. Toxicité de l'HE de *L. nobilis*, appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95 %).

Espèces	R ²	HillSlope	Concentrations létales (ppm)	
			LC ₅₀ (95% IC)	LC ₉₀ (95% IC)
<i>C. longiareolata</i>	0,96	2,47	52,62 [37,51 – 68,62]	127,80 [78,47 – 324,60]
<i>C. pipiens</i>	0,96	2,29	45,52 [33,22 – 59,34]	118,80 [76,06 – 253,60]
<i>A. caspius</i>	0,98	2,64	38,60 [30,83 – 47,29]	88,56 [63,82 – 135,70]

3.3.3 Efficacité comparée des HEs des deux plantes à l'égard des moustiques

Le tableau 11 présente les concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) des HEs obtenues chez les larves 4 de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius*. Ces résultats montrent que l'HE de *M. pulegium* est la plus efficace et la plus toxique comparativement à l'huile de *L. nobilis*. De plus, on note que *A. caspius* est l'espèce la plus sensible aux huiles de la Menthe et du Laurier par rapport à *Culex* et *Culiseta*.

Tableau 11. Efficacité comparée des HEs extraites de *M. pulegium* et de *L. nobilis* à l'égard des larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius*.

Plantes	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>		<i>A. caspius</i>	
	CL ₅₀ (ppm)	CL ₉₀ (ppm)	CL ₅₀ (ppm)	CL ₉₀ (ppm)	CL ₅₀ (ppm)	CL ₉₀ (ppm)
<i>M. pulegium</i>	45,16	112,80	38,75	85,91	28,16	53,75
<i>L. nobilis</i>	52,62	127,80	45,52	118,80	38,60	88,56

3.4. Impact des huiles essentielles sur les biomarqueurs

Les HEs de *M. pulegium* et *L. nobilis* ont été appliquées sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius* à deux concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀). L'effet de ces huiles a été évalué sur un biomarqueur de neurotoxicité, l'acétylcholinestérase (AChE) et deux biomarqueurs du système de détoxification, le glutathion (GSH) et les glutathion S-transférases (GSTs) à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) après traitement.

3.4.1. Activité spécifique de l'acétylcholinestérase

L'activité de l'AChE a été estimée chez les séries témoins et traitées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) et les résultats sont exprimés en micromoles par minutes et par milligramme de protéines ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

3.4.1.1. Effet chez *Culiseta longiareolata*

Les résultats de l'activité spécifique de l'AChE au cours des temps testés (24, 48 et 72 heures) chez les séries témoins et traitées (CL_{50} et CL_{90}) de *C. longiareolata* sont présentés dans le tableau 12. On remarque une diminution significative de cette activité ($p < 0,001$) à 24, 48 et 72 heures après traitement à l'HE de la Menthe et du Laurier.

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 4 groupes de moyennes à 24 et 48 heures, un groupe renfermant les témoins, un deuxième groupe est constitué des traités à la CL_{50} de la Menthe, un troisième groupe formé par les traités à la CL_{90} de la Menthe et un dernier groupe qui renferme les traités à la CL_{50} et la CL_{90} du Laurier. Par contre à 72 heures, 5 groupes sont signalés, chacun étant représenté par une série. A partir de ces données, on peut conclure que la Menthe est l'espèce qui a plus d'effet sur ce biomarqueur par rapport au Laurier.

Tableau 12. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL_{50} et CL_{90}) sur l'activité spécifique d'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
		CL_{50}	CL_{90}	CL_{50}	CL_{90}
24	32,45 \pm 1,22 a	23,54 \pm 0,35 b	18,29 \pm 0,03 c	26,28 \pm 0,05 d	21,75 \pm 0,06 d
48	36,06 \pm 1,66 a	24,57 \pm 0,12 b	18,12 \pm 0,13 c	28,38 \pm 0,04 d	22,43 \pm 0,31 d
72	37,40 \pm 2,12 a	22,99 \pm 0,19 b	18,08 \pm 0,13 c	29,76 \pm 0,62 d	25,83 \pm 0,19 e

3.4.1.2. Effet chez *Culex pipiens*

Pour *C. pipiens*, les résultats mentionnés dans le tableau 13, représentent l'activité spécifique de l'AChE chez les larves témoins et traitées à la Menthe et au Laurier (CL_{50} et CL_{90}) à différentes périodes (24, 48 et 72h) après traitement. Cette activité révèle une diminution significative ($P < 0,001$) à 24, 48 et 72 heures après traitement.

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 5 groupes de moyennes à 24 et 48 heures, chacun étant représenté par une série. Par contre à 72h, 3 groupes sont constatés, le premier groupe est constitué des témoins, un deuxième formé par les traités à la CL₅₀ de la Menthe et du Laurier et un dernier groupe qui englobe les traités à la CL₉₀ des deux plantes. A partir de ces résultats, on note que le Laurier est la plante qui a l'effet le plus marqué sur ce biomarqueur par rapport à la Menthe. Par ailleurs, un effet dose a été signalé pour chaque huile essentielle appliquée.

Tableau 13. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur l'activité spécifique d'ACHé (µM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de *C. pipiens* (m ± SD, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
		CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	34,49 ± 0,24 a	31,37 ± 0,09 b	27,84 ± 0,22 c	30,10 ± 0,09 d	26,57 ± 0,22 e
48	34,16 ± 0,19 a	32,40 ± 0,47 b	25,35 ± 0,04 c	31,13 ± 0,47 d	24,07 ± 0,04 e
72	34,49 ± 0,28 a	29,24 ± 1,04 b	24,43 ± 0,23 c	27,96 ± 1,04 b	23,15 ± 0,23 c

3.4.1.3. Effet chez *Aedes caspius*

Les résultats de l'activité spécifique de l'ACHé chez les témoins et les traités à la Menthe et au Laurier sont présentés dans le tableau 14. Ils révèlent une diminution significative à 24 (p=0,001), 48 (p<0,001) et 72 heures (p<0,001) après traitement.

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 5 groupes de moyennes à 48 et 72 heures, chacun étant représenté par une série. Par contre à 24 heures, 2 groupes sont constatés, le premier groupe est constitué des témoins et des traités (CL₅₀ et CL₉₀) au Laurier et un deuxième groupe formé par les traités à la Menthe avec les deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀). A partir de ces résultats, on constate que la Menthe est l'espèce qui a plus d'effet sur ce biomarqueur par rapport au Laurier.

Tableau 14. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur l'activité spécifique d'ACHé (µM/min/mg de protéines) chez les larves 4 d'*A. caspius* (m ± SD, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
		CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	22,56 ± 0,86 a	18,75 ± 0,85 b	18,27 ± 0,08 b	21,31 ± 0,86 a	20,03 ± 0,86 a
48	22,65 ± 0,18 a	18,85 ± 0,18 b	17,58 ± 0,18 c	21,40 ± 0,18 d	20,13 ± 0,18 e
72	22,95 ± 0,09 a	19,15 ± 0,09 b	17,21 ± 0,15 c	21,70 ± 0,09 d	20,42 ± 0,09 e

3.4.2. Activité spécifique des glutathion S-transférases

L'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius* témoins et traités (CL_{50} et CL_{90}) est enregistrée à 24, 48 et 72 heures après traitement.

3.4.2.1. Effet chez *Culiseta longiareolata*

L'activité spécifique des GSTs chez les témoins et les traités à la Menthe et au Laurier de *C. longiareolata* marque une augmentation significative ($p < 0,001$) à tous les temps testés (24, 48 et 72 heures).

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 4 groupes de moyennes à 24 heures, un groupe formé des témoins, un deuxième groupe constitué des traités à la CL_{50} de la Menthe, un troisième groupe renferme les traités à la CL_{90} de la même plante et un dernier groupe qui englobe les traités au Laurier avec les deux concentrations testées. Par contre à 48h, 2 groupes sont constatés, le premier groupe est constitué des témoins, des traités au Laurier (CL_{50} et CL_{90}) et des traités à la CL_{50} de la Menthe et un deuxième groupe formé par les traités à la Menthe avec la CL_{90} . A 72h, 2 groupes sont également constatés, un groupe composé des témoins et des traités au Laurier avec les 2 concentrations appliquées et un deuxième groupe formé des traités à la Menthe (CL_{50} et CL_{90}). A partir de ces résultats, on constate que la Menthe est l'espèce qui affecte le plus ce biomarqueur par rapport au Laurier.

Tableau 15. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL_{50} et CL_{90}) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
		CL_{50}	CL_{90}	CL_{50}	CL_{90}
24	24,48 \pm 0,28 a	58,85 \pm 0,34 b	93,56 \pm 2,91 c	30,17 \pm 0,04 d	33,30 \pm 1,60 d
48	27,29 \pm 0,13 a	44,35 \pm 1,97 a	95,48 \pm 8,87 b	31,01 \pm 0,17 a	33,54 \pm 5,89 a
72	29,45 \pm 0,37 a	81,58 \pm 4,91 b	90,83 \pm 8,89 b	30,50 \pm 0,39 a	36,33 \pm 0,84 a

3.4.2.2. Effet chez *Culex pipiens*

L'activité spécifique des GSTs chez les témoins et les traités à la Menthe et au Laurier de *C. pipiens* montre une augmentation significative et cela à 24 ($p < 0,001$), 48 ($p < 0,001$) et 72 heures ($p = 0,002$).

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence l'existence de 3 groupes différents à 24h, le premier est formé des témoins, le second est constitué des traités à la Menthe (CL₅₀) et des traités au Laurier avec les deux concentrations testées et le troisième représenté par les traités à la Menthe avec la plus forte dose (CL₉₀). A 48h, 4 groupes sont signalés, le premier groupe constitué des témoins, le deuxième groupe représenté par les traités à la Menthe avec la plus faible dose (CL₅₀), le troisième représenté par les traités à la Menthe avec la plus forte dose (CL₉₀) et le dernier groupe englobe les traités au Laurier et cela, avec les deux doses appliquées. Par contre à 72 heures, les résultats montrent l'existence de 3 groupes: le premier constitué des témoins, le deuxième englobe les traités à la Menthe (CL₅₀ et CL₉₀) et le troisième englobe les traités au Laurier (CL₅₀ et CL₉₀). De plus, on remarque que la Menthe montre l'effet le plus marqué sur ce biomarqueur.

Tableau 16. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de *C. pipiens* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
		CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	33,44 \pm 1,09 a	52,90 \pm 0,74 b	59,61 \pm 2,19 c	49,40 \pm 0,72 b	51,91 \pm 0,52 b
48	35,53 \pm 2,40 a	62,61 \pm 0,71 b	75,01 \pm 1,19 c	50,20 \pm 2,04 d	55,92 \pm 4,63 d
72	35,92 \pm 0,55 a	81,06 \pm 4,20 b	86,10 \pm 4,41 b	57,24 \pm 0,92 c	59,71 \pm 0,54 c

3.4.2.3. Effet chez *Aedes caspius*

Les résultats de l'activité spécifique des GSTs chez les séries témoins et traitées à la CL₅₀ et la CL₉₀ de la Menthe et du Laurier sont présentés dans le tableau 17. On remarque une augmentation significative de ce biomarqueur à 48 et 72 heures ($p < 0,001$), et aucun effet n'a été signalé à 24 heures puisqu'aucune différence significative ($p > 0,005$) n'a été constaté entre les témoins et les traités avec les deux plantes.

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence un seul groupe à 24 heures, englobant les témoins, les traités à la Menthe et les traités au Laurier. Par contre, à 48h, 2 groupes sont signalés, un groupe formé des témoins et un deuxième constitué des

traités à la Menthe et au Laurier. A 72h, on a noté également la présence de 2 groupes, un groupe formé des témoins et des traités au Laurier (CL₅₀), et un deuxième constitué des traités à la CL₅₀ et CL₉₀ de la Menthe et les traités avec la forte dose (CL₉₀) du Laurier.

Par ailleurs, on remarque que la Menthe qui a plus d'effet sur ce biomarqueur comparativement au Laurier.

Tableau 17. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur l'activité spécifique des GSTs (µM/min/mg de protéines) chez les larves du quatrième stade d'*A. caspius* (m ± SD, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
		CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	16,96 ± 0,48 a	29,49 ± 9,07 a	34,33 ± 1,48 a	24,45 ± 4,43 a	26,45 ± 6,73 a
48	17,78 ± 1,25 a	30,04 ± 2,73 b	34,48 ± 2,92 b	37,17 ± 0,63 b	38,35 ± 0,84 b
72	18,97 ± 0,95 a	39,49 ± 2,40 b	41,40 ± 0,37 b	25,70 ± 3,64 a	43,21 ± 1,48 b

3.4.3. Taux du Glutathion

Le taux du glutathion (µM/mg de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius* témoins et traitées (CL₅₀ et CL₉₀) est enregistré à 24, 48 et 72 heures après traitement.

3.4.3.1. Effet chez *Culiseta longiareolata*

Les résultats du taux du glutathion mentionnés dans le tableau 18, révèlent une diminution significative (p<0,001) après traitement aux HEs de la Menthe et du Laurier et cela à tous les temps testés (24, 48 et 72 heures).

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 4 groupes de moyennes à 24 heures, le premier groupe est constitué des témoins, un deuxième englobe les traités à la Menthe, et cela, avec les deux doses appliquées (CL₅₀ et CL₉₀), un troisième représenté par les traités au Laurier avec la plus faible dose testée (CL₅₀) et un dernier groupe représenté par les traités au Laurier avec la dose la plus élevée (CL₉₀). Par ailleurs 4 groupes de moyennes ont été constatés à 48 heures après traitement dont le premier groupe est formé des témoins, un second groupe constitué des traités à la Menthe (CL₅₀), un troisième groupe englobe les traités à la CL₉₀ de la Menthe et un dernier groupe qui renferme les traités à la CL₅₀ et la CL₉₀ du Laurier. Par contre à 72 heures, 2 groupes sont constatés, le premier groupe est constitué des témoins et un deuxième englobe toutes les séries traitées.

A partir de ces résultats, on note que la Menthe est l'huile qui a plus d'effet sur le taux de glutathion.

Tableau 18. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le taux de la GSH (µM/ mg de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* (m ± SD, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
		CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	180,63 ± 0,22 a	155,17 ± 0,11 b	153,48 ± 1,10 b	164,03 ± 0,05 c	160,80 ± 0,28 d
48	172,21 ± 1,99 a	144,80 ± 1,29 b	138,78 ± 0,03 c	151,71 ± 2,94 d	148,07 ± 2,41 d
72	167,25 ± 0,00 a	133,08 ± 1,69 b	133,31 ± 0,54 b	135,63 ± 0,20 b	133,73 ± 0,26 b

3.4.3.2. Effet chez *Culex pipiens*

Pour *C. pipiens*, les résultats mentionnés dans le tableau 19, mettent en évidence une diminution significative (p<0,001) du taux du glutathion chez les traités à la Menthe et au Laurier à 24, 48 et 72 heures après traitement.

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 3 groupes de moyennes à 24 heures, le premier groupe englobe les témoins et les traités du Laurier avec la plus faible dose testée (CL₅₀), un deuxième est constitué des traités à la Menthe, et cela, avec les deux doses appliquées (CL₅₀ et CL₉₀) et un troisième représenté par les traités à la CL₉₀ du Laurier. À 48 heures, 4 groupes sont signalés, un groupe constitué des témoins, un second groupe formé des traités à la CL₅₀ de la Menthe, un troisième groupe représenté par les traités avec la plus forte concentration (CL₉₀) des deux plantes et un dernier groupe qui renferme les traités à la CL₅₀ du Laurier. Par contre à 72 heures, 2 groupes sont constatés, le premier groupe est constitué des témoins, et un deuxième englobe les traités avec les 2 plantes (CL₅₀ et CL₉₀).

A partir de ces résultats, on peut conclure que la menthe est l'huile qui a plus d'effet sur ce biomarqueur.

Tableau 19. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le taux de la GSH (µM/ mg de protéines) chez les larves 4 de *C. pipiens* (m ± SD, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
		CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	220,82 ± 0,84 a	176,42 ± 3,53 b	167,76 ± 0,06 b	216,68 ± 1,37 a	202,15 ± 7,30 c
48	220,43 ± 2,11 a	211,77 ± 2,03 b	163,75 ± 1,95 c	154,29 ± 2,45 d	161,26 ± 0,07 c
72	220,43 ± 2,11 a	144,58 ± 2,37 b	144,48 ± 0,22 b	148,48 ± 0,93 b	145,80 ± 2,44 b

3.4.3.3. Effet chez *Aedes caspius*

Les résultats du taux de la GSH chez les témoins et les traités à la Menthe et au Laurier sont présentés dans le tableau 20. Ils révèlent une diminution significative à 24 ($p=0,0024$), 48 ($p<0,001$) et 72 heures ($p<0,001$) après traitement.

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence 4 groupes de moyennes à 24 heures, le premier groupe englobe les témoins et les traités à la CL₅₀ du Laurier, un deuxième groupe renfermant les traités à la CL₅₀ de la Menthe, un troisième groupe composé des traités à la CL₉₀ de la Menthe et un dernier groupe constitué des traités à la dose la plus élevée (CL₉₀) du Laurier. A 48 heures, 5 groupes sont signalés, chaque groupe est représenté par une série. 3 groupes de moyennes sont constatés à 72 heures, un groupe renfermant les témoins et les traités à la CL₅₀ du Laurier, un deuxième groupe est constitué des traités à la CL₅₀ et CL₉₀ de la Menthe et un dernier groupe qui renferme les traités à la CL₉₀ du Laurier. De plus, on remarque que la Menthe est la plante qui a plus d'effet sur ce biomarqueur.

Tableau 20. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le taux de la GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 d'*A. caspius* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
		CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	162,27 \pm 0,15 a	138,53 \pm 1,29 b	126,68 \pm 5,05 c	157,76 \pm 0,05 a	147,21 \pm 1,10 d
48	160,98 \pm 0,00 a	132,51 \pm 0,03 b	126,11 \pm 2,12 c	154,53 \pm 0,28 d	145,44 \pm 2,94 e
72	157,48 \pm 0,87 a	129,36 \pm 0,20 b	126,05 \pm 5,09 b	148,90 \pm 0,11 a	141,80 \pm 2,41 c

3.5. Impact des HEs sur la croissance des moustiques

3.5.1. Effet sur la croissance pondérale

L'effet des HEs (CL₅₀ et CL₉₀) de la Menthe et du Laurier a été testé sur la croissance pondérale des larves de trois espèces de moustiques, *C. pipiens*, *C. longiareolata* et *A. caspius* à différentes périodes (24, 48 et 72 heures).

3.5.1.1. Effet chez *Culiseta longiareolata*

Pour *C. longiareolata*, les résultats mentionnés dans le tableau 21, mettent en évidence une diminution significative ($p<0,001$) du poids corporel des larves traitées à la Menthe et au Laurier et cela, à 24, 48 et 72h après traitement. Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence 3 groupes à 24 heures, le premier groupe englobe les témoins et les

traités à la CL₅₀ de la Menthe, un deuxième groupe est constitué des traités à la CL₉₀ de la Menthe et un troisième groupe formé par les traités à la CL₅₀ et CL₉₀ du Laurier. A 48h, 4 groupes sont constatés, le premier groupe est constitué des témoins, un deuxième groupe formé par les traités à la CL₅₀ de la Menthe, un troisième représenté par les traités à la CL₉₀ de la Menthe et un dernier groupe englobe les traités au Laurier avec les deux doses appliquées. Par ailleurs, 3 groupes sont signalés à 72 heures, le premier groupe représenté par les témoins, un second constitué des traités à la CL₅₀ de la Menthe et du Laurier et un dernier formé des traités à la CL₉₀ de deux plantes. A partir de ces résultats, on peut conclure que ce paramètre est plus affecté par le Laurier qu'à la Menthe.

Tableau 21. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le poids corporel (mg) des larves 4 de *C. longiareolata* à différentes périodes (m ± SD, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus) : test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
		CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	5,72 ± 0,03 a	5,66 ± 0,16 a	2,71 ± 0,14 b	3,92 ± 0,62 c	2,48 ± 0,13 c
48	7,33 ± 0,09 a	5,42 ± 0,16 b	1,84 ± 0,26 c	3,78 ± 0,13 d	1,58 ± 0,20 d
72	9,67 ± 0,09 a	3,29 ± 0,79 b	1,47 ± 0,10 c	3,04 ± 0,23 b	1,13 ± 0,21 c

3.5.1.2. Effet chez *Culex pipiens*

Les résultats de la croissance pondérale présentés dans le tableau 22, révèlent une diminution significative (p<0,001) après traitement par les HEs de la Menthe et du Laurier et cela à tous les temps testés par rapport aux témoins.

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 3 groupes de moyennes à 24, 48 et 72 heures, un groupe renfermant les témoins, un deuxième groupe est constitué des traités à la CL₅₀ de la Menthe et du Laurier et un troisième groupe formé par les traités à la CL₉₀ de deux plantes testées. A partir de ces résultats, on note que les deux plantes ont le même effet sur ce paramètre morphométrique

Tableau 22. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le poids corporel (mg) des larves 4 de *C. pipiens* à différentes périodes (m ± SD, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
		CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	3,04 ± 0,05 a	0,90 ± 0,04 b	0,36 ± 0,08 c	0,77 ± 0,00 b	0,40 ± 0,07 c
48	3,23 ± 0,02 a	0,83 ± 0,25 b	0,29 ± 0,03 c	0,53 ± 0,02 b	0,29 ± 0,06 c
72	3,44 ± 0,02 a	0,66 ± 0,03 b	0,18 ± 0,00 c	0,45 ± 0,14 b	0,13 ± 0,02 c

3.5.1.3. Effet chez *Aedes caspius*

Les huiles essentielles extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* induisent une diminution significative ($p < 0,001$) du poids du corps des larves 4 d'*A. caspius* à 24, 48 et 72 heures (Tableau 23).

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 3 groupes de moyennes à 24 et 48 heures, un groupe renfermant les témoins, un deuxième groupe est constitué des traités à la CL₅₀ de la Menthe et du Laurier et un troisième groupe formé des traités à la CL₉₀ de deux plantes. Par contre à 72 heures, 4 groupes sont signalés, un groupe constitué des témoins, un second englobe les traités à la CL₅₀, de la Menthe, un troisième formé des traités à la CL₉₀ des deux plantes et un quatrième représenté par les traités à la CL₅₀ du Laurier. De plus, on note que le Laurier et la Menthe ont un effet comparable sur la morphométrie de cette espèce.

Tableau 23. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le poids corporel (mg) des larves 4 d'*A. caspius* à différentes périodes ($m \pm SD$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
		CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	2,76 ± 0,01 a	2,02 ± 0,16 b	0,76 ± 0,02 c	1,83 ± 0,10 b	0,65 ± 0,09 c
48	2,97 ± 0,01 a	1,63 ± 0,05 b	0,59 ± 0,04 c	1,19 ± 0,28 b	0,54 ± 0,10 c
72	3,05 ± 0,03 a	1,29 ± 0,12 b	0,47 ± 0,04 c	0,74 ± 0,01 d	0,45 ± 0,04 c

3.5.2. Effet sur la croissance linéaire des moustiques

L'effet des HEs de la Menthe et du Laurier (CL₅₀ et CL₉₀) a été testé sur la croissance linéaire des larves de trois espèces de moustiques, *C. pipiens*, *C. longiareolata* et *A. caspius* à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) après traitement.

3.5.2.1. Effet chez *Culiseta longiareolata*

Les résultats mentionnés dans le tableau 24 montrent une diminution significative du volume corporel des larves traitées à la Menthe et au Laurier et cela à 24 ($p < 0,001$), 48 ($p < 0,001$) et 72 heures ($p < 0,001$).

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 2 groupes de moyennes à 24, 48 et 72 heures, le premier groupe est constitué des témoins et un deuxième formé par les traités à la Menthe et au Laurier et cela, avec les deux doses appliquées. A

partir de ces résultats, on note que les deux plantes ont le même effet sur ce paramètre puisqu'aucune différence n'a été signalée entre les concentrations létales de ces deux huiles.

Tableau 24. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le volume corporel (mm³) des larves 4 de *C. longiareolata* à différentes périodes (m ± SD, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
		CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	13,00 ± 1,19 a	10,83 ± 0,26 b	5,57 ± 1,22 b	8,51 ± 0,71 b	4,86 ± 0,91 b
48	17,30 ± 0,66 a	10,22 ± 0,91 b	5,04 ± 0,81 b	6,15 ± 0,51 b	3,54 ± 0,41 b
72	21,15 ± 1,18 a	8,55 ± 0,90 b	4,60 ± 0,27 b	5,35 ± 0,15 b	3,19 ± 0,75 b

3.5.2.2. Effet chez *Culex pipiens*

L'application des HEs de *M. pulegium* et du *L. nobilis*, provoque une diminution significative du volume corporel des larves 4 et cela, à tous les temps testés (p<0,001) (Tableau 25).

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 3 groupes de moyennes à 48 et 72 heures, le premier groupe est constitué des témoins, un deuxième formé par des traités à la CL₅₀ de la Menthe et du Laurier et un dernier groupe englobe les traités à la CL₉₀ de deux plantes étudiées. 2 groupes de moyennes sont signalés également à 24 heures, le premier groupe constitué des témoins et traités à la CL₅₀ des deux plantes et un second formé des traités à la CL₉₀ de la Menthe et du Laurier. De plus, on note que les huiles de ces deux plantes ont le même effet sur ce paramètre.

Tableau 25. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le volume corporel (mm³) des larves 4 de *C. pipiens* à différentes périodes (m ± SD, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
		CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	6,13 ± 0,10 a	5,81 ± 0,40 a	3,06 ± 0,08 b	4,78 ± 0,60 a	2,08 ± 0,02 b
48	7,83 ± 0,36 a	4,89 ± 0,36 b	1,95 ± 0,08 c	3,47 ± 0,68 b	0,77 ± 0,31 c
72	12,66 ± 0,76 a	3,82 ± 0,08 b	0,74 ± 0,23 c	2,58 ± 0,09 b	0,38 ± 0,07 c

3.5.2.3. Effet chez *Aedes caspius*

Chez les larves d'*A. caspius*, l'étude comparative des séries témoins et traitées à la Menthe et au Laurier, montre une diminution significative du volume corporel des larves traitées par rapport aux témoins à 24, 48 et 72 heures (p<0,001).

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 3 groupes de moyennes à 24h, un groupe renfermant les témoins, un deuxième groupe est constitué des traités à la CL₅₀ de la Menthe et du Laurier et un troisième groupe formé par les traités à la CL₉₀ de ces deux plantes. Par contre à 48 heures, 4 groupes sont signalés, le premier représenté par les témoins, un second formé des traités à la CL₅₀ de la Menthe, un troisième constitué des traités à la CL₉₀ des 2 plantes et le dernier englobe les traités à la CL₅₀ du Laurier. 3 groupes sont signalés à 72 heures, le premier est représenté par les témoins, un deuxième est constitué des traités à la CL₅₀ de la Menthe et un dernier groupe renferme les traités à la CL₉₀ de la Menthe et les traités au Laurier avec les deux doses appliquées. On constate que Laurier est la plante qui a plus d'effet sur ce paramètre par rapport à la Menthe.

Tableau 26. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le volume corporel (mm³) des larves 4 d'*A. caspius* à différentes périodes (m ± SD, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
		CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	1,55 ± 0,08 a	1,07 ± 0,06 b	0,59 ± 0,00 c	0,96 ± 0,02 b	0,45 ± 0,03 c
48	2,53 ± 0,13 a	0,95 ± 0,03 b	0,17 ± 0,01 c	0,62 ± 0,05 d	0,24 ± 0,01 c
72	3,18 ± 0,12 a	0,62 ± 0,02 b	0,10 ± 0,00 c	0,33 ± 0,06 c	0,11 ± 0,00 c

3.6. Impact des HEs sur la composition biochimique des moustiques

L'effet des HEs (CL₅₀ et CL₉₀) de la Menthe et du Laurier a été testé sur les réserves métaboliques (protéines, glucides et lipides) chez les larves 4 de trois espèces de moustiques, *C. pipiens*, *C. longiareolata* et *A. caspius* à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) après traitement.

3.6.1. Effet sur le contenu en protéines totales

Chez *C. longiareolata*, et d'après le test HSD de Tukey, le contenu en protéines marque trois groupes de moyennes à 24 heures, un groupe composé des témoins et des traités à la CL₅₀ de la Menthe, un deuxième groupe formé des traités à la CL₉₀ des deux plantes et un dernier groupe renfermant les traités à la CL₅₀ du Laurier, A 48 et 72 heures, 4 groupes sont observés, un groupe constitué des témoins et des traités à la Menthe avec CL₅₀, un second groupe formé des traités à la CL₉₀ de la Menthe, un troisième groupe renfermant les traités à la CL₅₀ du Laurier et un dernier groupe qui englobe les traités à la CL₉₀ du *L. nobilis*.

Le classement des moyennes du contenu en protéines chez *C. pipiens* révèle deux groupes de moyennes à 24 et 48 heures, un premier groupe constitué des témoins et des traités à la

CL₅₀ des huiles des deux plantes et un deuxième groupe formé des traités à la CL₉₀ de la Menthe et du Laurier. A 72 heures, quatre groupes de moyennes ont été constatés, chaque série comme étant un groupe sauf les traités à la CL₉₀ des deux plantes se rassemblent dans un seul groupe.

Chez *A. caspius*, le test HSD met en évidence deux groupes de moyennes à 24 et 48h, le premier formé uniquement de témoins et un second constitué des traités avec les deux doses testées de la Menthe et du Laurier. A 72h, deux groupes ont été également signalés, le premier groupe renferme les témoins et les traités à la CL₅₀ de la Menthe et le dernier groupe formé des autres séries.

En comparant les espèces dans la même série, on constate deux groupes de moyennes pour les témoins à 24 et 48h où *Culiseta* et *Culex* forment le premier groupe et *Aedes* représente le second groupe. A 72h, trois groupes sont constatés, chacun étant représenté par une espèce.

Pour les traités à la CL₅₀ de la Menthe, trois groupes de moyennes ont été signalés, chacun étant représenté par une espèce au cours des périodes testées (24, 48 et 72 heures). Par contre les traités à la CL₉₀ de la même espèce, les résultats mettent en évidence deux groupes de moyennes à 24h, un groupe formé par *Culiseta* et un deuxième groupe composé de *Culex* et *Aedes*. A 48h, trois groupes sont signalés, chacun étant représenté par une espèce et à 72h, *Culiseta* et *Culex* forment un groupe et *Aedes* forme un autre groupe. Par ailleurs, les séries traitées à la CL₅₀ du Laurier, le contenu en protéine marque 2 groupes de moyennes à 24 et 48 heures, le premier groupe constitué de *Culiseta* et *Culex* un second groupe formé d'*Aedes*. Par contre à 72h, on note 3 groupes, chacun étant représenté par une espèce. A 48 et 72 heures, 2 groupes sont constatés un groupe formé de *Culiseta* et *Culex* et un autre constitué d'*Aedes*. Finalement, pour les séries traitées à la CL₉₀, les 3 espèces forment un seul groupe. A partir de ces résultats, on peut conclure que les protéines chez *A. caspius* est les plus affectées par rapport à celles chez *Culex* et *Culiseta* et que le Laurier est la plante qui affecte le plus ce contenu.

Tableau 27. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le contenu en protéines totales (µg/individu) chez les larves 4 de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius* à différentes périodes (m ± SD, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Espèces	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
			CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	<i>C. longiareolata</i>	107,35 ± 3,38 Aa	102,26 ± 3,10 Aa	68,08 ± 2,36 Ab	82,30 ± 1,72 Ac	59,33 ± 1,35 Ab
	<i>C. pipiens</i>	81,79 ± 4,23 Ba	79,90 ± 0,29 Ba	59,81 ± 2,18 Bb	81,65 ± 2,18 Aa	57,88 ± 0,16 Ab
	<i>A. caspius</i>	76,82 ± 0,41 Ba	59,52 ± 0,97 Cb	58,98 ± 0,88 Bb	59,02 ± 0,32 Bb	56,96 ± 0,04 Ab
48	<i>C. longiareolata</i>	89,29 ± 2,80 Aa	83,58 ± 0,32 Aa	67,90 ± 1,13 Ab	79,77 ± 2,45 Ac	59,05 ± 1,54 Ad
	<i>C. pipiens</i>	81,39 ± 1,46 Ba	79,04 ± 0,36 Ba	57,40 ± 0,20 Bb	81,32 ± 0,2 Aa	57,24 ± 0,03 Ab
	<i>A. caspius</i>	74,17 ± 2,27 Ba	58,36 ± 0,08 Cb	53,68 ± 0,80 Cb	57,82 ± 0,02 Bb	50,55 ± 3,40 Bc
72	<i>C. longiareolata</i>	80,98 ± 1,65 Aa	80,85 ± 2,72 Aa	58,45 ± 1,65 Ab	68,33 ± 0,84 Ac	56,78 ± 0,07 Ad
	<i>C. pipiens</i>	77,59 ± 0,13 Ba	69,31 ± 1,10 Bb	54,87 ± 1,89 Ac	57,54 ± 1,89 Bd	55,11 ± 2,13 Ac
	<i>A. caspius</i>	63,21 ± 0,03 Ca	58,35 ± 0,18 Ca	44,78 ± 5,42 Bb	48,43 ± 1,69 Cb	41,85 ± 1,99 Bb

Les lettres majuscules représentent la comparaison dans la même série entre les différentes espèces. Les lettres minuscules représentent la comparaison dans la même espèce et entre les différentes séries

3.6.2. Effet sur le contenu en glucides

Le Tableau 28 présente le classement des différents traitements appliqués selon leurs effets sur le contenu en glucides totaux grâce au test HSD de Tukey.

Chez *C. longiareolata*, les résultats ont permis de mettre en évidence 3 groupes distincts à 24 et 72 heures: le premier groupe est constitué des témoins, le deuxième est représenté par les traités à la Menthe et au Laurier, avec la dose la plus faible (CL₅₀), le troisième englobe les traités à la CL₉₀ des HEs des 2 plantes. A 48 heures, 3 groupes sont également constatés, le premier groupe englobe les témoins et les traités à la CL₅₀ de la Menthe, le deuxième formé des traités à la CL₉₀ des HEs de 2 plantes et un dernier groupe représenté par les traités à la CL₅₀ du Laurier.

Chez *C. pipiens*, et d'après le test HSD de Tukey, le contenu en glucides totaux marque deux groupes de moyennes à 24 heures, un groupe composé des témoins et un deuxième groupe formé des traités aux huiles de la Menthe et du Laurier et cela, avec les deux doses testées (CL₅₀ et CL₉₀). Par contre, 3 groupes sont constatés à 48 et 72 heures : le premier groupe est constitué des témoins, le deuxième groupe englobe les traités à la CL₅₀ des HEs des deux plantes et un dernier groupe renfermant les traités à la CL₉₀ de la Menthe et du Laurier.

Le classement de moyennes du contenu en glucides chez *A. caspius* révèle l'existence de quatre groupes à 24 heures: un groupe composé des témoins et un deuxième groupe formé des

traités à la CL₅₀ et la CL₉₀ de la Menthe, un troisième groupe constitué des traités à la CL₅₀ du Laurier et un dernier groupe représenté par les traités à la CL₉₀ de cette même plante. Par contre 3 groupes sont constatés à 48 heures: le premier groupe est constitué des témoins, le deuxième groupe englobe les traités à la CL₅₀ des HEs de *M. pulegium* et *L. nobilis* et un dernier groupe renfermant les traités à la CL₉₀ de ces 2 huiles. A 72 heures, 3 groupes sont également constatés, un groupe formé de témoins, un second groupe constitué des traités au Laurier avec les deux concentrations et des traités à la CL₅₀ de la Menthe et un troisième groupe formé des traités à la CL₉₀ de la Menthe.

En comparant les espèces dans la même série, on constate trois groupes de moyennes pour les témoins à 24, 48 et 72h, chacun étant représenté par une espèce. Pour les traités à la CL₅₀ et la CL₉₀ des huiles de la Menthe et du Laurier, deux groupes de moyennes ont été signalés à 24, 48 et 72 heures: un groupe composé de *Culiseta* seule et un second groupe formé par *Culex* et *Aedes*. On peut conclure que le Laurier est la plante qui affecte le plus ce contenu, et qui est relativement comparable chez les 3 espèces testées.

Tableau 28. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le contenu en glucides totaux (µg/individu) chez les larves 4 de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius* à différentes périodes (m ± SD, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Espèces	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
			CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	<i>C. longiareolata</i>	560,05 ± 65,07Aa	415,50 ± 31,33 Ab	221,94 ± 42,37 Ac	302,77 ± 3,07 Ab	195,38 ± 20,40 Ac
	<i>C. pipiens</i>	254,88 ± 9,25 Ba	76,05 ± 21,48 Bb	37,72 ± 7,40 Bb	60,72 ± 14,59Bb	31,94 ± 5,07 Bb
	<i>A. caspius</i>	113,55 ± 3,29 Ca	68,00 ± 1,77 Bb	59,88 ± 4,07 Bb	52,72 ± 2,70 Bc	32,55 ± 1,81 Bd
48	<i>C. longiareolata</i>	456,00 ± 58,77Aa	389,11 ± 21,18 Aa	124,83±14,22 Ab	291,66 ± 7,88 Ac	105,25 ± 19,27Ab
	<i>C. pipiens</i>	229,11 ± 0,96 Ba	66,05 ± 10,14 Bb	32,11 ± 2,96 Bc	52,61 ± 2,07 Bb	29,66 ± 3,22 Bc
	<i>A. caspius</i>	111,94 ± 2,92 Ca	54,44 ± 9,25 Bb	35,61 ± 4,18 Bc	48,94 ± 2,96 Bb	39,16 ± 0,66 Bc
72	<i>C. longiareolata</i>	422,33 ± 38,66Aa	227,50 ± 2,72 Ab	105,77 ± 7,07 Ac	210,55 ± 15,85Ab	76,22 ± 8,25 Ac
	<i>C. pipiens</i>	227,11 ± 1,48 Ba	63,33 ± 2,88 Bb	23,38 ± 0,25 Bc	45,38 ± 11,70 Bb	18,50 ± 2,22 Bc
	<i>A. caspius</i>	97,72 ± 2,74 Ca	52,50 ± 8,22 Bb	27,72 ± 4,51 Bc	39,00 ± 1,22 Bb	30,66 ± 5,66 Bb

Les lettres majuscules représentent la comparaison dans la même série entre les différentes espèces
 Les lettres minuscules représentent la comparaison dans la même espèce et entre les différentes séries

3.6.3. Effet sur le contenu en lipides

Les résultats du dosage des lipides totaux sont mentionnés dans le Tableau 29. Chez *C. longiareolata*, ce contenu marque 2 groupes de moyennes à 24 heures: le premier groupe composé des témoins et des traités à la CL₅₀ de la Menthe et du Laurier et un second groupe formé des traités avec les deux plantes à la plus forte concentration (CL₉₀). A 48 heures on constate 5 groupes, chacun étant représenté par une série. Par contre, 3 groupes sont signalés à

72 heures: un groupe composé des témoins, un second groupe formé des traités à la CL₅₀ de *M. pulegium* et un dernier groupe englobe les traités à la CL₉₀ de la Menthe, et les traités au Laurier avec les deux doses testées (CL₅₀ et CL₉₀).

Pour *C. pipiens*, 3 groupes de moyennes sont constatés à 24h, un groupe formé uniquement des témoins, un second groupe englobe les traités à la CL₅₀ de la Menthe et un dernier groupe qui renferme les traités à la CL₉₀ de la Menthe et les traités avec la CL₅₀ et CL₉₀ du Laurier. A 48 heures, 2 groupes sont observés, un premier groupe constitué des témoins et des traités à la CL₅₀ des deux plantes et un deuxième groupe formé des traités à la CL₉₀ de la Menthe et du Laurier. A 72h, 3 groupes sont signalés, le premier formé des témoins et des traités à la CL₅₀ du Laurier, un second groupe constitué des traités à la CL₅₀ de la Menthe et un troisième renfermant les traités à la CL₉₀ des 2 plantes.

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey chez *Aedes*, a permis de mettre en évidence 2 groupes de moyennes à 24 heures, le premier groupe formé des témoins et des traités à la CL₅₀ de *M. pulegium* et le second constitué des autres séries. Par contre, à 48 et 72 heures, 3 groupes sont constatés: le premier constitué des témoins, le deuxième groupe formé des traités à la CL₅₀ de la Menthe et du Laurier et un dernier englobe les traités à la CL₉₀ de deux plantes.

En comparant les espèces dans la même série, on constate deux groupes de moyennes pour les témoins à 24 et 48h, le premier groupe représenté par *Culiseta*, alors que *Culex* et *Aedes* forment le deuxième groupe. A 72h, trois groupes sont constatés, chacun étant représenté par une espèce.

Pour les traités à la CL₅₀ de la Menthe, deux groupes de moyennes ont été signalés à 24 heures: un groupe composé de *Culiseta* et un deuxième groupe formé de *Culex* et *Aedes*. A 48 heures, 3 groupes sont signalés, chacun étant représenté par une espèce. Par contre à 72 heures, deux groupes sont constatés, le premier groupe formé de *Culiseta* et *Culex* et un second composé d'*Aedes*. Pour les traités à la CL₉₀ de la Menthe, on note la présence à 24 heures d'un seul groupe renfermant les 3 espèces. A 48 et 72 heures, deux groupes sont signalés, un groupe composé de *Culiseta* et un deuxième groupe formé de *Culex* et *Aedes*.

Les traités à la CL₅₀ de *L. nobilis* marquent la présence de trois groupes à 24 et 48 heures, chacun étant représenté par une espèce. Par contre 2 groupes sont observés à 72 heures, le premier formé par *Culiseta* et *Aedes* et le dernier groupe composé de *Culex*.

Pour les traités à la CL₉₀ du Laurier, deux groupes de moyennes ont été signalés à 24 et 72 heures, un groupe représenté par *Culiseta* et un deuxième groupe formé de *Culex* et *Aedes*. Par contre à 48 heures, un seul groupe est signalé englobant les 3 espèces.

D'après les résultats obtenus, on peut conclure que les lipides chez *Aedes* est plus affectés par ces traitements par rapport à ceux chez *Culiseta* et *Culex* et que le Laurier est la plante qui perturbe le plus ce paramètre biochimique.

Tableau 29. Effet des HEs extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le contenu en lipides totaux (µg/individu) chez les larves 4 de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius* à différentes périodes (m ± SD, n=3 répétitions comportant chacune 25 individus) : Test HSD de Tukey.

Temps (Heures)	Espèces	Témoins	<i>Mentha pulegium</i>		<i>Laurus nobilis</i>	
			CL ₅₀	CL ₉₀	CL ₅₀	CL ₉₀
24	<i>C. longiareolata</i>	45,06 ± 1,30 Aa	35,78 ± 2,54 Aa	13,56 ± 10,28 Ab	31,27 ± 2,34 Aa	6,87 ± 0,79 Ab
	<i>C. pipiens</i>	36,39 ± 1,78 Ba	13,12 ± 1,29 Bb	7,43 ± 0,82 Ac	6,87 ± 0,81 Bc	4,83 ± 0,83 Bc
	<i>A. caspius</i>	23,67 ± 6,38 Ba	14,44 ± 1,48 Ba	3,87 ± 0,64 Ab	11,39 ± 0,58 Cb	3,32 ± 0,29 Bb
48	<i>C. longiareolata</i>	43,37 ± 0,19 Aa	24,94 ± 1,75 Ab	10,21 ± 0,39 Ac	13,36 ± 0,73 Ad	5,05 ± 0,24 Ae
	<i>C. pipiens</i>	23,67 ± 6,38 Ba	15,62 ± 0,01 Ba	2,90 ± 0,62 Bb	18,62 ± 1,41 Ba	2,44 ± 0,10 Ab
	<i>A. caspius</i>	22,54 ± 2,98 Ba	10,60 ± 0,23 Cb	3,39 ± 0,33 Bc	7,83 ± 1,60 Cb	3,88 ± 1,61 Ac
72	<i>C. longiareolata</i>	36,39 ± 1,78 Aa	13,12 ± 1,29 Ab	7,43 ± 0,82 Ac	6,87 ± 0,81 Ac	4,83 ± 0,83 Ac
	<i>C. pipiens</i>	22,54 ± 2,98 Ba	13,41 ± 0,18 Ab	2,20 ± 0,57 Bc	17,69 ± 1,30 Ba	1,73 ± 0,06 Bc
	<i>A. caspius</i>	12,49 ± 0,93 Ca	5,64 ± 0,48 Bb	2,43 ± 0,07 Bc	5,06 ± 0,42 Ab	1,81 ± 0,23 Bc

Les lettres majuscules représentent la comparaison dans la même série entre les différentes espèces
 Les lettres minuscules représentent la comparaison dans la même espèce et entre les différentes séries



DISCUSSION

IV. DISCUSSION

4.1. Rendement des huiles essentielles

Les résultats du rendement en huile essentielle extraite de *M. pulegium* est de l'ordre de 1,56% de la matière sèche de la partie aérienne de cette plante. Ces résultats sont inférieurs à ceux signalés dans certaines régions de l'Algérie, El Oued (2,34%) (Ouakouak *et al.*, 2015) et Oran (4,97%) (Kambouche & El-Abed, 2003) et supérieurs à ceux signalés dans certains d'autres, El Bouira (1,45%) (Abdelli *et al.*, 2016) et Sétif (1%) (Boukhebti *et al.*, 2011). Ce rendement présente également des variations d'un pays à un autre, il est de 2-5,2% au Maroc (El Ouariachi *et al.*, 2011 ; Cherrat *et al.*, 2014 ; Amalich *et al.*, 2016 ; Zantar *et al.*, 2016), de 2,8% en Iran (Khajeh *et al.*, 2004), de 3,5 à 5,2% au Pakistan (Ashraf & Batty 1975), de 2,54% au Brésil (Silva *et al.*, 2015), de 2,3% au Chili (Montes *et al.*, 1986), de 1,6 à 2% en Grèce (Sivropoulou *et al.*, 1995) et de 1,45% en Bulgarie (Stoyanova *et al.*, 2005). Par contre, de faibles rendements ont été signalés dans d'autres études chez la même espèce collectée, au Brésil (0,42%) (Teixeira Duarte *et al.*, 2005), et en Iran (0,27%) (Mahboubi & Haghi, 2008). Cependant, le rendement en HE varie d'une espèce de Menthe à une autre du même genre, il présente des valeurs allant de 0,69% jusqu'à 2,33% chez 7 espèces différentes (Pavela *et al.*, 2014), de 0,26 jusqu'à 1,2% chez *Mentha arvensis*, de 0,17 jusqu'à 1,56%, chez *Mentha rotundifolia* (Brada *et al.*, 2007), 0,80% chez *M. piperita* (Verma *et al.*, 2010 ; Dris, 2018) et 0,87% chez *M. spicata* (Boukhebti *et al.*, 2011). Par ailleurs, le rendement obtenu au cours de notre expérimentation est relativement comparable à d'autres plantes exploitées comme source d'huiles essentielles telles qu'*Artemisia herba alba* (0,59%), *Artemisia absinthium* (0,57%) (Derwich *et al.*, 2009) et *Thymus vulgaris* (1%) (Imelouane *et al.*, 2009). Ce rendement pourrait être lié au processus de tarissement, aux facteurs édaphiques et climatiques ou à l'état physiopathologique de la plante (Russo *et al.*, 1998 ; Thompson *et al.*, 2003).

Le rendement en huile essentielle de *Laurus nobilis* obtenu au cours de notre étude, est de 1,86% de la matière sèche de la plante. Un rendement maximal (2,37%) est obtenu à partir des feuilles séchées tandis que le minimum a été signalé au niveau des feuilles fraîches (Ouafi *et al.*, 2017). Une étude réalisée sur les feuilles du Laurier collectées dans trois pays différents, Tunisie, Algérie et Maroc, a montré de faibles rendements avec des taux de 0,58%, 0,46% et 0,65% de la matière sèche des feuilles, respectivement (Mediouni Ben Jemâa *et al.*, 2012). Cette variabilité peut être liée aux plusieurs facteurs tels que l'espèce, l'origine géographique, le stade phénologique, les facteurs écologiques notamment climatiques et le patrimoine

génétique (Senatore, 1996 ; Kokkini *et al.*, 1997 ; Boira *et al.*, 1998 ; Russo *et al.*, 1998 ; Thompson *et al.*, 2003 ; Karousou *et al.*, 2005). Ces différences sont dues également aux conditions de croissance et de développement de la plante (Maffei & Sacco, 1987 ; Bruneton, 1999), à la technique de conservation du matériel végétal, et la méthode d'extraction (Granger *et al.*, 1973 ; Rosua & Granados, 1987 ; khajeh *et al.*, 2004 ; 2005 ; Vijoen *et al.*, 2006 ; Sefidkon *et al.*, 2007 ; Wogiatzi *et al.*, 2011). Par ailleurs, les travaux de Verma *et al.* (2010), ont montré un rendement élevé en HE obtenu pendant la période de floraison et qui est dû probablement à son rôle écologique pour attirer les insectes pollinisateurs et servir de mécanisme de défense antifongique. Les meilleurs rendements (1,6-1,8%) ont été signalés chez *Mentha rotundifolia* collectée durant la période de floraison (Brada *et al.*, 2007).

4.2. Composition chimique des HEs

L'analyse de la composition chimique de l'HE extraite de *M. pulegium* par la CPG/SM révèle la présence de quatorze composants avec le Pulégone (72,50%), et l'Eucalyptol (10,44%) comme constituants majoritaires. Des résultats similaires ont été rapportés chez la même espèce collectée au Portugal (Teixeira *et al.*, 2012), en Iran (Mahboubi & Haghi, 2008) et au Maroc (Ait-Ouazzou *et al.*, 2012). Khosravi Zanjani *et al.* (2015) ont montré que la composition de l'HE de *M. pulegium* est dominée par le Pulégone (19,89%), le 1,8 Cinéole (19,38%) et la Piperiténone (15,14%). Le profil chimique de cette huile diffère de celui signalé par d'autres chercheurs, et selon la littérature, certains composés sont présents dans l'huile de toutes les espèces mais avec des concentrations différentes (Khosravi Zanjani *et al.*, 2015) et cette différence est liée aux facteurs environnementaux (Reis-Vasco *et al.*, 1999 ; Ait-Ouazzou *et al.*, 2012 ; Kanakis *et al.*, 2012). L'analyse de 20 espèces du genre *Mentha* a montré que l'HE extraite de *M. villosa* a un chémotype de Carvone (67,9%) et celle extraite de *M. spicata* est de type Carvone/Piperiténone oxyde (Pavela *et al.*, 2014). Par contre, les HEs de huit échantillons de *M. piperita* ont montré une variation du taux de Monoterpènes selon le génotype de la plante: Menthol (20,5%-57,3%), Carvone (0-56,8%) et Piperiténone oxyde (0-31,8%). Par ailleurs, d'autres composants majoritaires ont été signalés chez les HEs de *M. viridis* tels que Linalool (40,70%), Carvone (13,52%), α -Terpinène (8,56%) et chez les huiles de *M. pulegium* comme le Pulégone (50,01%), le Menthol (31,90%) et le Menthone (16,56%) (Silva *et al.*, 2015).

Oliveira *et al.* (2011) ont analysé l'HE de *M. pulegium* collectée au printemps et en hiver. Ils ont détecté 6,62% de Bornéol et 61,43% de Pulégone au printemps et 8,87% de Bornéol et 28,40% de Pulégone en hiver. Les auteurs ont démontré l'influence de la variation saisonnière avec une réduction de 54% de la concentration de Pulégone en hiver. Le Pulégone, dans l'huile essentielle de *M. pulegium*, est le précurseur de la formation des stéréoisomères du Menthone, et cette transformation conduit à une réduction de la teneur en Pulégone. Ces stéréoisomères forment les dérivés acétylés de Menthyle, Néoisomenthyle et isomenthyle (Oliveira *et al.*, 2011). Ait-Ouazzou *et al.* (2012) ont également montré que le Pulégone est le constituant principal (69,8%) de l'huile de *M. pulegium*, suivi de la Piperiténone (3,1%), de l'Isopulégone (1,8%) et de l'Époxyde de Cispéritone (1,7%). Ces auteurs ont trouvé du Pulégone dans toutes les HEs extraites de la Menthe pouliot au cours de leurs études.

La variabilité de la composition chimique de cette huile peut être liée à la phase végétative de la plante, ainsi qu'aux conditions environnementales (variations saisonnières et géographiques, composition du sol) (Müller-Riebau *et al.*, 1997). De plus, elle peut être expliquée par l'origine géographique, le moment de la collecte et le stress auquel la plante a été exposée (Silva *et al.*, 2015). La composition chimique de ces huiles est influencée également par certains facteurs tels que le développement des feuilles et l'émergence de nouveaux organes, ce qui peut entraîner une baisse de concentrations de ces métabolites par translocation, ainsi que la saisonnalité et la pluviométrie. Ces effets peuvent influencer directement la quantité et la qualité des constituants de l'huile essentielle (Gobbo-Neto & Lopes, 2007). La composition de l'huile de la Menthe diffère selon la région de collecte, elle est de 38 composants en Tunisie (Hajlaoui *et al.*, 2009), 16 au Maroc (Benayad, 2008) et 38 en Iran (Sardashti & Adhami, 2013). Cette composition varie d'une espèce à une autre dans le même genre. Dris (2018) a révélé la présence de 65 constituants chez *M. piperita* avec le Carvone (52,58%) et DL-Limonène (17,40%) comme composants majoritaires. Par ailleurs, Mkaddem *et al.* (2007) ont identifié le Carvone (50,47%) en tant que constituant principal de l'HE de *M. viridis*, suivi du 1,8-Cinéole (9,14%), Limonène (4,87%), Camphre (3,68%) et β -Caryophyllène (3%).

Par ailleurs, l'analyse de la deuxième huile utilisée dans notre expérimentation extraite de *Laurus nobilis*, a montré la présence de dix-neuf composants, avec la prédominance d'Eucalyptol (47,35%), L- β -Pinène (31,14%) et D-Sylvestrène (6,59%). Des études réalisées sur la même espèce, ont signalé le 1,8-Cinéole, Sabinène, α -Pinène, Linalool et Acétate de Terpinyle comme composants majoritaires (Careda *et al.*, 2002 ; Ozcan *et al.*, 2005 ; Sahin-

Basak & Candan, 2013). Par ailleurs, le Pulégone (Lorenzo *et al.*, 2002 ; Benayad, 2008 ; Boukhebt *et al.*, 2011), le Menthone (35,9%) (Teixeira *et al.*, 1971) et la Pipéritone (35,56%) (Derwich *et al.*, 2010) représentent les constituants majoritaires de cette même huile. Mediouni-Ben Jemaa *et al.* (2012), ont mentionné que l'huile de *L. nobilis* collecté dans 3 régions différentes, Algérie, Tunisie et Maroc, présentait des différences aussi bien quantitatives que qualitatives dans leur composition chimique, et qui dépendait du lieu de collecte. Les principaux composés communs étaient le 1,8-Cinéole, Linalool et Isovaleraldéhyde avec des proportions variables. Néanmoins, certains constituants n'étaient présents que dans certaines huiles et absents dans d'autres. À cet égard, le 2-Carène (5,62%), le 4-Terpinéol (1,52%) et l'Acétate de 1-Bornyle (0,52%) n'étaient présents que dans l'huile Marocaine tandis que le Pentane (2,14%), le Phénol (1,73%) et le Terpinène (0,92%) étaient à un niveau élevé uniquement dans l'extrait Algérien. L'huile Tunisienne se caractérise par la présence du Camphre (2,66%), Terpinène-1-ol (1,47%), 2-Norbornanone (1,20%) et Eremophilène (0,67%). Par ailleurs, vingt-six composés ont été identifiés au niveau de l'huile de cette même espèce collectée au Brésil dont la fraction prédominante, est les Monoterpènes oxygénés avec le 1,8-Cinéole (35,50%) et le Linalool (14,10%) comme composés majoritaires (Da Silveira *et al.*, 2014). Ces résultats corroborent les données déjà publiées (Caredda *et al.*, 2002 ; Flamini *et al.*, 2007 ; Di Leo Lira *et al.*, 2009). Dans une autre étude sur le Laurier, 29 composés ont été identifiés avec la prédominance des Monoterpènes hydrocarbonés (32%), où on a noté la présence d'Eucalyptol (56%), du Terpinyl acétate (9%) et du 4-Terpinéol (5,2%) (Snuossi *et al.*, 2016). L'huile essentielle extraite des feuilles fraîches du Laurier est dominée par le Linalool (18,48%), α - Terpinyl acétate (12,56%), 1,8-Cinéole (9,02%), Méthyl eugénol (9,06%) et Linalool acétate (3,76%). Ces résultats sont comparables à ceux trouvés dans la littérature (Dadalioglu *et al.*, 2004 ; Ozcan *et al.*, 2005 ; Flamini *et al.*, 2007 ; Dahak *et al.*, 2014) avec quelques différences dans le composé majoritaire et dans le pourcentage des constituants. Des variations de la concentration des différents constituants de cette huile sont enregistrées d'une région de la méditerranée à une autre, tels que le 1,8 Cinéole et le Sabinène qui ont présenté des taux de 56 et 3,5% en Tunisie (Snuossi *et al.*, 2016), de 58,59 et 6,13% en Chypre (Yalcin *et al.*, 2007), et de 52,43 et 6,13% au Maroc, respectivement (Derwich *et al.*, 2009).

De nombreux facteurs, tels que l'origine géographique (Uribe-Hernandez *et al.*, 1992 ; Souto-Bachiller *et al.*, 1997 ; Van Vuuren *et al.*, 2006 ; Celiktas *et al.*, 2007), les conditions climatiques, les variations saisonnières et les techniques d'extraction pourraient jouer un rôle

important dans la caractérisation chimique, influençant les proportions des principaux constituants (Taoudiat *et al.*, 2018). Le procédé de séchage a également un effet sur le pourcentage des composants des feuilles du Laurier noble car la concentration de Linalool, α -Pinène, 1,8 Cinéole, Sabinène et β -Pinène dans les feuilles séchées est nettement supérieure à celle du produit frais (Ouafi *et al.*, 2017). De plus, des facteurs climatiques tels que la chaleur et la sécheresse étaient également liés aux profils des huiles essentielles (Milos *et al.*, 2001). Uribe-Hernandez *et al.* (1992) ont également signalé une variation de la composition chimique en fonction de l'emplacement des plantes. Vokou *et al.* (1993), ont souligné que l'altitude semble être un autre facteur environnemental important influant sur la teneur en huile essentielle et la composition chimique. Des études antérieures ont montré que les variations génétiques, le stade de croissance, la partie de la plante, et le stockage post-récolte peuvent influencer la composition des huiles essentielles (Marotti *et al.*, 1994 ; Hussain *et al.*, 2008 ; Anwar *et al.*, 2009). Les tableaux 30 et 31, présentent les constituants majeurs des HES de *M. pulegium* et *L. nobilis* collectés dans différentes régions.

Tableau 30. Constituants majoritaires de l'HE de *M. pulegium* collectée dans différentes régions.

Constituants majoritaires	Pays	Références
Pulégone (37,8%) ; Menthone (20,3%) ; Piperitone (6,8%)	Iran	Aghel <i>et al.</i> (2004)
Pulégone (65,9-83,1%) ; Menthone (8,3-8,7%) ; Isomenthone (3,8-4%)	Inde	Agnihotri <i>et al.</i> (2005)
Pulégone (4,4- 87,3%) ; Piperitone (0,1-26,8%) ; Isomenthone (22,6%)	Algérie	Beghidja <i>et al.</i> (2007)
Pulégone (41,1- 42,3%) ; Piperitone Oxide (14,9-16,9%) ; Piperiténone (4,6-6,1%)	Espagne	Diaz-Maroto <i>et al.</i> (2017)
Pulégone (61,1%) ; Isomenthone (17%) ; Menthone (5,9%)	Tunisie	Hajlaoui <i>et al.</i> (2009)
Pulégone (40,5%) ; Menthone (35,4%) ; Piperitone (5,2%)	Iran	Kamkar <i>et al.</i> (2010)
Pipéritone (8%) ; Piperiténone (33%) ; α -Terpineol (4,7%)	Iran	Mahboubi & Haghi (2008)
Pulégone (35,1%) ; Piperiténone (33%) ; Menthol (40,6-51,6%)	Tunisie	Mata <i>et al.</i> (2007)
Pulégone (20,5%) ; 1,8 Cinéole (34,7%) ; Bornéol (13,8%)	Turquie	Muller-Reibau <i>et al.</i> (1995)
Pulégone (61,3-77,9%) ; Isomenthone (10,6-18,5%) ; Menthone (0,6-8,3%)	Grèce	Petrakis <i>et al.</i> (2009)
Pulégone (78,3-80,9%) ; Menthone (8,5-9,2%)	Portugal	Reis-Vasco <i>et al.</i> (1999)
Pulégone (43,5%) ; Pipéritone (12,2%) ; P-Menthane-1,2,3-Triol (6,5%)	Egypte	El Ghorab (2006)
Pulégone (87,7%) ; Pipéritenone (2,9%) ; Menthone (1,7%)	France	Sutour (2010)
Pulégone (73,4%) ; Isomenthone (12,9%)	Uruguay	Agnihotri <i>et al.</i> (2005)
Pulégone (42,9-45,4%) ; Pipéritenone (21,7-23,1%) ; Isomenthone (11,3-12,8%)	Bulgarie	Stoyanova <i>et al.</i> (2005)

Tableau 31. Constituants majoritaires de l'HE de *L. nobilis* collecté dans différentes régions.

Constituants majoritaires	Pays	Références
1,8-Cinéole (35,7%) ; Trans-Sabinène hydrate (9,7%) ; α -Terpinyl acétate (9,3%)	Iran	Verdian-Rizi & Hadjiakhoondi (2008)
1,8-Cinéole (31,9%) ; Sabinène (12,2%) ; Linalool (10,2%)	Italie	Caputo <i>et al.</i> (2017)
1,8-Cinéole (35,318 %) ; β -Linalool (22,53 %) ; Eugénoïl méthyle éther (9,17 %)	Algérie	Ouibrahim (2015)
1,8-Cinéole (52,43%) ; α -Terpinyl acétate (8,96%) ; Sabinène (6,13%)	Maroc	Derwich <i>et al.</i> (2009)
1,8-Cinéole (56%)	Tunis	Snuossi <i>et al.</i> (2016)
1,8-Cinéole (50,3%) ; α -Terpinyl acétate (11,4%) ; Sabinène (9,2%)	Syrie	Tayoub <i>et al.</i> (2012)
Eugénoïl (42,50%) ; Myrcène (28,09%) ; Chavicol (10,21%)	Brésil	Jacob <i>et al.</i> (2016)
1,8-Cinéole (59,95 %) ; Sabinène (7,8%) ; α -Terpinyl acétate (16,33%)	Turquie	Sangun <i>et al.</i> (2007)
1,8-Cinéole (48,01 % ; 31,78 % et 17,64%) ; α -Pinène (7,69% ; 11,69 % et 17,96%) ; β - Pinène (3,91 ; 6,91 et 9,51%)	Inde	Chahal <i>et al.</i> (2017)

4.3. Toxicité des HEs à l'égard des moustiques

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (Cseke & Kaufman 1999). Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes, leur mécanisme d'action est méconnu et relativement peu d'études ont été réalisées à ce sujet (Isman, 2000). On considère que ces biopesticides peuvent être des outils de choix dans les programmes de gestion de la résistance des insectes aux pesticides. Avec leurs mécanismes d'action particuliers, ils peuvent être utilisés seuls et à répétition sans induire le développement de la résistance chez les insectes (Windley *et al.*, 2012). Ils peuvent également être utilisés en alternance avec les pesticides de synthèse afin de prolonger leur durée de vie. Les biopesticides ont plusieurs cibles, ils peuvent affecter le système nerveux des insectes provoquant la paralysie et par la suite la mort de ces derniers, modifier la conductance de plusieurs canaux ioniques (calcique, potassique, sodique), perturber la disposition des doubles couches lipidiques et peuvent également agir au niveau des terminaisons présynaptiques (Windley *et al.*, 2012). Ces multiples cibles de biopesticides s'opposent à l'apparition du phénomène de résistance chez les insectes. A cause de leur volatilité importante, les HEs et leurs constituants, essentiellement les Monoterpènes, exercent des effets insecticides et réduisent ou perturbent la croissance de l'insecte à différents stades de leur vie (Weaver *et al.*, 1991 ; Konstantopoulou *et al.*, 1992 ; Regnault-Roger & Hamraoui,

1994). Leurs efficacités varient en fonction du profil phytochimique des extraits de plantes et de la cible entomologique (Regnault-Roger *et al.*, 2012). Les effets acaricides/insecticides des huiles essentielles des plantes dépendent de leur composition chimique (Pascual-Villalobus & Ballesta-Acosta, 2003). D'après Bakkali *et al.* (2008), l'effet biologique des huiles essentielles peut être dû au synergisme de toutes les molécules ou refléter seulement les effets des principales molécules présentes à de hauts niveaux. Généralement, les composants majeurs reflètent les fonctions biophysiques et biologiques des huiles essentielles d'où elles sont extraites (Ipek *et al.*, 2005). Toutefois, il est possible que l'activité des composants principaux soit modulée par d'autres molécules mineures (Hoet *et al.*, 2006).

Notre étude a pour but de tester la toxicité des huiles essentielles extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis* à l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius* dont les résultats montrent une activité larvicide avec une relation dose-réponse. De plus, on note que l'HE de *M. pulegium* est la plus toxique et que les larves d'*A. caspius* sont plus sensibles aux traitements que celles de *Culiseta* et *Culex*.

Les travaux de Dris (2018) ont montré que l'HE de la Menthe poivrée est plus toxique par rapport au Basilic et à la Lavande et que les larves de *C. pipiens* sont plus résistantes que celles de *C. longiareolata*. Les résultats trouvés par Michaelakis *et al.* (2011), montrent que les huiles extraites de trois espèces de Menthe: *M. pulegium*, *M. piperita* et *M. spicata* possèdent une activité larvicide à l'égard de *C. pipiens* avec des CL₅₀ de l'ordre de: 46,4 ; 40,28 et 27,23ppm respectivement. Des résultats similaires ont été observés après application de *Mentha pulegium* (Labiée) sur les larves du deuxième et quatrième stade de Culicidés (Aouinty *et al.*, 2006). De même, les travaux de Govindarajan *et al.* (2012) rapportent une activité larvicide de l'huile de *M. spicata* contre 3 espèces de moustiques, *C. quinquefasciatus*, *A. aegypti* et *An. stephensi*, avec des CL₅₀ de 62,62, 56,08 et 49,71ppm respectivement. Selon les travaux de Benayad (2013), les HEs de *M. pulegium* et de *M. piperita* ont montré une efficacité, quelle que soit la concentration utilisée et l'espèce d'insecte choisie, puisque la mortalité des insectes était totale et cela dans les premières 24 heures qui suivent le traitement. Les bioessais réalisés par El Aissaoui *et al.* (2018), indiquent que les huiles essentielles du Thym et de la Menthe pouliot causent les effets acaricides les plus importants en comparaison avec l'huile essentielle de l'Origan. A une concentration de 1%, le Thym et la Menthe pouliot éradiquent la totalité des adultes de l'acarien alors que l'Origan provoque une mortalité de 84,99%.

Nos résultats corroborent ceux trouvés par Fernandez *et al.* (2018), et qui présentent une nouvelle perspective de l'utilisation de *L. nobilis* en tant qu'agent larvicide contre *A. aegypti*. L'HE de cette même plante a été testée contre un ravageur des denrées stockées, *Tribolium castaneum* et elle a montré un potentiel insecticide qui dépend à la fois de la concentration et du temps d'exposition (Chahal *et al.*, 2017). De plus, *L. nobilis* du Maroc a montré une meilleure activité insecticide par rapport au Laurier Tunisien et Algérien avec des CL₅₀ de 0,013, 0,036 et 0,033 μ l/cm² pour *R. dominica*, et de 0,045, 0,139 et 0,096 μ l/cm² pour *T. castaneum* (Mediouni Ben Jemâa *et al.*, 2012). C'est également le cas d'Erler *et al.* (2006) qui rapportent une très bonne activité répulsive de l'huile de Laurier à l'égard des femelles adultes de *C. pipiens*.

Dans des travaux antérieurs, les propriétés insecticides de certaines HEs ont été testées particulièrement sur les larves de moustiques. Nous citons à cet effet, les travaux de Macedo *et al.* (1997) réalisés sur les larves 4 d'*Aedes ochlerotatus* et qui ont montré une activité larvicide des extraits de *Tagetes minuta* avec une CL₅₀ et une CL₉₀ respectivement de 1,0 et de 1,5mg/L. Des études similaires réalisées par Traboulsi *et al.* (2002), ont démontré l'activité insecticide de quatre plantes médicinales récoltées au Liban (*Myrtus communis*, *Lavandula stoechas*, *Origanum syriacum* et *Mentha microphylla*) sur les larves de *C. pipiens molestus*. Les CL₅₀ obtenues étaient comprises entre 16 à 49ppm. Par ailleurs, les huiles d'Origan (*Origanum vulgare*), de Menthe (*M. microphylla* et *M. viridis*) et d'Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) ont été les plus toxiques (Papachristos & Stamopoulos, 2002). Les travaux de Bouguerra (2019) portés sur la toxicité des huiles essentielles extraites de *T. vulgaris* et *O. vulgare* à l'égard des larves du quatrième stade de *C. pipiens*, ont révélé un important pouvoir larvicide de l'huile de l'Origan (CL₅₀: 13,69 et CL₉₀: 36,98ppm) par rapport au Thym (CL₅₀: 72,04 et CL₉₀: 207,01ppm) (Bouguerra, 2019).

D'autre part, l'application des HEs extraites de quatre plantes, provoque une toxicité contre les larves d'*Aedes aegypti* avec une CL₅₀ et CL₉₀ de 47,54 et 86,54ppm pour *Mentha piperita*, de 40,5 et 85,53ppm pour *Zingiber officinale*, de 115,6 et 193,3ppm pour *Curcuma longa* et de 148,5 et 325,7ppm pour *O. basilicum* (Kalaivani *et al.*, 2012). L'étude de Amer & Mehlhorn (2006) sur l'activité larvicide des HEs extraites de 41 plantes à l'égard des larves 3 d'*Aedes aegypti* montre que *L. angustifolia*, *M. piperita* et *O. basilicum* induisent une mortalité de 63,3%, 53,3% et 86,7% respectivement après 24 heures de traitement, avec une concentration de 50ppm.

Cette différence de toxicité de ces huiles dépend des écotypes car la variation de la composition chimique de ces huiles est liée aux facteurs climatiques, à l'origine géographique, à l'âge de la plante mais aussi aux facteurs écologiques et pédologiques (Gnamkoulamba, 1999 ; Kouassi, 2004). Ainsi, le composé majoritaire identifié dans chaque huile permet de définir le type chimique ou le chémotype de chaque écotype (Walla, 1996 ; Sanda *et al.*, 1998).

Dans cette étude, on peut expliquer l'activité larvicide des HEs à l'égard de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius*, par l'action de leurs composants: *M. pulegium* avec Pulégone et Eucalyptol et *L. nobilis* avec Eucalyptol et L- β -Pinène. Plusieurs travaux ont montré que la toxicité des HEs est influencée par la composition chimique de ces dernières. Ceci dépend généralement de l'origine, des conditions climatiques, de la méthode et la période d'extraction et de la partie de la plante utilisée (Manal *et al.*, 2013).

4.4. Impact des HEs sur les biomarqueurs

Les biomarqueurs mesurent l'interaction entre un système biologique et un agent environnemental. Ils peuvent être chimiques, physiques ou biologiques (WHO, 1991). L'inhibition ou l'induction des biomarqueurs sont de bons outils écotoxicologiques pour évaluer l'exposition et les effets potentiels des xénobiotiques sur l'organisme (Strum *et al.*, 2000 ; Varo *et al.*, 2001). Les principaux biomarqueurs utilisés sont des marqueurs enzymatiques comme la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion-S-transférase. Quatre types d'enzymes de détoxification peuvent intervenir contre les insecticides botaniques incluant les estérases (EST), les glutathion S-transférases (GSTs) et les phosphatases (Zibae & Bandani, 2010). Plus de 500 espèces d'arthropodes sont maintenant résistantes à au moins, un insecticide ou larvicide. En dépit des diversités chimiques des insecticides et diversités biologiques des insectes, seulement un petit nombre de mécanismes de résistance sont capable de détoxifier les insecticides en métabolites moins toxiques (Soderlund, 1997). Ces mécanismes sont généralement classés en trois catégories:

- ✚ Le premier est dû à une diminution de la pénétration cuticulaire qui est un mécanisme de résistance de moindre importance mais qui peut contribuer en association avec d'autres à augmenter le niveau de résistance (George, 1994 ; Pasteur & Reymond, 1996 ; Taylor & Feyereison, 1996).
- ✚ Le deuxième mécanisme, relativement le plus important, assure une bonne détoxification des différents tissus de l'organisme. Il est lié à une augmentation du taux de diverses

enzymes de détoxification (Sodrlund, 1997) telles que les monooxygénases à cytochrome P450 (Scott, 1999), l'estérase (Field *et al.*, 1999 ; Zhu *et al.*, 1999 ; Harold & Ottea, 2000), la glutathion-S-transférase (Parapanthadara *et al.*, 2000 ; Yu & Abo-Elghar, 2000), et la lactate déshydrogénase entre autre (Saleem & Shakoori, 1987 ; Ribeiro *et al.*, 1999).

✚ Enfin, le troisième mécanisme, aussi important que le second, traite de l'altération des sites cibles et leur insensibilité aux insecticides. Parmi ces sites cibles, on note les canaux sodium, les récepteurs GABA et surtout une enzyme du système nerveux, l'acétylcholinestérase (Rufingier *et al.*, 1999 ; Tomita *et al.*, 2000 ; Siegfried & Scharf, 2001).

Pour contribuer à une compréhension de ces mécanismes, nous avons évalué l'effet des HEs de *M. pulegium* et de *L. nobilis* sur l'activité d'un biomarqueur de neurotoxicité, l'acétylcholinestérase, des biomarqueurs du stress oxydatif, glutathion S-transférases et son cofacteur, le glutathion, chez trois espèces de moustiques, *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspius* à différentes périodes après traitement: 24, 48 et 72 heures.

4.4.1. Effet sur l'activité spécifique de l'AChE

L'AChE est l'enzyme clé du système nerveux qui catalyse l'hydrolyse d'un neurotransmetteur, l'acétylcholine chez plusieurs organismes (Oehmichen & Besserer, 1982 ; Grundy & Still, 1985 ; Wang *et al.*, 2004). Lorsque ce neurotransmetteur est libéré dans l'espace synaptique, il se fixe sur des récepteurs cholinergiques qui se trouvent sur la membrane post synaptique. Cette fixation provoque une dépolarisation de la membrane post-synaptique, générant ainsi un potentiel d'action qui assure la transmission du signal nerveux. L'AChE, en inactivant rapidement l'ACh, permet au système de revenir immédiatement à son état de repos. Le rôle de l'acétylcholinestérase est d'hydrolyser l'acétylcholine en acétate et choline, afin de stopper la stimulation du récepteur et par conséquent la repolarisation de la membrane (Soreq & Zakut, 1993 ; Charpentier *et al.*, 2000). Si l'action de cette enzyme est bloquée, la membrane post-synaptique se trouve continuellement excitée (Haubruge & Amichot, 1998). L'accumulation de l'AChE dans la région synaptique provoque une transmission permanente de l'influx nerveux, causant finalement la mort de l'insecte par tétanie. La mort a eu lieu suite à une liaison de manière covalente du groupement acétyl de l'ACh, empêchant ainsi toute liaison ultérieure de l'enzyme avec une molécule d'acétylcholine (Estrada-Mandaca *et al.*, 1998 ; Bainy, 2000). En effet, l'exposition à des insecticides, peut conduire progressivement à une inhibition irréversible de l'AChE, et produit un effet toxique ; neurotoxicité qui est définie par un changement structural ou une altération

fonctionnelle du système nerveux (Samuel & Laurent, 2005 ; Braquenier, 2009). De nombreux travaux ont montré que les HEs (Howes & Houghton, 2003 ; Siramon *et al.*, 2009), et particulièrement, leurs Monoterpènes tels que le Géraniol, 3-Carène, α -Caryophyllène, Limonène, Terpène-4-ol et Eucalyptol, présentent un effet inhibiteur de l'acétylcholinestérase (Mukherjee *et al.*, 2007). Ils ont signalé que le site actif hydrophobe de l'acétylcholinestérase est sensible à des interactions hydrophobes, ce qui favorise leur liaison avec plusieurs Monoterpènes cycliques tels que l'Eucalyptol et l' α -Pinène et acycliques tels que le Géraniol et le Linalool, constitués d'un squelette hydrocarboné hydrophobe, qui peut contribuer à leur activité anti-cholinestérase. L'effet insecticide des HEs sur les adultes de *C. maculatus* pourrait être expliqué par l'action des composés monoterpéniques qui bloque les sites actifs de fixation de l'acétylcholinestérase et qui inhibe la synthèse de la tyramine, précurseur de l'octopamine, un neuromédiateur chez les insectes (Enan, 2001). En effet, les HEs, mélanges monoterpéniques, sont des composés neurotoxiques agissant sur des cibles différentes en fonction de leurs natures chimiques (Grundy & Still, 1985 ; Ryan & Byrne, 1988). Par exemple, le Linalool et l'Estragol composés majeurs de l'HE d'*O. basilicum* perturbent l'activité neuronale des insectes. Ainsi le Linalool provoque une réduction de l'amplitude et de la fréquence du potentiel d'action puis entraîne une diminution de la phase post-hyperpolarisation qui suit la transmission de l'influx nerveux alors que l'Estragol induit plus spécifiquement une réduction de la phase de post-hyperpolarisation ; l'action simultanée des deux composés provoque la paralysie puis la mort des insectes (Regnault-Roger *et al.*, 2012). L'inhibition de l'activité de l'AChE par les monoterpénoïdes a été examinée chez divers organismes nuisibles (Jukic *et al.*, 2007 ; Lopez *et al.*, 2015). Les travaux de Praveena & Sanjayan (2011) ont montré que le Linalool a des propriétés insecticides efficaces contre *A. aegypti*, *L. decemlineata* et *S. litura* car il inhibe l'acétylcholinestérase et l'interaction du ligand avec le récepteur. De plus, les HEs extraites d'*Artemisia dracuncululus*, *Inula graveolens*, *L. officinalis*, et *O. sanctum* provoquent une inhibition de l'activité de l'AChE avec un effet plus marqué d'*A. dracuncululus* (50% d'inhibition pour la CL₅₀) (Dohi *et al.*, 2009). Des travaux antérieurs réalisés sur les HEs extraites à partir de plusieurs plantes ont montré une inhibition de l'activité de l'AChE chez certaines espèces (Perry *et al.*, 2002 ; Orhan *et al.*, 2009 ; Tel *et al.*, 2010 ; Orhan *et al.*, 2013 ; Knežević *et al.*, 2014 ; Seo *et al.*, 2014). Cette inhibition a été également démontrée chez les larves 4 de *C. pipiens* traitées au Basilic, à la Lavande et à la Menthe (Dris, 2018). Des résultats similaires ont été signalés par El kady *et al.* (2008), qui ont observé une diminution de l'activité de l'AChE chez *C. pipiens* et *An. multicolor* après traitement avec deux bioinsecticides (Spinotoram & Vertemic).

D'après les travaux d'Obeng-Ofori *et al.* (1994), le traitement par le 1,8-Cinéole induit une inhibition de l'AChE, en occupant le site hydrophobe de cette enzyme qui est très actif. La toxicité rapide de ces huiles et de leurs Monoterpènes à l'égard des arthropodes et plus particulièrement les insectes laissent suggérer un mode d'action neurotoxique (Isman, 2006). Les travaux de Dris (2018) ont montré une activité neurotoxique des huiles extraites de *O. basilicum*, *L. dentata* et *M. piperita* chez les larves 4 de *C. pipiens* et *C. longiareolata* traitées à la CL₅₀, via une inhibition de l'activité de l'AChE. Par contre, l'application des huiles de l'Origan et du Thym sur les larves 4 de *C. pipiens*, ne révèle aucun effet sur ce biomarqueur (Bouguerra, 2019).

Dans cette étude, on peut expliquer l'activité larvicide des HEs à l'égard de *C. longiareolata*, *C. pipiens*, et *A. caspius*, par l'action de leurs composants: Pulégone, Eucalyptol, Menthone et Piperitone pour *M. pulegium* et 1,8-Cinéole, Pinène et Carène pour *L. nobilis*. De plus, la toxicité la plus importante de la Menthe est reliée avec son effet neurotoxique le plus marqué par rapport au Laurier.

Plusieurs travaux ont montré l'effet des huiles essentielles et de leurs Monoterpènes contre divers organismes. Sengottayan *et al.* (2007), rapportent que les extraits de *Punica granatum* (Lythracées), de *T. vulgaris* (Lamiacées) ou d'*Artemisia absinthium*, provoquent une inhibition de l'activité de l'AChE chez les nématodes. Les HEs de *Cymbopogon giganteus* (Poaceae) et de *Cymbopogon nardus* (Poaceae) appliquées sur les stades immatures de *Callosobruchus maculatus* et de *Callosobruchus subinnotatus* (Coleoptera: Bruchidae), révèlent un effet neurotoxique sur les embryons ou les jeunes larves (Nyamador *et al.*, 2010). De plus, l'huile de *Mentha longifolia* possède une activité anti-AChE chez les adultes de *C. maculatus* (Al-Sarar *et al.*, 2014). Chez *T. castaneum*, il a été constaté que l'huile de *M. arvensis* appliquée par fumigation, réduisait l'activité de cette enzyme de 67,50% par rapport aux témoins (Mishra *et al.*, 2014). Ainsi, Olmedo *et al.* (2015) ont testé l'HE de *Tagetes filifolia* contre *T. castaneum* et ils ont montré une inhibition de l'AChE. Prakash (2015) a révélé que la toxicité de l'HE de *Rosmarinus officinalis* contre *S. oryzae* et *Oryzaephilus surinamensis* pourrait être associée à une inhibition de l'activité de l'AChE. Zibae & Bandani (2010) révèlent une inhibition de l'activité de l'AChE après traitement avec des doses élevées de l'extrait d'*A. annua*. L'altération de cette enzyme est observée chez une espèce de Blatte, *Periplaneta americana* traitée à l'AZAD à 4ppm et chez un Escargot, *Limnaea acuminata* traité à l'huile de Neem à 40% et 80% (Singh & Singh, 2000). De plus, les extraits aqueux de *Punica granatum*, *T. vulgaris* et *Artemisia absinthium* (100%) inhibent l'activité de cette

enzyme chez les nématodes (Korayem *et al.*, 1993). Senthil-Nathan *et al.* (2008) montrent que l'application de la CL₅₀ de l'AZAD provoque une inhibition de l'activité de l'AChE par rapport aux témoins. Lopez & Pascual-Villalobos (2010), et Abdelgaleil *et al.* (2009) ont prouvé que le Fenchone et le Camphre sont des inhibiteurs de l'AChE chez *S. oryzae* et *T. castaneum*. De plus, plusieurs Monoterpènes agissent comme étant des inhibiteurs de l'AChE (Grundy & Still, 1985 ; Ryan & Byrne, 1988), cette observation a été également enregistrée par Hu *et al.* (2015) qui ont rapporté que le 1,8-Cinéole inhibe l'activité de l'AChE et provoque une accumulation excessive d'ACh dans l'espace synaptique, ce qui pourrait être l'une des raisons de la mort des larves de *Sarcoptes scabiei* var. *cuniculi*. Selon Tong & Coat (2010), le Carvacrol et le Pulégone, sont aussi des modulateurs positifs du récepteur GABA chez la Blatte Américaine et la Mouche domestique. Ils se lient aux récepteurs GABA associés avec les canaux Cl⁻ situés sur la membrane post-synaptique des neurones et perturbe, de ce fait, le fonctionnement des synapses GABA, causant ainsi des effets inhibiteurs sur le système nerveux des insectes.

4.4.2. Effet sur l'activité spécifique des GSTs

Au niveau biochimique, il existe différents types de biomarqueurs regroupés selon leur fonction au niveau cellulaire. Les principaux biomarqueurs utilisés sont des marqueurs enzymatiques comme la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion-S-transférase. Les enzymes du système de détoxification sont beaucoup étudiées puisque leurs activités sont susceptibles d'être fortement modifiées après une exposition (Badiou, 2007 ; Dannau *et al.*, 2003). Les insecticides sont soumis à une panoplie de réactions enzymatiques visant à détoxifier le produit initial et accélérer son excrétion. Les enzymes impliquées, se divisent en 2 groupes ; enzymes de la phase I dites les enzymes fonctionnelles (oxydase, réductase, hydrolase) permettant de démasquer les éléments électrophiles des insecticides, conférant à la molécule une augmentation d'hydrophilie, et les rendant moins toxiques, et les enzymes de la phase II dites les enzymes de la conjugaison qui fixent des dérivés endogènes hydrophiles comme le sucre, les acides aminés (glutathion, glucoside, phosphate, sulfate ou acide glycuronique) sur les groupements fonctionnels révélés en phase I. Ces enzymes de conjugaison sont des transférases dont les plus connues sont les GSTs (Cassier *et al.*, 1997). Les GSTs sont des enzymes multifonctionnelles impliquées dans l'étape de conjugaison du «glutathion réduit » à un grand nombre de xénobiotiques (Boyer, 2006 ; Morakchi-Kilani, 2007). Elles sont surtout localisées dans le cytoplasme des cellules, du corps gras et des muscles alaires (Franciosca & Bergé, 1995 ; Haubruge & Amichot, 1998). Elles ont un rôle

important dans la détoxification de substances xénobiotiques et interviennent en catalysant la conjugaison de ces substances avec le groupement thiol du glutathion endogène (Jakoby & Habig, 1980). Ceci résulte en synthèse d'un acide mercapturique qui est ensuite facilement éliminable. Donc, le rôle majeur du glutathion est de convertir des composés lipophiles en molécules hydrophiles facilement excrétables (Habig *et al.*, 1974). Les GSTs permettent le développement de la résistance envers les agents chimiothérapeutiques, les insecticides, les herbicides et les antibiotiques microbiens. Elles jouent un rôle important dans la physiologie du stress, le transport intracellulaire et dans les différentes voies de biosynthèse (George, 1994), elles sont largement distribuées chez les organismes vivants, comme les Mammifères, notamment l'homme (Warholm *et al.*, 1981) et chez les espèces marines (Jakoby & Habig, 1980).

Nos résultats montrent une augmentation de l'activité spécifique des GSTs après traitement par les HEs extraites de la Menthe et du Laurier et ce comparativement aux témoins. De plus, la Menthe est la plante qui a plus d'effet sur ce biomarqueur. L'étude de Zibae & Bandani (2010) réalisée sur une plante médicinale, *Artemisia Annuua* (Asteracea) montre des résultats similaires à ceux obtenus dans notre étude. L'augmentation de l'activité des GSTs traduit une mise en place du processus de détoxification qui est une forme de défense de l'insecte contre le pesticide (Clark, 1949). Des résultats similaires ont été signalés chez larves 4 de *C. pipiens* après traitement au Basilic, à la Menthe et à la Lavande (Dris *et al.*, 2018) et après traitement à l'Origan et au Thym (Bouguerra, 2019). Une augmentation de l'activité des GSTs est signalée chez *Xanthogaleruca luteola* traitée à l'huile de Neem (Valizadeh *et al.*, 2013), chez *Glyphodes pyloalis* traitée à l'extrait méthanolique d'*Artemisia annua* (Khosravi *et al.*, 2011), chez *Zonocerus variegatus* exposé à l'extrait d'*Ocimum gratissimum* (Adeyi *et al.*, 2014) et chez *Drosophila melanogaster* exposée à l'HE de *Psidium guajava* (Pinho *et al.*, 2014). De plus, Shojaei *et al.* (2017) montrent une augmentation de l'activité des GSTs chez les larves de *T. castaneum* traitées à la CL₃₀, la CL₅₀ et la CL₇₀ de l'HE d'*Artemisia dracuncululus* avec une relation dose-réponse. Nyamador *et al.* (2010) a révélé que le traitement de deux espèces de ravageurs, *C. subinnotatus* et *C. maculatus*, par l'huile de *Cymbopogon giganteus* par fumigation, provoque une induction de l'activité des glutathion S- transférases.

L'application des extraits de plantes contre les insectes phytophages provoque une induction de l'activité des GSTs (Yu, 1982 ; Vanhaelen *et al.*, 2001). De plus, le traitement des adultes d'*E. integriceps* par les extraits d'*A. annua* a induit une activation du système de détoxification via une augmentation de la GST (Zibae & Bandani, 2010). Les travaux de

Vanhaelen *et al.* (2001) ont montré une induction de l'activité des GSTs chez *Myzus persicae* et diverses espèces de Lépidoptères telles que *Heliothis virescens*, *Trichoplusia ni* et *Anticarsia gemmatalis*. L'influence des substances allélochimiques des plantes sur l'activité de la GST ne se limite pas aux herbivores et a également été observée chez plusieurs prédateurs (Francis *et al.*, 2000).

4.4.3. Effet sur le taux de la GSH

Le glutathion est un tripeptide non-protéique soluble dans l'eau, constitué de trois acides aminés ; glutamate, cystéine et glycine (L- γ -glutamyl-L cysteinyl glycine), produit naturellement dans le corps (Meister & Anderson, 1983), que l'on trouve en concentration assez élevée (1-10mM) dans presque toutes les cellules vivantes (animales, végétales et humaines) (Barbaro *et al.*, 1997 ; Gauthier, 1997). Le glutathion, un biomarqueur non-enzymatique, joue un rôle central dans le processus de défense intracellulaire. C'est le principal système impliqué dans la détoxification des ions peroxyde et dans la lutte contre le stress oxydatif (Gannagé-Yared *et al.*, 1998). Le glutathion existe sous deux formes, oxydée GSSG et réduite GSH, et ses enzymes comprennent la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion S-transférase (GST) qui sont impliqués dans la détoxification (Yu, 1994 ; Kizek *et al.*, 2004 ; Zehnalek *et al.*, 2004). Un déficit en GSH expose les cellules à un risque de dommage oxydatif. Grâce à la fonction thiol (-SH) de la cystéine, le glutathion sous sa forme réduite est un composé important pour le maintien de l'équilibre redox de la cellule. Cette fonction thiol peut aussi fixer des fonctions électrophiles et sert donc à la détoxification de nombreux pesticides qui contiennent une telle fonction (Habig *et al.*, 1974). L'oxydation du glutathion réduit se fait par le glutathion peroxydase et la réduction du glutathion oxydé par le glutathion réductase (Gannagé-Yared *et al.*, 1998). Certains insecticides agissent sur un nombre très limité d'espèces, en augmentant l'activité des différentes enzymes impliquées dans la détoxification. En plus de la détoxification et la défense cellulaire, la GSH joue un rôle dans les autres réactions cellulaires, comme la catalyse, le métabolisme, la transduction du signal, l'expression des gènes, la régulation des protéines, l'apoptose, et également empêchant le dommage de l'ADN et les autres macromolécules par la réduction des ribonucléotides en désoxyribonucléotides (Barbaro *et al.*, 1997 ; Bounous, 2000). Le ratio GSH/GSSG doit être maintenu optimal dans la cellule car il est déterminant pour la survie. Une déficience de la GSH provoque un risque de dégâts oxydatifs pour la cellule, se traduisant par des troubles pathologiques tels que le cancer et les désordres neuro-dégénératifs (Lagadic *et al.*, 1997).

L'analyse de nos résultats obtenus après dosage de la GSH chez les larves du quatrième stade de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspuis* traitées aux huiles extraites de *M. pulegium* et *L. nobilis*, révèle une diminution du taux de la GSH chez les séries traitées comparativement aux séries témoins. L'huile de la Menthe qui a plus d'effet sur ce cofacteur. Des résultats similaires ont été rapportés par Kiran *et al.* (2017), où ils ont noté une réduction du taux de la GSH chez *C. chinensis* et *C. maculatus* après traitement à l'HE (CL₅₀) de *Boswellia carterii*. Cette diminution a été également observée chez *S. oryzae* et *R. dominica* traités à la CL₅₀ de l'huile de *Gaultheria procumben* (Kiran & Prakash, 2015). Par contre, les travaux de Singh *et al.* (2017) mettent en évidence une augmentation du taux de la GSH chez *S. oryzae* exposée à l'anhydride 2,3-diméthylmaléique. Dris *et al.* (2018) ont observé une diminution de la GSH chez les larves 4 de *C. pipiens* et *C. longiareolata* traitées aux huiles du Basilic, de la Menthe et de la Lavande. De même, Bouguerra (2019) a noté les mêmes observations chez les larves de *C. pipiens* après traitement à l'Origan et au Thym. La diminution du glutathion peut être expliquée par une consommation accrue de ce cofacteur par les GSTs afin de détoxifier ces biopesticides.

4.5. Impact des HEs sur la croissance des moustiques

Le volume corporel des moustiques peut influencer quelques paramètres essentiels tels que le volume du repas sanguin consommé, le degré de son utilisation dans les voies métaboliques et le nombre d'œufs qui arrive à la maturation (Hosoi, 1954 ; Van Den Heuvel, 1963). Le poids corporel des insectes dépend généralement de la présence de la nourriture dans leurs habitats, des conditions environnementales et surtout des caractères héréditaires de chaque espèce (Braquenier, 2009). A cause de leur volatilité, les HEs et leurs constituants, essentiellement les Monoterpènes, exercent des effets insecticides et réduisent ou perturbent la croissance de l'insecte à différents stades de leur vie (Weaver *et al.*, 1991 ; Konstantopoulou *et al.*, 1992 ; Regnault-Roger & Hamraoui, 1994).

Nos résultats montrent que le traitement par les HEs cause une réduction des paramètres biométriques étudiés tels que le poids et le volume corporels des larves, avec un effet marqué du Laurier sur *A. caspuis* et *C. pipiens* par rapport à *C. longiareolata*. L'hypothèse de Chopa & Descamps (2012) indique que la variation de la toxicité des HEs à l'égard des insectes nuisibles est attribuée à la susceptibilité, au métabolisme, à la biochimie, aux réponses physiologiques, et à la morphologie de ces insectes (taille du corps, texture et épaisseur de la

cuticule). Les pesticides botaniques ont montré des effets délétères sur la croissance et le développement des insectes, en réduisant le poids des individus et l'allongement des stades de développement (Shaalán *et al.*, 2005 ; Talukder, 2006). Les résultats de Qin *et al.* (2010) ont montré que l'huile essentielle de *Piper sarmentosum* et la Myristicine (composé majeur) présentaient un effet inhibiteur sur la croissance et le développement de *Brontis palongissima*, avec un effet plus marqué de la Myristicine. L'extrait éthanolique de *Melia azedarach* a réduit la consommation et la digestibilité chez les larves de *Spodoptera littoralis*, induisant une diminution du taux de leur croissance pondérale (Akacha *et al.*, 2017). Par ailleurs, l'extrait d'éther de pétrole d'*Artemisia annua* a influencé le pourcentage d'éclosion larvaire et nymphale et l'émergence des adultes et a diminué également l'indice de croissance des individus (Sharma *et al.*, 2006). Les mêmes auteurs, ont montré une réduction de l'indice de croissance chez *C. quinquefasciatus* après traitement à l'extrait méthanolique d'*Azadirachta indica*, en diminuant la taille des pupes émergées, et en induisant un gonflement du céphalothorax à la suite du déplacement du tissu hémolympatique de l'abdomen au céphalothorax (Sharma *et al.*, 2009). Dris (2018) a noté que les HEs de *L. dentata* et *M. piperita* provoquent une réduction des paramètres morphométriques des larves, des pupes et des adultes mâles et femelles chez deux espèces de moustiques, *C. pipiens* et *C. longiareolata*. Ainsi que, les travaux de Bouguerra (2019), ont révélé une réduction du poids des larves de *C. pipiens* après traitement aux huiles de *T. vulgaris* et *O. vulgare*.

4.6. Impact des HEs sur les réserves métaboliques des moustiques

Dans les études physiologiques, la détermination des protéines totales et de nombreuses macromolécules chimiques, telles que les lipides et les glucides, est important. Les protéines sont des composants biochimiques importants nécessaires au développement de l'organisme, à sa croissance et à ses activités vitales (Lodish *et al.*, 2005). Les résultats du dosage après traitement au Laurier et à la Menthe, révèlent une réduction du contenu en protéines au cours des temps testés et pour les trois espèces étudiées avec un effet plus marqué du Laurier et chez *Aedes* plus que *Culiseta* et *Culex*. Les mêmes observations ont été faites chez *C. pipiens* et *C. longiareolata* traités au Basilic, à la Menthe et à la Lavande (Dris *et al.*, 2017), et chez *C. pipiens* traité au Thym et à l'Origan (Bouguerra, 2019). La diminution de la quantité de protéines chez *Glyphodes pyloalis* traitées par des doses létales et sublétales d'HE de *L. angustifolia* a été également rapportée par Yazdani *et al.* (2014). Nos résultats concordent avec un nombre important de recherches où le traitement par les huiles essentielles provoque

une réduction du taux de protéines chez les insectes (Smirle *et al.*, 1996 ; Caballero *et al.*, 2008 ; War *et al.*, 2011 ; Khosravi & Sendi, 2013). Les travaux d'Ali *et al.* (2017) et Huang *et al.* (2004) ont montré également une réduction du contenu en protéines chez les larves de *S. littoralis* traitées aux extraits d'Ail et de Citron et chez *Choristoneura rosaceana* traité à l'azadirachtine.

Il a été rapporté que la réduction de ce contenu est un phénomène fréquent chez les insectes après traitement avec les composés toxiques (Nathan *et al.*, 2008). La réduction de la teneur en protéines chez les larves a été attribuée à un ou plusieurs facteurs, tels que la réduction de leurs synthèse ou augmentation de leurs dégradations pour détoxifier les principes actifs présents dans les extraits de plantes ou les huiles essentielles (Vijayaraghavan *et al.*, 2010). De plus, cette diminution pourrait être due à une dégradation des protéines en acides aminés afin de s'insérer dans le cycle de Krebs comme acides cétoniques pour compenser les dépenses d'énergie causées par le stress (Nath *et al.*, 1999). Par ailleurs, la réduction de ces réserves protéiques peut être également due à l'adaptation physiologique de l'insecte à cet état de stress causé par ces insecticides (Ribeiro *et al.*, 2001) ou des mécanismes de synthèse des lipoprotéines indispensables pour former et renouveler les cellules et les tissus (Raisonnier, 2003). La réduction ou l'augmentation du niveau de protéines solubles totales peuvent également être attribuées aux changements dans la synthèse de l'ADN, une diminution de la synthèse des protéines, à une faible assimilation des aliments et la faible absorption des acides aminés (Askar *et al.*, 2016).

Les HEs peuvent engendrer des perturbations biochimiques exprimées sur le plan quantitatif par une augmentation ou un déclin en différents métabolites (protéines, glucides et lipides) (Yazdani *et al.*, 2014 ; Gnanamani & Dhanasekaran, 2017 ; Dris *et al.*, 2018).

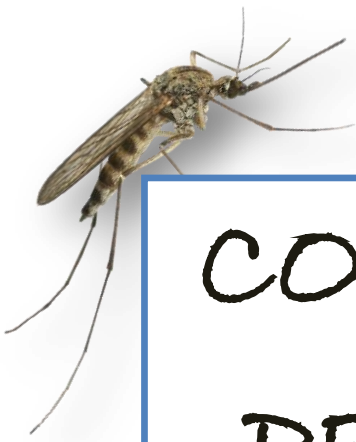
Les glucides, en tant qu'éléments énergétiques jouent un rôle crucial dans la physiologie des insectes. Ils sont convertis en graisses et participent à la synthèse des protéines (Chapman, 1998 ; Kaufmann & Brown, 2008). Nos résultats indiquent une réduction du taux de glucides chez les larves de trois espèces de moustiques après traitement aux HEs de deux plantes étudiées avec l'effet le plus marqué du Laurier. Les mêmes observations ont été faites chez *C. pipiens* traité au Basilic (Dris *et al.*, 2018), au Thym (Bouguerra *et al.*, 2017), à l'Origan (Bouguerra, 2019), et chez *C. pipiens* et *C. longiareolata* traités à la Lavande et à la Menthe (Dris, 2018). Les réserves de glucides sont également affectées par les huiles essentielles

végétales (Sak *et al.*, 2006). De plus, les travaux de Khosravi *et al.* (2011) réalisés sur la larve de *G. pyloalis* traitée avec l'extrait d'*A. annua* révèlent des résultats similaires avec une réduction de ce paramètre énergétique. Cet épuisement est dû à une demande excessive d'énergie et d'un métabolisme accru en raison de l'effet du traitement (Sancho *et al.*, 1998).

Les lipides représentent la principale source d'énergie chez les insectes (Beenakers *et al.*, 1985). Ils sont transportés du corps gras, site de leurs synthèses et stockage vers les organes utilisateurs via l'hémolymphe surtout lors de la vitellogénèse (Downer, 1985 ; Keely, 1985 ; Van Hensden & Law, 1989). Les résultats obtenus au cours de notre étude révèlent une perturbation du contenu en lipides chez les larves traitées aux huiles essentielles des trois espèces étudiées avec un effet plus marqué du laurier et une sensibilité d'*Aedes* par rapport à *Culex* et *Culiseta*. Les mêmes observations ont été faites chez *C. pipiens* traité à l'*O. basilicum* (Dris *et al.*, 2017), *T. vulgaris* (Bouguerra *et al.*, 2017), *O. vulgare* (Bouguerra, 2019), et chez *C. pipiens* et *C. longiareolata* traités à la Lavande et à la Menthe (Dris, 2018). L'épuisement des lipides après traitement pourrait être dû à une altération de leur synthèse (Klowden, 2007), à un dysfonctionnement hormonal indispensable pour le contrôle du métabolisme lipidique (Steel, 1985) et à la consommation accrue de cette réserve métabolique (Sak *et al.*, 2006). En général, la teneur en lipides du corps gras augmente continuellement pendant la période larvaire des insectes holométaboles pour être utilisée pendant la métamorphose ainsi que pour fournir les réserves aux adultes pour soutenir le vol et l'embryogénèse (Arrese *et al.*, 2001 ; Canavoso *et al.*, 2001). Toute perturbation des composés biochimiques a un effet direct et indirect sur les adultes émergés (Sak *et al.*, 2006). La diminution des lipides tissulaires sous l'effet du stress d'un insecticide pourrait être due à la formation de lipoprotéines utilisées pour réparer les dommages cellulaires et à l'augmentation de la lipolyse (Steele, 1985 ; Lohar & Wright, 1993). Par contre, l'application de l'azadirachtine chez *B. germanica* provoque une augmentation des lipides (Saci-Messiad, 2006).

Les lipides et les glucides sont les principaux déterminants de la survie larvaire et du processus de synthèse de l'hormone juvénile (Clements, 1999 ; Caroci *et al.*, 2004). La biosynthèse de ces réserves au cours du stade larvaire chez les moustiques est importante pour servir de précurseurs indispensables pour la métamorphose des larves en pupes et en adultes (Timmermann & Briegel, 1999). Cela, suggère que la réduction de ces réserves métaboliques larvaires peut empêcher le processus de métamorphose larvaire, supprimant ainsi l'émergence

des adultes. Plusieurs études ont démontré que les insecticides synthétiques et botaniques peuvent modifier les concentrations de glucides, de lipides et de protéines chez différentes espèces d'insectes. Tarigan *et al.* (2016) montrent que les HEs de Cardamome, Cannelle et Muscade diminuent le taux de protéines, de glucides et de lipides de deux espèces d'insectes ravageurs, *Tribolium castaneum* et *Callosobruchus maculatus*. Mêmes observations ont été signalées chez les larves de *G. pyloalis* traitées à l'extrait d'*A. annua* (Khosravi *et al.*, 2011), chez les larves d'*Ephestia kuehniella* traitées par les HEs de *Teucrium polium* (Lamiaceae) et par l' α -pinène (Shahriari *et al.*, 2017), chez *Helicoverpa armigera* traité aux huiles d'*Azadirachta indica* (War *et al.*, 2013) et chez les larves de *T. castaneum* traitées à l'*A. foeniculum* (Ebadollahi *et al.*, 2013). Une réduction de ces paramètres a été également observée chez les larves de *Plodia interpunctella* après le traitement avec la CL₃₀ d'HE d'*Artemisia khorassanica* (Borzoui *et al.*, 2016). Preet & Sneha (2018) étudient l'effet du Neem à l'égard des larves d'*Ae. aegypti*, ils signalent une diminution de 90% et 82% du contenu en glucides et lipides respectivement après 24h de traitement comparativement aux témoins. Ils confirment que les moustiques sont capables d'ajuster leurs voies métaboliques en fonction des besoins et des contraintes. La teneur en protéines, glucides et lipides chez les larves de *P. interpunctella* et *Helicoverpa armigera* traitées par les concentrations subléthales d'HE d'*Artemisia annua* est significativement diminuée après 24h de traitement (Zamani *et al.*, 2011 ; Mojarab-Mahboubkar *et al.*, 2015). Par contre, Madaci *et al.* (2008) indiquent que les extraits hydroalcooliques des feuilles de *Nerium oleander* (Apocynacées) provoquent une augmentation du taux de protéines chez les larves des vers blanc *Rhizotrogini*. Askar *et al.* (2016) signalent que l'application de l'huile de Girofle sur les adultes de trois espèces de *Sitophilus* augmente le taux de lipides et protéines, en revanche, l'huile d'Anis réduit significativement la teneur en protéines chez *S. granarius* et l'augmente chez *S. oryzae*.



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les produits naturels restent toujours une source inépuisable de structures complexes et diverses, qui peuvent avoir beaucoup d'applications, à savoir l'industrie pharmaceutique, l'industrie alimentaire, l'industrie cosmétique, la parfumerie, etc... Les plantes synthétisent plusieurs substances du métabolisme secondaire. Ces molécules exercent plusieurs effets chez les insectes: répulsif, attractif, perturbateur du développement, inhibiteur de la reproduction, etc...

Le travail réalisé, nous a permis d'évaluer chez trois espèces de moustiques *Culiseta longiareolata*, *Culex pipiens* et *Aedes caspius*, l'effet des huiles essentielles extraites de *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis*, sur la mortalité, la morphométrie, la composition biochimique, et sur l'activité des biomarqueurs enzymatiques tels que l'acétylcholinestérase (AChE) et les glutathion S-transférases (GSTs) et non enzymatique, le glutathion (GSH).

Les HEs extraites des deux plantes, *Mentha pulegium* (Lamiaceae) et *Laurus nobilis* (Lauraceae) présentent des rendements de 1,56% et 1,86% respectivement. L'analyse chimique de l'huile de la Menthe réalisée par la CPG-SM a révélé la présence de quatorze éléments avec l'abondance des composés monoterpéniques dominés par le constituant principal, le Pulegone (72,50%). Alors que l'huile du Laurier contient dix-neuf composants, dominés par l'oxyde terpénique, 1,8-Cinéole (47,35%).

Les essais toxicologiques ont permis de déterminer les concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) de ces huiles à l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*, *Culex pipiens* et *Aedes caspius*. Ces huiles révèlent un effet insecticide avec une relation dose-réponse. L'HE de la menthe présente un pouvoir larvicide très élevé contre ces espèces de moustiques comparativement au Laurier. De plus, *A. caspius* est l'espèce la plus sensible aux traitements appliqués comparativement à *C. pipiens* et *C. longiareolata*.

L'évaluation de l'effet des HEs sur les biomarqueurs, indique qu'elles exercent une action neurotoxique chez les larves de trois espèces, traduite par une inhibition de l'activité spécifique de l'AChE. Cependant, ces huiles induisent l'activation du système de détoxification par le biais d'une augmentation significative de l'activité des GSTs et une

diminution de la GSH au cours de la période testée, 24 et 48 et 72 heures après traitement. La Menthe est l'espèce qui a plus d'effet sur ces biomarqueurs.

L'étude morphométrique montre que les HEs extraites de deux plantes, perturbent la croissance linéaire et pondérale des individus, en réduisant le volume et le poids corporel des larves de *C. longiareolata*, *C. pipiens* et *A. caspui*. De plus, une perturbation de la composition biochimique (contenu en protéines, glucides et lipides) a été enregistrée chez les trois espèces, après traitement avec les deux plantes avec un effet plus marqué du Laurier.

A l'avenir, il serait intéressant de compléter cette recherche en :

- ✓ Evaluant ces huiles essentielles sur d'autres mécanismes de résistance, essentiellement les enzymes de détoxications tels que les estérases, les monooxygénases à cytochrome P 450 et la lactate déshydrogénase (LDH).
- ✓ Elucidant le mode d'action de ces substances sur la reproduction de ces insectes.
- ✓ Evaluant leur efficacité dans le milieu naturel en interaction avec les facteurs biotiques et abiotiques
- ✓ Comparer l'efficacité de ces huiles par rapport aux différents extraits, éthanolique, méthanolique, éther de pétrole et extrait aqueux.



RESUME

VI. RESUME

L'objectif du présent travail est d'étudier la composition chimique et l'activité biologique des huiles essentielles de deux plantes, *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis* à l'égard de trois espèces de moustiques les plus abondantes dans la région de Tébessa, *Culex pipiens*, *Culiseta longiareolata* et *Aedes caspius*.

Le rendement des HEs varie d'une plante à une autre et affiche des valeurs de 1,56 % pour *M. pulegium* et 1,86% pour *L. nobilis*. L'analyse chimique de ces huiles par CPG/SM, a révélé la prédominance des composés monoterpéniques avec Pulégone (72,50%) et 1,8-Cinéole (47,35%) comme constituants majoritaires chez *M. pulegium* et *L. nobilis* respectivement.

Les essais toxicologiques réalisés, ont révélé le pouvoir insecticide de ces HEs à l'égard de trois espèces de moustiques avec une efficacité marquée de la Menthe par rapport au Laurier. De plus, *C. longiareolata* est l'espèce la plus sensible comparativement à *Culex et Aedes*.

Une fois les concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) sont déterminées, elles sont appliquées sur les larves 4 nouvellement exuviées de trois espèces, et leurs effets ont été évalués sur les biomarqueurs, la morphométrie et les réserves énergétiques chez les individus témoins et traités à différentes périodes, 24, 48 et 72 heures.

Les biomarqueurs révèlent d'une part, un effet neurotoxique des huiles essentielles chez ces trois espèces de moustique, via une inhibition de l'activité spécifique de l'AChE et d'autre part, une induction du système de détoxification par le biais d'une augmentation des GSTs et une diminution de la GSH.

Par ailleurs, le traitement par ces HEs provoque une perturbation de la croissance et des réserves énergétiques des individus. Cela est probablement dû aux conditions de stress imposées à ces insectes par le traitement et qui ont besoin d'un apport supplémentaire d'énergie provenant du métabolisme glucidique et lipidique.

Mots clés : Moustiques, Huiles essentielles, *C. longiareolata*, *C. pipiens*, *A. caspius*, *M. pulegium*, *L. nobilis*, Toxicité, Biomarqueurs, Morphométrie, Réserves énergétiques.

ABSTRACT

The present study was undertaken in order to determine the chemical composition and the biological activity of the leaf essential oil of *Mentha pulegium* and *Laurus nobilis* cultivated in Tebessa (Algeria) against three most abundant mosquito species, *Culex pipiens*, *Culiseta longiareolata* and *Aedes caspius*.

The yield of HEs varies as function of plant and shows values of 1.56% for *M. pulegium* and 1,86 % for *L. nobilis*. Chemical analysis of these oils investigated by GC-MS revealed the predominance of monoterpene compounds with Pulegone (72,50%) and 1, 8-Cineole (47,35%) as major components in *M. pulegium* and *L. nobilis* respectively.

Bioassay test revealed the insecticidal activity of these essential oils. Moreover, *M. pulegium* EO appeared most toxic in comparison with *L. nobilis* and *Aedes* is the most sensitive species compared to *Culex* and *Aedes*

Once the lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₀) are determined, they are applied to the newly moulted fourth instar larvae of three species, and their effects have been evaluated on the biomarkers, the morphometric measurements and the energy reserves in the control and treated larvae during different periods, 24, 48 and 72 hours.

The biomarkers revealed a neurotoxic activity and a stimulation of the detoxification system as evidenced by an inhibition of AChE and an increase in GST and a decrease in GSH.

Furthermore, treatment with these essential oils causes a disturbance in the growth and energy reserves of individuals. This is probably due to the stress induced by these EOs in mosquitoes and which require additional energy input from carbohydrate and lipid metabolism in particular. Laurel oil is the treatment that has more effect on these parameters.

Keywords : Mosquitoes, Essential oils, *C. longiareolata*, *C. pipiens*, *A. caspius*, *M. pulegium*, *L. nobilis*, Toxicity, Biomarkers, Morphometry, Energy reserves.

الملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة التركيب الكيميائي والنشاط البيولوجي للزيوت الأساسية المستخلصة من نباتين، *Mentha pulegium* النعناع البري المعروف بإسم الفليو و *Laurus nobilis* نبات الغار الأخضر المعروف بإسم الرند و تحديد فعاليتها ضد يرقات ثلاثة أنواع من البعوض: *Culex pipiens*، *Culiseta longiareolata* و *Aedes caspius* الأكثر انتشارا في منطقة تبسة.

مردود الزيوت الأساسية متغير من نوع نباتي الى آخر حيث سجلنا قيم بنسبة 1.56 % بالنسبة لي الفليو و 1.86 % بالنسبة لنبات الرند و كشف التحليل الكيميائي لهذه الزيوت عن طريق CPG / SM عن سيادة مركبات monoterpeniques مع Pulegone (72.50 %) و 1,8-Cinéole (47.35 %) باعتبارها المكونات الرئيسية في *M. Pulegium* و *L. nobilis* على التوالي.

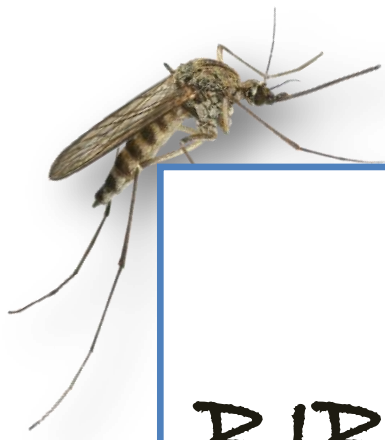
بمجرد تحديد الجرعات المميّنة (CL₅₀) و (CL₉₀)، يتم تطبيقها على يرقات البعوض، تأثير هذه الجرعات تم فحصها على المؤشرات الحيوية الانزيمية، المعايير القياسية والبيوكيميائية لليرقات في فترات مختلفة 24، 48 و 72 ساعة بعد المعالجة.

تكشف اختبارات السمية التي أجريت ان هذه الزيوت لها خصائص مبيدات حشرية و ان الزيت المستخلص من الفليو هو الاكثر فعالية مقارنة بالرند كما ان *Aedes* هي أكثر الأنواع حساسية مقارنة بـ *Culex* و *Culiseta*.

يكشف النشاط الانزيمي المعين عند اليرقات المعالجة بالزيوت الأساسية عن تأثير عصبي من خلال تثبيط نشاط نوعي لـ AChE، وتحفيز نظام إزالة السموم عن طريق زيادة في GSTs وانخفاض في GSH.

استخدام هذه الزيوت الأساسية يسبب اضطراباً في النمو والمحتوى الطاقوي لدى اليرقات و هذا يحتمل ان يكون راجع الى احتياجاتهم الإضافية لطاقة بسبب ظروف الإجهاد التي تفرضها المعالجة على هذه الحشرات والتي تتطلب طاقة إضافية من استقلاب السكر و الدهون.

الكلمات المفتاحية : بعوض، الزيوت الأساسية، *A. caspius*، *C. pipiens*، *C. longiareolata*، السمية، مؤشرات حيوية، مؤشرات قياسية، المحتوى الطاقوي.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ✚ **Abbott, W.S.** (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. **18**: 265-267.
- ✚ **Abdelgaleil, S. A. M., Mohamed, M. I. E., Badawy, M. E. I. & El-Arami, S. A. A.** (2009). Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. *Journal of Chemical Ecology*. **35**: 518-525.
- ✚ **Abdelli, M., Moghrani, H., Aboun, A. & Maachi, R.** (2016). Algerian *Mentha pulegium* L. leaves essential oil: Chemical composition, antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*. **94**:197-205.
- ✚ **Adams, R.P.** (2001). Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Carol Stream, IL., USA: Allured Publishing Corp.
- ✚ **Adeyi, A.O., Akozil, G.O., Adeleke, M.A., Agbaogun, B.K.O. & Idowu A.B.** (2014). Induction and activity of glutathione S-transferases extracted from *Zonocerus variegatus* (Orthoptera: Pyrgomorphidae) exposed to insecticides. *International Journal of Tropical Insect Science*. 1-7.
- ✚ **AFNOR.** (1987). Huiles essentielles, recueil dans des normes française. 5ème Ed.1. échantillonnage et méthodes d'analyses, 2. Spécifications, AFNOR, Paris.
- ✚ **Aghel, N., Yamini, Y., Hadjiakhoondi, A. & Pourmortazavi, S.M.** (2004). Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Talanta*. **62**: 407-411.
- ✚ **Agnihotri, V.J., Lattoo, S.K., Thappa, R.K., Kaul, P., Qazi, G.N., Dhar, A.K., Saraf, A., Kapahi, B.K., Saxena, R.K. & Agarwal, S.G.** (2005). Chemical variability in the essential oil components of *Achillea millefolium* Agg. from different Himalayan habitats (India). *Planta Medica Journal*. **71**: 278-280.
- ✚ **Aissaoui, A., Amrani, A., Said, Z., Toukour, L.** (2018). Activité acaricide des huiles essentielles du *Mentha pulegium*, *Origanum compactum* et *Thymus capitatus* sur l'acarien phytophage *Tetranychus urticae* Koch (Acari : Tetranychidae). *European Scientific Journal*. 14 (3): 118. Doi: 10.19044/esj.2018.

-
- ✚ **Aitken T.H.G.** (1954). The culicidae of Sardinia and Corsica (Diptera). Bulletin of Entomological Research. **45(3)**: 437-494.
- ✚ **Ait-Ouazzou, A., Lorán, S., Arakrak, A., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., Pagán, R. & Conchello, P.** (2012). Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. Food Research International Journal. **45**:313-319.
- ✚ **Akacha, M., Chaieb, I., Laarif, A., Haouala & R., Boughanmi, N.** (2017). Effects of *Melia azedarach* leaf extracts on nutritional behavior and growth of *Spodoptera littoralis*. Tunisian. Journal of Plant Protection. **12**: 61-70.
- ✚ **Ali, M.U. Liu, G. Yousaf, B. Abbas, Q. Ullah, H. Munir, M. A. M. & Fu, B.** (2017). Pollution characteristics and human health risks of potentially ecotoxic elements (PTEs) in road dust from metropolitan area of Hefei. China. Chemosphere Journal. **181**: 111-121.
- ✚ **Al-Sarar, A. S.** (2010). Insecticide resistance of *Culex pipiens* (L) populations (Diptera: Culicidae) from Riyadh city, Saudi Arabia: status and overcome. Saudi Journal of Biological Sciences. **17**: 95-100.
- ✚ **Al-Sarar, A. S., Hussein, H. I., Abobakr, Y., Bayoumi, A. E. & Al-Otaibi, M. T.** (2014). Fumigant toxicity and antiacetylcholinesterase activity of Saudi *Mentha longifolia* and *Lavandula dentata* Species against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Turkish Journal of Entomology- Dergi Park. **38(1)**: 11-18.
- ✚ **Amalich, S., Fadili, K., Fahim, M., El Hilali, F. & Zair, T.** (2016). Polyphenols content and antioxidant power of fruits and leaves of *Juniperus phoenicea* L. from Tounfite (Morocco). Moroccan Journal of Chemistry. **4(1)** : 177-186.
- ✚ **Amer, A. & Mehlhorn, H.** (2006). Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex larvae* (Diptera, Culicidae). Parasitology Research. **99**: 466-472.
- ✚ **Andreo, S.** (2003). L'effet anti-gorgement sur chien d'un shampoing à 0,07% d'ltamethrine sur un moustique du complexe *Culex pipiens*. Thèse en Medecine Vétérinaire Toulouse, 128 p.
-

-
- ✚ **Andres, M., Gonzalez-Coloma, A., Sanz, J., Burillo, J. & Sainz P.** (2012). Nematicidal activity of essential oils: a review. *Phytochemistry Reviews*. **11(4)**: 371-390.
- ✚ **Anonym, 1983.** Informal consultation on insect growth regulators. WHO/VBC/83.
- ✚ **Ansari, M.A., Vasudevan, P., Tandon, M. & Razdan, A.** (1999). Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. *Bioresource Technology Journal*. **71(3)**: 267-271.
- ✚ **Anupam, G., Nandita, C. & Goutam, C.** (2012). Plant extracts as potential mosquito larvicide. *Indian Journal of Medical Research*. **135**: 581- 598.
- ✚ **Anwar, F., Ali, M., Hussain, A.I. & Shahid, M.** (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Pakistan. *Flavour and Fragrance Journal*. **24**:170-176.
- ✚ **Aouati, A.** (2016). Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). Thèse de Doctorat en sciences. Spécialité: Entomologie, 129p.
- ✚ **Aouinty, B., Oufara, S., Mellouki, F. & Mahari, S.** (2006). Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement Journal*. **10(2)**: 67- 71.
- ✚ **Arrese, E.L., Canavoso, L.E., Jouni, Z.E., Pennington, J.E., Tsuchida, K. & Wells, M.A.** (2001). Lipid storage and mobilization in insects: current status and future directions. *Insect Biochemistry and Molecular Biology Journal*. **31**: 7-17.
- ✚ **Ashraf, M. & Bhatti, M.K.** (1975). Studies on the essential oils of the Pakistan species of *Trachyspermum Ammi* (L), Ajwain seed oil. Pakistan. *Journal of Scientific and Industrial Research*. **18**: 232-235.
- ✚ **Askar, S.I., Al-Assaal, M.S. & Nassar, A.M.K.** (2016). Efficiency of some essential oils and insecticides in the control of some *Sitophilus* insects (Coleoptera: Curculionidae). *Egyptian Journal of Plant Protection Research*. **4(2)**: 39-55.
-

-
- ✚ **Badiou, A.** (2007). Caractérisation cinétique et moléculaire du biomarqueur Acétylcholinestérase chez l'Abeille, *Apis mellifera*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université de Paul Cezanne Aix-Marseille III. 147 p.
- ✚ **Bainy, A.C.D.** (2000). Biochemical responses in penaeids caused by contaminants. *Aquaculture*. **191**: 163-168.
- ✚ **Bakkali, F., Averbek, S., Averbek, D. & Idaomar, M.** (2008). Biological effects of essential oils- a review. *Food and Chemical Toxicology*. **46**: 446-475.
- ✚ **Barbaro, G., Di Lorenzo, G., Soldini, M., Bellomo, G., Belloni, G. & Grisorio B.** (1997). Glutathion. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. **32(12)**: 1261-6.
- ✚ **Barla, A., Topçu, G., Oksuz, S., Tumen, G. & Kingston, D.G.I.** (2007). Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis*. *Food chemistry*. **104**:1484- 1487.
- ✚ **Beenakers, A.M.T.H., Vander Host, D.G. & Van Marrewijk, W.J.A.** (1985). Insect lipids and lipoproteins and their role in physiological process. *Progress in Lipid Research*. **24**:19-67.
- ✚ **Beghidja, N., Bouslimani, N., Benayache, F., Benayache, S. & Chalchat, J.C.** (2007). Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the east of Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*. **43**: 481-483.
- ✚ **Benayad, N.** (2008). Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Faculté des Sciences Rabat, Maroc. 63p.
- ✚ **Benayad, N.** (2013). Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse. Thèse, faculté des sciences, Université de Mohammed V – AGDAL. 186 p.
- ✚ **Bendali, F.** (1989). Etude de *Culex pipiens pipiens* anautogène, Systématique et lutte bactériologique (*Bacillus thuringiensis israelensis* serotype H14. *B. sphaericus* (1953) et deux espèces d'hydracariens. Thèse de magister en Arthropodologie. Université d'Annaba. Algérie.
-

-
- ✚ **Bendali, S.F.** (2006). Etude bioécologique, Systématique et Biochimique des Culicidae (Diptera- Nematocera) de la région d'Annaba. Lutte biologique anticulicidienne. Thèse de Doctorat d'Etat en Science Naturelle, 224 p.
- ✚ **Berchi, S.** (2000). Bioécologie de *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de lutte. Thèse de doctorat es Sciences, Université de Constantine.133p.
- ✚ **Boira, H. & Blanquer, A.** (1998). Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. Biochemical Systematics and Ecology Journal. **26** :811-822.
- ✚ **Bonde, J. P., Toft, G., Rylander, L., Rignell-Hydbom, A., Giwercman, A., Spano, M., Manicardi, G. C., Bizzaro, D., Ludwicki, J. K., Zvyezday, V., Bonefeld-Jorgensen, E. C., Pedersen, H. S., Jonsson, B. A. & Thulstrup, A. M.** (2008). Fertility and markers of male reproductivefunction in Inuit and European populations spanning large contrasts in blood levels of persistent organochlorines. Environmental Health Perspectives Journal. **116**: 269-277.
- ✚ **Borah, R., Kalita, M. C., Kar, A. & Talukdar, A. K.** (2010). Larvicidal efficacy of *Toddalia asiatica* (Linn.) Lam against two mosquito vectors *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. African Journal of Biotechnology. **9(16)**:2527-2530.
- ✚ **Borzoui, E., Naseri, B., Abedi, Z. & Sadegh, M.** (2016). Lethal and Sublethal effects of essential oils from *Artemisia khorassanica* and *Vitex pseudo-negundo* against *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). Environmental Entomology Journal. **45(5)**: 1220-1226.
- ✚ **Bouabida, H.** (2014). Inventaire des moustiques de la région de Tébessa et bioactivité du spiromesifène sur la reproduction de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens* : aspects écologique et biochimique. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Université Badji Mokhtar de Annaba. 134p.
- ✚ **Bouguerra, N., Tine Djebbar, F. & Soltani, N.** (2017). Algerian *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and larvicidal activity against the mosquito *Culex pipiens*. International Journal of Mosquito Research. **4(1)**: 37-42.
- ✚ **Bouguerra, N.** (2019). Efficacité comparée des extraits de deux plantes, *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culex pipiens* : Composition chimique, Toxicité, Biochimie et Biomarqueurs. Thèse
-

pour l'obtention du Diplôme de Doctorat LMD, Université Larbi Tébessi de Tebessa. 137p.

- ✚ **Boukhebti, H., Chaker, A.N., Belhadj, H., Sahli, F., Ramdhani, M., Laouer, H. & Harzallah, D.** (2011). Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils. *Der Pharmacia Letters*. **3**: 267-275.
- ✚ **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. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Magister en Entomologie (Option : Application Agronomique et Médicale). 191p.
- ✚ **Bounous, G.** (2000). Whey protein concentrate (WPC) and glutathione modulation in cancer treatment. *Anticancer Research Journal*. **20**: 4785-4792.
- ✚ **Boyer, S.** (2006). Résistance Métabolique des Larves de Moustiques aux Insecticides : Conséquences Environnementales. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat. Université Joseph Fourier - Grenoble I. 78 p.
- ✚ **Brada, M., Mohamed B., Michel M. & Annabelle, C.** (2007). Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de L'Algérie. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment Journal*. **11(1)** : 3-7.
- ✚ **Bradford, M.M.** (1976). A rapid and sensitive method of the quantitation microgram quantities of Protein utilising the principale dye binding. *Analytical Biochemistry Journal*. **72**: 248-254.
- ✚ **Braquenier, J.B.** (2009). Etude de la toxicité développementale d'insecticides organophosphorés: Analyse comportementale de la souris CD1. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université de Liege. 217 p.
- ✚ **Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie, Phytochimie -Plantes médicinales - 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. 165-178.
- ✚ **Brunhes, J., Rhaim, A., Geoffroy, B., Angel, G. & Hervy, J.P.** (1999). Les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne. Logiciel de l'institut de recherche et de développement de Montpellier (France).
- ✚ **Bussiéras, J. & Chermette, R.** (1991). Ecole nationale vétérinaire d'Alfort. Service de parasitologie, Ecole nationale vétérinaire, Abrégé de parasitologie vétérinaire: Parasitologie générale.

-
- ✚ **Caballero, C., Lopez-Olguin, J., Ruiz, M., Ortego, F. & Castanera, P.** (2008). Antifeedant activity and effect of terpinoids on detoxification enzymes of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner). Spanish Journal of Agricultural Research. **6**:177-84.
 - ✚ **Canavoso, L. E., Jouni, E. J., Karnas, K. J., Pennington, J. E. & Wells, M. A.** (2001). Fat metabolism in insects. The Annual Review of Nutrition. **21**: 23-46.
 - ✚ **Caputo, L., Nazzaro, F., Souza, L.F., Aliberti, L., Martino, L.D., Fratianni, F., Coppola, R. & Feo, V.D.** (2017). *Laurus nobilis*: Composition of essential oil and its biological activities. Molecules Journal. **22(6)**: 930.
 - ✚ **Caredda, S., Franca, A. & Seddaiu, G.** (2002). Fire breaks over-sowing: An alternative tool for the wildfire risk reduction in Sardinia. In: Proc. of the 19th General Meeting of the EGF, La Rochelle, France. P: 908-909.
 - ✚ **Caroci, A.S., Li, Y. & Noriega, F.G.,** (2004). Reduced juvenile hormone synthesis in mosquitoes with low teneral reserves reduced ovarian previtellogenic development in *Aedes aegypti*. Journal of Experimental Biology. **207**: 2685-2690.
 - ✚ **Carvalho, P., Tirnauer, J. S. & Pellman, D.** (2003). Surfing on microtubule ends. Trends in Cell Biology. **13**: 229-237.
 - ✚ **Cassier, P., Lafont, R., Descamps, M. & Soyeux, D.** (1997). La reproduction des invertébrés : stratégies, modalités et régulation. Edition Masson, 354 p.
 - ✚ **Cavalcanti, F. R., Oliveira, J. T. A., Martins-Miranda, A. S., Viégas, R. A. & Silveira, J. A. G.** (2004). Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. New Phytologist. **163**: 563-571.
 - ✚ **Celiktas, O.Y., Hames Kocabas, E.E., Bedir, E., Verdar Sucan, O. & Baser, K.H.C.** (2007). Antimicrobial activities of methanolic extract and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. Food Chemistry Journal. **100**: 553-559.
 - ✚ **Chahal, K.K., Kaur, M., Bhardwaj, U., Singla, N. & Kaur, A.** (2017). A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis* L. essential oil. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. **6**: 1153-1161.
 - ✚ **Charpentier, E., Novak, R. & Tuomanen, E.** (2000). Regulation of growth inhibition at high temperature, autolysis, transformation and adherence in *Streptococcus pneumoniae* by ClpC. Mol. Journal of Microbiol. **37**: 717-726.
-

-
- ✚ **Chapman, R.F.** (1998). *The Insects Structure and Function*. Cambridge University Press: New York.
- ✚ **Cherrat, L., Espina, L., Bakkali, M., Pagan, R., Laglaoui, A.** (2014). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies Journal*. **22**:221-229.
- ✚ **Chopa, C. S. & Descamps, L. R.** (2012). Composition and biological activity of essential oils against *Metopolophium dirhodum* (Hemiptera: Aphididae) cereal crop pest. *Pest Management Science*. **68(11)**:1492-500.
- ✚ **Clark, A.G.** (1989). The comparative enzymology of GST from non-vertebrate organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology Journal*. **92**: 419-446.
- ✚ **Clements, A.N.** (1999). *The biology of mosquitoes: development, nutrition and reproduction*. CAB International Publishing, Eastbourne.
- ✚ **Cseke, L.J. & Kaufman, P.b.** (1999). How and why these compounds are synthesized by plants. Pages 37-90 in P.B. Kaufman, L.J. Cseke, S. Warber, J.A. Duke et H.L. Brielmann (eds.), *Natural Products from Plants*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- ✚ **Dadalioglu, G., Evrendilek, A.** (2004). Chemical composition and antibacterial effect of essential oils of turkish oregano (*Origanum minutifolium*), Bay Laurel (*Laurus nobilis*), Spanish Lavander (*Lavandula stoechas* L.) and Fennel (*Foeniculum vulgare*), on common food borne pathogen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **52** : 8255 -8260.
- ✚ **Dahak, K., Bouamama, H., Benkhalti, F. & Taourirte, M.** (2014). Drying methods and their implication on quality, quantity and antimicrobial activity of the essential oil of *Laurus nobilis* L. from Morocco. *Journal of Biological Sciences*. **14(2)**: 94-101.
- ✚ **Dannau, M., Leenaers, L., Amichot, M. & Haubruge, E.** (2003). Biomarqueurs d'exposition en milieu terrestre : impact d'hydrocarbures halogénés sur l'activité de trois systèmes enzymatiques chez *Drosophila pseudoobscura*. *Environnement, Risque et Santé*. **2(6)**: 344-349.
- ✚ **Da Silveira, S.M., Luciano, F.B., Fronza, N., J.R., A.C., Scheuermann, G.N. & Vieira, C.R.W.** (2014). Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards foodborne pathogens and its application in
-

- fresh *Tuscan sausage* stored at 7°C. Food Science and Technology Journal. **59**: 86-93.
- ✚ **De Barjac, H., Veron, M. & Cosmao-Dumanoir, V.** (1980). Caractérisation biochimique et sérologique des souches de *Bacillus sphaericus* pathogènes ou non pour les moustiques. Annals of Microbiology (Institut Pasteur). **131(b)**: 91-201.
- ✚ **Derwich, E., Benziane, Z., Boukir, A.** (2009). Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. **3(4)**: 3818-3824.
- ✚ **Derwich, E., Benziane, Z., Taouil, R., Senhadji, O. & Touzani, M.A.** (2010). Comparative study of the chemical composition of the leaves volatil oil of *Juniperus phoenicea* and *Juniperus oxycedrus*. Middle-East Journal of Scientific Research. **5(5)**: 416-424.
- ✚ **Diaz-Maroto, M.C., Castillo, N., Castro-Vazquez, L., Gonzalez-Vinas, M.A. & Perez-Coello, M.S.** (2017). Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.). Flavour and Fragrance Journal. **5 (5)** : 416-424.
- ✚ **Di Leo Lira, P., Gianninoto, H. & Bandoni, A.** (2009). Essential oil and by-products of distillation of bay leaves (*Laurus nobilis* L.) from Argentina. Industrial Crops and Products. **30** : 259-264.
- ✚ **Dohi, S., Terasaki, M. & Makino, M.** (2009). Acetylcholinesterase inhibitory activity and chemical composition of commercial essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry. **57(10)**: 4313-4318.
- ✚ **Downer, R.** (1985). Lipid metabolism. In Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology 10, G.A. Kerkut and L.I. Gilbert, eds. (Oxford: Pergamon Press). 77-113.
- ✚ **Dris, D., Tine-Djebbar, F. & Soltani, N.** (2017a). *Lavandula dentata* essential oils: chemical composition and larvicidal activity against *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). African Entomology Journal. **25(2)**: 387-394.
- ✚ **Dris, D., Tine-Djebbar, F., Bouabida, H. & Soltani, N.** (2017b). Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: Toxicological, biometrical and biochemical. South African Journal of Botany. **113**: 362-369.

-
- ✚ **Dris, D.** (2018). 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). Thèse de doctorat. Université Badji Moktar - Annaba. 140p.
- ✚ **Duchateau, G. & Florkin, M.** (1959). Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. **67**: 306-314.
- ✚ **Ebadollahi, A., Khosravi, R., Sendi, J.J., Honarmand, P. & Amini, R.M.** (2013). Toxicity and physiological effects of essential oil from *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. *Annual Review & Research in Biology*. **3(4)**: 649-658.
- ✚ **El-Ghorab, A.H.** (2006). The chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil from Egypt and its antioxidant activity. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. **9**: 183-195.
- ✚ **El-Kady, R. I., Abou-Zeina, H. A. A., Omer, H. A. A., Salman, F. M., Shoukry, M. M. & Ahmed, S. M.** (2008). Response of growing Ossimi lambs to diets containing different levels of defatted *Jojoba meal*. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*. **4(1)**: 34-43.
- ✚ **Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. & Featherstone, R.M.** (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology Journal*. **7**: 88-95.
- ✚ **El Ouariachi E., Paolini J., Bouyanzer A., Tomi P., Hammouti B., Salghi R., Majidi L. & Costa J.** (2011). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils and solvent extracts of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns and link from Morocco. *Journal of Medicinal Plants Research*. **5(24)**: 5773-5778.
- ✚ **El Zayyat, E.A., M. I. Elleboudy, N. A. & Ofaa, S. E.** (2015). *Musca domestica* laboratory susceptibility to three ethnobotanical culinary plants. *Environmental Science and Pollution Research Journal*. **22** : 15844-15852.
- ✚ **Ekström, G. & Ekbohm, B.** (2011). Pest Control in Agro-ecosystems: An Ecological Approach. *Critical Reviews in Plant Sciences*. **30**: 74-94.
- ✚ **Enan, E.E.** (2001). Insecticidal activity of essential oils: Octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology Journal*. **130**: 325-337.
-

-
- ✚ **Erler, J. T., Bennewith, K. L., Nicolau, M., Dornhöfer, N., Kong, C., Le, Q. T., Chi, J. T. A., Jeffrey, S. S. & Giaccia, A. J.** (2006). Lysyl oxidase is essential for hypoxia-induced metastasis. *Nature Journal*. **440**: 1222-1226.
- ✚ **Estrada-Mandaca, S., Lougarre, A. & Fournier, D.** (1998). *Drosophila* acetylcholinesterase : Effect post-tradutional modifications on the production in the baculovinis system and substrat metabolization. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. **38**: 84-90.
- ✚ **Euzeby, J.** (2008). Grand dictionnaire illustre de parasitologie médicale et vétérinaire. Editions Tec & Doc, Paris. 818p.
- ✚ **Fernandez, C.M.M., Aparecida, M.R.A.C. & Fernandez, M.** (2018). Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Laurus nobilis* leaves obtained at different seasons. *Journal of Essential oil Research*. DOI: 10.1080/10412905 ; 1473294.
- ✚ **Field, L.M., Blackman, R.L., Tyler-Smith, C. & Devonshire, A.L.** (1999). Relation ship between amount of esterase and gene copy number in insecticide-resistance *Myzus persicae* (Sulzer). *Biochemical Journal*. **339**: 737-742.
- ✚ **Flamini, G., Tebano, M., Cioni, P.L., Ceccarini, L., Ricci, A.S. & Longo, I.** (2007). Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L. and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven. *Journal of Chromatography A*. **11 (43)**: 36-40.
- ✚ **Foko, D. G. A., Nyegue, M. A., Tsila, H.G., Awono, A. P. H., Ndong, M. P. & Tamesse, J. L.** (2016). Chemical composition and ovicidal, larvicidal and pupicidal activity of *Ocimum basilicum* essential oil against *Anopheles gambiae*. (Diptera: Culicidae). *European Journal of Medicinal Plants*. **16(3)**: 1-13.
- ✚ **Francis, F., Haubruge, E. & Gaspar, C.** (2000). Influence of hostplants on specialist/generalists aphids and on the development of *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology*. **97**: 481-485.
- ✚ **Franciosa, H. & Bergé, J.B.** (1995). Glutathione S-transferases in housefly (*Musca domestica*): location of GST-1 andG S T-2 families. *Insect Biochemistry and Molecular Biology Journal*. **25**:311-317.
- ✚ **Gannagé-Yared, M., Khneisser, I., Salem. N., Gouyette. A., Loiselet. J. & Halaby, G.** (1998). Glutathion et glutathion S-transférase sanguins et leucocytaires : relation avec la cholestérolémie chez des volontaires sains. *Annales de Biologie Clinique*. **56(3)**: 321-327.
-

-
- ✚ **Gauthier, R.** (1997). GSH complex pour votre système immunitaire. Nutraxis. 38 p.
 - ✚ **George, S.G.** (1994). Enzymology and molecular biology of phase II xenobiotic conjugating enzymes in fish. *In: Malins, D.C., Ostrander, G. K.* Aquatic Toxicology, molecular, biochemical and cellular perspectives Lewis, Boca Raton, FL.P: 37-85.
 - ✚ **Georghiou, G. P., Ariaratnam, V., Pasternak, M. E. & Lin, C. S.** (1975). Organophosphorus multiresistance in *Culex quinquefasciatus* in California. *Journal of Economic Entomology*. **68**: 461-467.
 - ✚ **Ghosh, A., Chowdhury, N. & Chandra, G.** (2012). Plant extracts as potential mosquito larvicides. *Indian Journal of Medical Research*. **135**: 581-598.
 - ✚ **Gnanamani, R. & Dhanasekaran, S.** (2017). Efficacy of *Azadirachta indica* leaf extract on the biochemical estimation of a Lepidopteran pest *Pericallia ricini* (Lepidoptera: Arctiidae). *World Journal of Agricultural Sciences*. **13 (2)**: 63-67
 - ✚ **Gnamkoulamba, A.** (1999). Mémoire d'Ingénieur Agronome ESA. Univ. Bénin Lomé, 74p.
 - ✚ **Gobbo-Neto, L. & Lopes, N.P.** (2007). Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*. **30(2)** : 374.
 - ✚ **Goldsworthy, A. C., Mordue, W. & Guthkelch, J.** (1972). Studies on insect adipokinetic hormone. *General and Comparative Endocrinology Journal*. **18**: 306-314.
 - ✚ **Govindarajan, M., Rajeswary, M. & Sivakumar, R.** (2012). Mosquito larvicidal and ovicidal activity of *Delonix elata* (L.) Gamble against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. **2**: 571-573.
 - ✚ **Grainge, M. & Armed, S.** (1988). Handbook of plants with pest control properties. John Wiley & Sons, NewYork. 470p.
 - ✚ **Granger M. M. R., Passet J. & Arbousset G.** (1973). L'essence de *Rosmarinus officinalis*, influence du mode de traitement du matériel végétal. *Common Fragrance and Flavor Materials*. **3(3)** : 133- 137.
 - ✚ **Gratz, N.G.** (1999). Emerging and resurging vector-borne diseases. *Annual Review of Entomology*. **44**: 51-75.
-

-
- ✚ **Grundy, D.L. & Still, C.C.** (1985). Inhibition of acetylcholinesterases by pulegone-1,2-epoxide. *Journal of Pesticide Biochemistry and Physiology*. **23** : 383-388.
- ✚ **Guarrera, P. M.** (1999). Traditional antihelmintic, antiparasitic and repellent uses of plants in Central Italy. *Journal of Ethnopharmacology*. **68 (1-3)**: 183-192.
- ✚ **Guimarães, J. H.** (1997). Systematic database of diptera of the americas south of the united states (Family Culicidae). Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo. São Paulo, Brazil, IX, 286p.
- ✚ **Guitsevitch, A.V., Monchadski, A. & Sktakel'Berg, A.A.** (1974). Fauna of Diptera. U.S. Departement of Commerce Natiolal Technical Inforamation. pp: 22-51.
- ✚ **Habig, W. H., Pabst, M. J. & Jakoby, W. B.** (1974). Glutathione S- Tranferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*. **249**: 7130-7139.
- ✚ **Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H., Ksouri, R. & Bakhrouf, A.** (2009). Biological activities of the essential oils and methanol extract of tow cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. **25**: 2227-2238.
- ✚ **Harold, J.A. & Ottea, J.A.** (2000). Characterization of Esterases associated with profenofos resistant in the tabacco budworm *Heliothis virescens* (F.). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology Journal*. **45**: 47- 59.
- ✚ **Haubruege, É. & Amichot, M.** (1998). Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. France. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement Journal*. **2(3)**: 161-174.
- ✚ **Hoet, S. Caroline, S. Herent, M. F. & Quetin-Leclercq, J.** (2006). Antitrypanosomal compounds from the leaf essential oil of *Strychnos spinosa*. *Planta Medica Journal*. **72(5)**:480-2.
- ✚ **Hongoh, V., Berrang-Ford, L., Scott M. E. & Lindsay L. R.** (2012). Expanding geographical distribution of the mosquito, *Culex pipiens*, in Canada under climate change. *Applied Geography Journal*. **33(1)**: 53-62
- ✚ **Hosoi, T.** (1954). Egg production in *Culex pipiens pallens* coquillett. IV. Influence of breeding conditions on wing length, body weight and follicule production. *Japanese Journal of Medical Science & Biology*. **7**:129-134.
-

-
- ✚ **Howes, M. J. R. & Houghton, P.J.** (2003). Plants used in Chinese and Indian traditional medicine for improvement of memory and cognitive function. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*. **75**: 513-527.
- ✚ **Huang, D.J., Lin, C.D., Chen, H.J. & Lin, Y.H.** (2004). Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipouroea batatas*) Lam «Tamong 57» constituents. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*. **45**: 175-186.
- ✚ **Hussain, A.I., Anwar, F., Sherazi, S.T.H. & Przybylski, R.** (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depend on seasonal variations. *Food Chemistry Journal*. **108**: 986-995
- ✚ **Imelouane, B., El Bachiri, A., Ankit, M., Benzeid, H. & Khedid, K.** (2009). Physicochemical compositions and antimicrobial activity of essential oil of eastern Moroccan *Lavandula dentata*. *International Journal of Agriculture and Biology*. **11**:113-118.
- ✚ **Ipek E., Zeytinoglu H., Okay S., Tuylu B.A., Kurkcuoglu M. & Husnu Can Baser K.** (2005). Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test. *Food Chem*. **93** : 551–556.
- ✚ **Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P., Ybert, E., De Laage De Meux, A., Moulard, F., et al.** (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2éme édition de VUEF, Hong Kong: 335.
- ✚ **Isman, M. B.** (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*. **19**: 603-608.
- ✚ **Isman, M.B.** (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*. **51**: 45-66.
- ✚ **Jacob, B., Baba-Moussa, F., Pacôme, AN., Ahouandjinou, H., Adéoti, K., Métognon, I. et al.** (2016). Composition chimique et influence de différents tweens sur le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de l'*Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Laurus nobilis* et *Melaleuca quinquenervia*. *European Scientific Journal*. **12** : 27. ISSN: 1857 – 7881.
- ✚ **Jacoby, W.B. & Habig, W.H.** (1980). Glutathion transferase. *In* : Jacoby, W.B (Eds). *Enzymatic basis of detoxification*. Academic press. New York. **2**: 63-94.
-

-
- ✚ **Jukic, M., Politeo, O., Maksimovic, M., Milos, M. & Milos, M.** (2007). In vitro acetylcholinesterase inhibitory properties of thymol, carvacrol and their derivatives thymoquinone and thymohydroquinone. *Phytotherapy Research Journal*. **21**: 259-261.
- ✚ **Julve, PH.** (2017). Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Version : 09 février 2017. <https://www.tela-botanica.org>.
- ✚ **Kalaivani, S., Priya, N. P. & Arunachalam, S.** (2012). Schiff bases: Facile synthesis, spectral characterization and biocidal studies. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. **3(1)**: 219-223.
- ✚ **Kambouche, N. & El-Abed, D.** (2003). Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague from Oran (Algeria). *Journal of Essential Oil Research*. **15**: 10-11.
- ✚ **Kamkar, A., Monfared, M., Jebelli-Javan, A., Asadi, F. & Akhondzadeh, A.** (2010). Antioxidative effects of liquid and organic extracts from Iranian nettle (*Urtica dioica*). *Journal of Agricultural & Food Industrial*. **3**:491-497.
- ✚ **Kanakis, C.D., Petrakis, E.A., Kimparis, A. & Polissiou, M. G.** (2012). Classification of Greek *Mentha pulegium* L. (Pennyroyal) samples, according to geographical location by fourier transform infrared spectroscopy. *Phytochemical Analysis Journal*. **23(1)**: 34-43.
- ✚ **Karousou, R., Koureas, D.N. & Kokkini S.** (2005). Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in Natura 2000 sites of Crete. *Phytochemistry Journal*. **66**: 2668-2673.
- ✚ **Kaufmann, C. & Brown, M.R.** (2008). Regulation of carbohydrate metabolism and flight performance by a hypertrehalosaemic hormone in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Journal of Insect Physiology*. **54(2)**: 367-377.
- ✚ **Kebede, L., Worku, S. Bultosa, G. & Yetnebere, S.** (2010). Effect of extrusion operating conditions on the physical and sensory properties of teff (*Eragrostis tef*) [Zucc.] Trotter) flour extrudates. *Ethiopian Journal of Applied Science and Technology*. **1(1)**: 27-38.
- ✚ **Keeley, L.L.** (1985). Physiology and biochemistry of fat body. In: Kerkut GA, Gilbert L (Eds.), *Comprehensive Insect Biochemistry, Physiology and Pharmacology*. Pergamon Press, Oxford. **3**: 211-248.
- ✚ **Kettle, D.S.** (1995). *Medical and Veterinary Entomology*, 2^{ème} Ed, Wallingford: CAB international. 725 p.
-

-
- ✚ **Khajeh, M., Yamini, Y., Sefidkon, F. & Bahrafimar, N.** (2004). Comparison of essential oil of *Carom copticum* obtained by supercritical carbondioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry Journal*. **86(4)**: 587-591.
- ✚ **Khajeh, M., Yamini, Y., Bahramifar, N., Sefidkon, F. & Pirmoradei, M.R.** (2005). Comparison of essential oil composition of *Ferula assa-Foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry Journal*. **91**: 639-644.
- ✚ **Khosravi, R., Jalali Sendi, J., Ghadamyari, M. & Yezdani, E.** (2011). Effect of sweet worm wood *Artemisia annua* crude leaf extracts on some biological and physiological characteristics of the lesser mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis*. *Journal of Insect Science*. **11**: 156.
- ✚ **Khosravi, R. & Sendi, J.J.** (2013). Toxicity, development and physiological effect of *Thymus vulgaris* and *Lavandula angustifolia* essential oils on *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of King Saud University-Science*. **25(4)**: 349-355.
- ✚ **Khosravi-Zanjani, M. A. Mohammadi, N. Zojaji, M. & Bakhoda, H.** (2015). Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. and its antimicrobial activity on *Proteus mirabilis*, *Bacillus subtilis* and *Zygosaccharomyces rouxii*. *Journal of Food Biosciences and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch*. **5(2)**: 31-40.
- ✚ **Kim, K. S., Chung, B. J. & Kim, H. K.** (2000). DBI-3204: A new benzoylphenyl urea insecticide with particular activity against whitefly. *Proceedings of the British Crop Protection Council Conference. Pests and Diseases*. **1**: 41-46.
- ✚ **Kiran, S. & Prakash, B.** (2015). Assessment of toxicity, antifeedant activity, and biochemical responses in stored-grain insects exposed to lethal and sublethal doses of *Gaultheria procumbens* L. essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **63(48)**: 10518-10524.
- ✚ **Kiran, S., Kujur, A., Patel, L., Ramalakshmi, K. & Prakash, B.** (2017). Assessment of toxicity and biochemical mechanisms underlying the insecticidal activity of chemically characterized *Boswellia carterii* essential oil against insect pest of legume seeds. *Pesticide Biochemistry and Physiology Journal*. **139**: 17-23.
-

-
- ✚ **Kisek, R., Vacek, J., Trnkova, L. & Jelen, F.** (2004). Cyclicvoltammetric study of the redox system of glutathione using the disulfide bond reductant tris (2-carboxethyl) phosphine. *Bioelectrochemistry Journal*. **63**: 19-24.
- ✚ **Klowden, M.J.** (1990). The endogenous regulation of mosquito reproductive behavior. *Experientia Journal*. **46**:660-670.
- ✚ **Klowden, M.J.** (2007). *Physiological systems in insects*, Amsterdam: Elsevier, Academic Press. pp. 688.
- ✚ **Kokkini, S., Karoussou, R., Dardiotis, A., Krigas, N. & Lanaras, T.** (1997). Autumn essential oils of Greek oregano. *Phytochemistry Journal*. **44** : 883-886
- ✚ **Knezevic, S. Z., Jhala, A., Kruger, G. R. Sandell, L., Oliveira, M. C., Golus, J. A. & Scott, J. E.** (2014). Volunteer Roundup Ready soybean control in Roundup Ready corn. *Proceedings 2014 North Central Weed Science Society*. **69**:50.
- ✚ **Kondjoyan, N. & Berdagué, J.L.** (1996). A Compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds. Laboratoire Flaveur, Station de recherches sur la Viande, INRA Theix.
- ✚ **Konstantopoulou, I.V. Assilopoulou, L.M. Avragani-Tsipidou, P. & Scouras, Z.G.** (1992). Insecticidal effects of essential oils. A study of the effects essential oils extracted from eleven Greek aromatic plants on *Drosophila auraria*. *Experientia Journal*. **48 (6)**: 616-619.
- ✚ **Koraytem, A. M. S., Hasabo, A. & Ameen, H. H.** (1993). Effects and mode of action of some plant extracts on certain plant parasitic nematodes. *Anz. Schäd. Pflanzenschutz, Umweltschutz*. **66**: 32-36.
- ✚ **Kostyukovsky, M., Chen, B., Atsm, S. & Shaaya, E.** (2000). Biological activity of two juvenoids and two ecdysteroids against three stored product insects. *Insect Biochemistry and Molecular Biology Journal*. **30**: 891-897.
- ✚ **Kouassi, B.P.** (2004). *Pêche, aquaculture et développement en Côte d'Ivoire*. Thèse de Doctorat, Univ. De Cocody, Côte d'Ivoire, 197p.
- ✚ **Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C. & Ramade, F.** (1997). *Biomarqueurs en écotoxicologie « Aspects fondamentaux »*. Masson. Paris. 419 p.
- ✚ **Linné, C.** (1758). *Systema naturae per regna tria naturae*. 10^{ème}Ed. Vol. 1. Holmiae: 824p.
-

-
- ✚ **Lodish, H., Berk, A., Matsudaira, P., Kaiser, C., Krieger, M., Scott, M., Zipursky, S. & Darnel, L.** (2005). In: Molecular biology of the cell. 5th Edition. Chapter 15: Respuestas de las células frente a influencias ambientales. 619-620.
- ✚ **Lohar, M.K. & Wright, D. J.** (1993). Changes in the lipid content in haemolymph, fat body and oocytes of malathion treated *Tenebrio molitor* L. adult females. Pakistan Journal of Zoology. **25**: 57-60.
- ✚ **Lopez, M.D. & Pascual-Villalobos, M.J.** (2010). Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. Industrial Crops and Products Journal. **3**: 284-288.
- ✚ **Lopez, M.D., Campoy, F.J., Pascual-Villalobos, M.J., Muñoz-Delgado, E. & Vidal, C.J.** (2015). Acetylcholinesterase activity of electric eel is increased or decreased by selected monoterpenoids and phenylpropanoids in a concentration-dependent manner. Chemistry and Biological Interaction Journal. **229**: 36-43.
- ✚ **Lorenzo, D., Paz, D., Dellacassa, E., Davies, P., Vila, R. & Canigual, S.** (2002). Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. Brazilian Archives of Biology and Technology Journal. **45**:519-524.
- ✚ **Macedo, G. A., Park, Y. K. & Pastor, G. M.** (1997). Partial purification and characterization of an extracellular lipase from a newly isolated strain of *Geotrichum* sp. Reviews in Microbiology. **28**: 90-5.
- ✚ **Madaci, B., Merghem, R., Doumandji, B. & Soltani, N.** (2008). Effet du *Nerium oleander*, laurier-rose, (Apocynacées) sur le taux des protéines, l'activité de l'AchE et les mouvements des vers blancs rhizotrogini, (Coleoptera : Scarabaeidae). Science et Technologie Journal. **27**: 73-78.
- ✚ **Maffei, M. & Sacco, T.** (1987). Chemical and morphometrical comparison between two peppermints nothomorphs. Planta Medica Journal. **53**(2): 214-216.
- ✚ **Mahboubi, M. & Haghi, G.** (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. Journal of Ethnopharmacology. **119**(2): 325-327
- ✚ **Manal, A., Abd El-razik, A. & Gamal, M.M.** (2013). Efficacy of some plant products and two conventional insecticides and their residual activities against *Callosobrochus maculatus* (F.). American Journal of Biochemistry and Molecular Biology. **3**(4): 356-368.
- ✚ **Marotti, M., Piccaglia, R., Giovanelli, E., Deans, S.G. & Eaglesham, E.** (1994). Effects of variety and ontogenic stage on the essential oil composition
-

- and biological activity of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Journal of Essential Oil Research. **6**:57-62.
- ✚ **Mata, A.T., Proenc, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F. & Araujo, M.E.M.** (2007). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. Food Chemistry Journal. **103**: 778-786.
- ✚ **Mclafferty, F.W. & Stauffer, D.B.** (1994). Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th edn. Mass Spectrometry Library Search System Bench-Top/PBM version 3.10d. Palisade: Newfield.
- ✚ **Mediouni Ben Jemâa, J., Haouel, S., Bouaziz, M. & Khouja, M. L.** (2012). Seasonal variations in chemical composition and fumigant activity of five Eucalyptus essential oils against three moth pests of stored dates in Tunisia. Journal of Stored Products Research. **48**: 61-67.
- ✚ **Meister, A. & Anderson, M.E.** (1983). Glutathione. Annual review of biochemistry. **52**: 711-760.
- ✚ **Michaelakis, A., Papachristos, D., Kimbaris, A., Polissiou, M.** (2011). Larvicidal evaluation of three Mentha species essential oils and their isolated major components against the West Nile virus mosquito. Hellenic Plant Protection Journal. **4**: 35-43.
- ✚ **Miloš, M., Radonić, A., Bezić, N. & Dunkić, V.** (2001). Localities and seasonal variations in the chemical composition of essential oils of *Satureja montana* L. and *S. cuneifolia* Ten. Flavour and Fragrance Journal. **16**:157-160.
- ✚ **Mishra, A. Swain, R. K. Mishra, S. K. Panda, N. & Sethy, K.** (2014). Growth performance and serum biochemical parameters as affected by nano zinc supplementation in layer chicks Indian. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. **31**: 384-388.
- ✚ **Mkaddem, M., Bousaid, M. & Ben Fadhel, N.** (2007). Variability of volatiles in Tunisian *Mentha pulegium* L. (Lamiaceae). Journal of Essential Oil Research. **19**:211-215.
- ✚ **Mojarab-Mahboubkar, M., Sendi, J.J. & Aliakbar, A.** (2015). Effect of *Artemisia annua* L. essential oil on toxicity, enzyme activities, and energy reserves of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Plant Protection Research. **55(4)**: 1-7.

-
- ✚ **Montes, L. Valenzuela, T. Wilkomirsky & Niedmann, C.** (1986). Determination of pulegone in the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Chile. *Annales pharmaceutiques françaises*. **44 (2)** :133.
- ✚ **Morakchi-Kilani, S.** (2007). Effet de trois groupes de pesticides sur différents aspects physiologiques des adultes de *Blattella germanica* : reproduction, biomarqueurs enzymatiques et hydrocarbures cuticulaires. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université Badji Mokhtar de Annaba. P: 45-68.
- ✚ **Mukherjee, P. K., Rai, S., Kumar, V., Mukherjee, K., Hylands, P. J. & Hider, R. C.** (2007). Plants of Indian origin in drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*. **2**: 633-657.
- ✚ **Muller-Riebau, F., Berger, B. & Yegen, O.** (1995). Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **43**: 2262-2266.
- ✚ **Nath, S. & Kumar, R.S.S.** (1999). Toxic impact of organophosphorus insecticides on acetylcholinesterase activity in the silkworm, *Bombyx mori* (L). *Ecotoxicology and Environmental Safety Journal*. **42**: 157-162.
- ✚ **Nathan, S.S., Choi, M.Y., Seo, H.Y., Paik, C.H., Kalaivani, K. & Kim, J.D.** (2008). Effect of azadirachtin on acetylcholinesterase activity and histology of brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal). *Ecotoxicology and Environmental Safety Journal*. **70**: 244-250.
- ✚ **National Institute of Standards and Technology (NIST).** (1999). PC Version 1.7 Of The NIST/EPA/NIH Mass Spectra Library. Perkin-Elmer Corp: Norwalk, CT.
- ✚ **Nyamador, W. S., Ketoh, G. K., Amévoïn, K., Ñuto, Y., Koumaglo, H.K. & Glitho I. A.** (2010). Variation in the susceptibility of two *Callosobruchus* species to essential oils. *Journal of Stored Products Research*. **46**:48-51.
- ✚ **Obeng-Ofori, D., Torto, B., Njagi, P. G. N, Hassanali, A. & Amiani, H.** (1994). Faecal volatiles as part of the aggregation pheromone complex of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Journal of Chemical Ecology*. **20** : 2077-2087.
- ✚ **Oehmichen, M. & Besserer, K.** (1982). Forensic significance of acetylcholine esterase histochemistry in organophosphate intoxication. Original investigations and review of the literature. *Z. Rechtsmed.* **89**: 149-165.
-

-
- ✚ **Oliveira, F.A. Vieira-Júnior, G.M. Chaves, M.H. Almeida, F.R. Florêncio, M.G. Lima R.C. J. R., Silva, R.M. Santos, F.A. & Rao, V.S.** (2004). Gastroprotective and anti-inflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice and rats. *Pharmacological Research*. **49**:105-111.
- ✚ **Olmedo, R., Herrera, J.M., Lucini, E.I., Zunino, M.P., Pizzolitto, R.P., Dambolena, J.S. & Zygadlo, J.A.** (2015). Essential oil of *Tagetes filifolia* against the flour beetle *Tribolium castaneum* and its relation to acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation. *Agriscientia Journal*. **32 (2)**: 113-121.
- ✚ **Orhan, I.E., Senol, F.S., Gülpinar, A.R., Kartal, M., Sekeroglu, N., Deveci, M., Kan, Y. & Sener, B.** (2009). Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of *Cyclotrichium niveum*, *Thymus praecox* subsp. *caucasicus* var. *caucasicus*, *Echinacea purpurea* and *E. pallida*. *Food Chemistry and Toxicology Journal*. **47**: 1304-1310.
- ✚ **Orhan, I.E., Senol, F.S., Ozturk, N., Celik, S.A., Pulur, A. & Kan, Y.** (2013). Phytochemical contents and enzyme inhibitory and antioxidant properties of *Anethum graveolens* L. (dill) samples cultivated under organic and conventional agricultural conditions. *Food Chemistry and Toxicology Journal*. **59**: 96-103.
- ✚ **Ouafi, N., Moghrani, H., Benaouda, N., Yassaa, N. & Maachi, R.** (2017). Evaluation qualitative et quantitative de la qualité des feuilles de Laurier noble Algérien séchées dans un séchoir solaire convectif. *Revue des Energies Renouvelables*. **20(161)**:168-161.
- ✚ **Ouakouak, H., Chohra, M. & Denane, M.** (2015). Chemical composition, antioxidant activities of the essential oil of *Mentha pulegium* L. South East of Algeria. *International Letters of Natural Sciences*. **39**: 49-55.
- ✚ **Ouibrahim, A.** (2015). Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat LMD, Université Badji Mokhtar de Annaba. 95p.
- ✚ **Ozcan, A.S., Erdem, B. & Ozcan, A.** (2005). Adsorption of Acid Blue 193 from aqueous solutions on to BTMA-bentonite. *Colloids and Surfaces*. **266**: 73-81.
- ✚ **Pallas, P.S.** (1771). *Reise durch verschiedene Provinzen des Russischen Reichs*, Vol. 1. St. Petersburg : 504 p.
-

-
- ✚ **Papachristos, D.P. & Stamopoulos, D.C.** (2002). Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapors on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Product Research*. **38(2)**: 117-128.
- ✚ **Parapanthadara, L., Promtet, N., Koottathep, S., Somboon, P. & Ketterman, A.J.** (2000). Isoenzymes of glutathion S-transferase from mosquito *Anopheles dirus* species B : the purification, partial characterization and interaction with various insecticides. *Journal of Insecticide Biochemistry Molecular Biology*. **30**: 395-403.
- ✚ **Pariente, L.** (2001). Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologiques. 2^{ème} ed Académie Nationale de Pharmacie. Paris. 1643p.
- ✚ **Pascual-Villalobos, M. J. & Ballesta-Acosta M. C.** (2003). Chemical variation in an *Ocimum basilicum* germplasm collection and activity of the essential oils on *Callosobruchus maculatus*. *Biochemical Systematic and Ecology Journal*. **31**: 673-679.
- ✚ **Pasteur, N. & Raymond, M.** (1996). Insecticide resistance genes in mosquitoes: their mutations, migration and selection in field population. *Journal of Heredity*. **87**: 444- 449.
- ✚ **Patz, J. A., Epstein, P. R. Burke, T. A. & Balbus, J. M.** (1996). Global climate change and emerging infectious diseases. *Journal of the American Medical Association*. **275 (3)**: 217-223.
- ✚ **Pavela, R., Kaffková, K. & Kumšta, M.** (2014). Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from different *Mentha Pulegium* species against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Plant Protection Science*. **50 (1)**: 36-42.
- ✚ **Perry, N.S.L., Houghton, P.J., Jenner, P., Keith, A. & Perry, E.K.** (2002). *Salvia lavandulifolia* essential oil inhibits cholinesterase *in vivo*. *Phytomedicine*. **9**: 48-51.
- ✚ **Petrakis E.A., Kimbaris A.C., Pappas C.S., Tarantilis P.A. & Polissiou M.G.,** 2009. Quantitative determination of pulegone in pennyroyal oil by FT-IR spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* **57**: 10044–10048.
- ✚ **Pinho, A.I., Wallau, G.L., Nunes, M.E.M., Leite, N.F., Tintino, S.R., Cruz, L.C., Cunha, F.A.B., Costa, J.G.M., Coutinho, H.D., Posser, T. & Franco, J.L.** (2014). Fumigant activity of the *Psidium guajava* Var. Pomifera
-

- (Myrtaceae) essential oil in *Drosophila melanogaster* by means of oxidative stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1-8.
- ✚ **Prakash, K.S.B.** (2015). Toxicity and biochemical efficacy of chemically characterized *Rosmarinus officinalis* essential oil against *Sitophilus oryzae* and *Oryzaephilus surinamensis*. *Industrial Crops and Products Journal*. **74**: 817-823.
 - ✚ **Praveena, A. & Sanjayan, P.** (2011). Inhibition of acetylcholinesterase in three insects of economic importance by linalool, a monoterpene phytochemical. *Insect Pest Management*. 340-345.
 - ✚ **Preet, S. & Sneha, A.** (2018). Fitness cost of malaria vector *Anopheles stephensi* induced with larvicidal and nutritional stress. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. **21(1)** : 97-105.
 - ✚ **Qin, W., Huang, S., Li, C., Chen, S. & Peng, Z.** (2010). Biological activity of the essential oil from the leaves of *Piper sarmentosum* Roxb. (Piperaceae) and its chemical constituents on *Brontispa longissima* (Gestro) (Coleoptera: Hispididae). *Journal of Pesticide Biochemistry and Physiology*. **96**: 132-139.
 - ✚ **Quezel, P. & Santa, S.** (1963). Nouvelle Flore d'Algérie et de régions désertiques Méridionales. Tomes I et II. CNRS.
 - ✚ **Raisonnier, A.** (2003). Lipides et lipoprotéines. Faculté de Medecine. P: 40-42.
 - ✚ **Ramar, M., Gabriel P., M. & Ignacimuthu, S.** (2013). Preliminary screening of plant essential oils against larvae of *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *African Journal of Biotechnology*. **12(46)**: 6480-6483.
 - ✚ **Regnault-Roger, C. & Hamraoui, A.** (1994 a). Inhibition of reproduction of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), a kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) bruchid, by aromatic essential oils. *Crop Protection*. **13(8)**: 624-628.
 - ✚ **Regnault-Roger C., Vincent C. & Arnason J.T.** (2012). Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annual Review of Entomology*. **57**: 405-424.
 - ✚ **Rehimi, N. & Soltani, N.** (1999). Laboratory evaluation of alsystine. A chitin synthesis inhibitor agonist *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). Effects on development and cuticle secretion. *Journal of Applied Entomology*. **123**: 437 - 441.
 - ✚ **Reis-Vasco, E.M.C., Coelho, J.A.P. & Palavra, A.M.F.** (1999). Comparison of pennyroyal oils obtained by supercritical CO₂ extraction and hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal*. **14(3)**:156-160.

-
- ✚ **Rhodain, F. & Perez, C.** (1985). Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Maloine.SA Editeur 27, Rue de l'école médecine 75006, Paris, 443p.
 - ✚ **Ribeiro, S., Guilhermino, L., Sousa, J.P. & Soares, A.M.V.M.** (1999). Novel bioassay based on acetylcholinesterase and lactate deshydrogenase activities to evaluate the toxicity of chemicals to soil isopods. *Journal of Ecotoxicology and Environmental Safety*. **44**: 287-293.
 - ✚ **Ribeiro, M., Bernardo-Gil, M. & Esquivel, M.** (2001). *Melissa officinalis* L: study of antioxidant activity in supercritical residues. *Journal of Supercritical Fluids*. **21**: 51-60.
 - ✚ **Rosua J. L. & Granados A.G.** (1987). Analyse des huiles essentielles d'espèces du genre *Rosmarinus L.* et leur intérêt en tant que caractère taxonomique. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, XXI. **2**: 138-143.
 - ✚ **Roth M.** (1980). Initiation à la morphologie, la systématique et la biologie des insectes. Office de la recherche scientifique et technique Outre-mer Paris (23).
 - ✚ **Rufingier, C., Pasteur, N., Lagnel, J., Martin, C. & Navajas, M.** (1999). Mechanisms of insecticide resistance in the aphid *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) (Homoptera : Aphididadae) from France. *Insect Biochemistry and Insect Molecular Biology Journal*. **29**:385-391.
 - ✚ **Russo, M., Galletti, G.C., Bocchini, P. & Carnacini, A.** (1998). Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link)): a preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **46**: 3741-3746.
 - ✚ **Ryan, M.F. & Byrne, O.** (1988). Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Chemical Ecology*. **14**: 1965-1975.
 - ✚ **Saci-Messiad, R.** (2006). Effet d'un régulateur de croissance, l'azadirachtine chez *Blattella germanica* (Dictyoptera : Blattellidae) : physiologie, activité enzymatique et comparaison de la détoxification avec d'autre groupes de pesticides. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Master Université de Badji Mokhtar- Annaba. 94 p.
 - ✚ **Sahin Basak, S. & Candan, F.** (2013). Effect of *Laurus nobilis* L. essential oil and its main components on alpha-glucosidase and reactive oxygen species scavenging activity. *Iranian Journal of Pharmacy Research*. **12**: 367-379.
-

-
- ✚ **Sak, O., Uckan, F. & Ergin, E.** (2006). Effects of cypermethrin on total body weight, glycogen, protein and lipid contents of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). Belgian Journal of Zoology. **136**: 53-58.
 - ✚ **Saleem, M.A. & Shakoori, A.R.** (1987). Joint effects of Dimilin and Ambush on enzyme activities of *Tribolium castaneum*. Pesticide Biochemistry and Physiology. **29**: 127-137.
 - ✚ **Samuel, O. & Laurent, L. S.** (2005). Profil toxicologique des insecticides retenus pour le contrôle des insectes adultes impliqués dans la transmission du virus du Nil occidental au Québec. Institut national de santé publique du Québec. Canada. **378(86)**.
 - ✚ **Sancho, E., Ferrando, M.D., Fernández, C. & Andreu, E.** (1998). Liver energy metabolism of *Anguilla anguilla* after exposure to fenitrothion. Journal of Ecotoxicology and Environmental Safety. **41(2)**: 168-175.
 - ✚ **Sanda K., Koba, K. Nambo, P. & Flavour, F.J.** (1998). Chemical investigation of Ocimum species growing in Togo. Flavour and Fragrance Journal. **13**: 226-232.
 - ✚ **Sangun, M. K., Aydin, E., Timur, M., Karadeniz, H., Caliskan, M., & Ozkan, A.** (2007). Comparison of chemical composition of the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves and fruits from different régions of Hatay, Turkey. J Environ Biol. 28(4):731-3.
 - ✚ **Sardashti, A. & Adhami, Y.** (2013). Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Taftan Area by means of gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). Journal of medicinal plant research. **7(40)**: 3003-3007.
 - ✚ **Schaffner, F., Angel, G., Geoffroy, B., Hevry, J.P., Rhaïem, A. & Brunhes, J.** (2001). Moustiques d'Europe. Institut de recherche pour le développement IRD. Logiciel d'identification. Les moustiques d'Europe : logiciel d'identification et d'enseignement. Paris (FRA) ; Montpellier. ISBN 2-7099-1485-9.
 - ✚ **Schoeters, G. & Hoogenboom, R.** (2006). Contamination of free-range chicken eggs with dioxins and dioxin-like polychlorinated biphenyls. Molecular Nutrition and Food Research Journal. **50**: 908-914.
 - ✚ **Scott, J.G.** (1999). Cytochrome P450 and insecticide resistance. Insect Biochemistry and Insect Molecular Biology Journal. **29**: 757-777.
 - ✚ **Sefidkon, F., Abbasi, K., Jamzad, Z. & Ahmadi, S.** (2007). The effect of distillation methods and stage of plant growth in the essential oil content and
-

- composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. Food Chemistry Journal. **100**: 1054-1058.
- ✚ **Senatore, F.** (1996). Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). Journal of Agricultural and Food Chemistry. **44**: 1327-1332.
- ✚ **Senthil-Nathan, S., Choi, M.Y., Paik, C.H., Seo, H.Y., Kalaivani, K. & Kim, J.D.** (2008). Effect of azadirachtin on acetylcholinesterase (AChE) activity and histology of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal). Ecotoxicol. Environ. Saf. **70** : 244–250.
- ✚ **Seo, S.M., Kim, J., Kang, J.S., Koh, S.H., Ahn, Y.J., Kang, K.S. & Park, I.K.** (2014). Fumigant toxicity and acetylcholinesterase inhibitory activity of 4 *Asteraceae* plant essential oils and their constituents against Japanese termite (*Reticulitermes speratus* Kolbe). Pesticides Biochemistry and Physiology Journal. **113**: 55-61.
- ✚ **Shalan, E.A.S., Canyon, D., Younes, M. W. F., Abdel-Wahab, H. & Mansour, A. H.** (2005). A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. Environment International Journal. **31(8)**: 1149-1166.
- ✚ **Shadduck, J.A., Singer, S & Lause, S.** (1980). Lack of mammalian pathogenicity of entomocidal isolates of *Bacillus sphaericus*. Environmental Entomology Journal. **9**: 403-407.
- ✚ **Shahriari, M., Sahebzadeh, N. & Zibae, A.** (2017). Effect of *Teucrium polium* (Lamiaceae) essential oil on digestive enzyme activities and energy reserves of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). International Science Journal. **14**: 182-189.
- ✚ **Sharma, P., Mohan, L. & Srivastava, C. N.** (2006). Phytoextract-induced developmental deformities in malaria vector. Bioresource Technology Journal. **97(14)**: 1599-1604.
- ✚ **Sharma, P., Mohan, L. & Srivastava, C. N.** (2009). Anti-juvenile activity of *Azadirachta indica* extract on the development and morphometry of *filaria* vector, *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) Say. Parasitology Research Journal. **105(5)**: 1193-1203.
- ✚ **Shojaei, A., Talebi, K., Sharifian, I. & Mohammad Ahsaei, S.** (2017). Evaluation of detoxifying enzymes of *Tribolium castaneum* and *Tribolium*

- confusum (Col.: Tenebrionidae) exposed to essential oil of *Artemisia dracunculus* L. Biharean Biologist. **11(1)**: 5-9.
- ✚ **Siegfried, B.D. & Scharf, M.E.** (2001). Mechanisms of organophosphate resistance in insects. Departement of Entomology, 202 Plant Industry Bldg, University of Nebreska. Lincoln NE, USA.P: 269-291.
- ✚ **Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratyneck, C., Hall, N. & Feidman, L.** (1966). A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. Analytical Biochemistry Journal. **19**: 415-528.
- ✚ **Silva, L. F., Cardoso, M. G., Batista, L. R., Gomes, M. S., Rodrigues, L. M. A., Rezende, D. A. C. S, Teixeira, M. L., Carvalho, M. S. S. Santiago, J. A. & Nelson, D. L.** (2015). Chemical characterization, antibacterial and antioxidant activities of essential oils of *Mentha viridis* L. and *Mentha pulegium* L. (L). American Journal of Plant Sciences. **6**: 666-675.
- ✚ **Sinegre, G., Jilien, J. L. & 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.
- ✚ **Singh, K. & Singh, D.K.** (2000). Toxicity to the snail *Limnaea acuminata* of plant-derived molluscicides in combination with synergists. Pest Management Science Journal. **56**: 889-898.
- ✚ **Singh, S., Sharma, D.K., Bhatia, S. & Singh, A.** (2017). Effect of various plant powders on rice weevil (Linn.) in stored wheat. Journal of Environmental Biology. **38(3)**: 501-508
- ✚ **Siramon, P., Ohtani, Y. & Ichiura, H.** (2009). Biological performance of *Eucalyptus camaldulensis* leaf oils from Thailand against the subterranean termite *Coptotermes formosanus* Shiraki. The Japan Wood Research Society. **55(1)** : 41-46.
- ✚ **Sirivanakarn, S.** (1977). Medical entomology studies - VI. A revision of the subgenus *Lophoceraomyia* of the genus *Culex* in the oriental region (Diptera: Culicidae). Contributions of the American Entomological Institute. **13**: 1-247.
- ✚ **Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M.** (1995). Antimicrobial activity of mint essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry. **43(9)**:2384-2388.

-
- ✚ **Smirle, M.J., Lowery, D.T. & Zurowski, C.L.** (1996). Influence of neem oil on detoxication enzyme activity in the obliquebanded leafroller, *Choristoneura rosaceana*. Pesticide Biochemistry and Physiology Journal. **56**: 220-230.
- ✚ **Snuossi, M., Trabelsi, N., Taleb, S.B., Dehmeni, A., Flamini, G. & De Feo, V.** (2016). *Laurus nobilis*, *Zingiber officinale* and *Anethum graveolens* essential oils: Composition, antioxidant and antibacterial activities against bacteria isolated from fish and shellfish. Molecules Journal. **21(10)**.
- ✚ **Soderlund, D.M.** (1997). Molecular mechanisms of insecticide resistance. *In situ* V (Ed). Molecular mechanisms of resistance to agrochemicals, Chemistry of plant protection. Berlin Heidelberg New York. **13**: 21-56.
- ✚ **Soreq, H. & Zakut, H.** (1993). Human Cholinesterase and Anticholinesterase. Academic Press, New York.
- ✚ **Souto-Bachiller, F.A., DeJesus-Echevarria, M., Cardenas-Gonzalez, O., Acuna-Rodriguez, M. F., Melendez, P.A. & Romero-Ramsey, L.** (1997). Terpenoid composition of *Lippia dulcis*. Phytochemistry Journal. **44**: 1077-1086.
- ✚ **Steele, J. E.** (1985). Hormonal modulation of Carbohydrate and lipid metabolism in fat body. In: Locke M, Smith DS (ed). Insect Biology in future, Academic press, New York. P: 253-271.
- ✚ **Sturm, A., Worgam, J., Segner, H. & Liess, M.** (2000). Different sensitivity to organophosphate of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase from three-spined stickleback (*Gasterosteus vaculeatus*): application on biomonitoring. Environmental Toxicology and Chemistry Journal. **19**: 1607- 1617.
- ✚ **Stoyanova, A., Georgie, V., Kula, J. & Majda, T.** (2005). Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* from Bulgaria. Journal of Essential Oil Research. **17**: 475-477.
- ✚ **Sukumar, K., Perich, M. J. & Boobar L. R.** (1991). Botanical derivatives in mosquito control: a review. Journal of the American Mosquito Control Association. **7**: 210-237.
- ✚ **Sutour, S.** (2010). Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats. Thèse de doctorat, l'Université de Corse.
- ✚ **Talukder, F.A.** (2006). Plant products as potential stored product insect management agents-A mini review. Emirates Journal of Food and Agriculture. **18(1)**: 17-32
-

-
- ✚ **Taoudiat, A., Djenane, A., Ferhat, D. & Spigno, Z.G.** (2018). The effect of *Laurus nobilis* L. essential oil and different packaging systems on the photo-oxidative stability of Chemlal extra-virgin olive oil. *Journal of Food Science and Technology*. Mysore. **55(7)**.
- ✚ **Tarigan, S.I., Dadang, D. & Sakti Harahap, I.** (2016). Toxicological and physiological effects of essential oils against *Tribolium castaneum* (Coleoptera:Tenebrionidae) and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Biopesticides*. **9(2)**: 135-147.
- ✚ **Taylor, M. & Feyereisen, R.** (1996). Molecular biology and evolution of resistance to toxicants. *Molecular Biology and Evolution*. **13**: 719-734.
- ✚ **Tayoub, G., Alnaser, A.A. & Ghanem, I.** (2012). Fumigant activity of leaf essential oil from *Myrtus communis* L. against the Khapra glycosides conjugated with gallic acid from the leaves of *Eucalyptus globulus*. *Phytochemistry Journal*. **69(3)**: 747-753.
- ✚ **Teixeira-Duarte, M.C., Mara-Figueira G., Sartoratto A., Rehder V.L.G. & Delarmelina, C.** (2005). Anti-candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. **97**: 305-311.
- ✚ **Teixeira, P. J., Carraca, E. V., Markland, D., Silva, M. N. & Ryan, R. M.** (2012). Exercise, physical activity, and self-determination theory: a systematic review. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*. **9** : 78. doi: 10.1186/1479-5868-9-78.
- ✚ **Tel, G., Öztürk, M., Duru, M.E., Harmandar, M. & Topçu, G.** (2010). Chemical composition of the essential oil and hexane extract of *Salvia chionantha* and their antioxidant and anticholinesterase activities. *Food and Chemical Toxicology Journal*. **48**: 3189-3193.
- ✚ **Thompson, J. D., Chalchat, J. C., Michet, A., Linhart, Y.B. & Ehlers, B.** (2003). Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotype. *Journal of Chemical Ecology*. **29(4)**: 859-880.
- ✚ **Timmermann, S.E. & Briegel, H.** (1999). Larval growth and biosynthesis of reserves in mosquitoes. *Journal of Insect Physiology*. **45**:461-470.
- ✚ **Tine-Djebbar, F.** (2009). Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation de deux régulateurs de croissance (halofenozide, méthoxyfenozide) à
-

l'égard de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* : toxicologie, morphométrie, biochimie et reproduction. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Université Badji Mokhtar de Annaba. 168p.

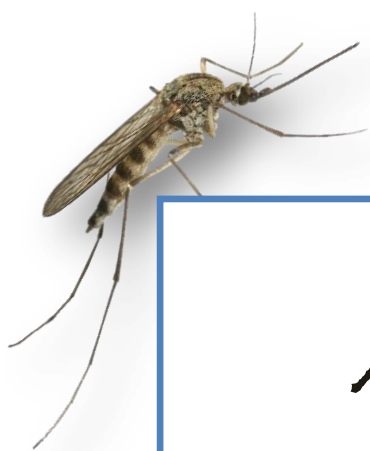
- ✚ **Tine-Djebbar, F., Bouabida, H. & Soltani, N.** (2016). Répartition spatio-temporelle des Culicidés dans la région de Tébessa. Editions Universitaires Européennes.
- ✚ **Tomita, T., Hidoh, O. & Kono, Y.** (2000). Absence of protein polymorphism attributable to insecticide-insensitivity of acetylcholinesterase in the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. **30**: 325-333.
- ✚ **Tong, F. & Coats, J.R.** (2010). Effects of monoterpenoid insecticides on [3H]-TBOB binding in house fly GABA receptor and ³⁶Cl⁻ uptake in American cockroach ventral nerve cord. *Pesticide Biochemistry and Physiology Journal*. **98**: 317-324.
- ✚ **Traboulsi, A. F., Taoubi, K., El-Haj, S., Bessiere J.M. & Rammal S.** (2002). Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology Journal*. **58(5)**: 491-5.
- ✚ **Tripathi, L., Mwangi, M., Abele, S., Aritua, V., Tushemereirwe, W.K. & Bandyopadhyay, R.** (2009). Xanthomonas Wilt: A Threat to Banana Production in East and Central Africa. *Plant Disease Journal*. **93**: 440-451.
- ✚ **Uribe-Hernandez, C.J., Hurtado-Ramos, J.B., Olmedo-Arcega, E.R., Martinez-Sosa, M.A.** (1992). The essential oil of *Lippia graveolens* H.B.K. from Jalisco, Mexico. *Journal of Essential Oil Research*. **4**:647-649.
- ✚ **Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan J.L.** (1996). *Veterinary Parasitology*, 2^{ème} Ed, Oxford: Blackwell sciences, 307p.
- ✚ **Valizadeh, B., Sendi, J.J., Zibae, A. & Oftadeh, M.** (2013). Effect of Neem based insecticide Achook on mortality, biological and biochemical parameters of elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* (Col.: Chrysomelidae). *Journal of Crop Protection*. **2 (3)**: 319-330.
- ✚ **Vanhaelen, N., Haubruge, E., Lognay, G. & Francis, F.** (2001). Hoverfly glutathione S-transferases and effect of Brassicaceae secondary metabolites. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **71**: 170-177.

-
- ✚ **Van Hensden, H.C. & Law, J.H.** (1989). An insect transport particule promoteslipid loading from fat body to lipoprotein. *Journal of Biochemistry*. **246**: 17287-17292.
- ✚ **Van Vuuren, D.P., Viljoen, A.M., van Zyl, R.L., van Heerden, F.R., Husnu, K. & Baser, C.** (2006). The antimicrobial, antimalarial and toxicity profiles of helihumulone, leaf essential oil and extracts of *Helichrysum cymosum* (L.) D. Don subsp. Cymosum. *South African Journal of Botany*. **72(2)**: 287-290.
- ✚ **Varo, I., Navarro, J.C., Amat, F. & Guilhermino, L.** (2001). Characterization of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of chlorpyrifos and dichlorvos to *Artemia salina* and *Artemia parthenogenetica*. *Chemosphere Journal*. **48**: 563- 569.
- ✚ **Verdian-Rizi, M. & Hadjiakhoondi, A.** (2008). Essential oil composition of *Laurus nobilis* L. of different growth stages growing in Iran. *Journal for Nature Research: Zeitschrift für Naturforschung C*. **63**:11-12
- ✚ **Verma, N., Tripathi, S.K., Sahu, D., Das, H.R. & Das, R.H.** (2010) Evaluation of inhibitory activities of plant extracts on production of LPS-stimulated pro-inflammatory mediators in J774 murine macrophages. *Molecular and Cellular Biochemistry*. **336**:127-135.
- ✚ **Van Den Heuvel, M. J.** (1963). The effect of rearing temperature on the wing length, thorax length, leglength and ovariole number of the adult mosquito, *Aedes aegypti* (L.). *Transactions of the Entomological Society of London*. **5** :197-216.
- ✚ **Vignesh, A., Elumalai, D., Rama, P., Elangovan, K. & Murugesan, K.** (2016). Chemical composition and larvicidal activity of the essential oil of *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) against three mosquito vectors. *International Journal of Mosquito Research*. **3(2)**: 62-67.
- ✚ **Vijjoen, A.M., Denirci, B., Baser, K.H.C., Potgieter, C.J. & Edwards, T.J.** (2006). Micro distillation and essential oil chemistry- a useful tool for detecting hybndisation in *Plectranthus (lamiaceae)*. *South African Journal of Botany*. **72**: 99-104.
- ✚ **Vijayaraghavan, K., Karthik, R. & Nalini, S. P. K.** (2010). Hydrogen generation from algae: A review. *Plant Science*. **5**: 1-19.
- ✚ **Vinogradova, E. B.** (2003). Ecophysiological and morphological variations in mosquitoes of the *Culex pipiens complex* (Diptera: Culicidae). *Acta Societatis Zoologicae Biochemicae*. **67**: 41-50.
-

-
- ✚ **Vinogradova, E. B. & Oda T.** (1990). The study of *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae) in Leningrad. Entomology Journal. **69(4)**: 782-785.
- ✚ **Vinogradova, E. B., Fedorova, M. V., Shaikovich, E. V. & Zakharov, I. A.** (2003). Endosymbiotic bacteria *Wolbachia pipiens* in synanthropic populations of mosquito *Culex pipiens pipiens* L. (Diptera, Culicidae) Dokl. Russian Academy of Sciences. **389(6)**: 1-5.
- ✚ **Vokou, D., Kokkini, S. & Bessiere, J.M.** (1993). Geographic variation of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) essential oils. Biochemical Systematics and Ecology Journal. **21**: 287-295.
- ✚ **Wall, R. & Shearer, D.** (1997). Veterinary entomology. London : Chapman & Hall, 439 pp.
- ✚ **Walla, B.** (1996). Mémoire d'Ingénieur Agronome. ESA, Univ. Bénin, Lomé, 54p.
- ✚ **Wang, J.J., Cheng, W.X., Ding, W. & Zhao, Z.M.** (2004). The effect of the insecticide dichlorvos on esterase activity extracted from the psocids, *Liposcelis bostrychophila* and *L. entomophila*. Journal of Insect Science. **4**: 1-5.
- ✚ **War, A.R., Paulraj, M.G. & Ignacimuthu, S.** (2011). Synergistic activity of endosulfan with neem oil formulation against tobacco caterpillar *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Entomology. **8**: 530-538.
- ✚ **War, A.R., Michael, G.P., Barkat, H., Tariq, A., Mohd, Y.W. & Savarimuthu, I.** (2013). Efficacy of a combined treatment of Neem oil formulation and endosulfan against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). International Journal of Insect Science. **6**: 1-7.
- ✚ **Warholm, M., Gutenberg, C., Mannervick, B. & VonBahr, C.** (1981). Glutathione-S-transferases from human liver. Biochemical and Biophysical Research Communications. **98**:512-517.
- ✚ **Weaver, D. K., Dunkel, F. V., Ntezurubanza, L., Jackson, L. L. & Stock, D. T.** (1991). The efficacy of linalool, a major component of freshly-milled *Ocimum canum* Sims (Lamiaceae), for protection against postharvest damage by certain stored product Coleoptera. Journal of Stored Products Research. **27(4)**: 213-220.
- ✚ **Weckberker, G., Cory, J.G.** (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia 1210 cells in vitro. Cancer letters. **40**: 257-264.
-

-
- ✚ **WHO-World Health Organization.** (1991). Control of Chagas Disease, Technical Report Series, 811, Geneva, 91 pp.
- ✚ **Wigglesworth, W.** (1972). The principal of Insect physiology. Seventh Edition. Chapman and Hall, 827 p.
- ✚ **Windley, M.J., Herzig, V., Dziemborowicz, S.A., Hardy, M. C., King, G. F. & Nicholson, G.M.** (2012). Spider-venom peptides as bioinsecticides. *Toxins* (Basel). **4(3)**:191-227.
- ✚ **Wogiatzi, E., Papachatzis, A., Kalorizou, H. & Tzalahani, A.** (2011). Analysis of *Lavandula* hybrid essential oils growing in Greece, University of Craiova. **16**: 488-491.
- ✚ **Yalçın, H., Akın, M., Sanda, M.A. & Çakır, A.** (2007). Gas chromatography/mass spectrometry analysis of *Laurus nobilis* essential oil composition of Northern Cyprus. *Journal of Medicinal Food*. **10**: 715-719.
- ✚ **Yazdani, E., Sendi, J.J. & Hajizadeh, J.** (2014). Effect of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. essential oils on toxicity, food consumption, and biochemical properties of lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*. **54(1)**: 53-61.
- ✚ **Yu, S. J.** (1982). Host plant induction of glutathione S-transferase in the fall armyworm. *Pesticide Biochemistry and Physiology Journal*. **18**: 101-106.
- ✚ **Yu, B. P.** (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews*. **74**: 139-162.
- ✚ **Yu, S. J. & Abo-Elghar, G.E.** (2000). Allelochemicals as inhibitors of Glutathion -S- transferase in the fall armyworm. *Pesticide Biochemistry and Physiology Journal*. **68**: 173-183.
- ✚ **Zamani, S., Sendi, J.J. & Ghadamyari, M.** (2011). Effect of *Artemisia Annuua* L. (Asterales: Asteraceae) essential oil on mortality, development, reproduction and energy reserves of *Plodia Interpunctella* (Hübner). (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Biopesticides and Biofertilizers*. **2(105)**:1-6.
- ✚ **Zantar, S. El Garrouj, D. Pagán, R. Chabi, M. Laglaoui, A. Bakkali, M. & Zerrouk, M.S.** (2016). Effect of harvest time on yield, chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Thymus vulgaris* and *Mentha pulegium* essential oils. *European Journal of Medicinal Plants*. **8(2)**: 69-77.
- ✚ **Zehnálek, J., Adam, V. & Kizek, R.** (2004). Application of higher plants in phytoremediation of heavy metals. *Listy Cukrov.* **120**: 222-224.
-

- ✚ **Zhu, K.Y., Dowdy, A.K. & Barker, J.E.** (1999). Detection of single-base substitution in an esterase gene and its linkage to malathion resistance in parasitoid *Anisoptromalus calandrae* (Hymenoptera : Pteromalidae). *Journal of Pest Science*. **55**: 398-404.
- ✚ **Zibae, A. & Bandani, A.R.** (2010). A study on the toxicity of a medicinal plant, *Artemisia annua* L. (Asteracea) extracts to the sunn pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae). *Journal of Plant Protection Research*. **50(1)**: 79-85.



ANNEXES

VIII. ANNEXES

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

1. PUBLICATION :

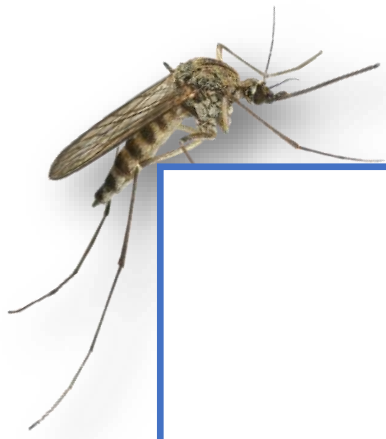
- **GUENEZ R**, TINE-DJEBBAR F, TINE S & SOLTANI N. (2018). Chemical composition and insecticide properties of the essential oils from *Mentha pulegium* against *Culex pipiens* and *Aedes caspius* (Diptera: Culicidae). *World Journal of Environmental Biosciences*. 7(1): 1-7.

2. CHAPTER BOOK :

- TINE-DJEBBAR F., **GUENEZ R.**, & SOLTANI N., 2017. Chemical Composition and Insecticide Properties of the Essential Oils from *Mentha pulegium* against *Aedes caspius* (Diptera: Culicidae). *Recent Advances in Environmental Science from the Euro-Mediterranean and Surrounding Regions*. 503-505.

3. COMMUNICATIONS :

- **GUENEZ R.**, TINE-DJEBBAR F. & SOLTANI N. (2015). Efficacité comparée de *Mentha pulegium* sur trois espèces de moustique *Culex pipiens* (Linné), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Aedes caspius* (Pallas). 1er Séminaire National sur l'Entomologie Médicale et la Lutte Biologique. Tébessa.
- TINE-DJEBBAR F, DRIS D, **GUENEZ R** & SOLTANI N. (2018). Larvicidal activity of Lamiaceae and Lauraceae essential oils and their effects on enzyme activities of *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). Science & Research Congress, 21-23 September 2018 Antalya, Turkey
- TINE-DJEBBAR F, DRIS D, **GUENEZ R**, TINE S, SOLTANI N (2019). Larvicidal activity of Lamiaceae and Lauraceae essential oils and their effects on enzyme activities of *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). 2nd Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration (EMCEI 2019), Sousse, Tunisia from 10 to 13 October 2019.
- **GUENEZ R.**, TINE-DJEBBAR F. & SOLTANI N. (2019). Efficacité comparée d'une huile essentielle extraite de *Mentha pulegium* à l'égard de trois espèces de moustique. 1er Séminaire National sur l'Etat de la biodiversité dans les parcours steppiques : inventaire et valorisation, Tébessa.



ARTICLE



Larvicidal Efficacy of Mentha Pulegium Essential Oil Against Culex Pipiens L. And Aedes Caspius P. Larvae

Radja Guenez^{1,2}, Fouzia Tine-Djebbar^{1,2*}, Samir Tine^{1,2}, Noureddine Soltani²

¹Department of Nature and Life Sciences, Larbi Tebessi University, Tebessa, Algeria.

²Laboratory of Applied Animal Biology, University of Badji Mokhtar, Annaba, Algeria

ABSTRACT

Mosquitoes are generally controlled by conventional insecticides which poses strong secondary effects on the environment. In this context, the present study examines the chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* (Lamiaceae) and its Larvicidal activity against the two mosquito species *Culex pipiens* and *Aedes caspius*.

Culex pipiens and *Aedes caspius* larvae were collected in the year 2015 from untreated areas located at Tébessa (Northeast Algeria). Aerial parts of *Mentha pulegium* were harvested during April 2015 from the Tebessa area. After the dryness, the plant material was subjected to hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus. Chemical composition of the essential oil was determined using a gas chromatography-mass spectrometry analysis. Toxicity test was made on the fourth-instar larvae according to the World Health Organization recommendations. Gas chromatography-mass spectrometry analysis led to the identification of 14 components. Pulegone (72.50%), Eucalyptol (10.44%) and P-menthone 2-ethyl-5-propyle (5.46%), are the major constituents. Biological test revealed that the *M. pulegium* essential oil exhibits a larvicidal activity and *A. caspius* is more sensitive than *C. pipiens* larvae.

M. pulegium essential oils, constitute an alternative to the conventional insecticides for controlling mosquitoes.

Keywords: Mosquitoes, *Mentha pulegium*, CPG/SM, Chemical composition, Toxicity.

Corresponding author: Fouzia Tine-Djebbar

e-mail ✉ fouzia.djebbar@yahoo.fr

Received: 12 September 2017

Accepted: 18 December 2017

1. INTRODUCTION

Mosquitoes can transmit serious human diseases such as malaria, dengue, filariasis, and yellow fever, which affect more than 700 million people annually throughout the world (Schaffner et al. 2001; Ghosh et al. 2012). To prevent the proliferation of this arthropod and to improve the environmental quality and public health, more attention has been focused on botanicals, which are effective, eco-friendly, biodegradable and inexpensive, and one of the possible alternatives to synthetic insecticides (Choochate et al. 2005). Previous studies have revealed larvicidal, pupicidal and repellent activities of plant extracts against mosquitos (Shaalán et al. 2005; Pavela et al. 2014; Rocha et al. 2015; El Akhal et al. 2015; El Akhal et al. 2016). More than 2000 plant species have been known to produce secondary metabolites involved in pest control programs (Ghosh et al. 2012). The members of the plant families, Myrtaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Miliaceae, Rutaceae, Cupressaceae, Zingiberaceae and Apiaceae, have been examined for anti-insect activities (Onyambu et al. 2015). Essential oils provide a rich source of biologically active Monoterpenes and are well documented for the bioactivities against the insect pests (Govindarajan, 2010). Some of the essential oils with a promising mosquito control potential are plants from genus *Tagets* spp (Dharmagadda et al. 2005), *Ocimum* spp (Bhatnagar et al. 1993), *Cymbopogon* spp (Ansari and Razdan, 1995), *Mentha* spp (Ansari et al. 2000), *Thymus vulgaris* (Bouguerra et al. 2017; Dahchar et al. 2016). *Mentha* is

an important genus of Lamiaceae, which recognized for their vital oils, medicinal uses and antimicrobial activity of different species (Skaltsa et al. 2003). It consists of about 25–30 species and most of them are grown in the temperate regions of Australia, South Africa and the Eurasia region. *Mentha pulegium* L. is a native of temperate Asia, Africa, and Europe (G.R.I.N, 2010). The previous studies have reported that the various *Mentha* spp. plant extracts exhibited the Larvicidal activity against several mosquito species such as *C. pipiens*, *C. quinquefasciatus*, *A. aegypti*, *Anopheles stephensi* and *An. tessellatus* (Amer and Mehlhorn 2006; Koliopoulos et al. 2010; Samarasekera et al. 2008; Sukumar et al. 1991; Traboulsi et al. 2002; Ambindei et al. 2017). *C. pipiens* and *A. caspius* are the most interesting mosquito species in Algeria, particularly in the Tebessa area (Tine-Djebbar et al. 2016). This present study aims 1/ to determine the chemical composition of the essential oils of cultivated mint species largely used in Algeria. *M. pulegium* and 2/ to test their insecticidal activities against *C. pipiens* and *A. caspius*.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Mosquito rearing

Culex pipiens Linnaeus, 1758 and *Aedes caspius* Pallas, 1771 larvae were collected in the year 2015 from untreated areas located at Tebessa (Northeast Algeria). The larvae specimens were morphologically identified according to the identification keys of Brunhes et al. (2000) and Himmi et al. (1995). The pyrex storage jars (80 by 100mm) containing 150 ml of tap water were maintained at a 25 °C temperature and a photoperiod of 14:10 (L:D). The larvae were daily fed with fresh food consisting of a mixture of Biscuit Petit Regal-dried yeast (75:25 by weight) and water was replaced every four days.

2.2. Plant Material

The Aerial parts of *Mentha pulegium* Linnaeus, 1753 were harvested during April 2015 from the Tebessa area (Northeast Algeria). Then, the plant parts were washed with tap water, to eliminate soil and other surface contaminants. After the dryness, at laboratory temperature and obscurity, the plant material was cut into small pieces.

2.3. Extraction of the essential oils

100g of the air-dried aerial parts of *Mentha pulegium* were subjected to hydrodistillation for 3 hours with 500ml distilled water using a Clevenger-type apparatus. The oil obtained was collected and dried over anhydrous sodium sulfate and stored in a screw capped glass vials in a refrigerator at 4 °C prior to the analysis. The yield based on the dried weight of the samples was calculated (Bouguerra et al. 2017).

2.4. Gas chromatography-mass spectrometry

The essential oil of *M. pulegium* was subjected to a gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis using the Perkin Elmer chromatography Autosystem GC. The column HP-5 (length: 30m with an internal diameter of 0.25mm and a film thickness of 0.25µm) was used with helium as a carrier gas. The GC oven temperature was kept at 60 °C for 1 minute and programmed to 200 °C for 13 minutes. The injector's temperature was set at 250 °C. The sample was dissolved in acetone. A volume of 1µl was injected for the GC-MS analysis. The essential oil was analyzed in the Laboratory of Pharmacognosy (Department of Pharmacy, Faculty of Medicine, Batna).

2.5. Toxicity Bioassay

Bioassays were conducted as previously described (Boudjelida et al. 2005). The essential oil of *M. pulegium* was added to the treatment beakers at different final concentrations. The newly ecdysed fourth-instar larvae of *C. pipiens* and *A. caspius* (< 8 hours old) were exposed to the different concentrations (50, 100, 250, 500, and 1000 ppm) for 24hours in accordance with the World Health Organization (WHO) criteria (Anonym 1983). The positive controls were exposed to ethanol (solvent) while the negative controls were exposed to water only. Mortality was registered after 24hours of treatment. The test was carried out with 4 replicates containing 25 larvae each per concentration. The mortality percentages obtained were corrected (Abbott 1925) and the toxicity data subjected to the probity analysis (Finney 1971). The Lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₀) and 95% confidence limits (95% CL) were estimated, and the slope of the concentration-mortality lines was calculated (Swaroop et al. 1966).

2.6. Statistical Analysis

The number of individuals tested in each series is given with the results. The data are presented as the mean ± standard deviation (SD). The significance of the different series was tested using the Student's t test. All the statistical analyses were performed using the MINITAB Software (Version 17, PA, State College, USA) and p ≤ 0.05 was considered to be a statistically significant difference.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Extraction yield

From the results of steam distillation, we found that the yield of extraction of the essential oil of *M. pulegium* was 0.87±0.055 % of the dry matter of the aerial part of the plant. This yield is expressed in milliliters for 100g of dry matter. The obtained yield in our experiments is lower than the EOs extracted from the same species collected in Lavras, Brazil (2.54%) (Silva et al.

2015), in M'rirt (Morocco) (5.2%) (Amalich et al. 2016) and in Reguiba, El-Oued (South-East Algeria) (2.34%) (Ouakouak et al. 2015). Compared to the yield of pennyroyal harvested in Moroccan North (1.9%) (Cherrat et al. 2014) and the one obtained by Boughdad et al. (2011), the yield obtained in this study is also higher. It is relatively comparable to other plants industrially exploited as a source of essential oils like *Artemisia herba alba* (0.59%) and *Artemisia absinthium* (0.57%) (Derwich et al. 2009), *Thymus vulgaris* (1%) (Imelouane et al. 2009), *Mentha pulegium* and *M. spicata* (1% and 0.87%, respectively) (Boukhebt et al. 2011). In contrast, Benayad (2008) and Mahboubi and Haghi (2008) reported in the same plant a yield of 2.33% and 0.27 % respectively. However, the EO yield obtained from 7 species of the genus *Mentha* ranged from 0.69% to 2.33% (Pavela et al. 2014) and the total yield for *L. stoechas* is around 2.17% (Ben Slimane et al. 2015). Zantar et al. (2015) show a greatest yield for *M. pulegium* (3.5%) and *T. vulgaris* (3.6%). The high yield of EOs obtained during the full-flowering period, is probably due to its ecological role in attracting pollinators and in being an antifungal defense mechanism (Verma et al. 2010). These percentages were similar to those reported by Hmiri et al. (2011). In addition, the difference in the yield of the *Mentha* essential oils with respect to the geographical regions was reported (Abdullah, 2009).

3.2. Chemical composition of essential oil

The percentages and the retention times of the identified compounds of EOs of *M. pulegium* are listed in Table 1 and Figure 1. Fourteen compounds, representing 99.29% of the total essential oil, were identified. The major component was Pulegone (72.50%), other components present in the appreciable contents were: Eucalyptol (10.44%), Menthone (5.46%), Pentanone (3.78%), L- β Pinene (1.90%), Piperitenone (1.51%) and Isopulegone (1.12%).

The literature data suggest that *M. pulegium* is a chemical Polymorph species in both the qualitative and/or quantitative composition (Kokkini et al. 2004). Compared to the published data, the chemical profile obtained presented differences, but also some similarities. 38 components were identified in the essential oils of *M. pulegium* collected from Tunisia (Hafedh et al. 2009) and Iran (Sardashti and Adhami 2013) and 16 from Morocco (Benayad 2008). It has been found that the *M. pulegium* L. oils from Bulgaria contains major components, Pulegone (42.9–45.4%) (Stoyanova et al. 2005); from Uruguay; pulegone (73.4%), isomenthone (12.9%) (Lorenzo et al. 2002); from Egypt; Pulegone (43.5%), Piperitone (12.2%) (El-Ghorab, 2006); from Tunisia, Pulegone (41.8%), Isomenthone (11.3%) (Mkaddem et al. 2007). Boukhebt et al. (2011) studies showed three chemotypes of *M. pulegium* with the following major oil components: Pulegone, Piperitenone, and Isomenthone.

The chemical composition of the *Mentha pulegium* L. oil has been subjected to numbers of studies, which have shown a difference in its constituents depending on the region of cultivation and there have been some variations in the constituents from the different countries (Boukhebt et al. 2011). Studies reported by Mahboubi and Haghi (2008) show clearly that the *M. pulegium* essential oil contains the following compounds: Piperitenone 33.0%, α-terpineol 4.7%, Pulegone 2.3% from which Piperitone was the major constituent (38.00 %). In contrast, Pulegone (88 %) was the main component in the same plant analysed by Ouraini et al. (2005). In addition, the results from Vian et al. (2008) present that Pulegone (83.70 %) was the main component of the *M. pulegium* essential oil, whereas, Hilan et al. (2007) found that menthol is the main constituent (50%). The essential oils of *M. spicata* and *M. pulegium* mainly consisted of oxygenated monoterpenes and

carvone, menthol and menthone were the principal constituent (Boukhebtli et al. 2011).

Several reports revealed that the essential oil contents depend not only on the temperature and relative humidity but also on the duration of sunshine, air movement, and rainfall (Kastner 1969; Vernet et al. 1977). In the leaf essential oil *Mentha spicata*, 57 compounds and carvone (59.40%) is the major component, with other components which was present in appreciable contents such as: limonene (6.12%), 1,8-cineol, germacrene-D (4.66%), β -caryophyllene (2.969%), β -bourbonene (2.796%), α -terpineol (1.986%) and terpinene-4-ol (1.120%) (Boukhebtli et al. 2011). In other studies (Soković et al. 2009), carvone (49.5%) is also the major constituent, followed by menthone (21.9%) and limonene (5.8%) of the extractable essential oils from this plant species.

The GC/MS analysis of the *Lavandula stoechas* essential oil led to the identification of 20 components. Camphor (36.14%), 1,8-Cineole (25.16%), camphene (11.44%) and fenchone (9.08%), were the major constituents of which (El Ouali Lalami et al. 2016) 29 components representing 96.43% of the essential oil extracted from *Mentha spicata* cultivated at Ghardaia were identified with cis-carvone oxide, 1,8-cineole, cis-dihydrocarvone, and limonene (5.80%) as the main components (Laggoun 2016). Various factors as the environmental conditions, the extraction technique, the drying, the period and gathering sites, the plant age (Aberchane et al. 2001; Bourkhiss et al. 2009; Okoh et al. 2007; Bourkhiss et al. 2011), the concentration of the extract and the concentration of its active components, can influence the performance and the chemical composition of the extract.

3.3. Larvicidal Activity

In the present study, the dose-response relationship was determined for the *M. pulegium* essential oil applied to a newly ecdysed fourth instar larvae of *C. pipiens* and *A. caspius* (Table 2). The mortality was scored at 24 hours after treatment. With probit, LC_{50} was calculated as 38.75 and 28.16ppm, and LC_{90} was 85.91 and 53.75ppm for *C. pipiens* and *A. caspius*, respectively (Table 3). *A. caspius* is the most sensitive species. After the treatment, the intoxicated larvae showed a change in their behaviour by sinking to the bottom of the jar and remain there motionless until they died. Our results indicate that the *M. pulegium* essential oils and their active components could be developed as control agents against the mosquito larvae.

The efficacy of the botanical extracts against the population of mosquitoes can vary depending on the plant species, age and parts of the plant, the physicochemical characteristics and chemical composition of EO, the environmental conditions, the used extraction technique, the drying process, the period and growing environment and the cultivation practices (Sukumar et al. 1991; El Ouali Lalami et al. 2016). The insecticidal properties of EO are very well documented (Traboulsi et al. 2002; Koul et al. 2008; Pavela, 2008a; Pavela, 2008b; Urzua et al. 2010; Rossi et al. 2012), and no development of resistance against the botanicals has yet been reported (Sharma et al. 1992). In some previous investigations, the effect of the essential oil and extracts of the *Mentha* species of pests was reported (Regnault-Roger and Hamraoui 1994; Pascual-villalobos and Robledo 1998; Mahmoudvand et al. 2011; Michaelakis et al. 2011) especially against the mosquito's species (Sukumar et al. 1991; Ansari et al. 2000; Traboulsi et al. 2002; Amer and Mehlhorn 2006).

The efficacy of the essential oils derived from the three *Mentha* species, *M. pulegium*, *M. piperita* and *M. spicata* against *C. pipiens* larvae, revealed that the *M. pulegium* and *M. piperita* oils were the most toxic (LC_{50} : 46.97 and 40.28ppm, respectively) and Pulegone was the most effective (27.23mg/l) among the major ingredients (Michaelakis et al. 2011).

According to the same author, Pulegone is 5-fold more active than Piperitone, this differentiation probably stands on the account of the location of the C-C double bond that these two molecules contain. We assume that in Pulegone the C-C double bond position on the chain group (isopropylidene versus isopropyl group) enhances the toxicity. Thus, Cetin et al. (2006) concluded that there was a high to the low lethal effect of the extracts of *Mentha pulegium* against the mosquito larvae, with LC_{50} values of 81.0ppm and Koliopoulos et al. (2010) confirmed the toxicity of *Mentha* ssp on the Culicidae larvae (*C. pipiens*).

The petroleum ether extract of *Moringa Oleifera* exhibited higher activity compared to the other extracts with LC_{50} values of 9.22ppm and 15.82ppm against *A. Gambiae* and *A. aegypti*, respectively (Nkya et al. 2014). Sayah et al. (2014) shows that the essential oil of *Citrus aurantium* (bitter orange), *Citrus sinensis* (orange) and *Pistacia lentiscus* presented an interesting larvicidal activity against *C. pipiens* (LC_{50} = 35, 64 and 62ppm and LC_{90} = 70, 120 and 160 ppm, respectively).

Eight out of the 22 essential oils (aniseed, calamus, cinnamon, clove, lemon, orange, thyme, and tulsi oils) gave promising results on the larvicidal activity against *C. quinquefasciatus* and the clove oil was found to be the most toxic to the larvae (Ramar et al. 2013). Cinnamon (*Cinnamomum cassia*), Sabina (*Sabina vulgaris*), White camphor (*Cinnamomum glanduliferum*), and Wintergreen (*Lix chinensis*) oils exhibited a larvicidal activity against the dengue vector *Aedes aegypti* larvae (Shaalan 2009). Prajapathi et al. (2005) found that the essential oils of the various parts of the 10 medicinal plants showed the different mosquitocidal activity against *A. stephensi*, *A. aegypti* and *C. quinquefasciatus*. The phytoproducts possess different bioactive components that can be used as general toxicants against the various larval stages of mosquitoes (Shaalan et al. 2005).

4. CONCLUSION

In the present study, it can be concluded that the essential oil of *M. pulegium* with pulegone, and eucalyptol as the major constituents, was found to exhibit a potent larvicidal activity against the *C. pipiens* and *A. caspius* larvae. Moreover, the *M. pulegium* essential oil appeared to be more toxic against the *A. caspius* larvae in comparison to the *C. pipiens* larvae. The essential oils can greatly contribute to reducing both the environmental chemicalisation and the population density of the mosquitoes.

Acknowledgements

This work was supported by the National Fund for Scientific Research to Pr N Soltani (Laboratory of Applied Animal Biology) and the Ministry of High Education and Scientific Research of Algeria (CNEPRU Project to Pr F Tine-Djebbar).

Conflict of Interest

Pr Tine-Djebbar F has received research grants from Ministry of High Education and Scientific Research of Algeria (CNEPRU project, grant number D01N01UN120120130005). Pr. Soltani N is a headmaster of Laboratory of Applied Animal Biology, University of Badji mokhtar, Annaba. Guenez R declares that she has no conflict of interest.

Author's Contribution: All authors are equally contributed to this study.

Guenez Radja, Tine-Djebbar Fouzia and Soltani Nouredine, designed and carried out the experimental study. Tine-Djebbar Fouzia analysed data. Tine-Djebbar Fouzia, Guenez Radja and

Soltani Nouredine wrote the manuscript. All authors approved the manuscript.

REFERENCES

- Abbott W.S (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Econ Entomol* 18: 265-267.
- Abdullah I.H (2009) Characterization and biological activities of essential oils of some species of Lamiaceae. Ph.D. Thesis, Agricultural Univ. Faisalabad, Pakistan, unpublished.
- Aberchane M, Fechtal M, Chaouch A, Bouayoune T (2001) Effect of time and distillation techniques on essential oils yield and quality of atlas cedar (*Cedrus atlantica* M.). *Ann Rech Forest Maroc* 34: 110-118.
- Amalich S, Zerkani H, Cherrat A, Dédianhoua N, Soro K, Bourakhouadar M, Mahjoubi M, EL Hilali F, Zair T (2016) Study on *Mentha pulegium* L. from M'rirt (Morocco): Antibacterial and antifungal activities of a pulegone-rich essential oil. *J Chem Pharm Res* 8(5): 363-370.
- Ambindei W.A, Dongmo Jazet P.M, Tatsadjieu L.N, Priya P, Manilal V.B, Krishnakumar B, Amvam Zollo P.H (2017) Effect of the essential oils of *Thymus vulgaris*, *Cinnamomum zeylanicum* and *Mentha piperita* on fungal growth and morphology. *Afr J Biotech* 16(9): 388-399.
- Amer A, Mehlhorn H (2006) Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* larvae (Diptera, Culicidae). *Parasitol Res* 99: 466-472.
- Ansari M.A, Razdan R.K (1995) Relative efficacy of various oils in repelling mosquitoes. *Ind J Malar* 32: 104-111
- Ansari M.A, Vasudevan P, Tandon M, Razdan R.K (2000) Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. *Biores Technol* 71: 267-271.
- Anonym (1983) Informal consultation on insect growth regulators. WHO/VBC/83.
- Benayad N (2008) Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Rapport d'étude. Faculté des sciences de Rabat, Maroc, 63p.
- Ben Slimane B, Ezzine O, Dhahri S, Chograni H, Ben Jamaa M.L (2015) Chemical composition of *Rosmarinus* and *Lavandula* essential oils and their insecticidal effects on *Orgyia trigotephras*. *J Coast Life Med* 3(1): 64-69.
- Bhatnagar M, Kapur K.K, Jalers S, Sharma S.K (2005) Laboratory evaluation of insecticidal properties of *Ocimum basilicum* L., *Ocimum sanctum* L. plants essential oils, and their major constituents against vector mosquito species. *J Entomol Res* 17: 21-26.
- Boudjelida H, Bouaziz A, Soin T, Smaghe G, Soltani N (2005) Effects of ecdysone agonist halofenozide against *Culex pipiens*. *Pest Biochem Physiol* 83(2/3): 115-123.
- Boughdad A, Elkasimi R, Kharchafi M (2011) Activité insecticide des huiles essentielles de *Mentha* sur *Callosobrochus maculatus* (F) (Coleoptera, Bruchidea). AFPP, 9^{ème} Conférence Internationale sur les ravageurs en Agriculture, 2011 Octobre 26-27, Montpellier, France. 9p.
- Bouguerra N, Tine-Djebbar F, Soltani N (2017) Algerian *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and larvicidal activity against the mosquito *Culex pipiens*. *Inter J Mosq Res* 4(1): 37-42.
- Boukhebt H, Chaker AN, Belhadj H, Sahli F, Ramdhani M, Laouer H, Harzallah D (2011) Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils. *Schol Res Libr* 3(4): 267-275.
- Bourkhiss M, Hnach M, Bourkhiss B, Ouhssine M, Chaouch A, Satrani B (2009) Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Agrosolutions* 20(1): 29-44.
- Bourkhiss M, Hnach M, Lakhlifi T, Boughdad A, Farah A, Satrani B (2011) Effect of age and vegetative stage on essential oil content and chemical composition of *Thuya articulata*. *Les Technologies de Laboratoire* 6(23): 64-68.
- Brunhes J, Rhaim A, Geoffroy B, Hervy J.P (2000) Mosquitoes of the Mediterranean Africa: Software Identification and Education, CD-ROM (Didactiques), IRD, Paris, France; IPT, Tunis, Tunisia.
- Cetin H, Cinbilgel I, Yanikoglu A, Gokceoglu M (2006) Larvicidal activity of some Labiatae (Lamiaceae) plant extracts from Turkey. *Phytoth Res* 20(12): 1088-1090.
- Cherrat L, Espina L, Bakkali M, Pagán R, Laglaoui A (2014) Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. *Innov Food Sci Emerg Technol* 22: 221-229.
- Choochate W, Chaiyasit D, Kanjanapothi D, Rattanachanpichai E, Jitpakdi A, Tuetun B (2005) Chemical composition and antimosquito potential of rhizome extract and volatile oil derived from *Curcuma aromatica* against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Vect Ecol* 30: 302-309.
- Dahchar Z, Bendali-Saoudi F, Soltani N (2016) Larvicidal activity of some plant extracts against two mosquito species *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *J Entomol Zool Stud* 4(4): 346-350.
- Derwich E, Benziane Z, Boukir A (2009) Chemical compositions and insecticidal activity of essential oils of three plants *Artemisia* sp: *Artemisia herba-alba*, *Artemisia absinthium* and *Artemisia Pontica* (Morocco). *Electr J Envir Agr Food Chem* 8(11): 1202-1211.
- Dharmagadda V.S.S, Naik S.N, Mittal P.K, Vasudevan P (2005) Larvicidal activity of *Tagetes patula* essential oil against three mosquito species. *Biores Technol* 96: 1235-1240.
- El Akhal F, Greche H, Ouazzani CF, Guemmouh R, El Ouali Lalami A (2015) Chemical composition and larvicidal activity of *Culex pipiens* essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Morocco. *J Mater Environ Sci* 1: 214-219.
- El Akhal F, Guemmouh R, Maniar S, Taghzouti K, El Ouali Lalami A (2016) Larvicidal activity of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum majorana* (Lamiaceae) against of the malaria vector *Anopheles labranchiae* (Diptera: Culicidae). *Inter J Pharm Pharmaceutical Sci* 8(3): 372-376.
- El-Ghorab A.H (2006) The chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil from Egypt and its antioxidant activity. *J Ess Oil Bear Plant* 9: 183-195.

29. El Ouali Lalami A, EL-Akhal F, Maniar S, Ezzoubi Y, Taghzouti K (2016) Chemical constituents and larvicidal activity of essential oil of *Lavandula stoechas* (Lamiaceae) from morocco against the malaria vector *Anopheles labranchiae* (Diptera: Culicidae). *Inter. J Pharm Phytochem Res* 8(3): 505-511.
30. Finney D.J (1971) Probit analysis. 3rd ed., Cambridge University Press, London and New York.
31. Ghosh A, Chowdhury N, Chandra G (2012) Plant extracts as potential mosquito larvicides. *Ind J Med Res* 135: 581-598.
32. Govindarajan M (2010) Larvicidal and repellent activities of *Sida acuta* Burm. F. (Family: Malvaceae) against three important vector mosquitoes. *Asian Pacific J Trop Med* 3(9): 691-695.
33. Germplasm Resources Information Network (2010) (Online Database) Beltsville (MD): National Germplasm Resources Laboratory.
34. Hafedh H, Najla T, Emira N, Mejdi S, Hanen F, Riadh K, Amina B (2009) Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *W J Microbiol Biotech* 25: 2227-2238.
35. Hilan C, Sfeir R, El Hage R, Jawich D, Frem M.E, Jawhar K (2007) Evaluation of the antibacterial activities of *Ferula hermonis* (Boiss.). *Leb Sci J* 8(2): 135-151.
36. Hmiri S, Rahouti M, Zakaria H, Satrani B, Ghanmi M, El Ajjour M (2010) Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*Eucalyptus camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. *Bul Soc Roy Sci Liège* 80: 824-836.
37. Himmi O, Dakki M, Trari B, El Agbani M.A, 1995 The Culicidae of Morocco: Identification Keys with Biological and Ecological Data (Work of the Scientific Institute), Zoology of Series, Rabat, Morocco
38. Imelouane B, Amhamdi H, Wathelet J.P, Ankit M, Khedid K, El Bachiri A (2009) Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *Inter J Agr Biol* 11(2): 205-208.
39. Kastner G (1969) The dependance of field and quality of thyme grown as a two year crop on the date of harvesting and the cutting height in the autumn of the year of sowing. *Pharmazie* 24: 226-235.
40. Koliopoulos G, Pitarokili D, Kioulos E, Michaelakis A, Tzakou O (2010) Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. *Parasitol Res* 107: 327-335.
41. Kokkini S, Karousou R, Hanlidou E, Lanaras T (2004) Essential oil composition of Greek (*Origanum vulgare* ssp *hirtum*) and Turkish (*O. onites*) oregano: A tool for their distinction. *J Ess Oil Res* 16 (4): 334-338.
42. Koul O, Walia S, Dhaliwal G.S (2008) Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopest Inter* 4(1): 63-84.
43. Laggoune S, Öztürk M, Erol E, Duru M.E, Abaza I, Kabouche A, Kabouche Z (2016) Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oil of *Mentha spicata* L. from Algeria. *J Mater Envir Sci* 7(11): 4205-4213.
44. Lorenzo D, Paz D, Eduardo D, Philip D, Roser Villa D, Cañigüeral S (2002) Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* From Uruguay. *Braz Arch Biol Technol* 45: 519-524.
45. Mahboubi M, Haghi G (2008) Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *J Ethnopharm* 119(2): 325-327.
46. Mahmoudvand M, Abbasipour H, Basij M, Hosseinpour M.H, Rastegar F, Nasiri M.B (2011) Fumigant toxicity of some essential oils on adults of some stored-product pests. *Chil J Agr Res* 71(1): 83-89
47. Michaelakis A, Papachristos D, Kimbaris A, Polissiou M (2011) Larvicidal evaluation of three *Mentha* species essential oils and their isolated major components against the West Nile virus mosquito. *Hell Plant Protec J* 4: 35-43.
48. Mkaddem M, Bousaid M, Ben Fadhel N (2007) Variability of volatiles in 9Tunisian *Mentha pulegium* L. (Lamiaceae). *J Ess Oil Res* 19: 211-215.
49. Nkya J.P, Erasto P, Chacha M (2014) Larvicidal against mosquito vectors and brine shrimp activities of extracts from the flowers of *Moringa oleifera* Lam. *Amer J Res Com* 2(8): 17-18.
50. Okoh O.O, Sadimenko A.A, Afolayan A.J (2007) The effects of age on the yield and composition of the essential oils of *Calendula officinalis*. *J Appl Sci* 7(23): 3806-3810.
51. Onyambu G.K, Maranga R, Ndungu M, Kareru G, Wanjoya A (2015) GC-MS analysis of pesticidal essential oils from Kenyan plants. *Afr J Biotech* 14 (13): 1158-1166.
52. Ouakouak H, Chohra M, Denane M (2015) Chemical composition, antioxidant activities of the essential oil of *Mentha pulegium* L, South East of Algeria. *Inter Let Nat Sci* 39: 49-55.
53. Ouraini D, Agouni A, Alaoui M.I, Alaoui K (2005) Therapeutic approach of dermatophytes by HE Moroccan herbs. *Herb Med Phytoth* 1: 3-12.
54. Pascual-villalobos M.S, Robledo A (1998) Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants. *J Indust Crops Prod* 8(3): 115-120.
55. Pavela R (2008a) Insecticidal properties of several essential oils on the house fly (*Musca domestica* L.). *Phytoth Res* 22: 274-278.
56. Pavela R (2008b) Larvicidal effects of various Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say. larvae (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res* 102: 555-559.
57. Pavela R, Kaffková K, Kumšta M (2014) Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from different *Mentha* and *Pulegium* species against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) *Plant Protec Sci* 50 (1): 36-42.
58. Prajapathi N.D, Prajapathi T, Jaipura S (2005) Advances in medicinal plants. *Asian medicinal plant and health care trust, Jodhpur* 1.
59. Ramar M, Gabriel Paulraj M, Ignacimuthu S (2013) Preliminary screening of plant essential oils against larvae of *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Afr J Biotech* 12(46): 6480-6483.

60. Regnault-Roger C, Hamraoui A (1994) Reproductive inhibition of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by some aromatic essential oils. *Crop Protec* 13:624-28.
61. Rocha D, Novo M, Matos O.C, Figueiredo A, Delgado M.D, Cabral M, Liberato M, Moiteiro C (2015) Potential of *Mentha pulegium* for mosquito control. *Revista de Ciências Agrárias* 38(2): 155-165.
62. Rossi E, Cosimi S, Loni A (2012) Bioactivity of essential oils from mediterranean plants: insecticidal properties on *Sitophilus zeamais* and effects on seed germination. *J Entomol* 9: 403-412.
63. Sayah M.Y, El Ouali lalami A.H, Greech H, Errachidi F, Rodi El Kandri Y, Ouazzani Chahdi F (2014) Larvicidal activity of aromatic plant extracts on larvae of mosquitoes vectors of parasitic diseases. *Inter. J Innov Appl Stud* 7(3): 832-842.
64. Shaalan E.A (2009) Larvicidal activity of some volatile oils against the dengue vector *Aedes aegypti*. 45 Annual Scientific Seminar of Malaysian Society of Parasitology and Tropical Medicine "Impact of animal hosts on disease transmission and public health" 18-19 March. Kuala Lumpur, Malaysia.
65. Sardashti A, Adhami Y (2013) Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Taftan Area by means of gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). *J Med Plant Res* 7(40): 3003-3007.
66. Samarasekera R, Weerasinghe I.S, Hemalal K.D.P (2008) Insecticidal activity of menthol derivatives against mosquitoes. *Pest Manag Sci* 64: 290-295.
67. Schaffner F, Angel G, Geoffroy B, Hevry J.P, Rhaiem A, Brunhes J (2001) Moustiques d'Europe. Institut de recherche pour le développement IRD. Logiciel d'identification.
68. Sharma R.N, Gupta A.S, Patwardhan S.A, Hebbal-ker D.S, Tare V, Bhonde S.B (1992) Bioactivity of Lamiaceae plants against insects. *Ind J Exp Biol* 30: 244-246
69. Shaalan E.A.S, Canyonb D, Younesc M.W.F, Abdel-Wahaba H, Mansoura A.H (2005) A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. *Envir Inter* 3: 1149-1166.
70. Silva L.F, Cardoso M.G, Batista L.R, Gomes M.S, Rodrigues L.M.A, Rezende D.A.C.S, Teixeira M.L, Carvalho M.S.S, Santiago J.A, Nelson D.L (2015) Chemical characterization, antibacterial and antioxidant activities of essential oils of *Mentha viridis* L. and *Mentha pulegium* L. (L). *Amer J Plant Sci* 6: 666-675.
71. Skaltsa H.D, Demetzos C, Lazari D, Sokovic M (2003) Essential oil analysis and antimicrobial activity of eight *Stachys* species from Greece. *Phytochem* 64: 743-752.
72. Soković M.D, Vukojević J, Marin P.D, Brkić D.D, Vajs V, Van Griensven L.J.L.D (2009) Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. *Molecules* 14(1): 238-249.
73. Stoyanova A, Georgie V, Kula J, Majda T (2005) Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* from Bulgaria. *J Ess Oil Res* 17: 475-477.
74. Sukumar K, Perich M.J, Boobar L.R (1991) Botanical derivatives in mosquito control: a review. *J Amer Mosq Contr Assoc* 7: 210-237.
75. Swaroop S, Gilroy A.B, Uemura K (1966) Statistical methods in malaria eradication. Geneva: World Health Organisation.
76. Traboulsi A.F, Taoubi K, El-Haj S, Bessiere J.M, Rammal S (2002) Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Manag Sci* 58(5): 491-5.
77. Tine-Djebbar F, Bouabida H, Soltani N (2016) Répartition spatio-temporelle des Culicidés dans la région de Tébessa. Editions universitaires européennes ISSN/ISBN : 978-3-639-50856-7.
78. Urzúa A, Santander R, Echeverría J, Cabezas N, Palacios S.M, Rossi Y (2010) Insecticide properties of the essential oils from *Haplopappus foliosus* and *Bahia ambrosoides* against the house fly, *Musca domestica* L. *J Chil Chem Soc* 55: 392-395.
79. Verma R.S, Rahman L, Verma R.K, Chauhan A, Yadav A.K, Singh A (2010) Essential oil composition of menthol mint (*Mentha arvensis*) and peppermint (*Mentha piperita*) cultivate at different stages of plant growth from Kumaon region of western Himalaya. *Inter. J Med Arom Plants* 1: 13-18.
80. Vernet P.H, Guillerm J.L, Gouyon P.H (1977) Le polymorphisme chimique de *Thymus vulgaris* L. (Labiée), I. Répartition des formes chimiques en relation avec certains facteurs écologiques. *Ecologica Plantarum* 128(2): 159-179.
81. Vian M.A, Fernandez X, Visinoni F, Chemat F (2008) Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. *J Chrom A* 1190: 14-17.
82. Zantar S, El Garrouj D, Pagán R, Chabi M, Laglaoui A, Bakkali M, Zerrouk M.H (2015) Effect of harvest time on yield, chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Thymus vulgaris* and *Mentha pulegium* Essential Oils. *Europ J Med Plants* 8(2): 69-77.

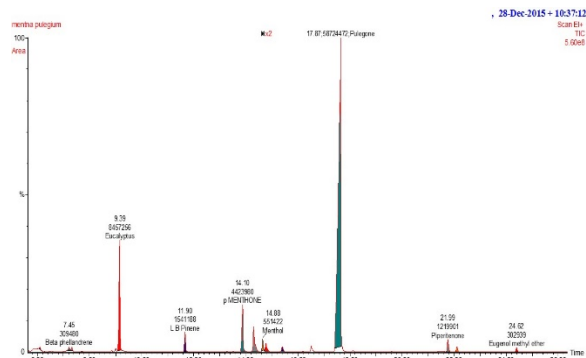


Fig. 1. Typical GC-MS Chromatograms of *M. pulegium* essential oils showing the separation of chemical components using HP-5MS column (Area as a function of the time in min)

Table 1. Chemical composition of *M. pulegium* oils: retention time (RT) and concentration (%) of different constituents.

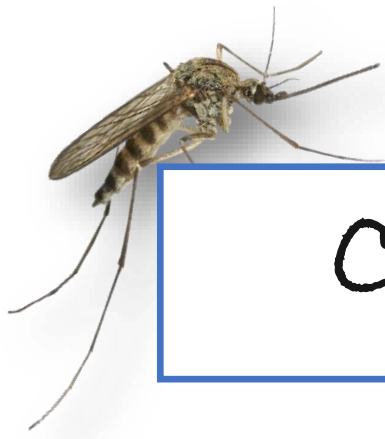
Pic	Compound	RT	%
MONOTERPENES HYDROCARBONS			
1	α - Pinene	6.33	0.26
2	β - Phellandrene	7.44	0.38
3	3-Carene Bicyclo (3.1.0) Hexane.4-Methyl-1-(1-Methylethyl) Didehydro Deriv	7.55	0.32
5	L- β Pinene	11.90	1.90
13	D-Limonene	22.33	0.63
OXYGENATED HYDROCARBONS			
4	Eucalyptol	9.38	10.44
6	P-Menthone 2-Ethyl-5-Propyle	14.09	5.46
7	2- Ethyl-5-Propylcyclo Pentanone	14.53	3.78
8	Menthol	14.87	0.68
9	Isopulegone	14.99	1.12
10	α - Terpeneol	15.64	0.63
11	Pulegone	17.87	72.50
12	Piperitenone	21.99	1.51
14	Eugenol Methyl Ether	24.62	0.37
Total (%)			99.29

Table 2. Efficacy of essential oil of *Mentha pulegium* applied on fourth instar larvae of *Culex pipiens* and *Aedes caspius*: corrected mortality ($m \pm SD$, n = 4 replicates each containing 25 larvae).

Species	12.5 ppm	25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm	P value
<i>C. pipiens</i>	5.38 \pm 2.26	24.27 \pm 3.59	54.00 \pm 5.29	66.22 \pm 6.01	95.94 \pm 4.00	p \leq 0.001
<i>A. caspius</i>	16.33 \pm 6.63	28.77 \pm 0.67	57.55 \pm 1.34	91.83 \pm 3.91	100 \pm 0.00	p \leq 0.001

Table 3. Larvicidal activity of *Mentha pulegium* oils against fourth instar of *Aedes caspius* and *Culex pipiens* after 24 hours of treatment

Species	Regression equation	LC ₅₀		LC ₉₀		Slope
		ppm	95% FL	ppm	95% FL	
<i>C. pipiens</i>	y = 3.706 x - 0.886	38.75	(35.71 - 42.04)	85.91	(70.71 - 104.37)	1.85
<i>A. caspius</i>	y = 3.542 x - 0.534	28.16	(25.86 - 30.65)	53.75	(43.37 - 66.61)	1.65



CHAPTER BOOK

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/321777937>

Chemical Composition and Insecticide Properties of the Essential Oils from Mentha Pulegium Against Aedes Caspius (Diptera: Culicidae)

Chapter · January 2018

DOI: 10.1007/978-3-319-70548-4_154

CITATIONS

0

READS

42

3 authors:



Fouzia Tine-Djebbar

Larbi Tebessi university

16 PUBLICATIONS 10 CITATIONS

SEE PROFILE



Raja Guenez

Université Cheikh LArbi TBessi of Algeria

1 PUBLICATION 0 CITATIONS

SEE PROFILE



Noureddine Soltani

Badji Mokhtar - Annaba University

359 PUBLICATIONS 1,876 CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Potentialités insecticides des substances naturelles dans la lutte contre le criquet pèlerin [View project](#)



use natural products for control the insect pest of stored products [View project](#)

Chemical Composition and Insecticide Properties of the Essential Oils from *Mentha Pulegium* Against *Aedes Caspius* (Diptera: Culicidae)

Fouzia Tine-Djebbar, Raja Guenez, and Nouredine Soltani

Keywords

Aedes caspius • Essential oils • *Mentha pulegium* • Chemical composition
Larvicidal activity

1 Introduction

Mosquitoes can transmit serious human diseases such as malaria, dengue, filariasis, and yellow fever, which affect more than 700 million people annually throughout the world. WHO has declared the mosquitoes as public enemy number one (WHO 1996). To prevent this arthropod proliferation and improve the environment quality and public health, more attention has been focused on botanicals, which are ecofriendly, cost effective, and one of the possible alternatives to synthetic insecticides. Many studies on plant extracts against mosquito have been conducted around the world, and their larvicidal, pupicidal, adult emergence inhibition and repellent activities have been reported (Pavela et al. 2014; Rocha et al. 2015; El Akhal et al. 2015, 2016). The Lamiaceae family is recognized for their vital oils, medicinal uses and antimicrobial activity of different species (Skaltsa et al. 2003). *Mentha* is an important genus of Lamiaceae. *Mentha pulegium* L. is native to temperate Asia, Africa and Europe (GRIN 2010). This present study aimed to determine the chemical composition of essential oils of cultivated mint species largely used in Algeria, *M. pulegium* and to test their insecticidal activities against *Ae caspius*, the most interesting mosquito species in Algeria, particularly in Tebessa area (Tine-Djebbar et al. 2016).

F. Tine-Djebbar (✉) · R. Guenez
Larbi Tebbesi University, Laboratory of Applied Animal Biology
—University of Annaba, Annaba, Algeria
e-mail: fouzia.djebbar@yahoo.fr

N. Soltani
Laboratory of Applied Animal Biology—University of Annaba,
Annaba, Algeria

2 Materials and Methods

Mosquito rearing: *Aedes caspius* Pallas, 1771 larvae were collected from untreated areas located at Tébessa (Northeast Algeria). Larvae specimens were morphologically identified according to identification keys of Brunhes et al. (1999) and Himmi et al. (1995). Pyrex storage jars containing 150 ml of tap water were maintained at 25 °C temperature and a photoperiod of 14:10 (L:D). Larvae were daily fed with fresh food consisting of a mixture of Biscuit Petit Regal-dried yeast (75:25 by weight) and water was replaced every four days.

Plant Material and oil extraction: The aerial parts of *M. pulegium* L. (Lamiaceae) were collected in April 2014 in Tebessa (North East Algeria). Dried above-ground parts of the plants (about 100 g) were cut into small pieces and subjected to hydrodistillation for 3 h using a Clevenger type apparatus.

Gas chromatography-mass spectrometry: The essential oil of *M. pulegium* was subjected to gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis using Perkin Elmer chromatograph Autosystem GC. The column, HP-5 (length: 30 m with an internal diameter of 0.25 mm and a film thickness of 0.25 µm) was used with helium as carrier gas.

Toxicity bioassay: Newly ecdysed fourth-instar larvae of *Ae. caspius* (<8 h old) were exposed to the different concentrations (50, 100, 250, 500, and 1000 ppm) of *M. pulegium* essential oil, Controls were exposed to water only. Mortality was recorded after 24 h treatment. The mortality percentages obtained were corrected (Abbott 1925) and toxicity data subjected to probit analysis (Finney 1971).

3 Results and Discussion

Chemical composition of essential oil: Fourteen compounds, representing 99.29% of the total essential oil, were identified. The major component was Pulegone (72.50%), other components present in appreciable contents were: Eucalyptol (10.44%), Menthone Pentanone (3.78%), L- β Pinene (1.90%), Piperitenone (1.51%) and Isopulegone (1.12%). Literature data suggests that *M. pulegium* is a chemical polymorph species in both qualitative and/or quantitative composition (Kokkini et al. 2004). Compared to published data, the chemical profile obtained presents differences, but also some similarities. 38 components were identified in the essential oils of *M. pulegium* collected from Tunisia (Hafedh et al. 2009) and Iran (Sardashti and Adhami 2013) and 16 from Morocco (Benayad 2008). Studies reported by Mahboubi and Haghi (2008) show clearly that *M. pulegium* essential oil contains the following compounds: piperitenone 33.0%, α -terpineol 4.7%, pulegone 2.3% from which piperitone was the major constituent (38.00%).

Larvicidal activity: The efficacy of phytochemicals against mosquito larvae can vary significantly depending on plant species and age of plant parts, EO physico-chemical characteristics and chemical composition, the environmental conditions, the used extraction technique and the drying process (El Ouali Lalami et al. 2016). In some previous investigations, the effect of essential oil and extracts of *Mentha* species on pests was reported, especially against mosquito's species (Ansari et al. 2000; Traboulsi et al. 2002; Amer and Mehlhorn 2006). In our present study, dose-response relationship was determined for *M. pulegium* essential oil applied to newly ecdysed fourth instar larvae of *Ae caspius*. The mortality was scored at 24 h after treatment. With probit, LC50 was calculated as 28.16 ppm, and LC90 was 53.75 ppm for *Ae caspius*. After treatment, intoxicated larvae showed a change in their behaviour by sinking to the bottom of the jar and remaining there motionless until they died.

4 Conclusion

In the present study, it can be concluded that the essential oil of *M. pulegium* with pulegone and eucalyptol as major constituents was found to exhibit potent larvicidal activity against *Ae caspius* larvae. The essential oils can greatly contribute to reduce both the environmental chemicalisation and the population density of mosquitoes.

References

- Abbott WS. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J Econ Entomol.* 1925;18:265–7.
- Amer A, Mehlhorn H. Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles* and *Culex* larvae (Diptera, Culicidae). *Parasitol Res.* 2006;99:466–72.
- Ansari MA, Vasudevan P, Tandon M, Razdan RK. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. *Biores Technol.* 2000;71:267–71.
- Benayad N. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Rapport d'étude. Faculté des sciences de Rabat, Maroc, 63p; 2008.
- Brunhes J, Rhaim A, Geoffroy B, Hervy JP. Mosquitoes of the Mediterranean Africa: software identification and education, CD-ROM (Didactiques), IRD, Paris, France; IPT, Tunis, Tunisia; 1999.
- El Akhal F, Greche H, Ouazzani CF, Guemmouh R, El Ouali LA. Chemical composition and larvicidal activity of *Culex pipiens* essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Morocco. *J Mater Environ Sci.* 2015;1:214–9.
- El Akhal F, Guemmouh R, Maniar S, Taghzouti K, El Ouali LA. Larvicidal activity of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum majorana* (Lamiaceae) against of the malaria vector *Anopheles labranchiae* (Diptera: Culicidae) original article. *Int J Pharm Pharmaceutical Sci.* 2016;8(3):372–6.
- El Ouali Lalami A, EL-Akhal F, Maniar S, Ez zoubi Y, Taghzouti K. Chemical constituents and larvicidal activity of essential oil of *Lavandula stoechas* (Lamiaceae) from morocco against the malaria vector *Anopheles labranchiae* (Diptera: Culicidae). *Int J Pharmacognosy Phytochem Res.* 8 3:505–511; 2016.
- Finney DJ. Probit analysis. 3d ed. London and New York: Cambridge University Press; 1971.
- Germplasm Resources Information Network. [Online Database] Beltsville (MD): National Germplasm Resources Laboratory; 2010.
- Hafedh H, Najla T, Emira N, Mejdi S, Hanen F, Riadh K, Amina B. Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World J Microbiol Biotechnol.* 2009;25:2227–38.
- Himmi O, Dakki M, Trari B, El Agbani MA. The Culicidae of Morocco: identification keys with biological and ecological data (Work of the Scientific Institute), zoology of Series, Rabat, Morocco; 1995.
- Kokkini S, Karousou R, Hanlidou E, Lanaras T. Essential oil composition of Greek (*Origanum vulgare* ssp *hirtum*) and Turkish (*O. onites*) oregano: a tool for their distinction. *J Essent Oil Res.* 2004;16(4):334–8.
- Mahboubi M, Haghi G. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *J Ethnopharmacol.* 2008;119(2):325–7.
- Pavela R, Kaffková K, Kumšta M. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from different *Mentha* and *Pulegium* species against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Plant Prot Sci.* 2014;50(1):36–42.

- Rocha D, Novo M, Matos O, Figueiredo AC, Delgado M, Cabral MD, Liberato M, Moiteiro C. Potential of *Mentha pulegium* for mosquito control. *Revista de Ciências Agrárias* 2015;38 2:155–65.
- Sardashti A, Adhami Y. Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Taftan Area by means of gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). *J Med Plant Res.* 7 40:3003–7; 2013.
- Skaltsa HD, Demetzos C, Lazari D, Sokovic M. Essential oil analysis and antimicrobial activity of eight *Stachys* species from Greece. *Phytochemistry.* 2003;64:743–52.
- Tine-Djebbar F, Bouabida H, Soltani N. Répartition spatio-temporelle des Culicidés dans la région de Tébessa. Editions universitaires européennes ISSN/ISBN: 978-3-639-50856-7; 2016.
- Traboulsi AF, Taoubi K, El-Haj S, Bessiere JM, Rammal S. Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Manag Sci.* 2002;58(5):491–5.
- WHO. Report of the WHO informal consultation on the evaluation and testing of insecticides. World Health Organization CTD/WHOPES/IC/1996; 1996. pp. 1–69.