



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE 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

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).

Présenté par: M^{me} DRIS Djemâa

Directeur de thèse : M^{me}. TINE-DJEBBAR F., Pr. Université Larbi Tébessi, Tébessa
Co-Directeur de thèse : M. SOLTANI N., Pr. Université Badji Mokhtar, Annaba

Membres de Jury :

M. BOUDJELIDA H., Pr.	Président	Université Badji Mokhtar, Annaba
Mme AYAD-LOUCIF W., Pr.	Examineur	Université Badji Mokhtar, Annaba
Mme HAMAIDIA K., MCA	Examineur	Université Chérif Messaadia, Souk-Ahras
M. TINE S., MCA	Examineur	Université Larbi Tébessi, Tébessa

Année universitaire: 2018/2019

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



قال تعالى : { إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ
مَثَلًا مَا يَعُوذُونَ فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا
فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ
كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا
يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ
بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ }

سورة البقرة آية (26)

Remerciements

Mes remerciements s'adressent d'abord à ALLAH le tout puissant et à son prophète MOHAMED (paix et salut sur lui) pour les chances qui me sont offertes pour réaliser ce travail.

Mes plus vifs remerciements et toute ma considération à M. Hamid BOUDJELIDA (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 des êtres vivants, Université de Tébessa). Elle a su guider et diriger avec clairvoyance et autorité scientifique sur place à Tébessa, la réalisation de cette thèse. Merci pour ses encouragements, ses conseils, sa patience et sa disponibilité à notre égard, du fond du cœur : merci.

Mes profonds remerciements vont à M. Noureddine SOLTANI (Professeur au Département de Biologie et Directeur du Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, Université d'Annaba) pour avoir codirigé ce travail. Grâce à lui j'ai appris une bonne méthodologie de recherche, je lui témoigne respect et déférence.

Mes plus vifs remerciements et toute ma considération à Mme Wahida AYAD-LOUCIF (Professeur à l'Université d'Annaba) qui a bien voulu accepter d'être membre de ce même jury et de me faire l'honneur de juger ce travail.

Toute ma considération à l'égard de M. Samir TINE (Maître de conférences au Département de Biologie des êtres vivants, Université de Tébessa) qui m'a 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.

C'est avec enthousiasme que nous voudrions exprimer, tout particulièrement notre humble gratitude et notre profonde reconnaissance à Mme Hayette BOUABIDA (Maître de conférences au Département de Biologie, Université de Tébessa) pour ses encouragements et son aide.

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

Dédicace

-A Mon Mari

-Ma Famille

- Ma belle Famille

SOMMAIRE

	Page
I. INTRODUCTION	1
II. MATERIEL ET METHODES	4
2.1. Présentation des Culicidae.....	4
2.2. Cycle de vie des moustiques.....	4
2.3. Présentation de <i>Culiseta longiareolata</i> (Aitken, 1954).....	6
2.4. Présentation de <i>Culex pipiens</i> (Linné, 1758).....	8
2.5. Elevage au laboratoire.....	9
2.6. Description des espèces végétales étudiées.....	10
2.6.1. Lavande : <i>Lavandula dentata</i> (Linné, 1753).....	10
2.6.2. Menthe poivrée : <i>Mentha piperita</i> (Linné, 1753).....	11
2.6.3. Basilic : <i>Ocimum basilicum</i> (Linné, 1753).....	13
2.7. Présentation des huiles essentielles.....	14
2.8. Composition chimique des huiles essentielles.....	15
2.8.1. Monoterpènes.....	16
2.8.2. Sesquiterpènes.....	16
2.8.3. Composés aromatiques.....	16
2.9. Extraction des HEs par hydrodistillation et rendement.....	16
2.10. Analyse des HEs par CPG/SM.....	17
2.11. Traitement et Bioessais.....	18
2.12. Dosage des biomarqueurs.....	19
2.12.1. Dosage de l'acétylcholinestérase.....	19
2.12.2. Dosage des glutathion S-transférases.....	20
2.12.3. Dosage du glutathion.....	20
2.12.4. Extraction et dosage du malondialdéhyde.....	21
2.12.5. Dosage de la catalase.....	22
2.13. Etude morphométrique.....	23
2.14. Extraction et dosage des constituants biochimiques.....	23
2.14.1. Dosage des protéines totales.....	23
2.14.2. Dosage des lipides totaux.....	24
2.14.3. Dosage des glucides totaux.....	24
2.15. Analyse statistique.....	25
III. RESULTATS	27
3.1. Rendement des huiles essentielles.....	27
3.2. Composition chimique de l'HE de <i>Lavandula dentata</i>	27
3.3. Composition chimique de l'HE de <i>Mentha piperita</i>	28
3.4. Composition chimique de l'HE de l' <i>Ocimum basilicum</i>	31
3.5. Essais insecticides des HEs à l'égard de <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	34
3.5.1. Essai insecticide de l'HE de <i>L. dentata</i>	34
3.5.2. Essai insecticide de l'HE de <i>M. piperita</i>	36
3.5.3. Essai insecticide de l'HE d' <i>O. basilicum</i>	39
3.6. Efficacité comparée des HEs des 3 plantes à l'égard de <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	42
3.7. Impact des HEs sur les biomarqueurs.....	42
3.7.1. Effet des HEs sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase.....	42
3.7.1.1. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. longiareolata</i>	43
3.7.1.2. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. pipiens</i>	44

3.7.1.3. Effet comparé de <i>L. dentata</i> sur l'ACHé chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	45
3.7.1.4. Effet comparé de <i>M. piperita</i> sur l'ACHé chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	46
3.7.1.5. Effet comparé d' <i>O. basilicum</i> sur l'ACHé chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	46
3.7.2. Effet sur le taux du glutathion	47
3.7.2.1. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. longiareolata</i>	47
3.7.2.2. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. pipiens</i>	48
3.7.2.3. Effet comparé de <i>L. dentata</i> sur le taux de la GSH chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	49
3.7.2.4. Effet comparé de <i>M. piperita</i> sur le taux de la GSH chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	49
3.7.2.5. Effet comparé d' <i>O. basilicum</i> sur le taux de la GSH chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	50
3.7.3. Effet sur l'activité spécifique des glutathion S-transférases	50
3.7.3.1. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. longiareolata</i>	51
3.7.3.2. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. pipiens</i>	52
3.7.3.3. Effet comparé de <i>L. dentata</i> sur l'activité spécifique des GSTs chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	53
3.7.3.4. Effet comparé de <i>M. piperita</i> sur l'activité spécifique des GSTs chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	54
3.7.3.5. Effet comparé d' <i>O. basilicum</i> sur l'activité spécifique des GSTs chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	54
3.7.4. Effet sur le taux du malondialdéhyde	54
3.7.4.1. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. longiareolata</i>	55
3.7.4.2. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. pipiens</i>	56
3.7.4.3. Effet comparé de <i>L. dentata</i> sur le taux de la MDA chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	57
3.7.4.4. Effet comparé de <i>M. piperita</i> sur le taux de la MDA chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	57
3.7.4.5. Effet comparé d' <i>O. basilicum</i> sur le taux de la MDA chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	58
3.7.5. Effet sur l'activité spécifique de la catalase	58
3.7.5.1. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. longiareolata</i>	58
3.7.5.2. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. pipiens</i>	60
3.7.5.3. Effet comparé de <i>L. dentata</i> sur l'activité spécifique de la catalase chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	61
3.7.5.4. Effet comparé de <i>M. piperita</i> sur l'activité spécifique de la catalase chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	61
3.7.5.5. Effet comparé d' <i>O. basilicum</i> sur l'activité spécifique de la catalase chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	61
3.8. Impact des HEs sur la croissance des moustiques	62
3.8.1. Effet sur la croissance pondérale	62
3.8.1.1. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. longiareolata</i>	62
3.8.1.2. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. pipiens</i>	63
3.8.1.3. Effet comparé de <i>L. dentata</i> sur le poids corporel des individus chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	65
3.8.1.4. Effet comparé de <i>M. piperita</i> sur le poids corporel des individus chez <i>C.</i>	

<i>pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	65
3.8.1.5. Effet comparé d' <i>O. basilicum</i> sur le poids corporel des individus chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	65
3.8.2. Effet sur la croissance linéaire.....	66
3.8.2.1. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. longiareolata</i>	66
3.8.2.2. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. pipiens</i>	68
3.8.2.3. Effet comparé de <i>L. dentata</i> sur le volume corporel des individus chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	69
3.8.2.4. Effet comparé de <i>M. piperita</i> sur le volume corporel des individus chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	69
3.8.2.5. Effet comparé d' <i>O. basilicum</i> sur le volume corporel des individus chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	70
3.9. Impact des HEs sur la composition biochimique des moustiques.....	70
3.9.1. Effet sur le contenu en protéines totales.....	71
3.9.1.1. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. longiareolata</i>	71
3.9.1.2. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. pipiens</i>	72
3.9.1.3. Effet comparé de <i>L. dentata</i> sur le contenu en protéines totales des individus chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	73
3.9.1.4. Effet comparé de <i>M. piperita</i> sur le contenu en protéines totales des individus chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	74
3.9.1.5. Effet comparé d' <i>O. basilicum</i> sur le contenu en protéines totales des individus chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	74
3.9.2. Effet sur le contenu en glucides totaux.....	75
3.9.2.1. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. longiareolata</i>	75
3.9.2.2. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. pipiens</i>	76
3.9.2.3. Effet comparé de <i>L. dentata</i> sur le contenu en glucides totaux des individus chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	77
3.9.2.4. Effet comparé de <i>M. piperita</i> sur le contenu en glucides totaux des individus chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	78
3.9.2.5. Effet comparé d' <i>O. basilicum</i> sur le contenu en glucides totaux des individus chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	78
3.9.3. Effet sur le contenu en lipides totaux.....	79
3.9.3.1. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. longiareolata</i>	79
3.9.3.2. Efficacité comparée des HEs chez <i>C. pipiens</i>	80
3.9.3.3. Effet comparé de <i>L. dentata</i> sur le contenu en lipides totaux des individus chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	82
3.9.3.4. Effet comparé de <i>M. piperita</i> sur le contenu en lipides totaux des individus chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	82
3.9.3.5. Effet comparé d' <i>O. basilicum</i> sur le contenu en lipides totaux des individus chez <i>C. pipiens</i> et <i>C. longiareolata</i>	83
IV. DISCUSSION	84
4.1. Rendement des huiles essentielles.....	84
4.2. Composition chimique des HEs.....	85
4.3. Toxicité des HEs à l'égard des moustiques	89
4.4. Effet des HEs sur les biomarqueurs.....	91
4.4.1. Effet des HEs sur l'activité spécifique de l'AChE.....	92
4.4.2. Effet des HEs sur le taux de Glutathion.....	96
4.4.3. Effet des HEs sur l'activité spécifique des GSTs.....	97
4.4.4. Effet des HEs sur le taux de la MDA	98

4.4.5. Effet des HEs sur l'activité spécifique de la catalase.....	99
4.5. Impact des HEs sur la croissance des moustiques.....	99
4.6. Impact des HEs sur les réserves énergétiques des moustiques	100
V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	104
VI. RESUMES.....	106
VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	111
VIII. ANNEXES.....	139
- Production scientifique	

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Titres	P
<u>Tableau 1.</u>	Les concentrations (ppm) des HEs de 3 plantes, appliquées sur <i>C. longiareolata</i> et <i>C. pipiens</i>	19
<u>Tableau 2.</u>	Dosage des protéines totales chez les moustiques : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.....	24
<u>Tableau 3.</u>	Dosage des lipides totaux chez les moustiques : Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.....	24
<u>Tableau 4.</u>	Dosage des glucides totaux chez les moustiques : Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.....	25
<u>Tableau 5.</u>	Composition chimique de l'HE de <i>L. dentata</i> : temps de rétention (TR) et concentration (%) de différents constituants.....	27
<u>Tableau 6.</u>	Composition chimique de l'HE de <i>M. piperita</i> : temps de rétention (TR) et concentration (%) de différents constituants.....	29
<u>Tableau 7.</u>	Composition chimique de l'HE d' <i>O. basilicum</i> : temps de rétention (TR) et concentration (%) de différents constituants.....	32
<u>Tableau 8.</u>	Toxicité de l'HE de <i>L. dentata</i> (ppm) appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).....	35
<u>Tableau 9.</u>	Toxicité de l'HE de <i>L. dentata</i> (ppm) appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. pipiens</i> : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).....	35
<u>Tableau 10.</u>	Toxicité de l'HE de <i>L. dentata</i> (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Analyse de la variance à un critère de classification après transformation angulaire des mortalités enregistrées (%).....	35
<u>Tableau 11.</u>	Toxicité de l'HE de <i>L. dentata</i> (ppm), appliquées sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. pipiens</i> : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Analyse de la variance à un critère de classification après transformation angulaire des mortalités enregistrées (%).....	35
<u>Tableau 12.</u>	Toxicité de l'HE de <i>L. dentata</i> , appliquée sur des larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> et <i>C. pipiens</i> : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).	36
<u>Tableau 13.</u>	Toxicité de l'HE de <i>M. piperita</i> (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).....	37
<u>Tableau 14.</u>	Toxicité de l'HE de <i>M. piperita</i> (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. pipiens</i> : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).....	37
<u>Tableau 15.</u>	Toxicité de l'HE de <i>M. piperita</i> (ppm), appliquées sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Analyse de la variance à un critère de classification après transformation angulaire des mortalités enregistrées (%).....	38
<u>Tableau 16.</u>	Toxicité de l'HE de <i>M. piperita</i> (ppm), appliquées sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. pipiens</i> : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Analyse de la variance à un critère de classification après transformation angulaire	

	des mortalités enregistrées (%).	38
Tableau 17.	Toxicité de l'HE de <i>M. piperita</i> , appliquée sur des larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> et <i>C. pipiens</i> : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).	39
Tableau 18.	Toxicité de l'HE de l' <i>O. basilicum</i> (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	40
Tableau 19.	Toxicité de l'HE de l' <i>O. basilicum</i> (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. pipiens</i> : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	40
Tableau 20.	Toxicité de l'HE de l' <i>O. basilicum</i> (ppm), appliquées sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Analyse de la variance à un critère de classification après transformation angulaire des mortalités enregistrées (%).	40
Tableau 21.	Toxicité de l'HE de l' <i>O. basilicum</i> (ppm), appliquées sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. pipiens</i> : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Analyse de la variance à un critère de classification après transformation angulaire des mortalités enregistrées (%).	41
Tableau 22.	Toxicité de l'HE de l' <i>O. basilicum</i> , appliquée sur des larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> et <i>C. pipiens</i> : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).	42
Tableau 23.	Efficacité comparée des HEs extraites de <i>M. piperita</i> , <i>O. basilicum</i> et <i>L. dentata</i> à l'égard des larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> et <i>C. pipiens</i> .	42
Tableau 24.	Classement par ordre décroissant de l'activité spécifique de l'AChE chez <i>C. longiareolata</i> après traitement aux HEs (CL_{50}) : test HSD de Tukey.	44
Tableau 25.	Classement par ordre décroissant de l'activité spécifique de l'AChE, chez <i>C. pipiens</i> après traitement aux HEs (CL_{50}) : test HSD de Tukey..	45
Tableau 26.	Effet de l'HE de <i>L. dentata</i> (CL_{50}) sur l'activité spécifique de l'AChE chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.	46
Tableau 27.	Effet de l'HE de <i>M. piperita</i> (CL_{50}) sur l'activité spécifique de l'AChE chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.	46
Tableau 28.	Effet de l'HE de l' <i>O. basilicum</i> (CL_{50}) sur l'activité spécifique de l'AChE chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.	47
Tableau 29.	Classement par ordre décroissant du taux de la GSH, chez <i>C. longiareolata</i> après traitement aux HEs (CL_{50}) : test HSD de Tukey....	48
Tableau 30.	Classement par ordre décroissant du taux de la GSH, chez <i>C. pipiens</i> après traitement aux HEs (CL_{50}) : test HSD de Tukey.	49
Tableau 31.	Effet de l'HE de <i>L. dentata</i> (CL_{50}) sur le taux de la GSH chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.	49
Tableau 32.	Effet de l'HE (CL_{50}) de <i>M. piperita</i> sur le taux de la GSH chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.	50

<u>Tableau 33.</u>	Effet de l'HE (CL ₅₀) de l' <i>O. basilicum</i> sur le taux de la GSH chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> et <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	50
<u>Tableau 34.</u>	Classement par ordre croissant de l'activité spécifique des GSTs, chez <i>C. longiareolata</i> après traitement à différentes HEs (CL ₅₀) : test HSD de Tukey.....	52
<u>Tableau 35.</u>	Classement par ordre croissant de l'activité spécifique des GSTs, chez <i>C. pipiens</i> après traitement à différentes HEs (CL ₅₀) : test HSD de Tukey.	53
<u>Tableau 36.</u>	Effet de l'HE de <i>L. dentata</i> (CL ₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	53
<u>Tableau 37.</u>	Effet de l'HE de <i>M. piperita</i> (CL ₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	54
<u>Tableau 38.</u>	Effet de l'HE de l' <i>O. basilicum</i> (CL ₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	54
<u>Tableau 39.</u>	Classement par ordre croissant du taux de la MDA, chez <i>C. longiareolata</i> après traitement à différentes HEs (CL ₅₀): test HSD de Tukey.....	56
<u>Tableau 40.</u>	Classement par ordre croissant du taux de la MDA, chez <i>C. pipiens</i> après traitement à différentes HEs (CL ₅₀): test HSD de Tukey.....	57
<u>Tableau 41.</u>	Effet de l'HE de <i>L. dentata</i> (CL ₅₀) sur le taux de la MDA chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	57
<u>Tableau 42.</u>	Effet de l'HE de <i>M. piperita</i> (CL ₅₀) sur le taux de la MDA chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	58
<u>Tableau 43.</u>	Effet de l'HE de l' <i>O. basilicum</i> (CL ₅₀) sur le taux de la MDA chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	58
<u>Tableau 44.</u>	Classement par ordre croissant de l'activité spécifique de la catalase, chez <i>C. longiareolata</i> après traitement à différentes HEs (CL ₅₀): test HSD de Tukey.....	59
<u>Tableau 45.</u>	Classement par ordre croissant de l'activité spécifique de la catalase, chez <i>C. pipiens</i> après traitement à différentes HEs (CL ₅₀) : test HSD de Tukey.....	60
<u>Tableau 46.</u>	Effet de l'HE de <i>L. dentata</i> (CL ₅₀) sur l'activité spécifique de la catalase chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	61
<u>Tableau 47.</u>	Effet de l'HE de <i>M. piperita</i> (CL ₅₀) sur l'activité spécifique de la catalase chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	61
<u>Tableau 48.</u>	Effet de l'HE de l' <i>O. basilicum</i> (CL ₅₀) sur l'activité spécifique de la catalase chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	62
<u>Tableau 49.</u>	Classement par ordre décroissant du poids corporel des individus de différents stades chez <i>C. longiareolata</i> après traitement aux HEs (CL ₅₀) : test HSD de Tukey.	63
<u>Tableau 50.</u>	Classement par ordre décroissant du poids corporel des individus de différents stades chez <i>C. pipiens</i> après traitement aux HEs (CL ₅₀): test HSD de Tukey.....	64
<u>Tableau 51.</u>	Effet de <i>L. dentata</i> (CL ₅₀) sur le poids corporel des individus de différents stades de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de	

	Tukey.....	65
Tableau 52.	Effet de <i>M. piperita</i> (CL ₅₀) sur le poids corporel des individus de différents stades de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	65
Tableau 53.	Effet de l' <i>O. basilicum</i> (CL ₅₀) sur le poids corporel des individus de différents stades de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	66
Tableau 54.	Classement par ordre décroissant du volume corporel des individus de différents stades chez <i>C. longiareolata</i> après traitement aux HEs (CL ₅₀) : test HSD de Tukey.	67
Tableau 55.	Classement par ordre décroissant du volume corporel des individus de différents stades chez <i>C. pipiens</i> après traitement aux HEs (CL ₅₀): test HSD de Tukey.....	69
Tableau 56.	Effet de <i>L. dentata</i> (CL ₅₀) sur le volume corporel des individus de différents stades de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	69
Tableau 57.	Effet de <i>M. piperita</i> (CL ₅₀) sur le volume corporel des individus de différents stades de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	70
Tableau 58.	Effet de l' <i>O. basilicum</i> (CL ₅₀) sur le volume corporel des individus de différents stades de <i>C. longiareolata</i> et de <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	70
Tableau 59.	Classement par ordre décroissant du contenu en protéines, chez <i>C. longiareolata</i> après traitement aux HEs (CL ₅₀) : test HSD de Tukey....	72
Tableau 60.	Classement par ordre décroissant du contenu en protéines chez <i>C. pipiens</i> après traitement aux HEs (CL ₅₀) : test HSD de Tukey.....	73
Tableau 61.	Effet de l'HE de <i>L. dentata</i> (CL ₅₀) sur le contenu en protéines totales des individus de différents stades chez <i>C. longiareolata</i> et <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	73
Tableau 62.	Effet de l'HE de <i>M. piperita</i> (CL ₅₀) sur le contenu des protéines totales des individus de quelques stades chez <i>C. longiareolata</i> et <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	74
Tableau 63.	Effet de l'HE de l' <i>O. basilicum</i> (CL ₅₀) sur le contenu en protéines totales des individus de différents stades chez <i>C. longiareolata</i> et <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	74
Tableau 64.	Classement par ordre décroissant du contenu en glucides totaux, chez <i>C. longiareolata</i> après traitement aux HEs (CL ₅₀) : test HSD de Tukey.....	76
Tableau 65.	Classement par ordre décroissant du contenu en glucides totaux, chez <i>C. pipiens</i> après traitement aux HEs (CL ₅₀) : test HSD de Tukey.....	77
Tableau 66.	Effet de l'HE de <i>L. dentata</i> (CL ₅₀) sur le contenu en glucides totaux des individus de quelques stades chez <i>C. longiareolata</i> et <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	77
Tableau 67.	Effet de l'HE de <i>M. piperita</i> (CL ₅₀) sur le contenu en glucides totaux des individus de quelques stades chez <i>C. longiareolata</i> et <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	78
Tableau 68.	Effet de l'HE de l' <i>O. basilicum</i> (CL ₅₀) sur le contenu en glucides totaux des individus de quelques stades chez <i>C. longiareolata</i> et <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	78
Tableau 69.	Classement par ordre décroissant du contenu en lipides totaux, chez <i>C. longiareolata</i> après traitement aux HEs (CL ₅₀) : test HSD de Tukey....	80

<u>Tableau 70.</u>	Classement par ordre décroissant du contenu en lipides totaux, chez <i>C. pipiens</i> après traitement aux HEs (CL ₅₀) : test HSD de Tukey.....	81
<u>Tableau 71.</u>	Effet de l'HE de <i>L. dentata</i> (CL ₅₀) sur le contenu en lipides totaux chez les individus de quelques stades chez <i>C. longiareolata</i> et <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	82
<u>Tableau 72.</u>	Effet de l'HE de <i>M. piperita</i> (CL ₅₀) sur le contenu en lipides totaux des individus de quelques stades chez <i>C. longiareolata</i> et <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	82
<u>Tableau 73.</u>	Effet de l'HE de l' <i>O. basilicum</i> (CL ₅₀) sur le contenu en lipides totaux des individus de quelques stades chez <i>C. longiareolata</i> et <i>C. pipiens</i> : test HSD de Tukey.....	83
<u>Tableau 74.</u>	Constituants majoritaires des HEs de <i>L. dentata</i> collectée dans différentes régions.....	86
<u>Tableau 75.</u>	Constituants majoritaires des HEs de <i>M. piperita</i> collectée dans différentes régions.....	86
<u>Tableau 76.</u>	Constituants majoritaires des HEs d' <i>O. basilicum</i> collecté dans différents pays.....	87

LISTE DES FIGURES

Figures	Titres	P
Figure 1.	Cycle de développement des moustiques	6
Figure 2.	Dents du peigne siphonal de <i>Culiseta longiareolata</i> (Gr : x 40).....	7
Figure 3.	Taches d'écaillés sombres sur l'aile de <i>Culiseta longiareolata</i> (Gr : X 40).....	7
Figure 4.	Trois Bandes blanches longitudinales de <i>Culiseta longiareolata</i> (Gr : X 40).....	7
Figure 5.	Lobe basal du gonocoxite de <i>Culiseta longiareolata</i> (Gr : X 150)....	7
Figure 6.	Tergites abdominaux de <i>C. pipiens</i> (Gr : X 15).....	8
Figure 7	Mentum de <i>C. pipiens</i> (Gr : X 300).....	8
Figure 8.	Ecaillés du 8 ^{ème} segment abdominal de <i>C. pipiens</i> (Gr : X 200).....	8
Figure 9.	Dent distale du peigne siphonal de <i>C. pipiens</i> (Gr : X100).....	8
Figure 10.	Sites de prélèvement des moustiques.....	9
Figure 11.	<i>Lavandula dentata</i> (Photo personnelle).....	11
Figure 12.	<i>Mentha piperita</i> (Photo personnelle).....	13
Figure 13.	<i>Ocimum basilicum</i> (Photo personnelle).....	14
Figure 14.	Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger.....	17
Figure 15.	Extraction des glucides, protéines et lipides totaux	26
Figure 16.	Chromatogramme CPG-SM d'HE de <i>L. dentata</i> (Abondance en fonction du temps en min).....	27
Figure 17.	Répartition (%) des familles de molécules présentes dans la plante <i>L. dentata</i>	28
Figure 18.	Structures chimiques de quelques composés majoritaires de l'HE de <i>L. dentata</i>	28
Figure 19.	Chromatogramme CPG-SM d'HE de <i>M. piperita</i> (Abondance en fonction du temps en min).....	30
Figure 20.	Répartition (%) des familles de molécules présentes dans la plante <i>M. piperita</i>	31
Figure 21.	Structures chimiques de quelques composés majoritaires de l'HE de <i>M. piperita</i>	31
Figure 22.	Chromatogramme CPG-SM d'HE d' <i>O. basilicum</i> (Abondance en fonction du temps en min).....	33
Figure 23.	Répartition (%) des familles de molécules présentes dans la plante <i>O. basilicum</i>	33
Figure 24.	Structures chimiques de quelques composés majoritaires de l'HE d' <i>O. basilicum</i>	34
Figure 25.	Toxicité de l'HE de <i>L. dentata</i> (ppm), appliquée sur des larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> (A) et <i>C. pipiens</i> (B) : 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.....	36
Figure 26.	Effets de l'HE de <i>L. dentata</i> , appliquée sur les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> (A) et <i>C. pipiens</i> (B) : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses. $R^2 = 98\%$	36

Figure 27.	Toxicité de l'HE de <i>M. piperita</i> (ppm), appliquée sur des larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> (A) et <i>C. pipiens</i> (B) : 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.....	38
Figure 28.	Effets de l'HE de <i>M. piperita</i> , appliquée sur les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> (A) et <i>C. pipiens</i> (B) : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses. $R^2 = 98\%$	39
Figure 29.	Toxicité de l'HE d' <i>O. basilicum</i> (ppm), appliquée sur des larves 4 nouvellement exuviées de <i>C. longiareolata</i> (A) et <i>C. pipiens</i> (B) : 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.	41
Figure 30.	Effets de l'HE de l' <i>O. basilicum</i> , appliquée sur les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> (A) et <i>C. pipiens</i> (B) : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses. $R^2 = 96\%$	41
Figure 31.	Effet des HEs (CL_{50}) sur l'activité spécifique de l'AChE ($\mu M/min/mg$ de protéines) chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm SD$, n=3). (ns Différence non significative ($p \geq 0,05$), * Différence significative ($p < 0,05$), ** Différence hautement significative ($p < 0,01$) entre les séries témoins et traitées).....	43
Figure 32.	Effet des HEs (CL_{50}) sur l'activité spécifique de l'AChE ($\mu M/min/mg$ de protéines) chez les larves 4 de <i>C. pipiens</i> ($m \pm SD$; n= 3). (* Différence significative ($p < 0,05$), ** Différence hautement significative ($p < 0,01$), *** Différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les séries témoins et traitées).....	45
Figure 33.	Effet des HEs (CL_{50}) sur le taux de la GSH ($\mu M/mg$ de protéines) chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm SD$; n= 3). (* Différence significative ($p < 0,05$), *** Différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les séries témoins et traitées).....	47
Figure 34.	Effet des HEs (CL_{50}) sur le taux de la GSH ($\mu M/mg$ de protéines) chez les larves 4 de <i>C. pipiens</i> ($m \pm SD$, n=3). (*** Différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les séries témoins et traitées).	48
Figure 35.	Effet des HEs (CL_{50}) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu M/min/mg$ de protéines) chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm SD$, n=3). (ns Différence non significative ($p \geq 0,05$), * Différence significative ($p < 0,05$), *** Différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les séries témoins et traitées).....	51
Figure 36.	Effet des HEs (CL_{50}) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu M/min/mg$ de protéines) chez les larves 4 de <i>C. pipiens</i> ($m \pm SD$, n=3). (** Différence hautement significative ($p < 0,01$), *** Différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les séries témoins et traitées).....	52
Figure 37.	Effet des HEs (CL_{50}) sur le taux de la MDA ($\mu M/mg$ de protéines) chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm SD$, n=3). (ns Différence non significative ($p \geq 0,05$), * Différence significative ($p < 0,05$), ** Différence hautement significative ($p < 0,01$) entre les séries témoins et traitées).....	55

Figure 38.	Effet des HEs (CL ₅₀) sur le taux de la MDA (µM/mg de protéines) chez les larves 4 de <i>C. pipiens</i> (m ± SD, n=3). (** Différence hautement significative (p<0,01), *** Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).....	56
Figure 39.	Effet des HEs (CL ₅₀) sur l'activité spécifique de la catalase (µM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> (m ± SD, n=3). (ns Différence non significative (p≥0,05), * Différence significative (p<0,05), ** Différence hautement significative (p<0,01), *** Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).....	59
Figure 40.	Effet des HEs (CL ₅₀) sur l'activité spécifique de la catalase (µM/min/mg de protéines) chez les larves du quatrième stade de <i>C. pipiens</i> (m ± SD, n=3). (ns Différence non significative (p≥0,05), * Différence significative (p<0,05) entre les séries témoins et traitées).....	60
Figure 41.	Effet des HEs (CL ₅₀) sur le poids corporel (mg) des individus de quelques stades chez <i>C. longiareolata</i> (m ± SD, n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus). (ns Différence non significative (p≥0,05), * Différence significative (p<0,05), ** Différence hautement significative (p<0,01) entre les séries témoins et traitées).....	62
Figure 42.	Effet des HEs (CL ₅₀) sur le poids corporel (mg) des individus de quelques stades chez <i>C. pipiens</i> (m ± SD, n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus). (ns Différence non significative (p≥0,05), * Différence significative (p<0,05), ** Différence hautement significative (p<0,01) entre les séries témoins et traitées).....	64
Figure 43.	Effet des HEs (CL ₅₀) sur le volume corporel (mm ³) des individus de quelques stades chez <i>C. longiareolata</i> (m ± SD, n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus). (ns Différence non significative (p≥0,05), * Différence significative (p<0,05), ** Différence hautement significative (p<0,01) entre les séries témoins et traitées).....	67
Figure 44.	Effet des HEs (CL ₅₀) sur le volume corporel (mm ³) des individus de quelques stades chez <i>C. pipiens</i> (m ± SD, n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus). (ns Différence non significative (p≥0,05), * Différence significative (p<0,05), ** Différence hautement significative (p<0,01) entre les séries témoins et traitées).....	68
Figure 45.	Effet des HEs de <i>L. dentata</i> , <i>M. piperita</i> et <i>O. basilicum</i> (CL ₅₀) sur le contenu en protéines totales (µg/individu) des individus de quelques stades chez <i>Culiseta longiareolata</i> (m ± SD, n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus).*: Différences significative (p<0,05) entre les séries témoins et traitées).....	71
Figure 46.	Effet des HEs (CL ₅₀) sur le contenu en protéines totales (µg/individu) des individus de quelques stades chez <i>C. pipiens</i> (m ± SD, n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus) (ns Différence non significative (p≥0,05), * Différence significative (p<0,05) entre les séries témoins et traitées).....	72
Figure 47.	Effet des HEs (CL ₅₀) sur le contenu en glucides totaux (µg/individu) des individus de quelques stades chez <i>C. longiareolata</i> (m ± SD, n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus). (ns Différence non significative ; * Différence significative (p<0,05) entre les séries témoins et traitées).....	75
Figure 48.	Effet des HEs (CL ₅₀) sur le contenu en glucides totaux (µg/individu) des individus de quelques stades chez <i>C. pipiens</i> (m ± SD, n = 3	

	répétitions comportant chacune 10 individus). (* Différence significative (p<0,05); ** Différence hautement significative (p<0,01) entre les témoins et traitées).....	76
<u>Figure 49.</u>	Effet des HEs (CL ₅₀) sur le contenu en lipides totaux (µg/individu) des individus de quelques stades chez <i>Culiseta longiareolata</i> (m ± SD, n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus). (ns Différence non significative; * Différence significative (p<0,05); ** Différence hautement significative (p<0,01); *** Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).....	79
<u>Figure 50.</u>	Effet des HEs (CL ₅₀) sur le contenu en lipides totaux (µg/individu) des individus de quelques stades chez <i>Culex pipiens</i> (m ± SD, n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus). (* Différence significative (p<0,05); ** Différence hautement significative (p<0,01); *** Différence hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).....	81
<u>Figure 51.</u>	Mécanisme d'action des huiles essentielles au niveau des synapses cholinergiques. ACh-acétylcholine, nAChr- récepteurs de l'acétylcholine nicotinique, OE-composants de l'HE.....	93

INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

Les Arthropodes sont l'un des embranchements les plus importants du règne animal, avec plus d'un million d'espèce connue, dont les trois quart sont des Insectes. Ces derniers constituent plus de 50% de la diversité de la planète et près de 60% de celle du règne animal (Wilson, 1988). Leur immense variété, leur extraordinaire prolificité, ainsi que leur taille réduite ont permis aux insectes de coloniser la plupart des milieux continentaux (Baudry, 1998). Parmi ces insectes on peut trouver les Culicidae. Ils occupent la première place par leur rôle de vecteur d'organismes pathogènes ou d'agent de nuisance.

Les moustiques du complexe *Culex pipiens* (Linné, 1758) attirent notre attention car ils sont distribués partout dans le monde et sont d'une grande importance médicale et vétérinaire (Gomes *et al.*, 2009). Ils sont vecteurs de nombreuses maladies telles que le paludisme, la filariose, la dengue, l'encéphalite japonaise, le chikungunya et l'infection par le virus du Nil occidental dans les pays tropicaux et subtropicaux (Anupam *et al.*, 2012). Environ 198 millions de cas de malaria et 0,58 million de décès sont survenus dans le monde en 2013 (OMS, 2014). Selon l'OMS (2009), plus de 1,3 milliard de personnes réparties dans 72 pays différents sont menacées par la filariose. La dengue, causée par une espèce de moustique, *Aedes aegypti* affecte des millions de personnes et des milliers de décès par an dans le monde entier (Nuttall, 1997 ; Govindarajan, 2010). Ces maladies en plus des cas de morbidité qu'elles causent dans le monde, elles représentent un fardeau socioéconomique élevé des pays touchés (Ramaiah *et al.*, 2000, Intirach *et al.*, 2012). Un contrôle efficace de ces maladies nécessiterait une stratégie à deux volets: (i) un traitement rapide avec des médicaments efficaces et (ii) des stratégies de prévention basées sur le contrôle des vecteurs.

Pour lutter activement contre les moustiques, plusieurs méthodes ont été entreprises dans le monde, comprenant la lutte chimique et la lutte biologique (Berliner, 1915). Les insecticides chimiques sont la principale stratégie du contrôle. Cependant, leur utilisation massive et continue a provoqué divers inconvénients, tels que la contamination et l'accumulation des résidus dans le sol et dans l'eau et le développement de résistances chez les espèces cibles (Mittal *et al.*, 2004 ; OMS, 2006 ; Carlos, 2010). De plus, ils causent la pollution de l'air et nuisent aux organismes non-ciblés bénéfiques (Dharmagadda *et al.*, 2005). Pour assurer une meilleure intervention, tout en préservant au maximum le milieu naturel, de nouvelles méthodes préventives ainsi que de nouveaux produits sont constamment recherchés (Crosby *et al.*, 1966). Cette recherche s'est orientée vers une lutte biologique, moins nocive et plus

raisonnée, par l'utilisation de substances naturelles actives et non polluantes telles que les métabolites secondaires des plantes (les huiles essentielles, les flavonoïdes, les tanins...).

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* (André's *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. Elles contiennent une large gamme de composés bioactifs tels que les monoterpènes, dont beaucoup sont sélectifs et ont peu ou pas d'effets nocifs sur les organismes non ciblés et sur l'environnement (Rutledge *et al.*, 2003, Dharmagadda *et al.*, 2005, Govindrajan, 2010). Les huiles de la famille des Lamiaceae ont attirés beaucoup d'attention dans le cadre de la recherche des produits naturels pour lutter contre les insectes (Benayad, 2008). Une recherche bibliographique ainsi que l'étude des disponibilités locales, nous a permis de choisir les plantes suivantes : *Lavandula dentata*, *Mentha piperita* et *Ocimum basilicum* (Linnée, 1753). Les activités des huiles essentielles décrites sur les moustiques sont variées : larvicides (Ansari *et al.*, 1999 ; Amer & Mehlhorn, 2006 ; Kuppusamy & Murugan, 2008 ; Okigbo *et al.*, 2010 ; Vignesh *et al.*, 2016), répulsives (Mihajilov-Krstev *et al.*, 2014 ; Pavela & Benelli, 2016 ; Tisgratog *et al.*, 2016), ovicides (Elumalai *et al.*, 2010 ; Ramar *et al.*, 2014 ; Foko *et al.*, 2016), pupicides (Nasir *et al.*, 2015 ; Foko *et al.*, 2016) et inhibiteurs de croissance (Sukumar *et al.*, 1991; Carvalho *et al.*, 2003; Cavalcanti *et al.*, 2004 ; Ansari *et al.*, 2005). La plupart de ces huiles agissent en perturbant la structure de la membrane cellulaire mais, pour certaines, des effets neurotoxiques ont pu être mis en évidence, dus à des interactions avec des neurotransmetteurs tels que le GABA (acide gamma-aminobutyrique) (Höld *et al.*, 2000 ; Watt *et al.*, 2008) et l'octopamine (Enan, 2001 ; Kostyukovsky *et al.*, 2002 ; Enan, 2005 ; Pan, 2005), ou par inhibition de l'acétylcholinestérase (Orhan *et al.*, 2009 ; Seo *et al.*, 2014 ; Yeom *et al.*, 2015 ; Reegan *et al.*, 2016).

En Algérie, la faune Culicidienne a fait l'objet d'un grand nombre de travaux qui s'intéressent plus particulièrement à la systématique, la biochimie, la reproduction, la lutte chimique et la lutte biologique (Bendali, 1989 ; Laouabdia-Sellami, 1992 ; Rehim, 1993 ; Tine-Djebbar, 2000 ; 2009 ; Bendali *et al.*, 2001 ; Bendali, 2006 ; Boudjellida *et al.*, 2005 ;

Alouani *et al.*, 2009 ; Rehimy *et al.*, 2011 ; Alouani *et al.*, 2013 ; Bouabida *et al.*, 2012 ; 2017a, b; Dahchar *et al.*, 2016 ; Hamaidia *et al.*, 2016 ; Bouguerra *et al.*, 2017).

Dans ce contexte, notre étude a été consacrée dans un premier chapitre à l'extraction des huiles essentielles de *L. dentata*, *M. piperita* et *O. basilicum* ainsi qu'à la détermination de leur composition chimique par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM).

Le deuxième chapitre est consacré à l'étude de l'effet larvicide de ces huiles sur deux espèces de moustiques, *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*, les plus abondantes dans la région de Tébessa (Tine-Djebbar *et al.*, 2016). Les paramètres de létalité (CL₅₀ et CL₉₀) et les activités de divers biomarqueurs, de neurotoxicité (acétylcholinestérase), de détoxication (glutathion S-transférases et son cofacteur, le glutathion), de la peroxydation lipidique (malondialdéhyde) et de la catalase ont été déterminés

Le troisième chapitre traite de l'impact de ces HEs sur les paramètres morphométriques (poids et volume corporels) et biochimiques (glucides, lipides et protéines) des individus de différents stades (larves 4, pupes et adultes mâles et femelles).

**MATERIEL ET
METHODES**

II. MATERIEL ET METHODES

2.1. Présentation des Culicidae

Les moustiques sont des Arthropodes appartenant à la classe des Insectes, à l'ordre des Diptères et à la Famille des Culicidae. Ils sont caractérisés par des antennes longues et fines à multiples articles, des ailes pourvues d'écaillés, et des femelles possédant de longues pièces buccales en forme de trompe rigide de type piqueur-suceur (OMS, 1999). Ils constituent le plus important groupe de vecteurs d'agents pathogènes à l'Homme et aux animaux. Ce groupe d'insectes hématophages a bénéficié du plus grand nombre d'études en Algérie et plus particulièrement au niveau de notre laboratoire de recherche (Bendali, 1989; Laouabdia-Sellami, 1992 ; Rehim, 1993 ; Djebbar, 2000 ; Bendali *et al.*, 2001 ; Bendali, 2006 ; Boudjelida *et al.*, 2005 ; Boudjelida *et al.*, 2008 ; Alouani *et al.*, 2009 ; Boudjelida & Soltani 2010 ; Boudjelida & Soltani 2011 ; Bouaziz *et al.*, 2011 ; Rehim *et al.*, 2011 ; Alouani *et al.*, 2013 ; Djeghader *et al.*, 2013 ; Mansouri *et al.*, 2013 ; Dahchar *et al.*, 2016 ; Hamaidia & Soltani, 2016 ; Tine-Djebbar *et al.*, 2016 ; Bouabida *et al.*, 2017a,b ; Bouguerra *et al.*, 2017 ; Guenez *et al.*, 2018).

2.2. Cycle de vie des Moustiques

Les moustiques sont des insectes holométaboles, leur cycle biologique comprend une phase aquatique et une phase aérienne. 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-Saoudi, 2006).

- **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). Les œufs, sous forme cylindrique et de couleur blanchâtre au moment de la ponte, deviennent grisâtre ou noirâtre après quelque heures. Cette coloration est due à l'oxydation de certains composants chimiques de la thèque au contact de l'eau ou l'air. L'œuf est pourvu d'un opercule qui s'ouvre vers le bas au moment de l'éclosion et la larve se dégage de ce dernier grâce à une épine chitineuse qui se situe au niveau de la tête (Rhodain & Perez, 1985).

- **Larve** : La larve passe par 4 stades de développement : L1, L2, L3 et L4, séparés par une mue, lui permettant de passer d'environ 2 à 12 mm. Les larves sont mobiles et respirent à la surface de l'eau par l'intermédiaire d'un siphon respiratoire situé à l'extrémité de l'abdomen. Elles se déplacent par saccades et se nourrissent de divers micro-organismes (particules

végétales, bactéries et levures) (Urquhart *et al.*, 1996 ; Andreo, 2003). Les larves sont apodes, se déplacent rapidement et leur pièces buccales sont de type broyeur. Le corps de la larve est constitué de 3 parties : la tête incluse dans une capsule sclérotinisée, le thorax comprenant 3 segments fusionnés et l'abdomen pourvu de 9 segments : le dernier segment abdominal est courbé ventralement à son extrémité postérieure où se situe l'anus. Après chaque mue, la larve se fixe à proximité de l'exuvie abandonnée et au terme de cette période se métamorphose en nymphe (Rhodain & Perez, 1985).

- **Nymphe** : La nymphe ou pupa également aquatique, a une forme de virgule et 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 situées sur le céphalothorax. Son corps est constitué de 2 parties : un large céphalothorax (antennes, trompe, pattes et ailes) et un abdomen sous forme d'une queue permet de distinguer les sexes. Chez les femelles, la queue est plus courte (Guitsevitch *et al.*, 1974 ; Rhodain & Perez, 1985). 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 (Alayat, 2012). A la fin de ce stade, le tégument se dessèche alors au contact de l'air et il se forme une déchirure en T sur sa face dorsale sous l'effet de l'augmentation de la pression interne (Kettle, 1995). Par cette ouverture, le moustique adulte dégagera successivement son thorax, sa tête, ses pattes, son abdomen, abandonnant dans l'eau l'exuvie nymphal. Ce phénomène de l'émergence dure environ 15 minutes durant lequel l'insecte se trouve exposé sans défenses à de nombreux prédateurs de surface (Vinogradova, 2003).

- **Adulte** : Les adultes comme tous les diptères, possèdent une seule paire d'ailes membraneuses longues et étroites pourvues d'écaillés le long de ses nervures, repliées horizontalement au repos. La deuxième paire est réduite à une paire de balanciers. Ils possèdent un corps mince qui se divise en trois parties : la tête, le thorax, et l'abdomen. Au niveau de la tête, l'imago se différencie des autres familles de diptères par des antennes longues, fines et articulées. Les femelles se distinguent facilement des mâles par la présence des antennes plumeuses. Elles possèdent de longues pièces buccales de type piqueur-suceur (Wolfgang & Werner, 1988).

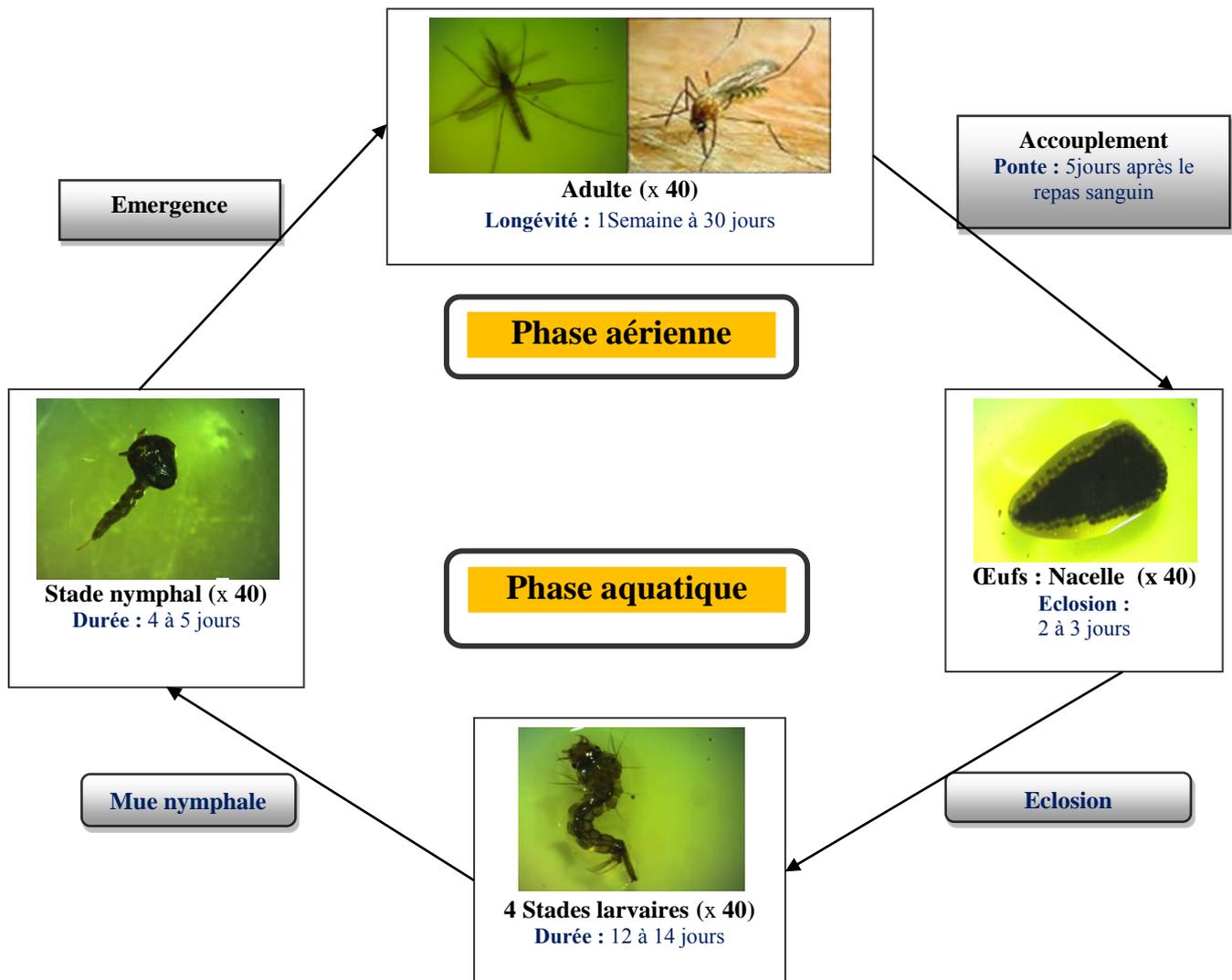


Figure 1. Cycle de développement des moustiques (Dris, 2018).

2.3. Présentation de *Culiseta longiareolata* (Aitken, 1954)

Culiseta longiareolata a une taille qui varie de 3 à 5 mm. C'est une espèce multivoltine et rurale, 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 de cette espèce se caractérise par un siphon court et conique avec des dents du peigne siphonal implantées irrégulièrement (Fig. 2). Chez l'adulte, on remarque la présence au moins d'une tache d'écaille sombre sur l'aile (Fig. 3), le thorax avec trois bandes blanches longitudinales (Fig. 4) et l'absence des soies longues et fortes au niveau du lobe basal du gonocoxite (Fig. 5). Cette espèce peut présenter une diapause hivernale chez les imagos femelles (régions froides) et chez les larves (régions tempérées). Les adultes sont présents toute l'année avec un maximum de densité au printemps et un autre en automne (Bruhnes *et al.*, 1999). *C. longiareolata* est une espèce à large

répartition, elle est très commune dans toute l'Afrique méditerranéenne (Abdel-Malek, 1960) et l'espèce la plus abondante dans la région de Tébessa (Tine-Djebbar *et al.*, 2016).

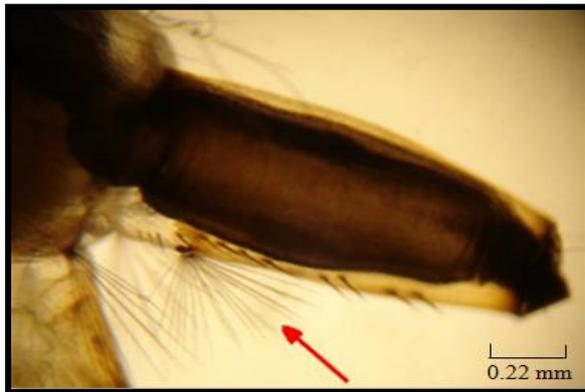


Figure 2. Dents du peigne siphonal (flèche) de *Culiseta longiareolata* (Gr : X40) (Bouabida, 2014).

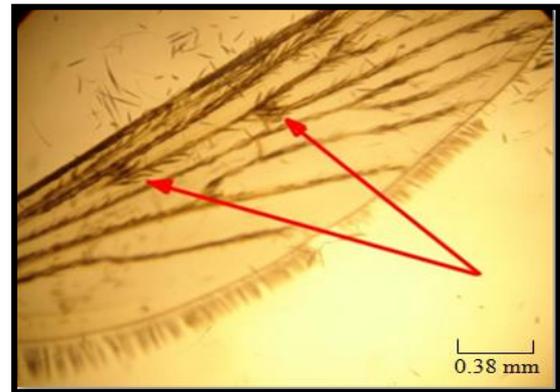


Figure 3. Taches d'écaillés sombres sur l'aile (flèche) de *Culiseta longiareolata* (Gr : X40) (Bouabida, 2014).

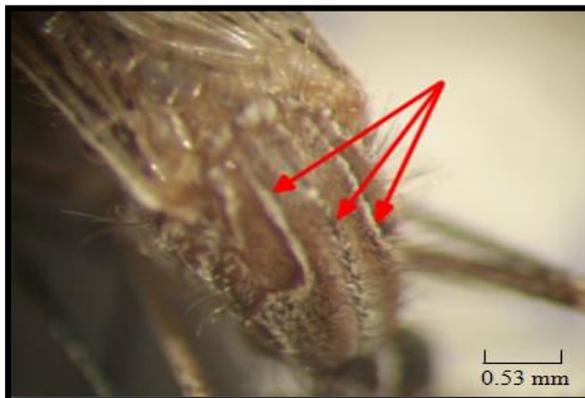


Figure 4. Trois Bandes blanches longitudinales (flèche) de *Culiseta longiareolata* (Bouabida, 2014).

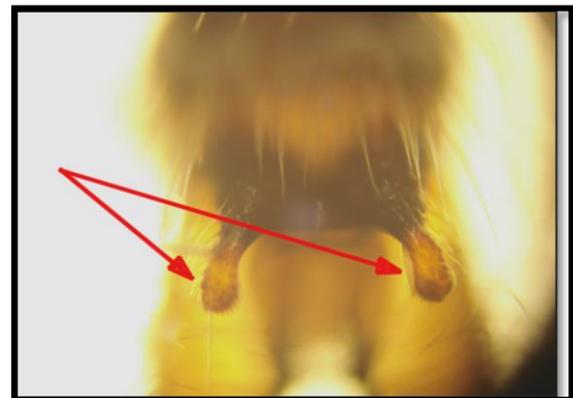


Figure 5. Lobe basal du gonocoxite (flèche) de *Culiseta longiareolata* (Gr : X150) (Tine-Djebbar, 2009).

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

Règne	Animalia
Sous-règne	Metazoa
Embranchement	Arthropoda
Sous-embranchement	Hexapoda
Super-classe	Protostomia
Classe	Insecta
Sous-classe	Pterygota
Infra-classe	Neoptera
Super-ordre	Endopterygota
Ordre	Diptera
Sous-ordre	Nematocera
Infra-ordre	Culicomorpha
Famille	Culicidae
Sous-famille	Culicinae
Genre	<i>Culiseta</i>
Espèce	<i>Culiseta longiareolata</i> (Aitken, 1954).

2.4. Présentation de *Culex pipiens* (Linné, 1758)

Culex pipiens est le moustique le plus fréquent dans le monde (Faraj *et al.*, 2006). Il est capable de se développer dans toutes les régions du globe (Resseguier, 2011). Cette espèce rurale à activité nocturne et domestique est active pendant toute l'année et atteint son maximum de développement pendant les saisons chaudes (Faraj *et al.*, 2006). *C. pipiens* existe sous deux formes : la forme *molestus*, anthropophiles, autogène, sténogame (peut s'accoupler dans des espaces confinés), urbaine et reste en activité durant la période hivernale (homodynamique). La forme *pipiens*, ornithophile, anautogène, eurygame (s'accouple en plein air) et entre en diapause pendant l'hiver (hétérodynamique) (Schaffner *et al.*, 2001).

L'adulte de *C. pipiens* se caractérise par le tergite III avec une bande antérieure claire (Fig. 6). Chez la larve, le mentum contient 8 dents ou plus de part et d'autre de la dent médiane (Fig. 7); les écailles du 8^{ème} segment sont toutes sans épine médiane (Fig. 8) et la dent distale du peigne siphonal est formée de 3 à 5 denticules basaux (Fig. 9).



Figure 6. Tergites abdominaux de *C. pipiens* (Gr : X150) (Tine-Djebbar, 2009).

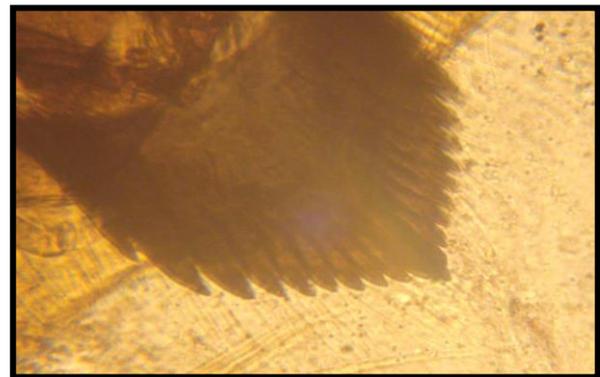


Figure 7. Mentum de *C. pipiens* (Gr : X300) (Tine-Djebbar, 2009).

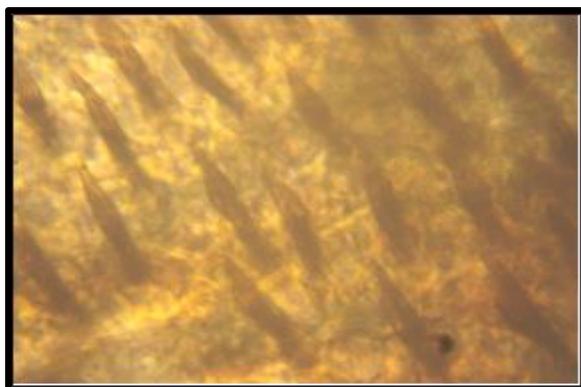


Figure 8. Ecailles du 8^{ème} segment abdominal de *C. pipiens* (Gr : X200) (Tine-Djebbar, 2009).

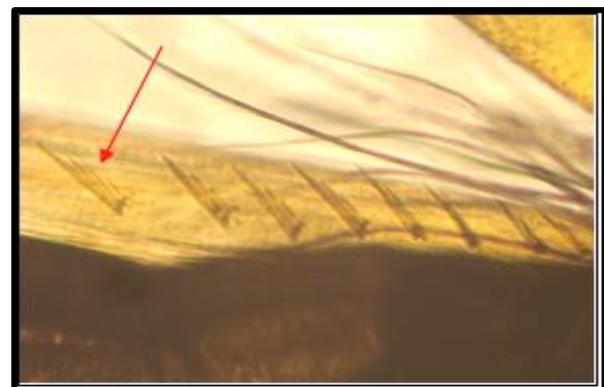


Figure 9. Dent distale du peigne siphonal de *C. pipiens* (Gr : X100) (Tine-Djebbar, 2009).

La position systématique de *C. pipiens* Linné, 1758 est la suivante :

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

2.5. Elevage au laboratoire

Les œufs et les larves de moustiques sont récoltés dans des sites situés au niveau de différentes régions de la ville de Tébessa (Fig. 10). Les larves sont élevées dans des récipients contenant 150 ml d'eau déchlorurée et nourries avec 0,04 g du mélange biscuit 75% - levure 25% (Rehimi & Soltani, 1999). L'eau est renouvelée chaque deux jour. Le régime alimentaire joue un grand rôle dans la fécondité car les protéines permettent à la femelle de pondre plus d'œufs par rapport aux femelles nourries de sucre seulement (Wigglesworth, 1972). Lorsque les larves atteignent le stade nymphal, elles sont placées dans des récipients et déposées dans des cages où elles se transformeront en adultes. Ces derniers sont nourris de raisin sec et de datte.



Figure 10. Sites de prélèvement des moustiques (Dris, 2014).

2.6. Description botanique des espèces étudiées

2.6.1. Lavande : *Lavandula dentata* (Linné, 1753)

Le nom *Lavandula* a été attribué à la plante par le naturaliste suédois Karl Von Linné, qui s'est inspiré du latin lavare, qui signifie laver, allusion à l'utilisation très ancienne de cette plante dans les sels de bains, les onguents et les parfums (Fallah, 2010). La lavande est une plante aromatique vivace, ligneuse et très ornementale, formant des touffes denses, et atteignant environ 60 cm de haut. Tiges quadrangulaires, feuillées dans leur partie inférieure, longuement nues au-dessus. Inflorescence en épi terminal dense, surmonté de bractées violacées. Feuilles étroites, dentées-crênelées, à bords enroulés, à dessous grisâtre (Fig. 11). Petites fleurs bleuâtres à bractées de semblable couleur. Calice courtement denté et corolle tubuleuse bilabée, à lèvre supérieure bilobée, et l'inférieure trilobée (Beniston, 1984).

Généralement, les lavandes sont des herbes annuelles ou le plus souvent des arbustes ligneux, touffus et vivaces hauts de 40 à 80 cm à feuilles persistantes opposées qui peuvent être entières ou dentées (Baillere, 1984). La morphologie des feuilles dans le genre *Lavandula* est très variable (Guitton, 2010). La structure de l'inflorescence est un caractère commun à l'ensemble des lavandes. Les fleurs de lavande sont organisées en une inflorescence mixte ressemblant à un épi de cymes appelé encore thyrses spiciformes. L'inflorescence principale ressemble donc à un épi plus ou moins lâche. L'inflorescence secondaire est une cyme (Guitton, 2010).

La lavande est une chamaephyte se présentant sous forme de touffes denses. Les bractées sont situées à la base de chaque cyme. Le fruit est tétractène. Une abondante floraison bleu violet clair est observée en saison printanière. La corolle monopétale est renversée, à tube plus long que calice et à limbe partagé en cinq lobes inégaux, arrondis, imparfaitement divisés en deux lèvres.

La lavande est employée en herboristerie, en aromathérapie. Elle est considérée comme une plante médicinale pour l'action de son huile. La production d'essences aromatiques par cette plante a un grand intérêt économique (Guitton, 2010), plus particulièrement, dans l'industrie de la lessive et de la savonnerie ainsi qu'en parfumerie. Cette lavande est utilisée pour soigner des plaies et des brûlures superficielles et présente des effets sédatifs, antibactériens, antifongiques, antidépresseurs (Cavanagh *et al.*, 2002) et anti-inflammatoires (Sosa & Altinier, 2005).

Lavandula dentata est une lavande qui se développe de 0,60 à 1m en tous sens. Elle se présente sous forme d'un buisson bas lignifié et très ramifié. Les feuilles sont allongées de 2 à 4cm, opposées et de couleur vert argenté. Elles sont caractérisées par de petits lobes arrondis

sur leur marge, ce qui la rend très facile à différencier des autres espèces de lavande. Le feuillage dégage une odeur très délicate, intermédiaire entre la lavande ordinaire et le romarin. Les fleurs apparaissent à partir du milieu de l'été, la floraison pouvant se poursuivre pendant l'hiver dans les régions les plus douces. Les fleurs violettes, sont très petites, regroupées en épis dense portés par long pédoncule. Les épis sont couronnés de quelques bractées pétaloïdes plus développées. Chaque fleur peut produire deux petites graines noires. Elles se détachent de l'épi à partir du mois d'août. *Lavandula dentata* est une plante mellifère qui attire et nourrit de nombreux insectes. Elle contient de l'huile essentielle.

La lavande dentée habite les garrigues, les lieux secs et les sols siliceux (silicicole, calcifuge) contrairement à la lavande vraie qui ne pousse qu'en terrain calcaire (Mourre, 1923). A l'état sauvage, cette labiée borde la Méditerranée à climat tempéré et doux, dont le sol est pauvre et rocheux (Ait Fella, 2010).

La position systématique de *Lavandula dentata* Linné, 1753 est la suivante :

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Lavandula dentata</i> (Linné, 1753).



Figure 11. *Lavandula dentata* (Photo personnelle).

2.6.2. Menthe poivrée : *Mentha piperita* (Linné, 1753)

Les Menthes, du nom latin *Mentha*, sont des plantes vivaces, herbacées indigènes et très odorantes appartenant à la famille des Lamiaceae (Jahandiez & Maire, 1932). Les Menthes conservent depuis l'antiquité une infinie diversité d'emplois et occupent une large place dans

la thérapeutique. Stimulant diffusible et aussi un sédatif diffusible, la Menthe rend d'éminents services contre la nervosité et les différentes manifestations nerveuses. Sur le plan des principes chimiques, la plupart des espèces de Menthe doivent leur odeur et activité à leurs huiles essentielles ou Essences de Menthe (II Idrissi, 1982). Ces essences très odoriférantes ont un intérêt industriel important. Elles sont souvent extraites des plantes de la race cultivée avec de bons rendements. Ce sont toutes des plantes vivaces herbacées de la famille des Labiées. Elles sont en général des plantes alimentaires, aromatiques et médicinales: rafraîchissantes, toniques, anesthésiques, anti-septiques, anti-spasmodiques, antalgiques, fébrifuges, bactéricides, etc... De même, elles éloignent les pucerons, et sont donc utiles pour protéger les cultures. Les menthes englobent environ 25 espèces, mais qui ont une grande capacité à s'hybrider ce qui rend difficile leur détermination précise. La principale espèce utilisée en pharmacie est la menthe poivrée, *Mentha× piperita* qui est un hybride stérile apparu en 1996 à Mitcham (près de Londres) entre *Mentha aquatica* et *Mentha spicata* (Botineau, 2010). La menthe poivrée est une plante vivace par son rhizome qui s'accroche dans la terre, elle se propage par stolons. Ses feuilles mesurent de 4 à 10 cm de long, elles sont ovales, vert foncé et se teignent de nuances rougeâtres au soleil et de rouge cuivré à l'ombre. Elles sont recouvertes de gros poils sécréteurs arrondis dans lesquels s'accumulent les substances volatiles odorantes. Ses tiges sont violacées de section carrée (Bruneton, 2009).

La position systématique de *Mentha piperita* Linné, 1753 est la suivante :

Règne	Plantae
Division	Angiosperme
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>Mentha piperita</i> (Linné, 1753).



Figure 12. *Mentha piperita* (Photo personnelle).

2.6.3. Basilic : *Ocimum basilicum* (Linné, 1753)

Le basilic est une espèce herbacée de la famille des Lamiaceae. Elle est originaire des régions chaudes de l'Asie, d'Afrique et d'Iran. Cette espèce est cultivée commercialement pour l'extraction d'huile essentielle dans le sud de la France, l'Italie, l'Espagne, l'Allemagne, l'Amérique du Nord, la Bulgarie, l'Égypte, la Sicile, Haïti, le Madagascar et les Seychelles. Elle est également cultivée en Inde. C'est une plante herbacée annuelle de 20 à 60 cm d'hauteur. Ses tiges anguleuses et ramifiées portent des feuilles opposées de forme ovale et de couleur généralement verte à l'aspect brillant, parfois pourpre violet chez certaines variétés (Klimankova *et al.*, 2008). Les fleurs blanches ou rosées, formant des épis lâches au sommet de la tige. Les racines sont pivotantes. Les graines de basilic ont une couleur noire et une forme ovale avec des dimensions moyennes de $3,11 \pm 0,29$ mm (longueur), $1,82 \pm 0,26$ mm (largeur) et $1,34 \pm 0,19$ mm (hauteur) (Hosseini *et al.*, 2010).

Le basilic est largement utilisé en parfumerie et dans l'industrie des cosmétiques pour la teneur élevée de leurs huiles en composés oxygénés. C'est l'une des plantes aromatiques utilisées en médecine populaire comme agent antimicrobien et antifongique (Phuong *et al.*, 2010). De nombreuses études ont montré que le basilic contient des concentrations élevées de composés phénoliques (notamment l'acide rosmarinique et l'acide caféique) qui caractérisent sa capacité antioxydante (Angel *et al.*, 2012 ; Bravo *et al.*, 2008). Aussi, il peut être utilisé pour le traitement de certaines maladies : toux, fièvres, maux de tête, diarrhée, anxiété, diabète, maladies cardiovasculaires et les dysfonctionnements rénaux. Le basilic est utilisé comme un insecticide pour se protéger des piqûres de moustique et efficace contre les ravageurs (Dossoukpevi *et al.*, 2011). L'activité insecticide (Martinez-Velazquez *et al.*, 2011;

Warikoo *et al.*, 2011; El-Seedi *et al.*, 2012; Siriporn et Mayura, 2012), larvicide (Govindarajan *et al.*, 2013), antioxydante (Trevisan *et al.*, 2006) et antifongique (Edris & Farrag, 2003) de cette huile essentielle a été prouvée. Prajapati *et al.* (2005) ont étudié l'effet insecticide, répulsif, larvicide et ovicide de l'huile essentielle de l'*Ocimum basilicum*.

La position systématique de l'*O. basilicum* (Linné, 1753) est la suivante :

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous Embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédones
Ordre	lamiales /labiales
Famille	Lamiaceae/ labiaceae
Genre	<i>Ocimum</i>
Espèce	<i>Ocimum basilicum</i> (Linné, 1753).



Figure 13. *Ocimum basilicum* (Photo personnelle).

2.7. Présentation des huiles essentielles

Le terme « Huiles essentielles » est un terme générique qui désigne les composants liquides et hautement volatiles des plantes, marqués par une forte et caractéristique odeur. Les terpènes (principalement les monoterpènes) représentent la majeure partie (environ 90%) de ces composants. Les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes (monoterpènes, sesquiterpènes,...). Il est admis que l'effet de ces composés purs

peut être différent de celui obtenu par des extraits de plantes. Les huiles essentielles contiennent un nombre considérable de familles biochimiques (chémotypes) incluant les alcools, les phénols, les esters, les oxydes, les coumarines, les sesquiterpènes, les terpénols, les cétones, les aldéhydes, etc.

Les propriétés insecticides sont essentiellement dues à la fraction d'huiles essentielles contenues dans la plante. Les huiles essentielles sont des substances odorantes obtenues à partir de plantes, par entraînement à la vapeur d'eau, par hydrodistillation ou par expression (De Billerbeck *et al.*, 2002). Les HEs représentent une piste d'avenir et les recherches sur les extraits d'huiles sont nombreuses. Toutefois, la grande majorité de ces études portaient sur les moustiques, que ce soit sur l'effet répulsif de ces huiles ou sur leur effet larvicide (Ntonifor *et al.*, 2006).

Les plantes aromatiques sont parmi les insecticides les plus efficaces et les huiles essentielles constituent souvent la fraction bioactive des extraits de plantes (Shaaya *et al.*, 1997). On peut considérer les huiles essentielles comme des bioinsecticides, agissant soit :

- ✓ Sur le système nerveux, ce qui provoque notamment la paralysie.
- ✓ Sur la respiration cellulaire : la cellule devient alors incapable d'absorber l'oxygène que lui fournit le système respiratoire.
- ✓ Sur le développement de l'insecte en bloquant sa mue, qui est une étape indispensable à sa croissance.
- ✓ Sur la formation de sa peau protectrice, la cuticule, ce qui le rend sensible aux diverses agressions du milieu.

2.8. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique de nombreuses huiles essentielles ont été décrites. Elles varient en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte (Delaquis *et al.*, 2002 ; Gonny *et al.*, 2004 ; Burt, 2004 ; Boti *et al.*, 2006, Oussou *et al.*, 2008). L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (Salzer, 1977). Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (El Haib, 2011).

2.8.1. Monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%). Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales (El Haib, 2011).

2.8.2. Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurelles, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (El Haib, 2011).

2.8.3. Composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrée est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic, de l'estragon, etc (Bruneton, 1993).

2.9. Extraction et rendement des HEs par hydrodistillation

L'hydrodistillation reste la technique d'extraction la plus utilisée et la plus rapide pour l'obtention des meilleurs rendements, sans altération des huiles essentielles fragiles. Son principe correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux lois physiques (loi de Dalton et loi de Raoult) (El haib, 2011 ; El kalamouni, 2010). L'extraction a été faite au niveau du laboratoire de Biologie Animale à l'université de Tébessa par un hydrodistillateur de type cleverger.

La collecte des plantes a été faite au mois de Février des années : 2013, 2014 et 2015 dans la région de Tébessa. Après séchage du matériel végétal à l'air libre et à l'ombre, 50g de la matière sèche de la partie aérienne des plantes avec 500 ml d'eau distillée sont introduit dans un ballon d'une capacité d'un litre, à fond rond et à 3 cols ou fioles, surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur. Le tout sera mis sur une chauffe ballon à une température voisine de $100^{\circ}C$ et raccordé avec le reste de l'appareil d'extraction (Fig. 14). Le mélange est porté à ébullition pendant 3 heures, pendant ce temps, la vapeur se dirige vers le col du cygne puis dans le réfrigèreant où elle se condense rapidement et tombe, dans l'ampoule de décantation,

sous forme d'huile. Les huiles essentielles recueillies ont été filtrées en présence de sulfate de sodium (Na_2SO_4) pour éliminer les traces d'eau résiduelle. Elles sont ensuite récupérées et stockées à 4°C et à l'obscurité dans un flacon en verre, hermétiquement fermé et couvert du papier aluminium pour les préserver de l'air et de la lumière. La quantité d'huile obtenue est pesée pour le calcul du rendement (Mawussi, 2008 ; Tchoumboungang *et al.*, 2009).

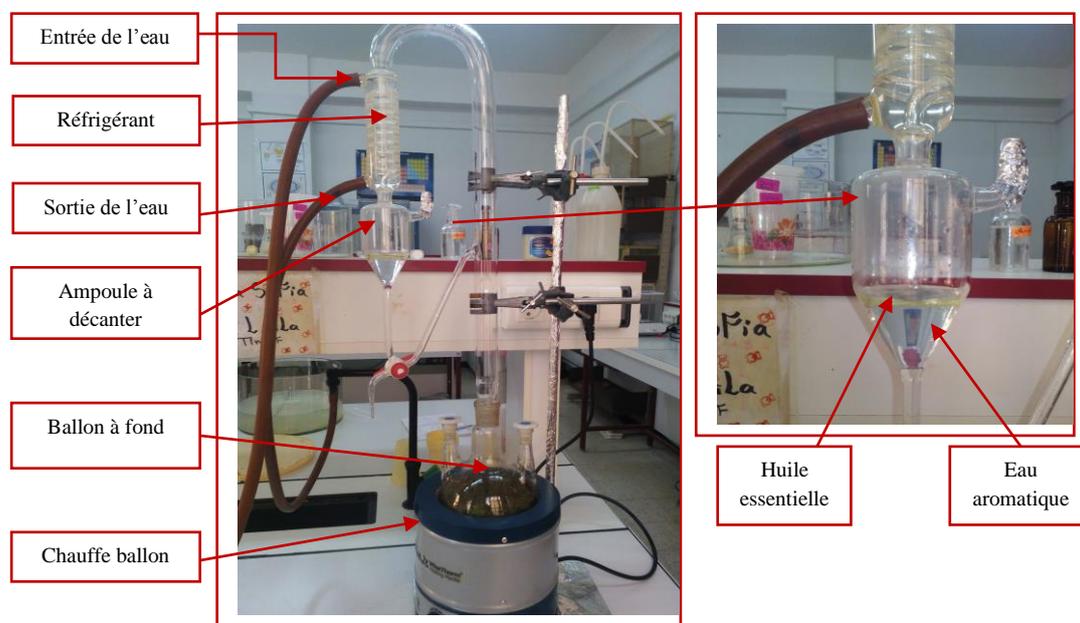


Figure 14. Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger (Dris, 2014).

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), évalué à partir de 3 extractions. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

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

ou

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

R : Rendement en huile en %

P_B : Poids de l'huile en g

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

2.10. Analyse des HEs par CPG-SM

L'analyse chimique des HEs a été réalisée par la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). Cette technique a été faite au centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimique (CRAPC) à Bou Smail (Tipaza, Algérie).

L'analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) est faite sur un chromatographe de type Hewlett Packard 6800 plus, couplé à un spectromètre de masse de type Hewlett Packard 5973 à impact d'électrons opérant en mode EI 70 eV. La colonne capillaire utilisée est de type VB-5 (30 m x 0,25 mm ; épaisseur du film

0,25 μm). Le gaz vecteur qui constitue la phase mobile est l'Hélium, réglé à un débit de 1 ml/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 8 min, puis son augmentation se fait graduellement à raison de 2°C par min jusqu'à 250°C. Pour le spectromètre de masse, la température de détection est de 250°C. La fragmentation est effectuée par impact électronique sous un champ de 70eV, et une pression de 6,75Psi. Le volume injecté est de 0,2 μl . 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 Willey (McLafferty et Stauffer, 1994), 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).

2.11. Traitement et bioessais

Les HEs dissoutes dans l'éthanol sont appliquées (1ml) sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *C. longiareolata* et de *C. pipiens*.

Après un screening préalable, les HEs des 3 plantes ont été testées à différentes concentrations (Tableau 1). Trois répétitions comportant chacune 25 larves, ont été réalisées pour chaque concentration. Une série témoin négatif (les individus ne subissent aucun traitement) et une série témoin positif (les larves reçoivent 1ml d'éthanol) sont conduites en parallèle. Le traitement a été appliqué dans des pots contenant chacun 150 ml d'eau déchlorurée et de la nourriture pendant 24 heures, selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé (OMS, 1963). Après cette période, les larves sont rincées puis placées dans de nouveaux récipients contenant de l'eau propre et de la nourriture.

Les mortalités ont été enregistrées après 24 heures d'exposition aux HEs puis corrigées selon la formule d'Abbott (1925), afin d'éliminer la mortalité naturelle. Les pourcentages de mortalités corrigées subissent une transformation angulaire selon les tables de Bliss (1938) in Fisher & Yates (1957). Les données ainsi normalisées font l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification et un classement des doses par le test HSD de Tukey. Enfin, la régression non linéaire exprimant le pourcentage de la mortalité corrigée en fonction du logarithme de la dose a permis d'estimer les concentrations létales (CL_{50} et CL_{90}) ainsi que leurs intervalles de confiance (95% IC).

Tableau 1. Les concentrations (ppm) des HES de 3 plantes, appliquées sur *C. longiareolata* et *C. pipiens*.

Plantes	Concentrations (ppm)	
	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
<i>L. dentata</i>	50, 75, 100, 125 et 150	75, 100, 125, 150, 175 et 200
<i>M. piperita</i>	10, 20, 30, 40, 50, 60 et 70	30, 40, 50, 60 et 70
<i>O. basilicum</i>	100, 110, 120, 130, 140 et 150	50, 75, 100, 125, 150

2.12. Dosage des biomarqueurs

Les larves du quatrième stade des séries témoins et traitées aux huiles essentielles (CL₅₀) ont fait l'objet du dosage d'un biomarqueur de neurotoxicité, l'acétylcholinestérase (AChE), des biomarqueurs de détoxification, les glutathion S-transférases (GSTs) et le taux du glutathion (GSH) et des biomarqueurs du stress oxydatif, le malondialdéhyde (MDA) et la catalase (CAT) à différentes périodes après traitement : 24, 48 et 72 heures.

2.12.1. Dosage de l'acétylcholinestérase

Le dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) est réalisé selon la méthode d'Ellman *et al.* (1961) qui consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh) dont l'hydrolyse libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La thiocholine, en présence de DTNB (acide 5, 5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque) forme un complexe de couleur jaune dont l'intensité est lue à une longueur d'onde de 412 nm.

Les larves 4 des séries témoins et traitées aux huiles essentielles (CL₅₀) de *C. pipiens* et *C. longiareolata*, sont homogénéisées dans 1 ml de solution détergente [38,03 mg éthylène glycol tris beta aminoéthyl éther NNN'N' (EGTA); 1ml de Triton X-100 ; 5,845 g de chlorure de sodium (NaCl) et 80 ml tampon Tris 10 mM, pH 7] puis centrifugées (5000trs/5mn). Le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage de l'activité de l'AChE est réalisé sur une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 100 µl de DTNB [39,6 mg DTNB, 15 mg CO₃HNa (bicarbonate de sodium), 10 ml tampon tris (0,1 M, pH 7)] et 1 ml de tampon tris (0,1 M, pH 7). Après 3 à 5 minutes, 100 µl de substrat acétylthiocholine [23,6 mg ASCh, 1 ml eau distillée] sont ajoutés. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus avec une série témoin. La lecture des absorbances s'effectue toutes les 4 mn pendant 20 minutes à une longueur d'onde de 412 nm 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 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

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

$1,36 \times 10^4$: coefficient d'extinction molaire du DTNB ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$).

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) + 0,1 ml acétylthiocholine].

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

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

2.12.2. Dosage des glutathion S-transférases

La mesure de l'activité des glutathion S-transférases (GSTs) est déterminée selon la méthode de Habig *et al.* (1974). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4 dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur, le glutathion (GSH) et mesurée à une longueur d'onde de 340 nm dans un spectrophotomètre.

Les échantillons des séries témoins et traitées des deux espèces sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (0,1 M ; pH 6). L'homogénat est centrifugé à 1400 trs/ mn pendant 30 mn et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage consiste à faire réagir 200 μl du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1mM)/GSH (5mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0,1 M, pH 6)]. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus avec des séries témoins. La lecture des absorbances est effectuée toutes les minutes pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 μl 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 ($\text{mM}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

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

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB ($\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$).

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

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

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

2.12.3. 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-mercaptopurique,

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 412 nm.

Le dosage s'effectue après homogénéisation des échantillons témoins et traités des deux espèces à différents temps (24, 48 et 72h) dans 1 ml d'une solution d'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) à 0,02 M [7,448g EDTA, 1000 ml eau distillée]. Afin de protéger les groupements thiols du glutathion, l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (ASS) à 0,25 % [0,25g ASS, 100 ml eau distillée] où 0,2 ml du ASS sont additionnés à 0,8 ml d'homogénat. Le mélange après agitation est plongé dans un bain de glace pendant 15 mn, puis centrifugé à 1000 trs/mn pendant 5 mn.

Une fraction aliquote de 500 µl de l'homogénat est ajoutée à 1 ml du tampon tris/ EDTA (0,02 M, pH 9,6) [63,04 g tris, 7,4448 g EDTA, 1000 ml eau distillée] et 0,025 ml de DTNB (0,01 M) [3,96 g DTNB, 1000 ml méthanol absolu]. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus avec une série témoin. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 412 nm après 5 minutes de repos pour la stabilisation de la couleur contre un blanc où les 500 µl de surnageant sont remplacés par 500µl d'eau distillée.

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

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

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).

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

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

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 : 0,5 ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

2.12.4. Extraction et dosage du malondialdéhyde

Les larves 4 témoins et traitées de *C. longiareolata* et *C. pipiens* sont prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures). L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus. Les larves sont broyées aux ultrasons dans 1 ml de tampon tris-HCl (50 mM, pH 7,5) [1,5137g tris, 0,0730 g EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique), 42,78 g sucrose, 250 ml eau distillée]. Une fois l'homogénéisation réalisée, une centrifugation est effectuée pendant 10 min à 10000 tours/min et le surnageant récupéré servira au dosage du malondialdéhyde (MDA).

500 µl de surnageant sont additionné à 2,5 ml de TCA (100g TCA, 1000ml d'eau distillée). Après chauffage au bain marie à 100°C pendant 15 min et refroidissement dans de la glace,

une deuxième centrifugation est effectuée à 10000 tours/min pendant 10 min. Une fraction aliquote de 2 ml du surnageant est alors prélevée à laquelle on ajoute 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) [6,7 g TBA, 1000 ml eau distillée]. Après un second chauffage (100°C, 15 min) et refroidissement, 1,5 ml de butanol sont rajoutés. Après agitation, une dernière centrifugation (10000 tours/min, 10 min) est réalisée et le surnageant constitué de 1 ml de butanol renfermant le complexe ATB (acide thiobarbiturique) /MDA est récupéré. Le MDA est dosé selon la méthode de Draper & Hadley (1990). Cette méthode est basée sur la mesure colorimétrique de la réaction ATB-MDA donnant un produit rouge brun dont l'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 532 nm contre un blanc (tampon tris-HCl). Le taux de MDA est déterminé selon la formule suivante :

$$X = \frac{D_o}{156} \times \frac{V_t}{V_s} / \text{mg de protéines}$$

X : Taux du MDA (mM/mg de protéines).

DO : La densité optique obtenue après hydrolyse du substrat à 532 nm.

156 : Coefficient d'extinction molaire de l'ATB (mM⁻¹ cm⁻¹).

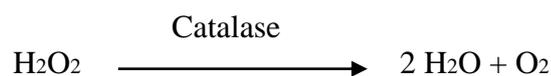
Vt : Volume total de la cuve (1ml).

Vs : Volume du surnageant utilisé (0,5 ml).

mg de protéines : Quantité de protéines exprimée en mg.

2.12.5. Dosage de la catalase

Le dosage de la catalase (CAT) est réalisé selon la technique de Claiborne (1985). Cette technique est basée sur la mesure spectrophotométrique de la réduction de l'eau oxygénée (H₂O₂) en une molécule d'oxygène (O₂) et deux molécules d'eau (H₂O) en présence de la CAT à une longueur d'onde UV de 240 nm, selon la réaction suivante :



Les larves du quatrième stade témoins et traitées de *C. longiareolata* et *C. pipiens*, sont prélevées à différentes périodes (24, 48, 72 heures), l'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus. Les larves sont homogénéisées dans 1ml de tampon phosphate (100mM, pH 7,4), puis centrifugées à 15000 trs/mn, pendant 10 mn. Le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage de l'activité de la catalase s'effectue dans une cuve de spectrophotomètre en quartz à 25°C, sur une fraction aliquote de 50 µl du surnageant dilué de façon à se situer entre 1 et 1,5 mg de protéines/ml, soit 0,05 à 0,75 mg dans la cuve, à laquelle on ajoute 750µl de tampon phosphate (100mM, pH 7,4). Après agitation, la lecture est effectuée au spectrophotomètre. La lecture des absorbances, s'effectue après chaque 5 secondes pendant

30 secondes à une longueur d'onde de 240nm contre un blanc avec 800 µl de tampon phosphate (100mM, pH 7,4), et 200 µl de H₂O₂.

L'activité spécifique est calculée selon la formule suivante :

$$X = \frac{D_{\text{max}} - D_{\text{min}}}{0,04} \text{ mg de protéines}$$

X : micromole de substrat réduit par minute et par mg de protéines (µM/mn/mg de protéines).

D0 max : densité optique maximum obtenue.

D0 min : densité optique minimum obtenue.

0,04 : coefficient d'extinction molaire du H₂O₂ (cm-1. mM-1).

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

2.13. 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 (Timmermann & Briegel, 1999). Les mensurations ont été réalisées sous une loupe binoculaire préalablement étalonnée.

2.14. Extraction et dosage des constituants biochimiques

Les individus témoins et traités (CL₅₀) ont été prélevés à différents stades (larve 4, pupe et adultes mâle et femelle) et conservés dans 1 ml 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. 15). Après homogénéisation aux ultrasons, puis centrifugation (5000 tours/min à 4°C pendant 10 min), le surnageant I obtenu, servira pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de Duchateau & Florkin (1959). Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), 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 (0,1 N), servira au dosage des protéines selon Bradford, (1976).

2.14.1. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976), dans une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 4 ml 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 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de boeuf (BSA) titrant 1 mg/ml (Tableau 2).

Tableau 2. 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

2.14.2. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al.* (1972), en utilisant le réactif sulfophosphanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100 μl 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 10 min dans un bain de sable à 100 °C. Après refroidissement, on prend 200 μl de ce mélange au quel on ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphanillinique. Après 30 min 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 orthophosphorique, des complexes roses. La solution mère des lipides est préparée comme suit : on prend 2,5 mg d'huile de table (tournesol, 99% triglycérides) dans un tube eppendorf et on ajoute 1 ml d'éther chloroforme (1V/1V) (Tableau 3).

Tableau 3. 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)	100	80	60	40	20	0
Réactif de vanilline (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

2.14.3. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de Duchateau & Florkin (1959). Cette méthode consiste à additionner 100 μl du surnageant contenu dans un tube à essai, 4 ml du réactif d'Anthrone et de chauffer le mélange à 80°C pendant 10 min, une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucides présentes 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 4).

Tableau 4. 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

2.15. Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (version 16, Penn State College, PA, USA) et GRAPH PAD PRISM 7. Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne \pm l'écart-type (SD). 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). Le test t de Student et l'analyse de la variance à un et deux critères de classification, ont été utilisés.

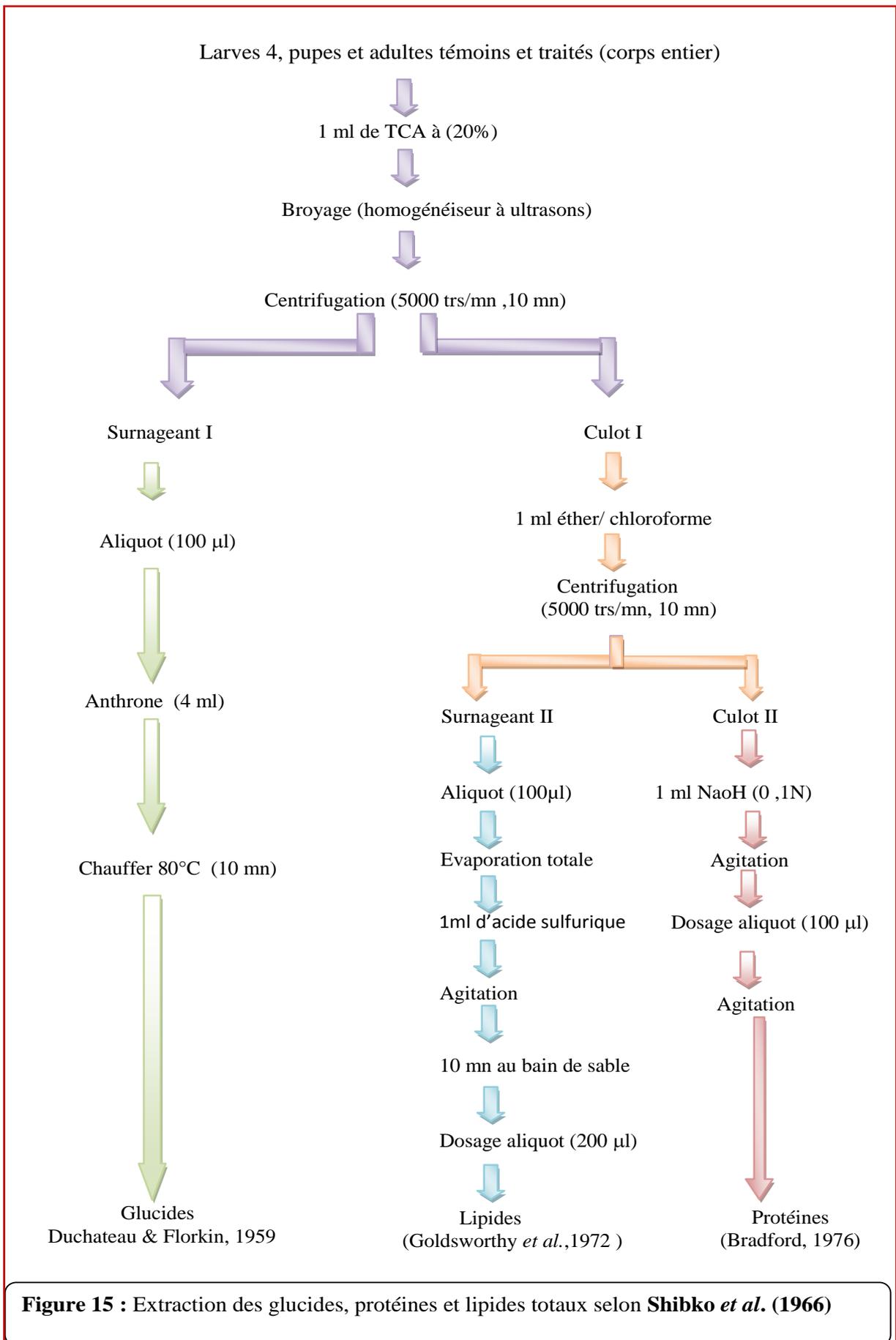


Figure 15 : Extraction des glucides, protéines et lipides totaux selon **Shibko *et al.* (1966)**

RESULTATS

III. RESULTATS

3.1. Rendement des huiles essentielles

Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des parties aériennes des plantes appartenant à la famille des Lamiaceae : *Lavandula dentata*, *Mentha piperita* et *Ocimum basilicum* sont de couleur jaune claire avec une odeur agréable. Le rendement des HEs varie d'une plante à une autre et le fort taux est signalé chez l'*O. basilicum* avec une moyenne de $1,56 \pm 0,15\%$, suivie de *M. piperita* ($1,46 \pm 0,04\%$) et de *L. dentata* avec le plus faible rendement ($1,18 \pm 0,05\%$).

3.2. Composition chimique de l'HE de *L. dentata*

L'analyse de l'huile essentielle de *L. dentata*, a permis d'identifier 8 composés dont la teneur est supérieure ou égale à 3,62%. Ces composés représentent 100% de l'huile totale (Tableau 5 et Fig. 16).

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

N°	Composés	Temps de rétention (min)	Concentrations (%)
Monoterpènes			100
Monoterpènes oxygénés			48,87
1	Eucalyptol	16,27	3,62
2	Cis-Linalool oxide	19,41	7,01
3	2-Furanméthanol, 5-ethenyltetrahydro $\alpha, \alpha, 5$ -trimethyl, cis-	20,55	7,14
4	Camphre	24,38	13,43
5	1-Borneol	26,30	7,93
6	3-Cyclohexan-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-(CAS)	27,03	5,45
7	3,7-Octadiene-2,6-diol, 2,6-dimethyl-	28,62	4,29
Monoterpènes hydrocarbonés			51,13
8	α-Terpinolène	21,67	51,13
Total			100%

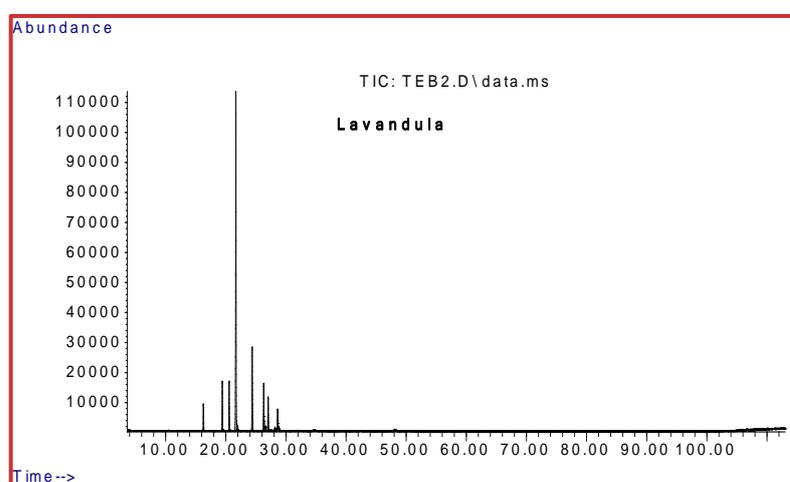


Figure 16. Chromatogramme CPG-SM de l'HE de *L. dentata* (Abondance en fonction du temps en min).

Parmi les composés terpéniques identifiés dans cette plante, on note la présence de 100% de monoterpènes. Les monoterpènes hydrocarbonés représentent 48,87% tandis que les monoterpènes oxygénés représentent 51,13% de l'huile totale (Fig. 17).

L' α - Terpinolène (51,13%), le Camphre (13,43 %) et le 1-Bornéol (7,93%) ont été identifiés comme composés majoritaires (Fig. 18).

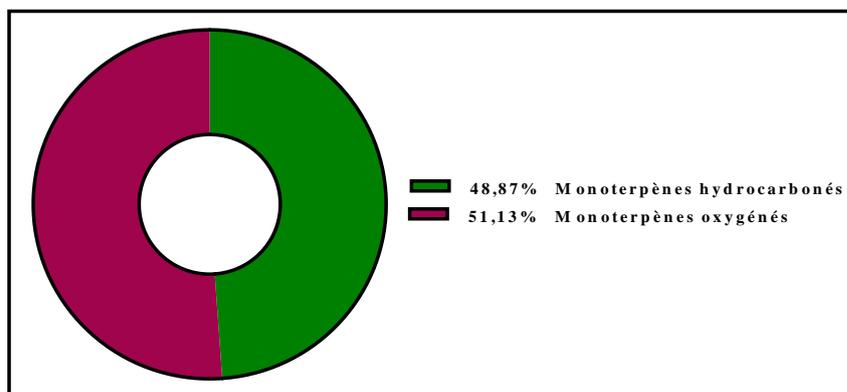


Figure 17. Répartition (%) des familles de molécules présentes dans la plante *L. dentata*

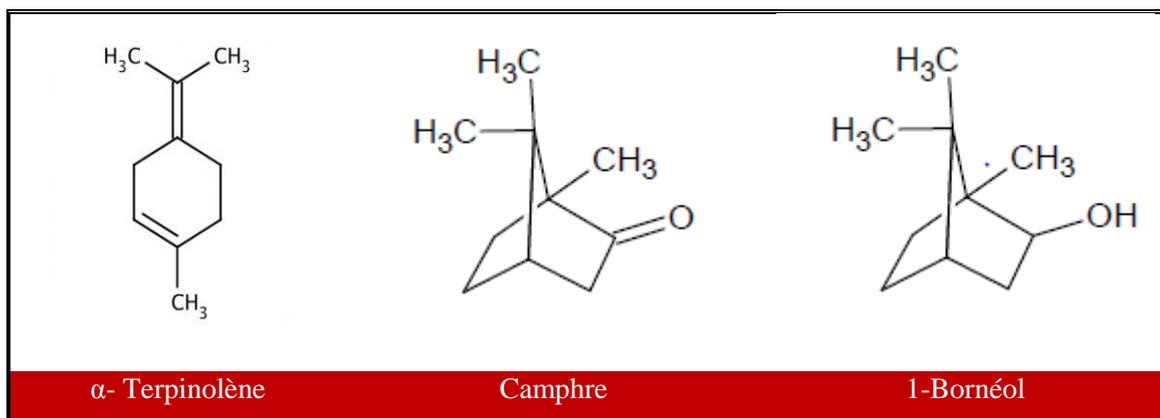


Figure 18. Structure chimique de quelques composés majoritaires de l'HE de *L. dentata*.

3.3. Composition chimique de l'HE de *M. piperita*

L'analyse de l'HE de *M. piperita* par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a révélé l'identification de 65 composés représentant 99,65% de la totalité des huiles. Le pourcentage et le temps de rétention des constituants identifiés sont présentés dans le Tableau 6.

Tableau 6. Composition chimique de l'HE de *M. piperita* : temps de rétention (TR) et concentration (%) des différents constituants.

N°	Composés	Temps de rétention (min)	Concentrations (%)
Monoterpènes			93,22
Monoterpènes oxygénés			72,74
1	Trans-Sabinene hydrate	19,28	1,55
2	Cis-Sabinene hydrate	21,42	0,11
3	1- Octen- 3- ol acétate	22,31	0,01
4	Cis-Pinene hydrate	23,12	0,12
5	Limonene Oxide, Trans	24,04	0,04
6	Δ -Terpineol	26,53	0,36
7	Terpinene-4-Ol	27,13	0,97
8	Isodihydrocarvone	28,51	1,53
9	Dihydrocarveol	28,85	6,50
10	Carveol, dihydro, cis	29,02	1,69
11	Dihydrocarvyl acetate	29,21	4,10
12	Trans Carveol	31,27	0,62
13	Carvone	32,42	30,27
14	P-Mentha-6,8-dien-2-one (l-carvone)	32,75	22,31
15	Dihydro Cuminyaldehyde	33,99	0,08
16	Bornyl acetate	34,52	0,14
17	2.4.6-Trimethyl-7-oxo-4.7-dihydro-triazolo	34,99	0,11
18	P-Mentha-8-en-2-ol. Acetate	37,52	1,45
19	Trans-Carveyl acetate	38,07	0,02
20	Piperitenone	38,35	0,02
21	P-Mentha-6.8-dien-2-ol. acetate. Cis	39,76	0,32
22	Cis-Jasmone	42,06	0,23
23	Limonène dioxide	45,37	0,05
24	Jasmone	59,09	0,08
25	Cis-piperitol	59,30	0,06
Monoterpènes hydrocarbonés			20,48
26	α -Thujene	9,866	0,02
27	α -Pinene	10,07	0,48
28	Camphène	10,93	0,02
29	Sabinène	12,50	0,38
30	β -Pinène	12,67	0,74
31	β -Myrcène	13,71	0,52
32	α -Terpinène	15,38	0,10
33	α - Limonène	16,50	17,40
34	Cis-Ocimène	17,01	0,22
35	β -Ocimène	17,70	0,06
36	γ -Terpinène	18,36	0,24
37	α -Terpinolène	20,41	0,05
38	1,4(8)-P-Menthadiene	21,69	0,10
39	Nopinène	24,46	0,03
40	1(7).5.8-O-Menthatriene	37,17	0,02
41	1-Ethyl-1.3-dimethyl-2.4-cyclohexadiene	42,57	0,05
42	Menthatriene	42,85	0,05
Sesquiterpènes			5,6
Sesquiterpènes oxygénés			0,62
43	Spathulenol	52,97	0,47
44	α -Cadinol	57,37	0,15
Sesquiterpènes hydrocarbonés			4,98
45	β -Bourbonene	40,93	1,02
46	β -Elemene	41,49	0,54
47	Trans-Caryophyllene	43,16	1,76
48	Germacrene-D	43,71	0,07
49	Germacrene-1(10).4(15).5-triene	44,63	0,06
50	α -Humulene	45,24	0,05
51	Epi-bicyclosesquiphellandrene	45,87	0,06
52	γ -Cadinene	46,01	0,03

53	1,6-Cyclodecadiene	47,02	0,98
54	γ -Elemene	47,90	0,24
55	Calamenene	49,54	0,06
56	α -Copaene	55,01	0,06
57	β -Gurjune	56,61	0,05
Autres			0,83
58	2-Hexenal	6,35	0,01
59	2-Methyl, 1-Butene,	8,08	0,02
60	3-Octanol	14,36	0,53
61	3-Hexadecyne	34,31	0,06
62	1,3-Pentadiene. (E)	35,34	0,04
63	1,3-Butadiene. 2-methyl	48,44	0,07
64	2,6-Dimethyl-1,3,6-heptatriene	53,2739	0,03
65	2-Anisaldehyde	56,3487	0,07
Total			99,65

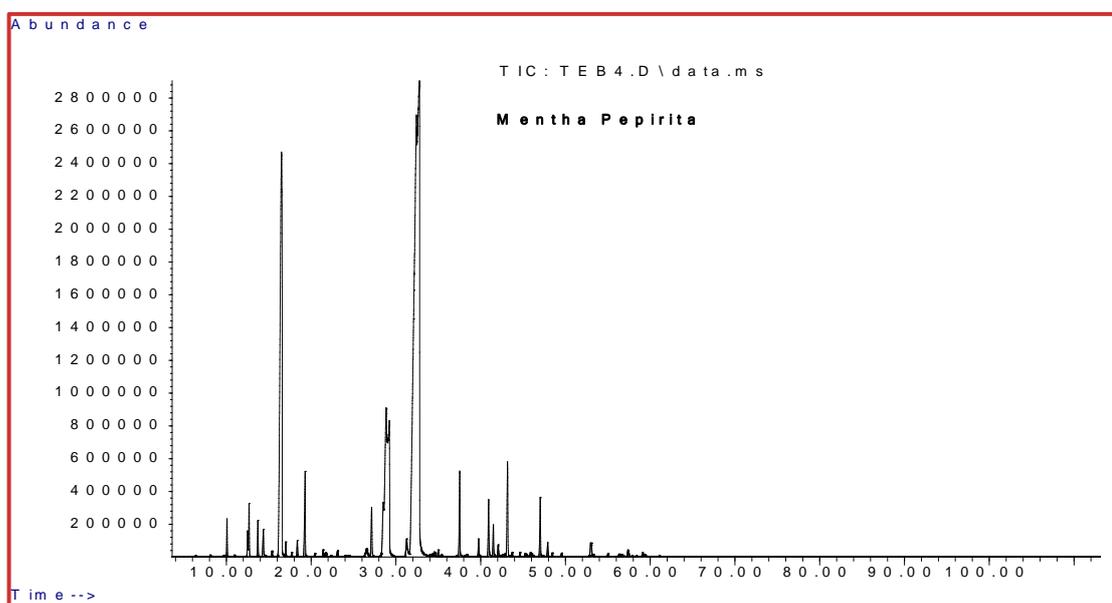


Figure 19. Chromatogramme CPG-SM de l'HE de *M. piperita* (Abondance en fonction du temps en min).

L'huile essentielle de *M. piperita* est constituée de 98,82% de dérivés terpéniques, correspondant à 93,22% de monoterpènes et 5,60% de sesquiterpènes. Les monoterpènes oxygénés représentent 72,74% tandis que les monoterpènes hydrocarbonés ne représentent que 20,48% de l'huile totale. Par ailleurs, les sesquiterpènes hydrocarbonés représentent 4,98% de la totalité de l'huile, contre 0,62% pour les composés oxygénés (Fig. 20).

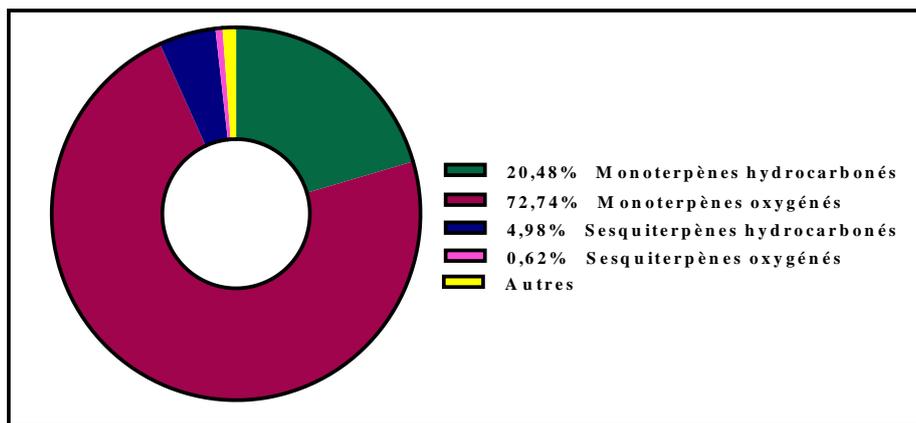


Figure 20. Répartition (%) des familles de molécules présentes dans la plante *M. piperita*.

Quatre monoterpènes ont été identifiés comme composés majoritaires : carvone (30,27%), P-Mentha-6,8-dien-2-one (22,31%), α -Limonène (17,40%) et dihydrocarveol (6,50%) (Fig. 21). Ces composés représentent 76,48% de l'huile totale.

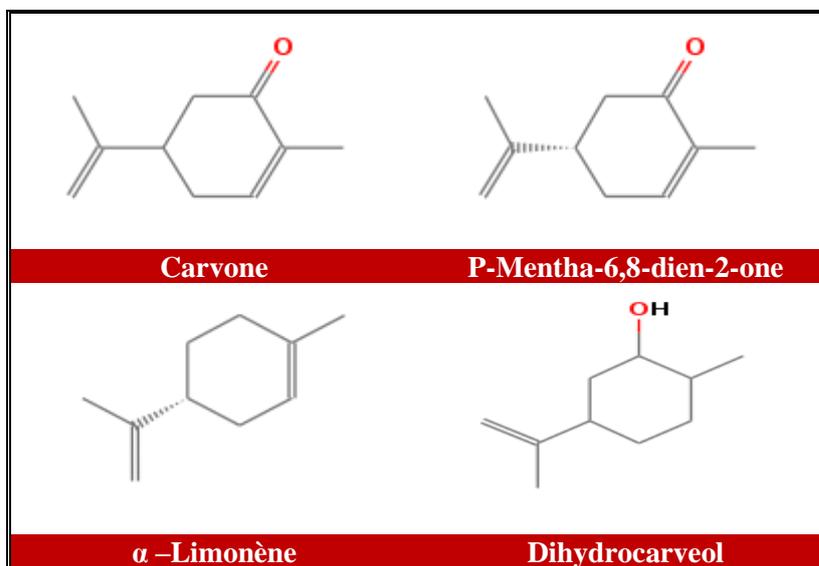


Figure 21. Structure chimique de quelques composés majoritaires de l'HE de *M. piperita*.

3.4. Composition chimique de l'HE de l'*O. basilicum*

L'analyse de l'huile essentielle de l'*O. basilicum*, a permis d'identifier 38 composés dont la teneur est supérieure ou égale à 0,04%. Ces composés représentent 99,74% de l'huile totale (Tableau 7 et Fig. 22).

Tableau 7. Composition chimique de l'HE de *O. basilicum* : Temps de rétention (TR) et Concentrations (%) des différents constituants.

N°	Composés	Temps de rétention (min)	Concentrations (%)
Monoterpènes			95,83
Monoterpènes oxygénés			92,93
1	Eucalyptol	16,37	3,29
2	Trans Sabinene hydrate	19,20	0,04
3	Linalool	22,28	22,52
4	Octen-1-ol. Acétate	22,47	0,28
5	3-Octanyl acétate	23,24	0,27
6	Cyclopentylacétone	26,59	0,08
7	3-Cyclohexen-1-ol. 4-méthyl-1-(1-méthylethyl)-(CAS)	27,10	0,05
8	3-Cyclohexene-1-méthanol. α,α -4-triméthyl-. (S)- (CAS)	28,44	4,57
9	Nerol	31,26	0,62
10	2-Cyclohexen-1-one. 2-méthyl-5-(1-méthylethényl)-. (S)-	31,93	0,18
11	Linalyl acetate	33,28	53,89
12	2,6-Octadien-1-ol. 3,7-diméthyl- acétate (Z)-	35,03	0,48
13	1-P-menthen-8-yl acétate	38,88	2,95
14	Neryl acétate	39,88	1,22
15	Geranyl acétate	41,19	2,53
Monoterpènes hydrocarbonés			2,9
16	α -pinène	10,06	0,08
17	Sabinène	12,49	0,14
18	2- β -pinène	12,65	0,21
19	β -Myrcène	13,71	0,77
20	Benzène. 1-méthyl-4-(1-méthylethyl)	16,00	0,04
21	Cis-Ocimène	16,99	0,66
22	1,3,6-Octatriène. 3, 7-diméthyl-.(E)-(CAS)	17,70	0,42
23	γ -Terpinène	18,35	0,15
24	α -Terpinolène	20,42	0,07
25	Benzène 1-éthyl-3,5-diméthyl-	41,71	0,28
26	Benzène. 1-éthyl-3,5-diméthyl-	42,46	0,08
Sesquiterpènes			3,85
Sesquiterpènes oxygénés			2,34
27	Cyclohexaneméthanol. 4-éthényl- α,α -4-triméthyl-3-(1-méthylethényl) - (1R-(1. α . 3. α . 4. β))-	51,48	1,89
28	Viridiflorol	53,74	0,18
29	2-Naphthalène méthanol. decahydro- α,α -4a-triméthyl-8-méthylène-.(2R-(2. α .. 4a. α .. 8a. β))-	57,11	0,10
30	α -Eudesmol	57,26	0,13
31	Cyclohexaneméthanol. 4-éthényl- α,α -4-triméthyl-3-(1-méthyléthényl)-. (1R-(1. α . 3. α . 4. β))-	58,14	0,04
Sesquiterpènes hydrocarbonés			1,51
32	β -Elemène	41,48	0,09
33	Trans-caryophyllène	43,13	0,63
34	α -Humulène	45,25	0,04
35	Trans- β -Farnésène	45,59	0,18
36	Germacrène-D	47,00	0,47
37	(-)- α -Selinène	56,02	0,10
Autres			0,06
38	2-Butenal. 3-méthyl-(CAS)	59,30	0,06
Total			99,74%

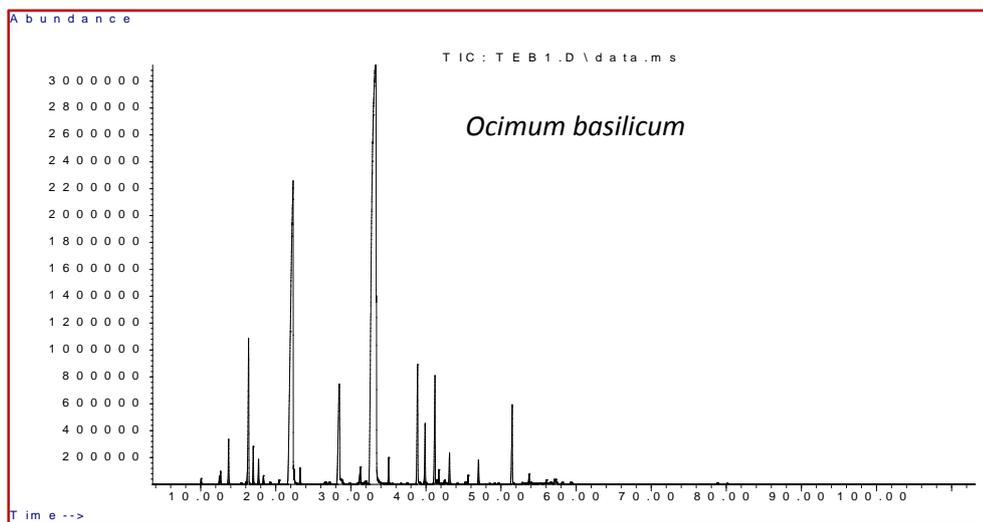


Figure 22. Chromatogramme CPG-SM de l'HE de l'*O. basilicum* (Abondance en fonction du temps en min).

L'analyse de la composition chimique de l'HE de l'*O. basilicum* a montré une prédominance des monoterpènes oxygénés avec une teneur de 92,93%. Alors que les monoterpènes hydrocarbonés représentent seulement 2,90% de la totalité de l'huile. Par contre, les sesquiterpènes hydrocarbonés et les sesquiterpènes oxygénés présentent des taux faibles de l'ordre de 1,51 et 2,34% de l'huile totale respectivement (Fig. 23).

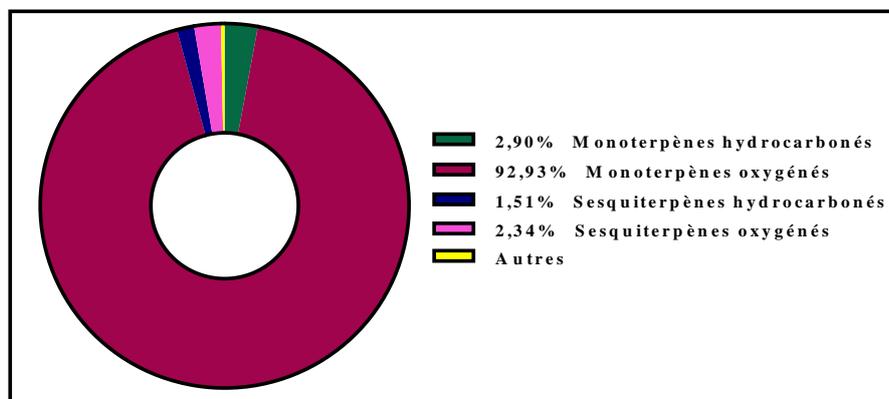


Figure 23. Répartition (%) des familles de molécules présentes dans la plante *O. basilicum*.

Deux monoterpènes oxygénés ont été identifiés comme composés majoritaires : Linalyl acétate (53,89%) et Linalool (22,52%) (Fig. 24). Ces composés représentent à eux seuls 76,41% de l'huile totale.

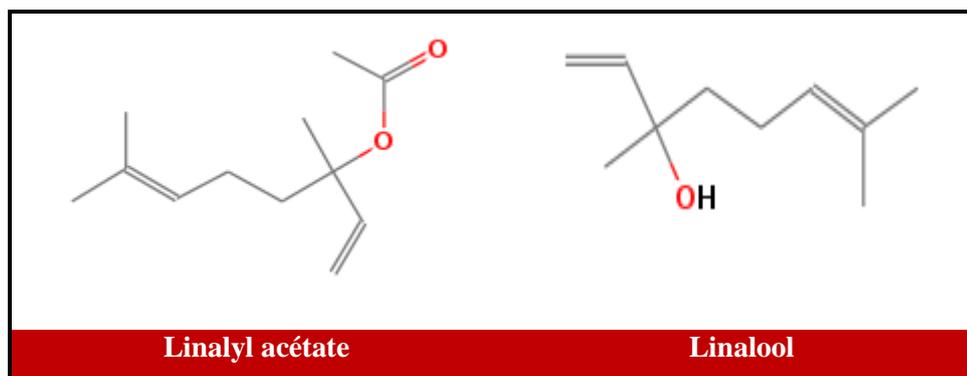


Figure 24. Structure chimique des composés majoritaires de l'HE de l'*O. basilicum*.

3.5. Essais insecticides des HEs à l'égard de *C. pipiens* et *C. longiareolata*

3.5.1. Essai insecticide de l'HE de *L. dentata*

Après un test de screening, différentes concentrations de l'HE de *L. dentata* ont été appliquées sur les larves du quatrième stade de *C. longiareolata* (50, 75, 100, 125 et 150 ppm) et de *C. pipiens* (75, 100, 125, 150 et 200ppm). 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.

Les mortalités corrigées enregistrées au cours des tests de toxicité varient de $5,33 \pm 2,30$ % à la dose la plus faible (50 ppm) à $100 \pm 0,00\%$ à la dose la plus forte (150 ppm) chez *C. longiareolata* et de $8 \pm 4\%$ à la dose la plus faible (75ppm) à 100% à la dose la plus forte (200ppm) chez *C. pipiens* (Tableaux 8 et 9 et Fig. 25 et 26). Les résultats montrent une mortalité plus importante chez *C. longiareolata* traduisant une plus grande sensibilité de cette espèce à l'action de l'HE de *Lavandula*.

L'analyse de la variance à un critère de classification effectuée après transformation angulaire des pourcentages de mortalité révèle une différence hautement significative ($p < 0,001$) (Tableaux 10 et 11) entre les concentrations utilisées et cela chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*. Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 5 groupes (Fig. 25).

La courbe dose-réponse exprimant les pourcentages de mortalité en fonction du logarithme des doses appliquées (Fig. 26) a permis l'estimation des valeurs des différentes concentrations létales (CL) ainsi que leurs intervalles de confiance et le Slope (Tableau 12).

Tableau 8. Toxicité de l'HE de *L. dentata* (ppm) appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata*: Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations (ppm)	50	75	100	125	150
R1	4	44	68	88	100
R2	4	48	72	88	100
R3	8	56	80	92	100
m \pm SD	5,33 \pm 2,30	49,33 \pm 6,11	73,33 \pm 6,11	89,33 \pm 2,30	100 \pm 0,00

Tableau 9. Toxicité de l'HE de *L. dentata* (ppm) appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. pipiens* : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations (ppm)	75	100	125	150	175	200
R1	4	24	52	64	84	100
R2	8	28	56	76	92	100
R3	12	32	56	76	96	100
m \pm SD	8,00 \pm 4,00	28,00 \pm 4,00	54,67 \pm 2,30	72 \pm 6,92	90,67 \pm 6,11	100 \pm 0,00

Tableau 10. Toxicité de l'HE de *L. dentata* (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata* : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Analyse de la variance à un critère de classification après transformation angulaire des mortalités enregistrées (%).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	8953	4	2238	269,9	0,001***
Erreur résiduelle	82,93	10	8,293		
Total	9036	14			

*** différence hautement significative ($p < 0,001$). SCE : somme des carrés des écarts ; ddl : degré de liberté ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de signification.

Tableau 11. Toxicité de l'HE de *L. dentata* (ppm), appliquées sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. pipiens* : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Analyse de la variance à un critère de classification après transformation angulaire des mortalités enregistrées (%).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	9673	5	1935	139,7	0,001***
Erreur résiduelle	166,2	12	13,85		
Total	9839	17			

*** différence hautement significative ($p < 0,001$). SCE : somme des carrés des écarts ; ddl : degré de liberté ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de signification.

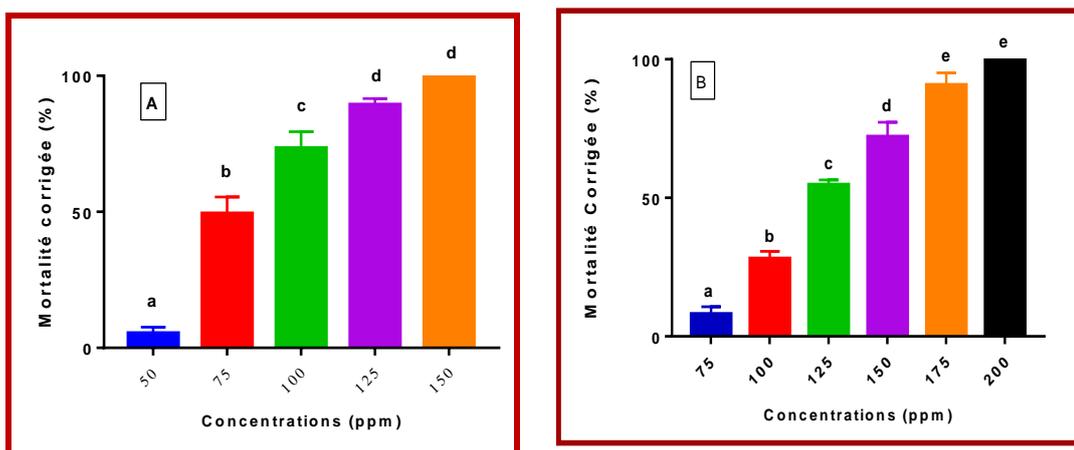


Figure 25. Toxicité de l'HE de *L. dentata* (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata* (A) et *C. pipiens* (B) : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n=3$ répétitions de 25 individus chacune). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.

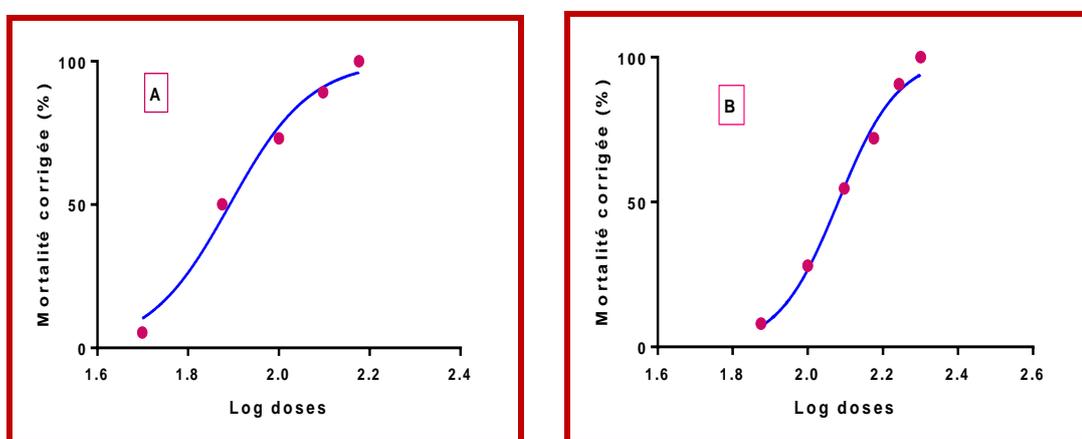


Figure 26. Effets de l'HE de *L. dentata*, appliquée sur les larves 4 de *C. longiareolata* (A) et *C. pipiens* (B) : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses. $R^2=98\%$.

Tableau 12. Toxicité de l'HE de *L. dentata*, appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata* et *C. pipiens* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).

Espèces	Hill slope	Concentrations létales (ppm)	
		CL ₅₀ (95% IC)	CL ₉₀ (95% IC)
<i>C. longiareolata</i>	1,26	77,09 [73,92 - 80,40]	104,45 [103,17 - 105,72]
<i>C. pipiens</i>	1,22	113,38 [110,23 - 116,62]	150,38 [136,09 - 166,15]

3.5.2. Essai insecticide de l'HE de *M. piperita*

Après un test de screening, différentes concentrations de l'HE de *M. piperita* ont été appliquées sur les larves du quatrième stade de *C. longiareolata* (10, 20, 30, 40, 50, 60 et 70 ppm) et de *C. pipiens* (30, 40, 50, 60 et 70 ppm). 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.

Les mortalités corrigées enregistrées au cours des tests de toxicité varient de $8 \pm 4\%$ à la dose la plus faible (10 ppm) à $96,00 \pm 4\%$ à la dose la plus forte (70 ppm) chez *C. longiareolata* et de $5,33 \pm 2,31\%$ à la dose la plus faible (30ppm) à 100% à la dose la plus forte (70ppm) chez *C. pipiens* (Tableaux 13, 14 et Fig. 27). Les résultats montrent une mortalité plus importante chez *C. longiareolata* par rapport à *C. pipiens*, traduisant une plus grande sensibilité de cette espèce à l'action de l'HE de *Mentha*.

L'analyse de la variance à un critère de classification effectuée après transformation angulaire des pourcentages de mortalité révèle une différence hautement significative ($p < 0,001$) (Tableaux 15 et 16) entre les concentrations utilisées et cela chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*. Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 5 groupes (Fig. 27).

La courbe dose-réponse exprimant les pourcentages de mortalité en fonction du logarithme des doses appliquées (Fig. 28) a permis l'estimation des valeurs des différentes concentrations létales (CL) ainsi que leurs intervalles de confiance et le Slope (Tableau 17).

Tableau 13. Toxicité de l'HE de *M. piperita* (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata*: Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations (ppm)	10	30	50	70
R1	4	32	72	92
R2	8	24	60	96
R3	12	36	60	100
m \pm SD	8,00 \pm 4,00	30,70 \pm 6,11	64,0 \pm 6,93	96,00 \pm 4,00

Tableau 14. Toxicité de l'HE de *M. piperita* (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. pipiens* : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations (ppm)	30	40	50	60	70
R1	4	28	48	92	100
R2	4	28	56	84	100
R3	8	24	52	88	100
m \pm SD	5,33 \pm 2,31	26,67 \pm 2,31	52,00 \pm 4,00	88,00 \pm 4,00	100 \pm 0,00

Tableau 15. Toxicité de l'HE de *M. piperita* (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata* : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Analyse de la variance à un critère de classification après transformation angulaire des mortalités enregistrées (%).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	6522	3	2174	108,5	0,001***
Erreur résiduelle	160,3	8	20,04		
Total	6682	11			

*** différence hautement significative ($p < 0,001$). SCE : somme des carrés des écarts ; ddl : degré de liberté ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de signification.

Tableau 16. Toxicité de l'HE de *M. piperita* (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. pipiens* : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Analyse de la variance à un critère de classification après transformation angulaire des mortalités enregistrées (%).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	9880	4	2470	435,6	0,001***
Erreur résiduelle	56,71	10	5,671		
Total	9937	14			

*** différence hautement significative ($p < 0,001$). SCE : somme des carrés des écarts ; ddl : degré de liberté ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de signification.

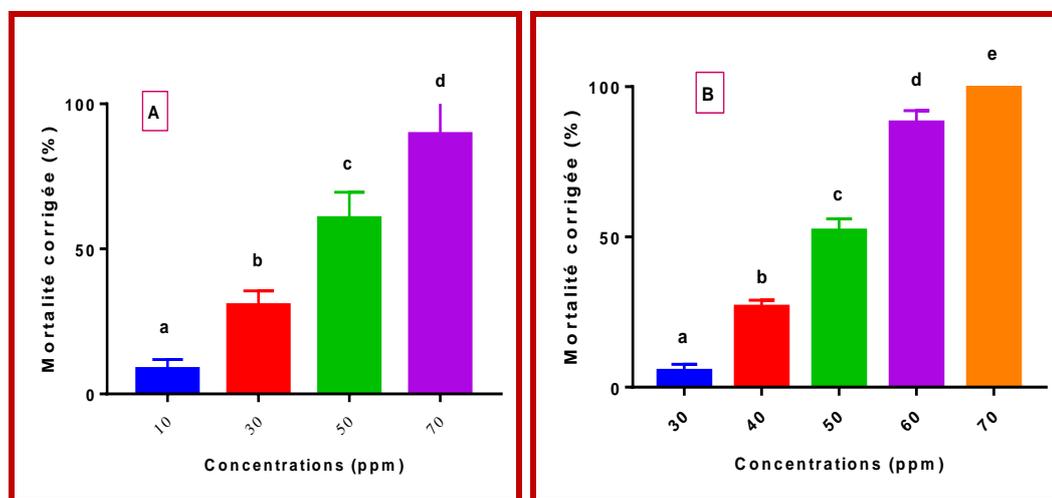


Figure 27. Toxicité de l'HE de *M. piperita* (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata* (A) et *C. pipiens* (B) : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n=3$ répétitions de 25 individus chacune). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.

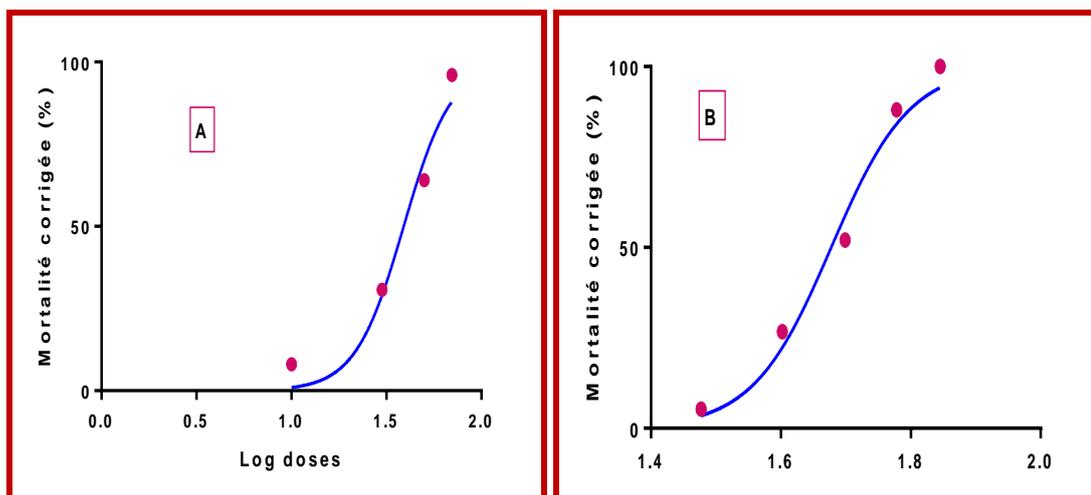


Figure 28. Effets de l'HE de *M. piperita*, appliquée sur les larves 4 de *C. longiareolata* (A) et *C. pipiens* (B) : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses. $R^2 = 98\%$.

Tableau 17. Toxicité de l'HE de *M. piperita*, appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata* et *C. pipiens* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).

Espèces	Hill slope	Concentrations létales (ppm)	
		LC ₅₀ (95% IC)	LC ₉₀ (95% IC)
<i>C. longiareolata</i>	1,26	41,63 [38,98 - 44,29]	69,72 [63,49 - 75,95]
<i>C. pipiens</i>	1,21	47,58 [43,73 - 51,77]	64,56 [54,20 - 76,91]

3.5.3. Essai insecticide de l'HE de *O. basilicum*

Après un test de screening, différentes concentrations d'HE de *M. piperita* ont été appliquées sur les larves du quatrième stade de *C. longiareolata* (100, 110, 120, 130, 140 et 150ppm) et de *C. pipiens* (50, 75, 100, 125 et 150ppm). 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.

Les mortalités corrigées enregistrées au cours des tests de toxicité varient de $13,33 \pm 2,30$ % à la dose la plus faible (10 ppm) à 100% à la dose la plus forte (150 ppm) chez *C. longiareolata* et de $12 \pm 4,00\%$ à la dose la plus faible (50ppm) à 100% à la dose la plus forte (150ppm) chez *C. pipiens* (Tableaux 18, 19 et Fig. 29). Les résultats montrent une mortalité plus importante chez *C. pipiens* par rapport à *C. longiareolata*, traduisant une plus grande sensibilité de cette espèce à l'action de l'HE de *Ocimum*.

L'analyse de la variance à un critère de classification effectuée après transformation angulaire des pourcentages de mortalité révèle une différence hautement significative ($p < 0,001$) (Tableaux 20 et 21) entre les concentrations utilisées et cela chez *C. pipiens* et *C.*

longiareolata. Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 5 groupes (Fig. 29).

La courbe dose-réponse exprimant les pourcentages de mortalité en fonction du logarithme des doses appliquées (Fig. 30) a permis l'estimation des valeurs des différentes concentrations létales (CL) ainsi que leurs intervalles de confiance et le Slope (Tableau 22).

Tableau 18. Toxicité de l'HE de l'*O. basilicum* (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata* : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations (ppm)	100	110	120	130	140	150
R1	12	16	48	52	80	100
R2	16	24	48	56	76	100
R3	12	28	52	60	76	100
$m \pm SD$	$13,33 \pm 2,30$	$22,67 \pm 6,11$	$49,33 \pm 2,30$	$56,00 \pm 4,00$	$77,33 \pm 2,30$	$100 \pm 0,00$

Tableau 19. Toxicité de l'HE de l'*O. basilicum* (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. pipiens* : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations (ppm)	50	75	100	125	150
R1	8	36	84	92	100
R2	12	48	88	92	100
R3	16	48	84	88	100
$m \pm SD$	$12,00 \pm 4,00$	$44,00 \pm 6,92$	$85,33 \pm 2,30$	$90,67 \pm 2,30$	$100 \pm 0,00$

Tableau 20. Toxicité de l'HE de l'*O. basilicum* (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata* : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Analyse de la variance à un critère de classification après transformation angulaire des mortalités enregistrées (%).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	7826	5	1565	297	0,001***
Erreur résiduelle	63,24	12	5,27		
Total	7889	17			

*** différence hautement significative ($p < 0,001$). SCE : somme des carrés des écarts ; ddl : degré de liberté ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de signification.

Tableau 21. Toxicité de l'HE de l'*O. basilicum* (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. pipiens* : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus) : Analyse de la variance à un critère de classification après transformation angulaire des mortalités enregistrées (%).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	4	8067	2017	268,1	0,001***
Erreur résiduelle	10	75,22	7,52		
Total	14	8143			

*** différence hautement significative ($p < 0,001$). SCE : somme des carrés des écarts ; ddl : degré de liberté ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de signification.

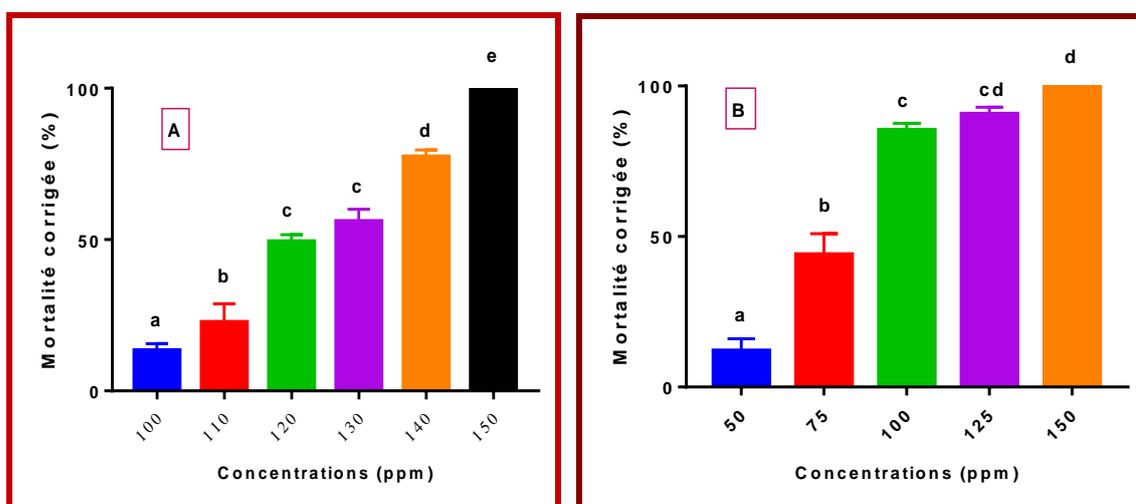


Figure 29. Toxicité de l'HE d'*O. basilicum* (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata* (A) et *C. pipiens* (B) : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n=3$ répétitions de 25 individus chacune). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.

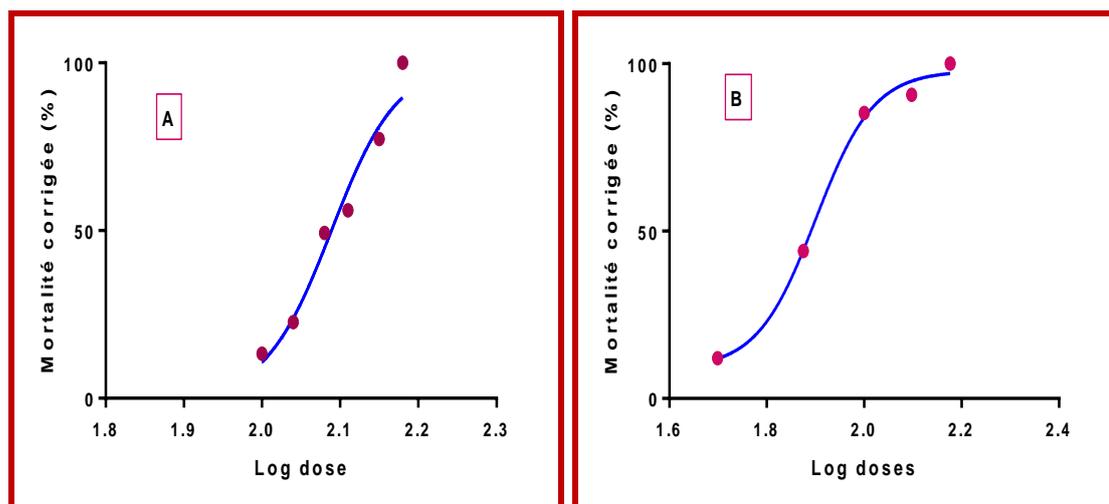


Figure 30. Effets de l'HE de l'*O. basilicum*, appliquée sur les larves 4 de *C. longiareolata* (A) et *C. pipiens* (B) : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses. $R^2 = 96\%$.

Tableau 22. Toxicité de l'HE de l'*O. basilicum*, appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata* et *C. pipiens* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).

Espèces	Hill slope	Concentrations létales (ppm)	
		LC ₅₀ (95% IC)	LC ₉₀ (95% IC)
<i>C. longiareolata</i>	0,47	122,70 [117,30 - 128,00]	151,80 [139,80 – 170,60]
<i>C. pipiens</i>	0,13	73,45 [71,02 - 75,94]	101,20 [90,54 – 113,10]

3.6. Efficacité comparée des HEs de 3 plantes à l'égard de *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le Tableau 23 présente les concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) des HEs obtenues chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens*. Ces résultats montrent que l'HE de *M. piperita* est la plus toxique suivie des HEs de l'*O. basilicum* et de *L. dentata* (*M. piperita* > *O. basilicum* > *L. dentata*). De plus, on note que *C. longiareolata* est l'espèce la plus sensible aux huiles extraites de *Lavandula* et *Mentha* et que l'HE de l'*Ocimum* est plus efficace sur les larves de *C. pipiens*.

Tableau 23. Efficacité comparée des HEs extraites de *M. piperita*, *O. basilicum* et *L. dentata* à l'égard des larves 4 nouvellement exuviées de *C. longiareolata* et *C. pipiens*.

Plantes	CL ₅₀ (ppm)		CL ₉₀ (ppm)	
	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
<i>M. piperita</i>	41,63 [38,98 - 44,29]	47,58 [43,73 - 51,77]	69,72 [63,49 - 75,95]	150,38 [54,20 - 76,91]
<i>O. basilicum</i>	122,70 [117,30 - 128,00]	73,45 [71,02 - 75,94]	151,80 [139,80 – 170,60]	101,20 [90,54 – 113,10]
<i>L. dentata</i>	77,09 [73,92 - 80,40]	113,38 [110,23 - 116,62]	104,45 [103,17 - 105,72]	150,38 [136,09 - 166,15]

3.7. Impact des HEs sur les biomarqueurs

Les HEs de *L. dentata*, *M. piperita* et de l'*O. basilicum* ont été appliquées sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées à une concentration létale 50 (CL₅₀). L'effet de ces huiles a été évalué à différentes périodes (24, 48 et 72 heures après traitement).

Elles ont été testées sur un biomarqueur de neurotoxicité, l'acétylcholinestérase (AChE), deux biomarqueurs de détoxication, les glutathion S-transférases (GSTs) et son cofacteur, le glutathion (GSH) et deux biomarqueurs du stress oxydatif, le malondialdéhyde (MDA) et la catalase.

3.7.1. Effet des HEs sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase

L'activité spécifique de l'AChE (µM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* et *C. pipiens* témoins et traitées (CL₅₀) est enregistrée à 24, 48 et 72 heures après traitement.

3.7.1.1. Efficacité comparée des HEs chez *C. longiareolata*

La comparaison des valeurs moyennes par le test « *t* » de student montre que l'HE de *L. dentata* provoque une diminution significative de l'activité spécifique de l'AChE à 24 ($p=0,004$) et 48h ($p=0,047$), aucun effet n'a été signalé à 72h ($p>0,05$). Pour *M. piperita* et *O. basilicum*, cette réduction est observée à toutes les périodes testées (24h : $p=0,007$ et $0,007$; 48h : $p= 0,009$ et $0,032$; 72h : $p=0,009$ et $0,011$ respectivement) (Fig. 31). De plus, on note que cette activité est trop affectée par les HEs de *M. piperita* comparativement à celles des autres plantes et cela à tous les temps testés (24, 48 et 72heures).

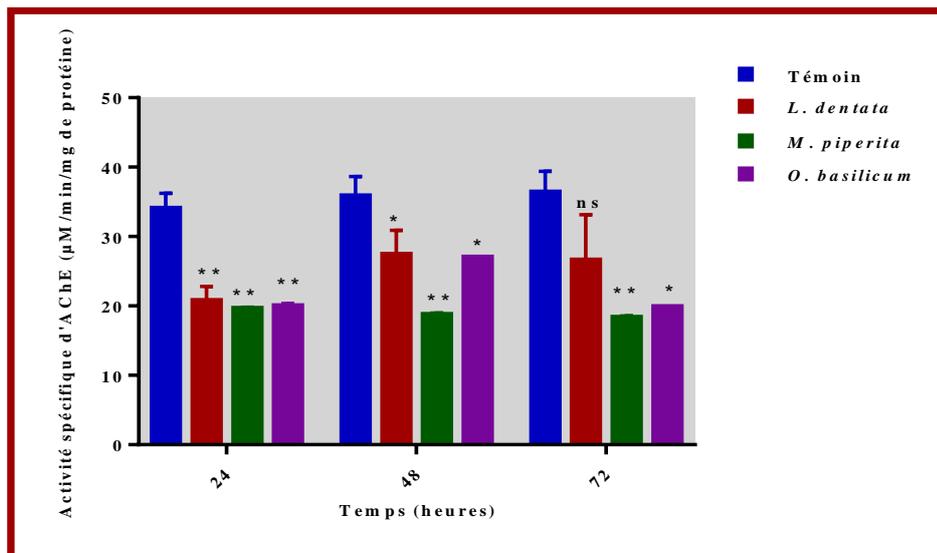


Figure 31. Effet des HEs (CL_{50}) sur l'activité spécifique de l'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* ($m \pm SD$, $n=3$). (ns Différence non significative ($p \geq 0,05$), * Différence significative ($p < 0,05$), ** Différence hautement significative ($p < 0,01$) entre les séries témoins et traitées).

Le classement des différents traitements a été réalisé grâce au test HSD de Tukey. Ce classement par ordre décroissant de l'activité spécifique de l'AChE est résumé dans le Tableau 24. Les résultats mettent en évidence l'existence de 2 groupes à 24 et 72 heures, le premier groupe est composé uniquement des témoins alors que le deuxième groupe est constitué des 3 traitements. Par contre à 48 heures, on distingue trois groupes de moyennes, les témoins forment le premier groupe, *L. dentata* et *O. basilicum* forment le deuxième groupe et le troisième groupe est représenté par *M. piperita*.

Tableau 24. Classement par ordre décroissant de l'activité spécifique de l'AChE chez *C. longiareolata* après traitement aux HEs (CL₅₀) : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	34,06	a
	<i>L. dentata</i>	20,77	b
	<i>O. basilicum</i>	20,04	b
	<i>M. piperita</i>	19,65	b
48	Témoins	35,84	a
	<i>L. dentata</i>	27,43	b
	<i>O. basilicum</i>	27,00	b
	<i>M. piperita</i>	18,76	c
72	Témoins	36,38	a
	<i>L. dentata</i>	26,60	b
	<i>O. basilicum</i>	19,88	b
	<i>M. piperita</i>	18,36	b

3.7.1.2. Efficacité comparée des HEs chez *C. pipiens*

La comparaison des séries témoins et traitées (CL₅₀) montre que les HEs de *L. dentata*, *M. piperita* et *O. basilicum* provoquent une diminution significative de l'activité spécifique de l'AChE à 24 heures ($p=0,041$; $0,002$ et $0,01$ respectivement), à 48 heures ($p<0,001$) et à 72 heures ($p<0,001$; $<0,001$; $0,004$ respectivement) (Fig. 32).

Le Tableau 25 présente le classement décroissant des différents traitements utilisés selon leurs effets sur l'activité spécifique de l'AChE grâce au test HSD de Tukey. Les résultats ont permis de mettre en évidence 3 groupes distincts à 24 heures : le premier groupe, englobe les témoins, le deuxième représente le traitement à l'HE de *L. dentata* et le troisième englobe les HEs de l'*O. basilicum* et de *M. piperita* ; il faut souligner que ces deux huiles ont des effets similaires mais plus importants que ceux de *L. dentata*. A 48 et 72 heures, 4 groupes sont constatés, chacun étant représenté par un traitement. De plus, on note que la menthe est la plante la plus efficace sur l'AChE à 24 et 72 heures, par contre à 48 heures, l'effet marqué est enregistré chez le basilic.

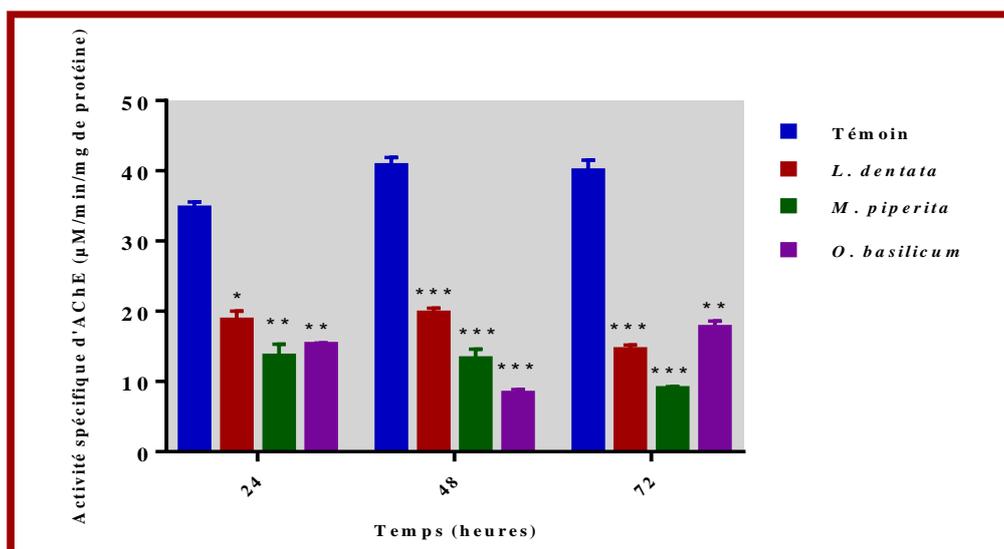


Figure 32. Effet des HEs (CL₅₀) sur l'activité spécifique de l'AChE (µM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de *C. pipiens* (m ± SD ; n= 3). (* Différence significative (p<0,05), ** Différence hautement significative (p<0,01), *** Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).

Tableau 25. Classement par ordre décroissant de l'activité spécifique de l'AChE, chez *C. pipiens* après traitement aux HEs (CL₅₀) : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	34,70	a
	<i>L. dentata</i>	18,72	b
	<i>O. basilicum</i>	15,28	c
	<i>M. piperita</i>	13,61	c
48	Témoins	40,74	a
	<i>L. dentata</i>	19,72	b
	<i>M. piperita</i>	13,23	c
	<i>O. basilicum</i>	8,32	d
72	Témoins	39,97	a
	<i>O. basilicum</i>	17,67	b
	<i>L. dentata</i>	14,51	c
	<i>M. piperita</i>	08,96	d

3.7.1.3. Effet comparé de *L. dentata* sur l'AChE chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Les résultats mentionnés dans le tableau 26, montrent que le taux d'inhibition de l'activité spécifique de l'AChE après traitement à la lavande (CL₅₀) est de l'ordre de 39,01%, 23,46% et 26,88% chez *C. longiareolata* et de 46,05%, 51,59 et 63,69% chez *C. pipiens* et cela à 24, 48 et 72heures après traitement respectivement. Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence 2 groupes de moyennes à 24heures, un groupe renferme les témoins et un groupe composé de traités des deux espèces. A 48 et 72heures, 3 groupes sont signalés, le premier groupe est représenté par les témoins des deux espèces, un deuxième groupe est constitué des traités de *Culiseta* et un dernier groupe formé par les traités de *Culex*. A partir de ces données, on peut conclure que *Culex pipiens* est l'espèce la plus affectée par *L. dentata*.

Tableau 26. Effet de l'HE de *L. dentata* (CL₅₀) sur l'activité spécifique de l'AChE chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Témoins		CL ₅₀	
	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
24	34,70 ± 0,88 a	34,06 ± 2,17 a	20,77 ± 2,06 b	18,72 ± 1,31 b
48	40,74 ± 1,16 a	35,84 ± 2,81 a	27,43 ± 3,46 b	19,72 ± 0,71 c
72	39,97 ± 1,57 a	36,38 ± 3,01 a	26,60 ± 6,54 b	14,51 ± 0,66 c

3.7.1.4. Effet comparé de *M. piperita* sur l'AChE chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Les résultats mentionnés dans le tableau 27, montrent que le taux d'inhibition de l'activité spécifique de l'AChE après traitement à la menthe (CL₅₀) est de l'ordre de 42,30%, 47,65% et 49,53% chez *C. longiareolata* et de 60,77%, 67,52% et 77,58% chez *C. pipiens* et cela à 24, 48 et 72heures respectivement. Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence 3 groupes de moyennes à tous les temps testés, un groupe renfermant les témoins des deux espèces, un deuxième groupe est constitué des traités de *Culiseta* et un dernier groupe formé par les traités de *Culex*. A partir de ces données, on peut conclure que *C. pipiens* est l'espèce la plus affectée par *M. piperita*.

Tableau 27. Effet de l'HE de *M. piperita* (CL₅₀) sur l'activité spécifique de l'AChE chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Témoins		CL ₅₀	
	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
24	34,70 ± 0,88 a	34,06 ± 2,17 a	19,65 ± 0,15 b	13,61 ± 1,71 c
48	40,74 ± 1,16 a	35,84 ± 2,81 a	18,76 ± 0,23 b	13,23 ± 1,37 c
72	39,97 ± 1,57 a	36,38 ± 3,01 a	18,36 ± 0,22 b	08,96 ± 0,31 c

3.7.1.5. Effet comparé de l'*O.basilicum* sur l'AChE chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Les résultats mentionnés dans le tableau 28, montrent que le taux d'inhibition de l'activité spécifique de l'AChE après traitement au basilic (CL₅₀) est de l'ordre de 41,16%, 24,66% et 45,35% chez *C. longiareolata* et de 55,96%, 79,57% et 55,79% chez *C. pipiens* et cela à 24, 48 et 72heures respectivement. Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 3 groupes de moyennes à 24 heures, un groupe renfermant les témoins des deux espèces, un deuxième groupe est constitué des traités de *Culiseta* et un dernier groupe formé par les traités de *Culex*. Par contre à 48 heures, 4 groupes sont signalés, chacun étant représenté par une série. A 72 heures, on constate 2 groupes distincts, un premier groupe qui renferme les témoins et un deuxième groupe composé de traités des deux espèces. A partir de ces données, on peut conclure que *C. pipiens* est l'espèce la plus affectée par ce traitement.

Tableau 28. Effet de l'HE de l'*O. basilicum* (CL₅₀) sur l'activité spécifique de l'AChE chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Témoins		CL ₅₀	
	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
24	34,70 ± 0,88 a	34,06 ± 2,17 a	20,04 ± 0,30 b	15,28 ± 0,20 c
48	40,74 ± 1,16 a	35,84 ± 2,81 b	27,00 ± 0,03 c	08,32 ± 0,52 d
72	39,97 ± 1,57 a	36,38 ± 3,01 a	19,88 ± 0,02 b	17,67 ± 0,93 b

D'après les résultats obtenus, on remarque que les HEs présentent une neurotoxicité chez les larves de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* et que *M. piperita* a un effet plus marqué sur l'activité spécifique de l'AChE comparativement à *L. dentata* et *O. basilicum*.

3.7.2. Effet sur le taux du glutathion

Le taux du glutathion ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* et *C. pipiens* témoins et traitées (CL₅₀) est enregistré à 24, 48 et 72 heures après traitement.

3.7.2.1. Efficacité comparée des HEs chez *C. longiareolata*

La comparaison des moyennes par le test « *t* » de student montre que les HEs de *L. dentata*, de l'*O. basilicum* et de *M. piperita* provoquent une diminution significative du taux de la GSH à 24 ($p < 0,001$; $p < 0,001$ et $p = 0,034$), 48 ($p < 0,001$) et 72 heures ($p < 0,001$; $p < 0,001$ et $p = 0,017$) après traitement (Fig. 33).

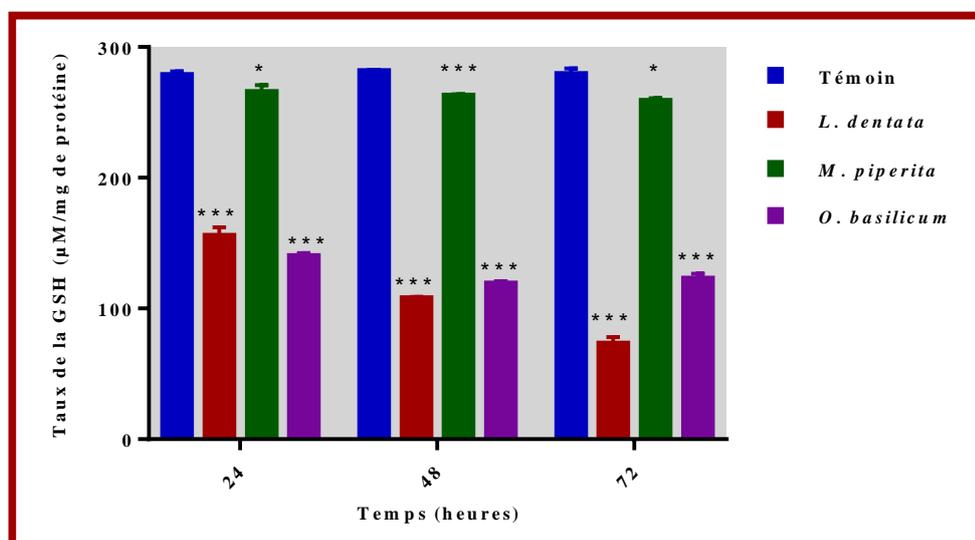


Figure 33. Effet des HEs (CL₅₀) sur le taux de la GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* ($m \pm SD$; $n = 3$). (* Différence significative ($p < 0,05$), *** Différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les séries témoins et traitées).

Un classement par ordre décroissant du taux de la GSH est résumé dans le tableau 29. Les résultats mettent en évidence l'existence de 4 groupes, chacun étant représenté par une série. Le basilic montre l'effet le plus marqué à 24 heures, alors que la lavande à 48 et 72 heures.

Tableau 29. Classement par ordre décroissant du taux de la GSH, chez *C. longiareolata* après traitement aux HEs (CL₅₀) : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	278,57	a
	<i>M. piperita</i>	265,59	b
	<i>L. dentata</i>	155,70	c
	<i>O. basilicum</i>	140,19	d
48	Témoins	281,62	a
	<i>M. piperita</i>	262,78	b
	<i>O. basilicum</i>	119,22	c
	<i>L. dentata</i>	107,81	d
72	Témoins	279,37	a
	<i>M. piperita</i>	258,75	b
	<i>O. basilicum</i>	122,98	c
	<i>L. dentata</i>	73,01	d

3.7.2.2. Efficacité comparée des HEs chez *C. pipiens*

La comparaison des valeurs moyennes indique une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) du taux de glutathion chez les séries traitées avec les HEs des trois plantes étudiées à tous les temps testés (24, 48 et 72heures) comparativement aux témoins (Fig. 34).

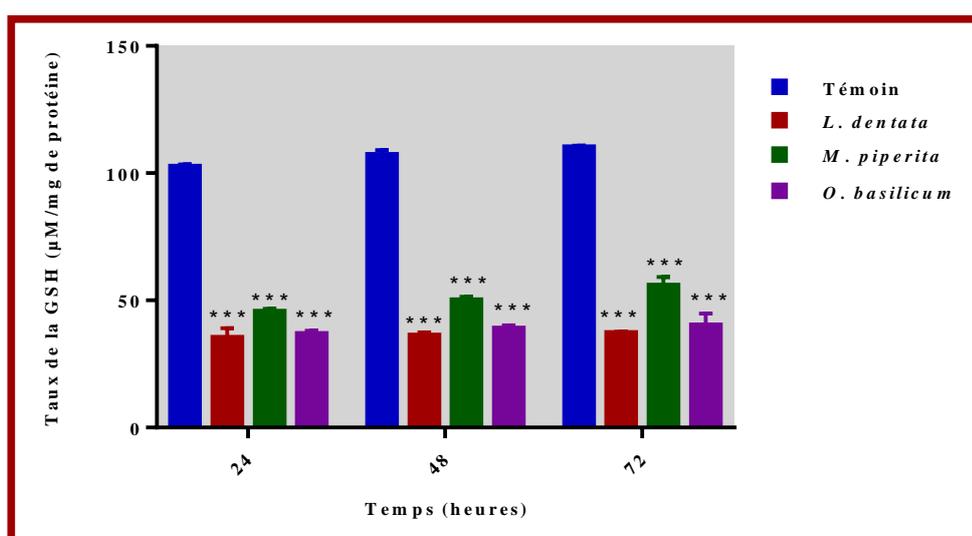


Figure 34. Effet des HEs (CL₅₀) sur le taux de la GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de *C. pipiens* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). (***) Différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les séries témoins et traitées).

Pour les larves 4 de *C. pipiens*, le classement relatif au taux de la GSH (Tableau 30), a permis de mettre en évidence 3 groupes distincts à différents temps, le premier est représenté par les témoins, le second par les traités à la menthe et le dernier renferme les traités à la lavande et le basilic, ce qui confirme le pouvoir toxique élevé de la menthe par rapport aux deux autres plantes testées.

Tableau 30. Classement par ordre décroissant du taux de la GSH, chez *C. pipiens* après traitement aux HEs (CL₅₀): test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	102,54	a
	<i>M. piperita</i>	45,52	b
	<i>L. dentata</i>	35,31	c
	<i>O. basilicum</i>	36,77	c
48	Témoins	107,22	a
	<i>M. piperita</i>	50,02	b
	<i>L. dentata</i>	36,23	c
	<i>O. basilicum</i>	38,95	c
72	Témoins	110,20	a
	<i>M. piperita</i>	55,84	b
	<i>L. dentata</i>	37,15	c
	<i>O. basilicum</i>	40,23	c

3.7.2.3. Effet comparé de *L. dentata* sur le taux de la GSH chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Les résultats mentionnés dans le tableau 31, montrent que le taux de diminution de la GSH après traitement à la lavande (CL₅₀) est de l'ordre de 44,10%, 61,71% et 73,86% chez *C. longiareolata* et de 65,56%, 66,20 et 66,28% chez *C. pipiens* et cela à 24, 48 et 72heures respectivement. Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence 4 groupes de moyennes à 24 et 72heures, chacun étant représenté par une série. Par contre à 48heures, 3 groupes sont signalés, le premier est représenté par les témoins de *C. longiareolata*, un deuxième est constitué des témoins de *Culex* et des traités de *Culiseta* et un dernier groupe formé par les traités de *Culex*. A partir de ces données, on peut conclure que *C. pipiens* est l'espèce la plus affectée par cette plante.

Tableau 31. Effet de l'HE de *L. dentata* (CL₅₀) sur le taux de la GSH chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Témoins		CL ₅₀	
	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
24	278,57 ± 2,92 a	102,54 ± 0,91 b	155,70 ± 6,40 c	35,31 ± 3,77 d
48	281,62 ± 0,90 a	107,22 ± 1,81 b	107,81 ± 1,11 c	36,23 ± 1,24 d
72	279,37 ± 4,22 a	110,20 ± 0,62 b	73,01 ± 5,14 c	37,15 ± 0,51 d

3.7.2.4. Effet comparé de *M. piperita* sur le taux de la GSH chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Les résultats mentionnés dans le tableau 32, montrent que le taux de diminution du glutathion après traitement à la menthe (CL₅₀) est de l'ordre de 4,65%, 6,68% et 7,38% chez *C. longiareolata* et de 55,60%, 53,13% et 49,32% chez *C. pipiens* et cela à 24, 48 et 72heures après traitement respectivement. Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence 4 groupes de moyennes, chacun étant représenté par une série et cela à tous les

temps testés (24, 48 et 72 heures). A partir de ces données, on peut conclure que *C. pipiens* est l'espèce la plus affectée par *M. piperita*.

Tableau 32. Effet de l'HE (CL₅₀) de *M. piperita* sur le taux de la GSH chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Témoins		CL ₅₀	
	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
24	278,57 ± 2,92 a	102,54 ± 0,91 b	265,59 ± 5,33 c	45,52 ± 1,14 d
48	281,62 ± 0,90 a	107,22 ± 1,81 b	262,78 ± 1,02 c	50,02 ± 1,39 d
72	279,37 ± 4,22 a	110,20 ± 0,62 b	258,75 ± 2,18 c	55,84 ± 3,30 d

3.7.2.5. Effet comparé de l'*O. basilicum* sur le taux de la GSH chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Les résultats mentionnés dans le tableau 33, montrent que le taux de diminution de la GSH après traitement au basilic (CL₅₀) est de l'ordre de 49,67%, 57,66% et 55,97% chez *C. longiareolata* et de 64,14%, 63,67% et 63,49% chez *C. pipiens* et cela à 24, 48 et 72heures respectivement. Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 4 groupes de moyennes, chacun étant représenté par une série. A partir de ces données, on peut conclure que *C. pipiens* est l'espèce la plus affectée par l'*O. basilicum* comparativement à *C. longiareolata*.

Tableau 33. Effet de l'HE (CL₅₀) de l'*O. basilicum* sur le taux de la GSH chez les larves 4 de *C. longiareolata* et *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Témoins		CL ₅₀	
	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
24	278,57 ± 2,92 a	102,54 ± 0,91 b	140,19 ± 2,13 c	36,77 ± 1,23 d
48	281,62 ± 0,90 a	107,22 ± 1,81 b	119,22 ± 1,62 c	38,95 ± 2,17 d
72	279,37 ± 4,22 a	110,20 ± 0,62 b	122,98 ± 3,76 c	40,23 ± 4,56 d

D'après les résultats obtenus, on peut remarquer que les HEs de trois plantes testées présentent une diminution de la GSH chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens*. Cette réduction est plus remarquable chez les traités à la lavande et le basilic par rapport à la menthe, ce qui traduit une induction du système de détoxification chez ces deux espèces.

3.7.3. Effet sur l'activité spécifique des glutathion S-transférases

L'activité spécifique des GSTs (µM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* et *C. pipiens* témoins et traitées (CL₅₀) est enregistrée à 24, 48 et 72 heures après traitement.

3.7.3.1. Efficacité comparée des HEs chez *C. longiareolata*

La comparaison des valeurs moyennes par le test « *t* » de student, montre que l'HE de *L. dentata* provoque une augmentation non significative de l'activité spécifique des GSTs à 24 heures ($p > 0,05$) et significative à 48 ($p = 0,014$) et 72h ($p = 0,014$). Pour les traités à l'HE de *M. piperita*, on observe une élévation non significative de cette activité à 24 et 48 heures ($p > 0,05$) et significative à 72 heures ($p = 0,027$). Cependant, l'HE de l'*O. basilicum* provoque une augmentation très hautement significative des GSTs à tous les temps testés ($p < 0,001$) (Fig. 35).

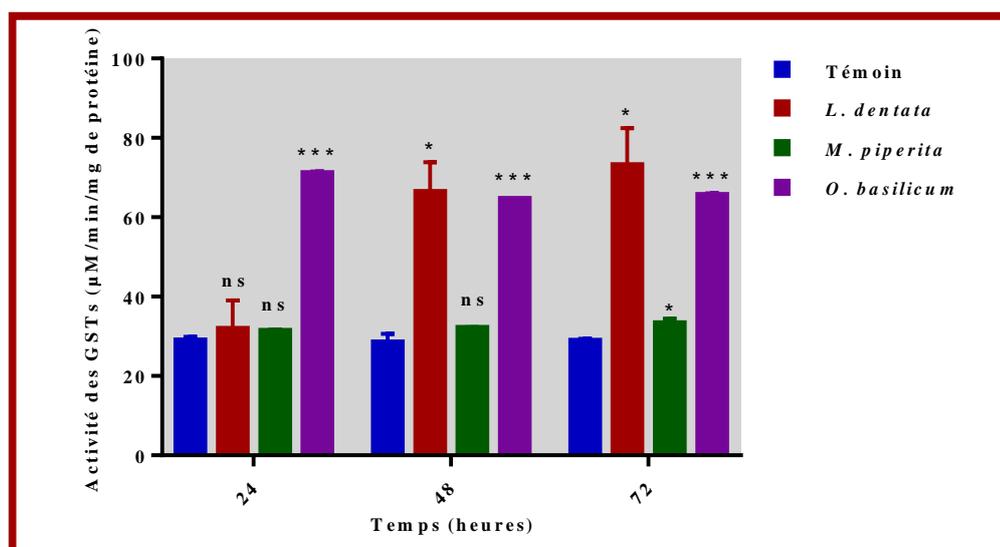


Figure 35. Effet des HEs (CL_{50}) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* ($m \pm SD$, $n=3$). (ns Différence non significative ($p \geq 0,05$), * Différence significative ($p < 0,05$), *** Différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les séries témoins et traitées).

Le classement par ordre croissant des traitements grâce au test HSD de Tukey, relatif à l'activité des GSTs (Tableau 34) a permis d'identifier 2 groupes distincts à toutes les périodes testées. A 24 heures, le premier groupe, englobe les témoins et les traités aux HEs de la lavande et de la menthe, le deuxième groupe représente le traitement à l'HE du basilic. Par contre, à 48 et 72 heures, le premier groupe est composé des témoins et des traités à l'HE de la menthe, et le second groupe est formé des traités à la lavande et le basilic.

Tableau 34 : Classement par ordre croissant de l'activité spécifique des GSTs, chez *C. longiareolata* après traitement à différentes HEs (CL₅₀) : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	28,96	a
	<i>M. piperita</i>	31,36	a
	<i>L. dentata</i>	31,89	a
	<i>O. basilicum</i>	71,10	b
48	Témoins	28,46	a
	<i>M. piperita</i>	32,10	a
	<i>O. basilicum</i>	64,60	b
	<i>L. dentata</i>	66,35	b
72	Témoins	28,88	a
	<i>M. piperita</i>	33,26	a
	<i>O. basilicum</i>	65,60	b
	<i>L. dentata</i>	73,13	b

3.7.3.2. Efficacité comparée des HEs chez *C. pipiens*

Les résultats mentionnés dans la figure montrent une augmentation significative de l'activité spécifique des GSTs chez les traités à l'*Ocimum*, *Lavandula* et *Mentha* et cela à 24 (p<0,001), 48 (p<0,001) et 72heures (p<0,001 ; p<0,001 et p=0,002) (Fig. 33).

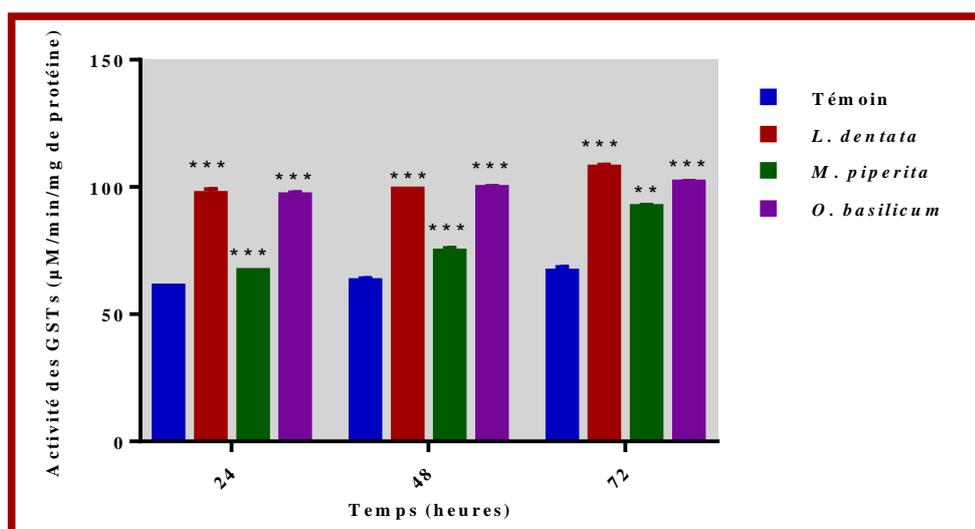


Figure 36. Effet des HEs (CL₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs (µM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de *C. pipiens* ($m \pm SD$, n=3). (** Différence hautement significative (p<0,01), *** Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).

Le classement des moyennes relatives à l'activité des GSTs (Tableau 35), a permis de mettre en évidence 4 groupes distincts à 72 heures, chacun étant représenté par une série. A 24 et 48heures, 3 groupes sont constatés : le premier groupe englobe les témoins, le deuxième représente les traités à la menthe et le troisième groupe est composé des traités au basilic et à la lavande.

Tableau 35. Classement par ordre croissant de l'activité spécifique des GSTs, chez *C. pipiens* après traitement à différentes HEs (CL₅₀) : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	60,97	a
	<i>M. piperita</i>	67,01	b
	<i>O. basilicum</i>	96,77	c
	<i>L. dentata</i>	97,28	c
48	Témoins	63,07	a
	<i>M. piperita</i>	74,72	b
	<i>L. dentata</i>	99,00	c
	<i>O. basilicum</i>	99,66	c
72	Témoins	66,76	a
	<i>M. piperita</i>	92,24	b
	<i>O. basilicum</i>	101,87	c
	<i>L. dentata</i>	107,70	d

D'après ces résultats, on remarque que le traitement des larves de deux espèces de moustiques par les HEs des 3 plantes stimule un système de détoxification qui se traduit par une élévation de l'activité des GSTs et une diminution du taux de la GSH. Ce système est moins efficace chez les larves traitées à la menthe comparativement à la lavande et le basilic.

3.7.3.3. Effet comparé de *L. dentata* sur l'activité spécifique des GSTs chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence 3 groupes de moyennes à 24heures, un groupe renfermant les témoins et les traités de *Culiseta*, un deuxième groupe composé des témoins de *Culex* et un dernier groupe constitué des traités de *Culex*. A 48 et 72heures, 3 groupes sont également signalés, le premier groupe est représenté par les témoins de *Culiseta*, un deuxième groupe est constitué des traités de *Culiseta* et les témoins de *Culex* et un dernier groupe formé par les traités de *Culex*. A partir de ces données, on peut conclure que *Culex pipiens* est l'espèce la plus affectée par *L. dentata* (Tableau 36).

Tableau 36. Effet de l'HE de *L. dentata* (CL₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Témoins		CL ₅₀	
	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
24	28,96 ± 0,93 a	60,97 ± 0,35 b	31,36 ± 0,33 a	97,28 ± 1,95 c
48	28,46 ± 2,15 a	63,07 ± 1,13 b	66,35 ± 7,49 b	99,00 ± 0,30 c
72	28,88 ± 0,46 a	66,76 ± 1,86 b	73,13 ± 9,30 b	107,70 ± 1,14c

3.7.3.4. Effet comparé de *M. piperita* sur l'activité spécifique des GSTs chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes a permis de mettre en évidence 4 groupes de moyennes, chacun étant représenté par une série et cela à 24, 48 et 72 heures. A partir de ces données, on peut conclure que *C. pipiens* est l'espèce la plus affectée par *M. piperita* (Tableau 37).

Tableau 37. Effet de l'HE de *M. piperita* (CL₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Témoins		CL ₅₀	
	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
24	28,96 ± 0,93 a	60,97 ± 0,35 b	31,36 ± 0,33 c	67,01 ± 0,19 d
48	28,46 ± 2,15 a	63,07 ± 1,13 b	32,10 ± 0,23 c	74,72 ± 1,28 d
72	28,88 ± 0,46 a	66,76 ± 1,86 b	33,26 ± 1,19 c	92,24 ± 0,81 d

3.7.3.5. Effet comparé de l'*Ocimum basilicum* sur l'activité spécifique des GSTs chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes met en évidence 4 groupes de moyennes à 24 heures, chacun étant représenté par une série. A 48 et 72 heures, 3 groupes sont signalés, un groupe renferme les témoins de *Culiseta*, un deuxième groupe est constitué des traités de *Culiseta* et les témoins de *Culex* et un dernier groupe formé par les traités de *Culex*. A partir de ces données, on peut conclure que *C. pipiens* est l'espèce la plus affectée par l'*O. basilicum* (Tableau 38).

Tableau 38. Effet de l'HE de l'*O. basilicum* (CL₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Témoins		CL ₅₀	
	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
24	28,96 ± 0,93 a	60,97 ± 0,35 b	71,10 ± 0,40 c	96,77 ± 1,13 d
48	28,46 ± 2,15 a	63,07 ± 1,13 b	64,60 ± 0,01 b	99,66 ± 0,79 c
72	28,88 ± 0,46 a	66,76 ± 1,86 b	65,60 ± 0,43 b	101,87 ± 0,58 c

Le traitement par les huiles essentielles utilisées, provoque une activation du système de détoxification qui se traduit par une élévation de l'activité des GSTs et une diminution du taux de la GSH. Ce système est moins efficace chez les larves traitées par la menthe comparativement à celles traitées par le basilic et la lavande.

3.7.4. Effet sur le taux du malondialdéhyde

Le taux de la MDA (µM/mg de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* et *C. pipiens* témoins et traités (CL₅₀) est enregistré à 24, 48 et 72 heures après traitement.

3.7.4.1. Efficacité comparée des HEs chez *C. longiareolata*

La comparaison des séries témoins et traitées (CL₅₀) indique une augmentation significative du taux de la MDA à 24 (p=0,029), 48 (p=0,016) et 72heures (p=0,018) après traitement à la lavande. Par contre, une augmentation significative a été notée après traitement à la menthe seulement à 24h (p=0,015) et au basilic à 24 (p=0,015) et 72heures (p=0,004). (Fig. 37).

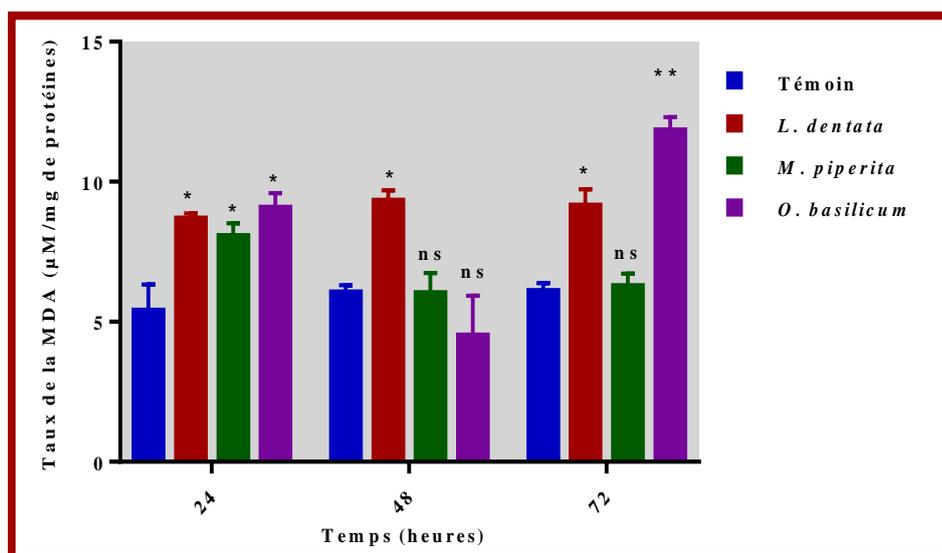


Figure 37. Effet des HEs (CL₅₀) sur le taux de la MDA (µM/mg de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* ($m \pm SD$, n=3). (ns Différence non significative ($p \geq 0,05$), * Différence significative ($p < 0,05$), ** Différence hautement significative ($p < 0,01$) entre les séries témoins et traitées).

Un classement par ordre croissant du taux de la MDA est résumé dans le tableau 39. Les résultats mettent en évidence l'existence de 2 groupes différents à 24, le premier est formé des témoins et le second est constitué des trois traitements. A 48h, le premier groupe englobe les témoins et les traités par la menthe et le basilic, le deuxième groupe représenté par les traités à la lavande. A 72heures, les résultats montrent l'existence de 3 groupes : le premier constitué des témoins et des traités à la menthe, le deuxième groupe formé des traités à la lavande et le troisième représenté par les traités au basilic. De plus, on remarque que le basilic montre l'effet le plus marqué.

Tableau 39 : Classement par ordre croissant du taux de la MDA, chez *C. longiareolata* après traitement à différentes HEs (CL₅₀): test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	5,39	a
	<i>M. piperita</i>	8,05	b
	<i>L. dentata</i>	8,68	b
	<i>O. basilicum</i>	9,07	b
48	<i>O. basilicum</i>	4,51	a
	<i>M. piperita</i>	6,02	a
	Témoins	6,05	a
	<i>L. dentata</i>	9,32	b
72	Témoins	6,10	a
	<i>M. piperita</i>	6,27	a
	<i>L. dentata</i>	9,14	b
	<i>O. basilicum</i>	11,83	c

3.7.4.2. Efficacité comparée des HEs chez *C. pipiens*

La comparaison des moyennes par le test « *t* » de student, indique une augmentation significative du taux de la MDA à tous les temps testés : 24 ($p=0,004$; 0,01 et $<0,001$) ; 48 ($p<0,001$; $p<0,001$ et $p=0,004$) et 72h ($p<0,001$; $p=0,008$ et $p<0,001$) après traitement à la lavande, la menthe et le basilic respectivement (Fig. 38).

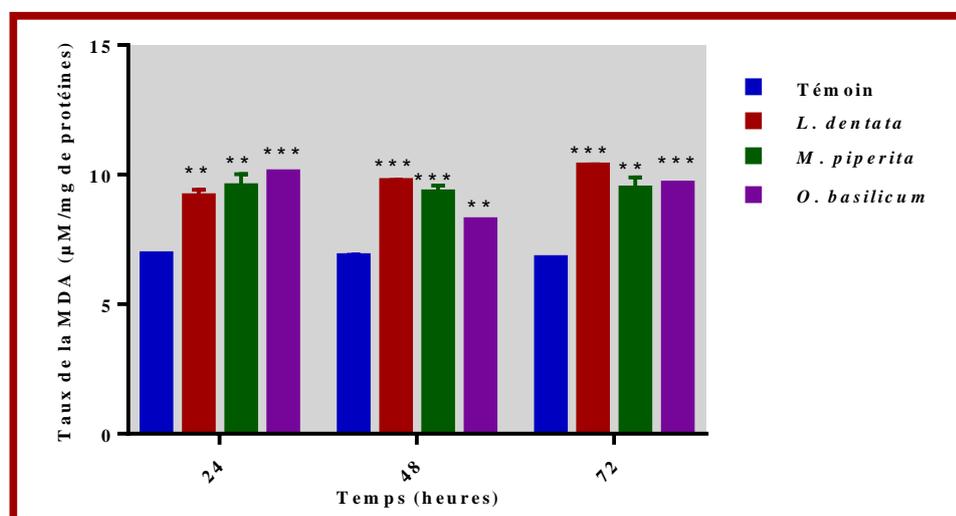


Figure 38. Effet des HEs (CL₅₀) sur le taux de la MDA ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de *C. pipiens* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). (** Différence hautement significative ($p<0,01$), *** Différence très hautement significative ($p<0,001$) entre les séries témoins et traitées).

Le classement des moyennes (tableau 40), a permis de mettre en évidence 4 groupes distincts à 48 h, chacun étant représenté par un traitement avec l'huile de lavande qui montre l'effet le plus important. A 24h, 3 groupes sont constatés : le premier englobe les témoins, le deuxième groupe représenté par les traités à la lavande et la menthe et le troisième formé des traités au basilic. Par contre, à 48h, 4 groupes sont signalés, chacun étant représenté par une

série. A 72h, on a noté la présence de 3 groupes, un groupe formé des témoins, un deuxième constitué des traités à la menthe et au basilic et un dernier groupe constitué des traités à la lavande.

Tableau 40. Classement par ordre croissant du taux de la MDA, chez *C. pipiens* après traitement à différentes HEs (CL₅₀): test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	6,93	a
	<i>L. dentata</i>	9,17	b
	<i>M. piperita</i>	9,56	b
	<i>O. basilicum</i>	10,09	c
48	Témoins	6,86	a
	<i>O. basilicum</i>	8,24	b
	<i>M. piperita</i>	9,32	c
	<i>L. dentata</i>	9,75	d
72	Témoins	6,78	a
	<i>M. piperita</i>	9,47	b
	<i>O. basilicum</i>	9,66	b
	<i>L. dentata</i>	10,36	c

3.7.4.3. Effet comparé de *L. dentata* sur le taux de la MDA chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence 3 groupes de moyennes à 24 et 48heures, un groupe renfermant les témoins de *Culiseta*, un deuxième groupe composé des témoins de *Culex* et un dernier groupe constitué des traités des deux espèces. A 72h, 3 groupes sont également signalés, le premier groupe est représenté par les témoins des deux espèces, un deuxième groupe est constitué des traités de *Culiseta* et un dernier groupe formé par les traités de *Culex*. A partir de ces données, on peut conclure que *C. pipiens* est l'espèce la plus affectée par l'HE de *L. dentata* (Tableau 41).

Tableau 41. Effet de l'HE de *L. dentata* (CL₅₀) sur le taux de la MDA chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Témoins		CL ₅₀	
	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
24	5,39 ± 0,94 a	6,93 ± 0,014 b	8,68 ± 0,19 c	9,17 ± 0,25 c
48	6,05 ± 0,26 a	6,86 ± 0,047 b	9,32 ± 0,37 c	9,75 ± 0,04 c
72	6,10 ± 0,28 a	6,78 ± 0,029 a	9,14 ± 0,59 b	10,36 ± 0,04c

3.7.4.4. Effet comparé de *M. piperita* sur le taux de la MDA chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes, met en évidence 4 groupes de moyennes, chacun étant représenté par un traitement et cela à 24heures. A 48 et 72heures, 2 groupes sont signalés, le premier groupe est représenté par les témoins des deux espèces et les traités de *Culiseta* et un

deuxième groupe composé des traités de *Culex*. A partir de ces données, on peut conclure que *C. pipiens* est l'espèce la plus affectée par *M. piperita* (Tableau 42).

Tableau 42. Effet de l'HE de *M. piperita* (CL₅₀) sur le taux de la MDA chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Témoins		CL ₅₀	
	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
24	5,39 ± 0,94 a	6,93 ± 0,014 b	8,05 ± 0,47 c	9,56 ± 0,46 d
48	6,05 ± 0,26 a	6,86 ± 0,047 a	6,02 ± 0,72 a	9,32 ± 0,26 b
72	6,10 ± 0,28 a	6,78 ± 0,029 a	6,27 ± 0,45 a	9,47 ± 0,42 b

3.7.4.5. Effet comparé de l'*O. basilicum* sur le taux de la MDA chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes met en évidence 3 groupes à 24heures, un groupe renfermant les témoins de *Culiseta*, un deuxième groupe composé des témoins de *Culex* et un dernier groupe constitué des traités des deux espèces. A 48heures, 2 groupes sont signalés, le premier groupe est représenté par les témoins des deux espèces et les traités de *Culiseta* et un groupe composé des traités de *Culex*. Enfin à 72heures, 3 groupes sont également observés, un groupe renfermant les témoins des deux espèces, un deuxième groupe constitué des traités de *Culiseta* et un dernier groupe formé des traités de *Culex*. A partir de ces données, on peut conclure que *C. pipiens* est l'espèce la plus affectée par l'*O. basilicum* (Tableau 43).

Tableau 43. Effet de l'HE de l'*O. basilicum* (CL₅₀) sur le taux de la MDA chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Témoins		CL ₅₀	
	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
24	5,39 ± 0,94 a	6,93 ± 0,01 b	9,07 ± 0,53 c	10,09 ± 0,00 c
48	6,05 ± 0,26 a	6,86 ± 0,04 a	4,51 ± 1,42 a	8,24 ± 0,00 b
72	6,10 ± 0,28 a	6,78 ± 0,02 a	11,83 ± 0,48 b	9,66 ± 0,00 c

3.7.5. Effet sur l'activité spécifique de la catalase

L'activité spécifique de la catalase (µM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* et *C. pipiens* témoins et traitées (CL₅₀) est enregistrée à 24, 48 et 72 heures après traitement.

3.7.5.1. Efficacité comparée des HEs chez *C. longiareolata*

La comparaison des moyennes par le test « *t* » de student, révèle une augmentation significative de l'activité de la catalase à tous les temps testés 24 (p=0,008), 48 (p=0,045) et 72heures (p=0,022) après traitement à la lavande, à 24 (p=0,001) et 48heures (p=0,006) après traitement à la menthe et uniquement à 24heures (p=0,001) après traitement au basilic (Fig. 39).

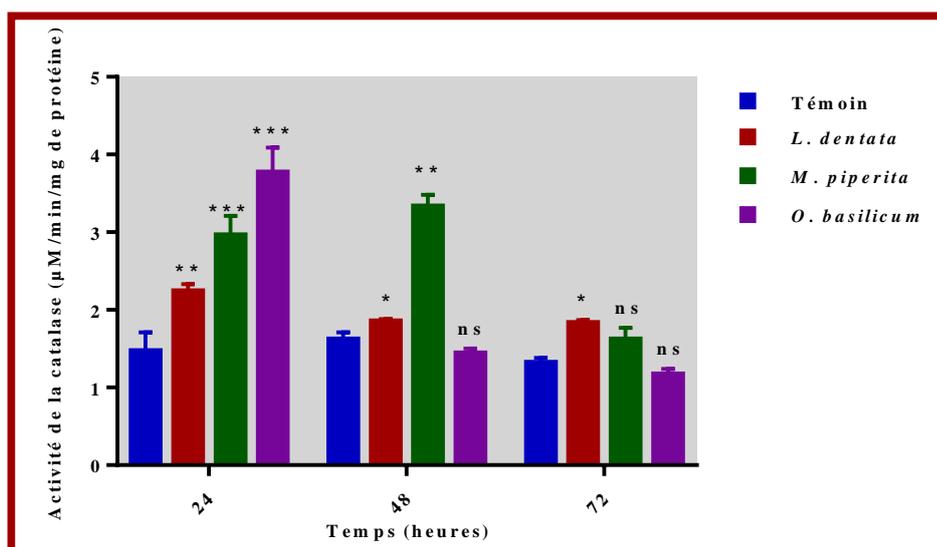


Figure 39. Effet des HEs (CL₅₀) sur l'activité spécifique de la catalase (µM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* (m ± SD, n=3). (ns Différence non significative (p≥0,05), * Différence significative (p<0,05), ** Différence hautement significative (p<0,01), *** Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).

Un classement par ordre croissant de l'activité spécifique de la catalase est résumé dans le tableau 44. Les résultats mettent en évidence l'existence de 3 groupes différents à 24heures, le premier groupe renferme les témoins, le second est constitué des traités à la lavande et la menthe et le troisième est représenté par les traités au basilic. A 48heures, trois groupes sont remarqués, le premier englobe les témoins et les traités au basilic, le deuxième représenté par les traités à la lavande et le troisième constitué des traités à la menthe. A 72heures, les résultats montrent l'existence de 2 groupes : le premier constitué des témoins et les traités au basilic et le deuxième représenté par les traités à la lavande et la menthe.

Tableau 44. Classement par ordre croissant de l'activité spécifique de la catalase, chez *C. longiareolata* après traitement à différentes HEs (CL₅₀): test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	1,47	a
	<i>L. dentata</i>	2,24	b
	<i>M. piperita</i>	2,96	b
	<i>O. basilicum</i>	3,77	c
48	<i>O. basilicum</i>	1,44	a
	Témoins	1,62	a
	<i>L. dentata</i>	1,85	b
	<i>M. piperita</i>	3,33	c
72	<i>O. basilicum</i>	1,17	a
	Témoins	1,32	a
	<i>M. piperita</i>	1,62	b
	<i>L. dentata</i>	1,83	b

3.7.5.2. Efficacité comparée des HEs chez *C. pipiens*

Chez les larves de *C. pipiens*, l'étude comparative des moyennes par le test « t » de student des séries témoins et traitées à la lavande et à la menthe, montre une variation significative de l'activité de la catalase à 48 (p=0,018 et p=0,012) et 72heures (p=0,023 et p=0,011) mais aucune différence n'a été signalée à 24heures. Par contre, l'HE de l'*O. basilicum* montre une augmentation significative de ce biomarqueur à tous les temps testés, 24 (p=0,022), 48 (p=0,019) et 72heures (p=0,039) par rapport aux séries témoins (Fig. 40).

Le classement relatif à l'activité spécifique de la catalase (Tableau 45), a permis de mettre en évidence 4 groupes de moyennes à 48 et 72heures, chacun étant représenté par une série. Par contre à 24heures, 2 groupes sont constatés : le premier englobe les témoins et les traités à la lavande et la menthe et le deuxième représenté par les traités au basilic.

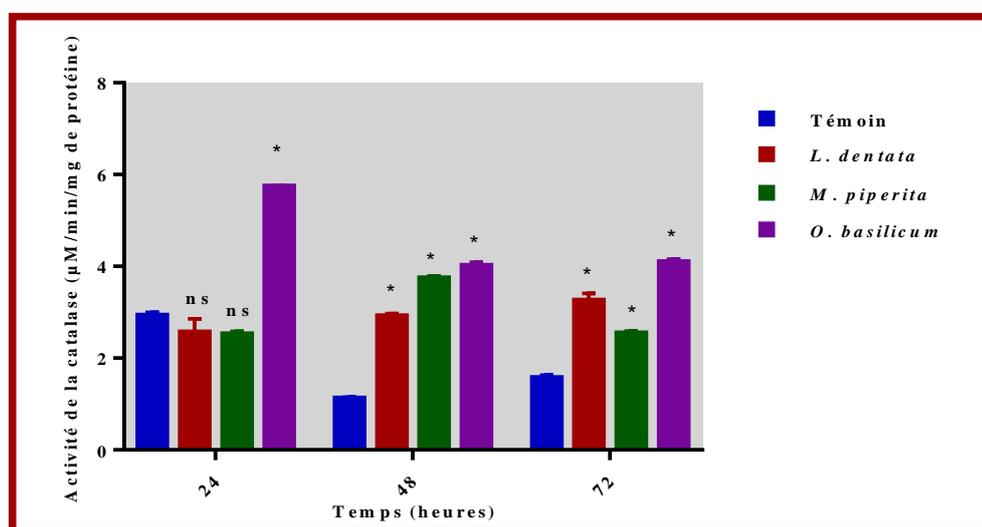


Figure 40. Effet des HEs (CL₅₀) sur l'activité spécifique de la catalase (µM/min/mg de protéines) chez les larves du quatrième stade de *C. pipiens* ($m \pm SD$, n=3). (ns Différence non significative (p≥0,05), * Différence significative (p<0,05) entre les séries témoins et traitées).

Tableau 45. Classement par ordre croissant de l'activité spécifique de la catalase, chez *C. pipiens* après traitement à différentes HEs (CL₅₀) : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	<i>M. piperita</i>	2,52	a
	<i>L. dentata</i>	2,56	a
	Témoins	2,93	a
	<i>O. basilicum</i>	5,74	b
48	Témoins	1,12	a
	<i>L. dentata</i>	2,92	b
	<i>M. piperita</i>	3,74	c
	<i>O. basilicum</i>	4,02	d
72	Témoins	1,57	a
	<i>M. piperita</i>	2,54	b
	<i>L. dentata</i>	3,26	c
	<i>O. basilicum</i>	4,10	d

3.7.5.3. Effet comparé de *L. dentata* sur l'activité spécifique de la catalase chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence 3 groupes de moyennes à 24heures, un groupe renfermant les témoins de *Culiseta*, un deuxième groupe composé des traités de *Culiseta* et un dernier groupe constitué des témoins et des traités de *Culex*. A 48 et 72heures, 4 groupes sont signalés, chaque groupe est représenté par une série (Tableau 46).

Tableau 46. Effet de l'HE de *L. dentata* (CL₅₀) sur l'activité spécifique de la catalase chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Témoins		CL ₅₀	
	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
24	1,47 ± 0,24 a	2,93 ± 0,07 c	2,24 ± 0,09 b	2,56 ± 0,30 c
48	1,62 ± 0,09 a	1,12 ± 0,03 b	1,85 ± 0,03 c	2,92 ± 0,05 d
72	1,32 ± 0,06 a	1,57 ± 0,06 b	1,83 ± 0,04 c	3,26 ± 0,15 d

3.7.5.4. Effet comparé de *Mentha piperita* sur l'activité spécifique de la catalase chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence 2 groupes de moyennes à 24heures, un groupe renfermant les témoins de *Culiseta* et un groupe qui englobe toutes les autres séries. A 48heures, 4 groupes sont signalés, chacun étant représenté par une série. A 72heures, 3 groupes sont observés, un groupe constitué des témoins de *Culiseta*, un deuxième groupe composé des traités de *Culiseta* et les témoins de *Culex* et un dernier groupe formé par les traités de *Culex* (Tableau 47).

Tableau 47. Effet de l'HE de *M. piperita* (CL₅₀) sur l'activité spécifique de la catalase chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Témoins		CL ₅₀	
	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
24	1,47 ± 0,24 a	2,96 ± 0,25 b	2,93 ± 0,07 b	2,52 ± 0,06 b
48	1,62 ± 0,09 a	3,33 ± 0,15 b	1,12 ± 0,03 c	3,74 ± 0,05 d
72	1,32 ± 0,06 a	1,62 ± 0,15 b	1,57 ± 0,06 b	2,54 ± 0,05 c

3.7.5.5. Effet comparé de *Ocimum basilicum* sur l'activité spécifique de la catalase chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence 4 groupes de moyennes chacun étant représenté par un traitement à 24 et 48heures. A 72heures, 3 groupes sont signalés, un groupe renfermant les témoins et les traités de *Culiseta*, un deuxième groupe composé des témoins de *Culex* et un dernier groupe constitué des traités de *Culex* (Tableau 48).

Tableau 48. Effet de l'HE de l'*O. basilicum* (CL₅₀) sur l'activité spécifique de la catalase chez les larves 4 de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Témoins		CL ₅₀	
	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>C. pipiens</i>
24	1,47 ± 0,24 a	2,93 ± 0,07 b	3,77 ± 0,32 c	5,74 ± 0,02 d
48	1,62 ± 0,09 a	1,12 ± 0,03 b	1,44 ± 0,06 c	4,02 ± 0,07 d
72	1,32 ± 0,06 a	1,57 ± 0,06 b	1,17 ± 0,07 a	4,10 ± 0,06 c

3.8. Impact des HEs sur la croissance des moustiques

3.8.1. Effet sur la croissance pondérale

L'effet des HEs (CL₅₀) a été testé sur la croissance pondérale des individus de différents stades : stade larvaire 4, stade nymphal, stade adulte mâle et femelle chez les deux espèces de moustiques.

3.8.1.1. Efficacité comparée des HEs chez *C. longiareolata*

La comparaison des valeurs moyennes par le test « *t* » de student des séries témoins et traitées, montre que l'application de l'HE de l'*O. basilicum* affecte le poids corporel des individus de tous les stades étudiés en le diminuant significativement (larves 4: $p=0,048$; pupe: $p=0,016$; mâle : $p=0,034$ et femelle: $p=0,006$). Pour *L. dentata*, les résultats révèlent une diminution significative uniquement au stade L4 ($p=0,017$) et aucun effet n'a été signalé chez les autres stades puisqu'aucune différence significative n'a été enregistrée ($p>0,05$). Par contre l'huile de *M. piperita*, provoque une diminution significative du poids corporel des larves 4 ($p= 0,008$), des pupes ($p= 0,036$) et des adultes femelles ($p=0,026$) mais aucun effet n'a été signalé chez les mâles ($p>0,05$). A partir de ces résultats, on peut conclure que ce paramètre est trop affecté par l'*O. basilicum* comparativement aux autres plantes (Fig. 41).

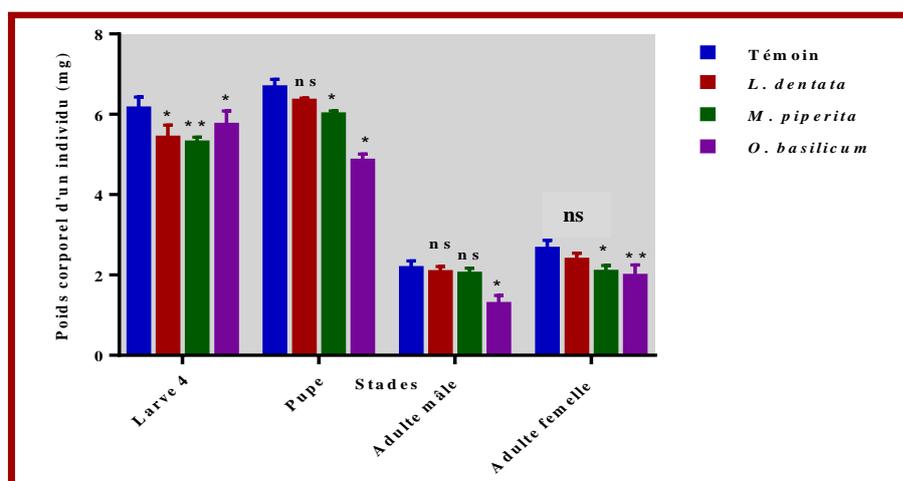


Figure 41. Effet des HEs (CL₅₀) sur le poids corporel (mg) des individus de quelques stades chez *C. longiareolata* (m ± SD, n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus). (ns Différence non significative ($p\geq 0,05$), * Différence significative ($p<0,05$), ** Différence hautement significative ($p<0,01$) entre les séries témoins et traitées).

Un classement par ordre décroissant du poids corporel met en évidence l'existence de 2 groupes chez les larves 4, le premier contient les témoins et les traités à la lavande et le basilic, et le second groupe englobe les traités à la menthe. Chez les pupes, 3 groupes sont constatés : un groupe témoins et traités à la lavande, un deuxième groupe représenté par les traités à la menthe et un troisième groupe formé des traités au basilic. De plus, on note chez les adultes mâles, deux classes : la première classe est constituée des témoins et des traités à la lavande et à la menthe et la deuxième classe est représentée par les traités au basilic. Par ailleurs, chez les adultes femelles, deux groupes sont distingués : un premier groupe représenté par les témoins et les traités à la lavande et un deuxième groupe renfermant les traités au basilic et à la menthe (Tableau 49).

Tableau 49 : Classement par ordre décroissant du poids corporel des individus de différents stades chez *C. longiareolata* après traitement aux HEs (CL₅₀) : test HSD de Tukey.

Stades	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
Larve 4	Témoins	6,14	a
	<i>O. basilicum</i>	5,73	a
	<i>L. dentata</i>	5,41	a
	<i>M. piperita</i>	5,29	b
Pupe	Témoins	6,66	a
	<i>L. dentata</i>	6,33	a
	<i>M. piperita</i>	5,99	b
	<i>O. basilicum</i>	4,84	c
Adulte mâle	Témoins	2,16	a
	<i>L. dentata</i>	2,06	a
	<i>M. piperita</i>	2,02	a
	<i>O. basilicum</i>	1,27	b
Adulte femelle	Témoins	2,64	a
	<i>L. dentata</i>	2,37	a
	<i>M. piperita</i>	2,07	b
	<i>O. basilicum</i>	1,97	b

3.8.1.2. Efficacité comparée des HEs chez *C. pipiens*

D'après les résultats mentionnés dans la Figure 42, on remarque que le traitement à la lavande ne montre aucun effet sur le poids corporel des individus de tous les stades étudiés puisqu'aucune différence ($p > 0,05$) n'a été signalée entre les témoins et les traités (CL₅₀). Par contre, l'application de *M. piperita* et de l'*O. basilicum*, diminuent significativement et respectivement le poids corporel des larves 4 ($p = 0,031$ et $0,009$), des pupes ($p = 0,014$ et $0,002$), des adultes mâles ($p = 0,014$ et $0,009$) et des adultes femelles ($p = 0,033$ et $p = 0,006$). De plus, on note que le basilic est la plante qui affecte le plus ce paramètre par rapport à la lavande et la menthe.

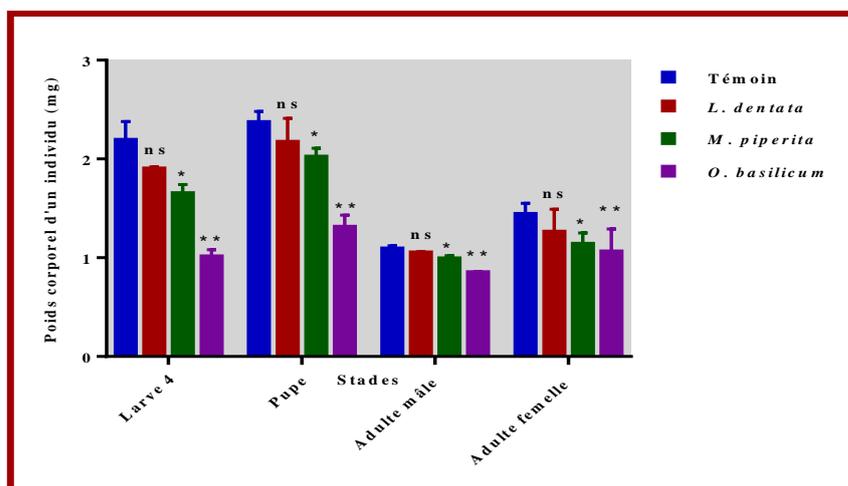


Figure 42. Effet des HEs (CL₅₀) sur le poids corporel (mg) des individus de quelques stades chez *C. pipiens* ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus). (ns Différence non significative ($p \geq 0,05$), * Différence significative ($p < 0,05$), ** Différence hautement significative ($p < 0,01$) entre les séries témoins et traitées).

Le classement des moyennes relatives au poids corporel, montre 3 groupes distincts chez les larves 4 : le premier groupe est composé uniquement des témoins, le deuxième groupe est constitué des traités à la lavande et à la menthe et le dernier groupe est formé des traités au basilic. Chez les pupes, on a noté la présence de deux groupes : le premier représenté par les témoins et les traités à la lavande et à la menthe et le second groupe constitué uniquement des traités au basilic. Par contre, chez les adultes mâles, 3 groupes de moyennes sont constatés : le premier englobe les témoins et les traités à la lavande, le deuxième représenté par les traités à la menthe et le dernier renferme les traités au basilic. Cependant, un seul groupe est signalé chez les adultes femelles et qui englobe toutes les séries (Tableau 50).

Tableau 50. Classement par ordre décroissant du poids corporel des individus de différents stades chez *C. pipiens* après traitement aux HEs (CL₅₀): test HSD de Tukey.

Stades	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
Larve 4	Témoins	2,19	a
	<i>L. dentata</i>	1,90	b
	<i>M. piperita</i>	1,65	b
	<i>O. basilicum</i>	1,01	c
Pupa	Témoins	2,37	a
	<i>L. dentata</i>	2,17	a
	<i>M. piperita</i>	2,02	a
	<i>O. basilicum</i>	1,31	b
Adulte mâle	Témoins	1,09	a
	<i>L. dentata</i>	1,05	a
	<i>M. piperita</i>	0,99	b
	<i>O. basilicum</i>	0,85	c
Adulte femelle	Témoins	1,44	a
	<i>L. dentata</i>	1,26	a
	<i>M. piperita</i>	1,14	a
	<i>O. basilicum</i>	1,06	a

3.8.1.3. Effet comparé de *L. dentata* sur le poids corporel des individus de *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence 3 groupes de moyennes au stade larvaire, un groupe renfermant les témoins de *Culiseta*, un deuxième groupe composé des traités de *Culiseta* et un dernier groupe constitué des témoins et des traités de *Culex*. Chez les pupes, les adultes mâles et les adultes femelles, 2 groupes sont signalés, un groupe formé des témoins de 2 espèces et un deuxième groupe représenté par les traités (Tableau 51).

Tableau 51. Effet de *L. dentata* (CL₅₀) sur le poids corporel des individus de différents stades de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Stades	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>	
	Témoins	CL ₅₀	Témoins	CL ₅₀
Larve 4	6,14 ± 0,29 a	5,41 ± 0,32 b	2,19 ± 0,19 c	1,90 ± 0,02 c
Pupe	6,66 ± 0,21 a	6,33 ± 0,07 a	2,37 ± 0,11 b	2,17 ± 0,24 b
Mâle	2,16 ± 0,19 a	2,06 ± 0,15 a	1,09 ± 0,03 b	1,05 ± 0,01 b
Femelle	2,64 ± 0,22 a	2,37 ± 0,17 a	1,44 ± 0,11 b	1,26 ± 0,23 b

3.8.1.4. Effet comparé de *M. piperita* sur le poids corporel des individus de *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 4 groupes de moyennes au stade larvaire et nymphal, chacun étant représenté par un traitement. Au stade adulte mâle, 2 classes sont signalées, l'une renferme les témoins et les traités de *Culiseta* et l'autre classe composé des témoins et des traités de *Culex*. Au stade adulte femelle, 3 groupes sont observés, un groupe renfermant les témoins de *Culiseta*, un deuxième constitué des traités de *Culiseta* et un dernier groupe formé des témoins et des traités de *Culex* (Tableau 52).

Tableau 52. Effet de *M. piperita* (CL₅₀) sur le poids corporel des individus de différents stades de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Stades	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>	
	Témoins	CL ₅₀	Témoins	CL ₅₀
Larve 4	6,14 ± 0,29 a	5,29 ± 0,14 b	2,19 ± 0,19 c	1,65 ± 0,08 d
Pupe	6,66 ± 0,21 a	5,99 ± 0,09 b	2,37 ± 0,11 c	2,02 ± 0,08 d
Mâle	2,16 ± 0,19 a	2,02 ± 0,15 a	1,09 ± 0,03 b	0,99 ± 0,03 b
Femelle	2,64 ± 0,22 a	2,07 ± 0,17 b	1,44 ± 0,11 c	1,14 ± 0,11 c

3.8.1.5. Effet comparé de *Ocimum basilicum* sur le poids corporel des individus de *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 3 groupes de moyennes au stade larvaire, un groupe renfermant les témoins et les traités de *Culiseta*, un

deuxième groupe composé des témoins de *Culex* et un dernier groupe constitué des traités de *Culex*. Au stade nymphal, 4 groupes sont signalés, chacun étant représenté par une série. Le stade adulte mâle et femelle, 3 groupes sont également trouvés, un groupe qui renferme les témoins de *Culiseta*, un deuxième composé des traités de *Culiseta* et un dernier groupe constitué des témoins et des traités de *Culex* (Tableau 53).

Tableau 53. Effet de l'*O. basilicum* (CL₅₀) sur le poids corporel des individus de différents stades de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Stades	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>	
	Témoins	CL ₅₀	Témoins	CL ₅₀
Larve 4	6,14 ± 0,29 a	5,73 ± 0,35 a	2,19 ± 0,19 b	1,01 ± 0,06 c
Pupe	6,66 ± 0,21 a	4,84 ± 0,17 b	2,37 ± 0,11 c	1,31 ± 0,12 d
Mâle	2,16 ± 0,19 a	1,27 ± 0,22 b	1,09 ± 0,03 c	0,85 ± 0,01 c
Femelle	2,64 ± 0,22 a	1,97 ± 0,28 b	1,44 ± 0,11 c	1,06 ± 0,23 c

3.8.2. Effet sur la croissance linéaire

L'effet des HEs (CL₅₀) a été évalué sur le volume corporel des larves 4, des pupes, des adultes mâles et des adultes femelles des individus témoins et traités aux HEs de *L. dentata*, *M. piperita* et *O. basilicum*.

3.8.2.1. Efficacité comparée des HEs chez *C. longiareolata*

La comparaison des valeurs moyennes par le test « *t* » de student des séries témoins et traitées, montre que l'application de l'HE de *L. dentata* et de *M. piperita* provoque une diminution significative du volume corporel des individus au stade L4 ($p=0,031$ et $0,019$) et non significative au stade nymphal ($p \geq 0,05$). Par contre, aucun effet n'a été signalé après le traitement avec le l'HE d'*O. basilicum* ($p \geq 0,05$) pour les deux stades larvaire et nymphal. Les résultats révèlent une diminution significative du volume corporel chez les adultes mâles et femelles respectivement traitées avec l'HE de *L. dentata* ($p= 0,043$; $p= 0,046$), *M. piperita* ($p= 0,004$; $p= 0,014$) et *O. basilicum* ($p= 0,013$; $p= 0,023$). A partir de ces résultats, on peut conclure que ce paramètre est trop affecté par l'HE de *M. piperita* comparativement aux autres plantes (Fig. 43).

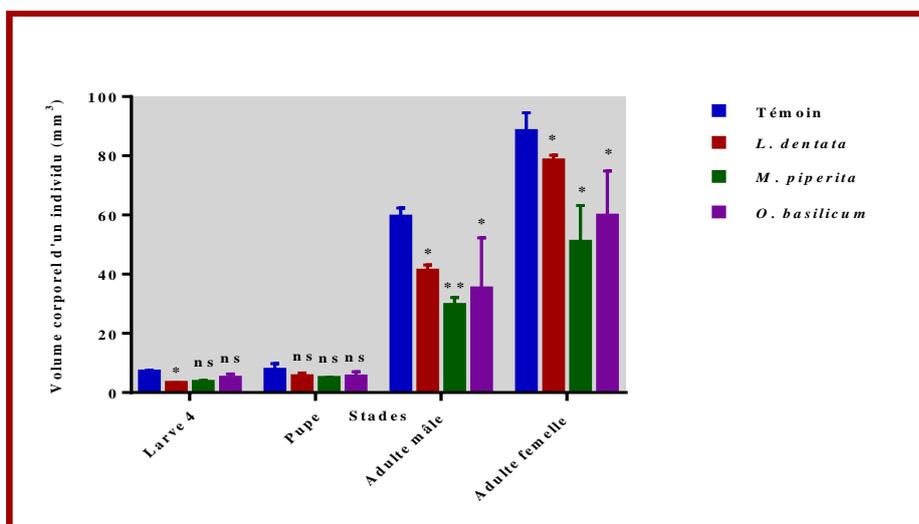


Figure 43. Effet des HEs (CL₅₀) sur le volume corporel (mm³) des individus de quelques stades chez *C. longiareolata* (m ± SD, n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus). (ns Différence non significative (p≥0,05), * Différence significative (p<0,05), ** Différence hautement significative (p<0,01) entre les séries témoins et traitées).

Un classement par ordre décroissant du volume corporel est résumé dans le tableau 54. Les résultats mettent en évidence l’existence de 2 groupes chez les larves L4 et les adultes femelles, le premier contient les témoins et les traitées à l’huile essentielle du basilic, le second renferme les trois traitements. Cependant, ces huiles n’ont aucun effet sur les pupes et les adultes mâles, donc on distingue une seule classe dans ces stades.

Tableau 54 : Classement par ordre décroissant du volume corporel des individus de différents stades chez *C. longiareolata* après traitement aux HEs (CL₅₀) : test HSD de Tukey.

Stades	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
Larve 4	Témoins	7,08	a
	<i>O. basilicum</i>	4,94	ab
	<i>M. piperita</i>	3,56	b
	<i>L. dentata</i>	3,17	b
Pupe	Témoins	7,61	a
	<i>L. dentata</i>	5,44	a
	<i>O. basilicum</i>	5,35	a
	<i>M. piperita</i>	4,85	a
Adulte mâle	Témoins	59,36	a
	<i>L. dentata</i>	41,09	a
	<i>O. basilicum</i>	35,09	a
	<i>M. piperita</i>	29,57	a
Adulte femelle	Témoins	88,27	a
	<i>L. dentata</i>	78,41	ab
	<i>O. basilicum</i>	59,71	b
	<i>M. piperita</i>	50,84	b

3.8.2.2. Efficacité comparée des HEs chez *C. pipiens*

D'après les résultats mentionnés dans la Figure 41, on remarque que le traitement à la menthe diminue significativement le volume corporel des individus de tous les stades étudiés : L4 ($p=0,021$), des pupes ($p=0,006$), des adultes mâles ($p=0,006$) et des adultes femelles ($p=0,009$). Cette diminution est significative chez les larves ($p=0,008$) et non significative chez les pupes ($p\geq 0,05$) après le traitement avec la lavande. Par contre, le traitement avec le basilic n'affecte pas le volume corporel des individus de stade larvaire ($p\geq 0,05$) et le diminue significativement ($p=0,007$) au stade nymphal. L'application de *L. dentata* et de l'*O. basilicum* réduit significativement le volume corporel des adultes mâles ($p=0,021$ et $0,042$) et femelles ($p=0,019$ et $0,039$). De plus, on note que la menthe est la plante qui affecte le plus ce paramètre par rapport à la lavande et le basilic (Fig. 44).

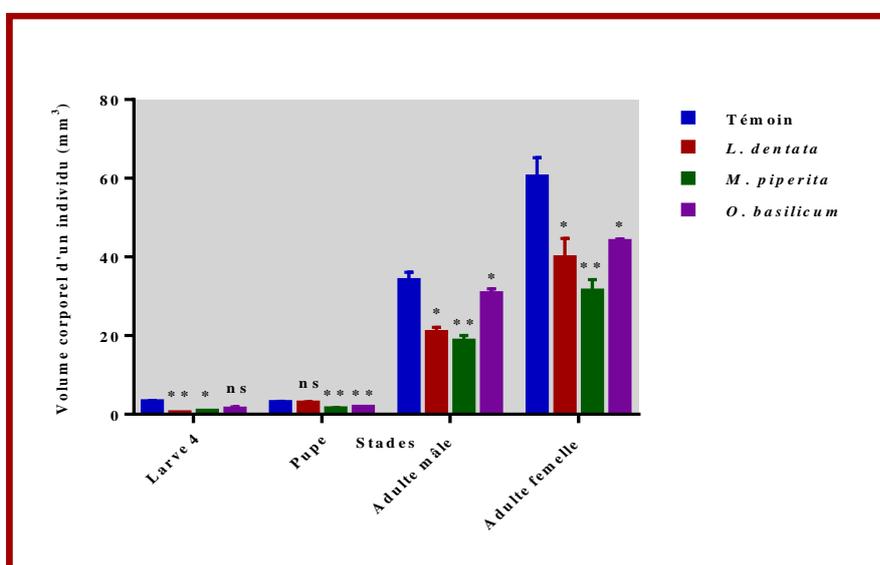


Figure 44. Effet des HEs (CL_{50}) sur le volume corporel (mm^3) des individus de quelques stades chez *C. pipiens* ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus). (ns Différence non significative ($p\geq 0,05$), * Différence significative ($p<0,05$), ** Différence hautement significative ($p<0,01$) entre les séries témoins et traitées).

Le classement relatif au volume corporel (tableau 55), a permis de mettre en évidence 3 groupes au stade larvaire et adultes femelles, le premier est représenté uniquement par les témoins, le second est composé des larves traitées par les HEs de la menthe et du basilic et le dernier groupe renferme celles traitées de lavande et de la menthe. Au stade nymphale et adultes mâles, 2 groupes sont constatés : le premier englobe les témoins et les traitées de lavande ; le deuxième contient les traitées de la menthe et du basilic.

Tableau 55. Classement par ordre décroissant du volume corporel des individus de quelques stades chez *C. pipiens* après traitement aux HEs (CL₅₀): test HSD de Tukey.

Stades	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
Larve 4	Témoins	3,24	a
	<i>O. basilicum</i>	1,39	b
	<i>M. piperita</i>	0,83	bc
	<i>L. dentata</i>	0,4	c
Pupe	Témoins	3,05	a
	<i>L. dentata</i>	2,87	a
	<i>O. basilicum</i>	1,86	b
	<i>M. piperita</i>	1,42	b
Adulte mâle	Témoins	34,05	a
	<i>O. basilicum</i>	30,67	a
	<i>L. dentata</i>	20,81	b
	<i>M. piperita</i>	18,63	b
Adulte femelle	Témoins	60,36	a
	<i>O. basilicum</i>	43,98	b
	<i>L. dentata</i>	39,84	bc
	<i>M. piperita</i>	31,34	c

3.8.2.3. Effet comparé de *L. dentata* sur le volume corporel des individus de *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence 3 groupes de moyennes au stade larvaire, un groupe renferme les témoins de *Culiseta*, un deuxième groupe composé des traités de *Culiseta* et les témoins de *Culex* et un dernier groupe constitué les traités de *Culex*. Au stade nymphal, 2 groupes sont signalés, chacun est représenté par les témoins et les traités d'une espèce. 4 groupes sont indiqués au stade adulte mâle, chacun étant représenté par un traitement et 3 groupes au stade adulte femelle, un groupe renferme les témoins et les traités de *Culiseta*, un deuxième groupe composé des témoins de *Culex* et un dernier groupe constitué les traités de *Culex* (Tableau 56).

Tableau 56. Effet de *L. dentata* (CL₅₀) sur le volume corporel des individus de différents stades de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Stades	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>	
	Témoins	CL ₅₀	Témoins	CL ₅₀
Larve 4	7,08±0,44 a	3,17±0,15 b	3,24±0,26 b	0,4±0,04 c
Pupe	7,61±2,16 a	5,44±1,20 a	3,05±0,25 b	2,87±0,29 b
Mâle	59,36±2,98 a	41,09±2,04 b	34,05±2,05 c	20,81±1,29 d
Femelle	88,27±6,30 a	78,41±1,79 a	60,36±4,89 b	39,84±4,84 c

3.8.2.4. Effet comparé de *M. piperita* sur le volume corporel des individus de *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence 3 groupes de moyennes au stade larvaire et au stade adulte mâle et femelle, un groupe renferme les témoins

de *Culiseta*, un deuxième groupe composé des traités de *Culiseta* et les témoins de *Culex* et un dernier groupe constitué les traités de *Culex*. Au stade nymphal, 2 groupes sont signalés, un groupe englobe les témoins de deux espèces et les traités de *Culiseta* et le deuxième groupe renferme les traités de deux espèces et les témoins de *Culex* (Tableau 57).

Tableau 57. Effet de *M. piperita* (CL₅₀) sur le volume corporel des individus de différents stades de *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Stades	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>	
	Témoins	CL ₅₀	Témoins	CL ₅₀
Larve 4	7,08±0,44 a	3,56±0,54 b	3,24±0,26 b	0,83±0,06 c
Pupe	7,61±2,16 a	4,85±0,24 ab	3,05±0,25 ab	1,42±0,20 b
Mâle	59,36±2,98 a	29,57±2,57 b	34,05±2,05 b	18,63±1,37 c
Femelle	88,27±6,30 a	50,84±12,33 b	60,36±4,89 b	31,34±2,91 c

3.8.2.5. Effet comparé de l'*Ocimum basilicum* sur le volume corporel des individus de *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence 3 groupes de moyennes au stade larvaire, un groupe renferme les témoins et les traités de *Culiseta*, un deuxième groupe composé des traités de *Culiseta* et les témoins de *Culex* et un dernier groupe constitué les traités de *Culex*. Au stade nymphal, 2 groupes sont signalés, un groupe englobe les témoins et les traités de *Culiseta* et le deuxième groupe renferme les traités de deux espèces et les témoins de *Culex*. Une seule classe de moyennes est signalée au stade adulte mâle et 2 classes chez les femelles, l'une renferme les témoins de *Culiseta* et l'autre composé des témoins de *Culex* et les traités des deux espèces (Tableau 58).

Tableau 58. Effet de l'*O. basilicum* (CL₅₀) sur le volume corporel des individus de différents stades de *C. longiareolata* et *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Stades	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>	
	Témoins	CL ₅₀	Témoins	CL ₅₀
Larve 4	7,08±0,44 a	4,94±1,33 ab	3,24±0,26 b	1,39±0,54 c
Pupe	7,61±2,16 a	5,35±1,69 ab	3,05±0,25 b	1,86±0,11 b
Mâle	59,36±2,98 a	35,09±17,22 a	34,05±2,05 a	30,67±1,20 a
Femelle	88,27±6,30 a	59,71±15,20 b	60,36±4,89 b	43,98±0,60 b

3.9. Impact des HEs sur la composition biochimique des moustiques

Les HEs de la lavande, du basilic et de la menthe ont été appliquées sur les larves 4 nouvellement euvies de *C. longiareolata* et *C. pipiens* et leurs effets ont été évalués sur la composition biochimique (lipides, glucides et protéines) des individus de différents stades, larves 4, pupes, adultes mâles et adultes femelles.

3.9.1. Effet sur le contenu en protéines totales

Le contenu en protéines totales a été déterminé chez les larves 4, les pupes et les adultes mâles et femelles témoins et traités de deux espèces, *C. pipiens* et *C. longiareolata*.

3.9.1.1. Efficacité comparée des HEs chez *C. longiareolata*

La comparaison des valeurs moyennes par le test « *t* » de student montre que les HEs extraites de *M. piperita* et de l'*O. basilicum* respectivement, induisent une diminution significative du contenu en protéines totales des larves 4 ($p=0,012$ et $p=0,026$), des pupes ($p=0,024$, $p=0,016$), des adultes mâles ($p=0,024$, $p=0,013$) et des adultes femelles ($p=0,025$, $p=0,017$). Par contre, les huiles de *L. dentata* diminuent significativement le contenu des protéines des larves 4 ($p= 0,019$) et aucun effet n'a été signalé chez les autres stades testés (Fig. 45).

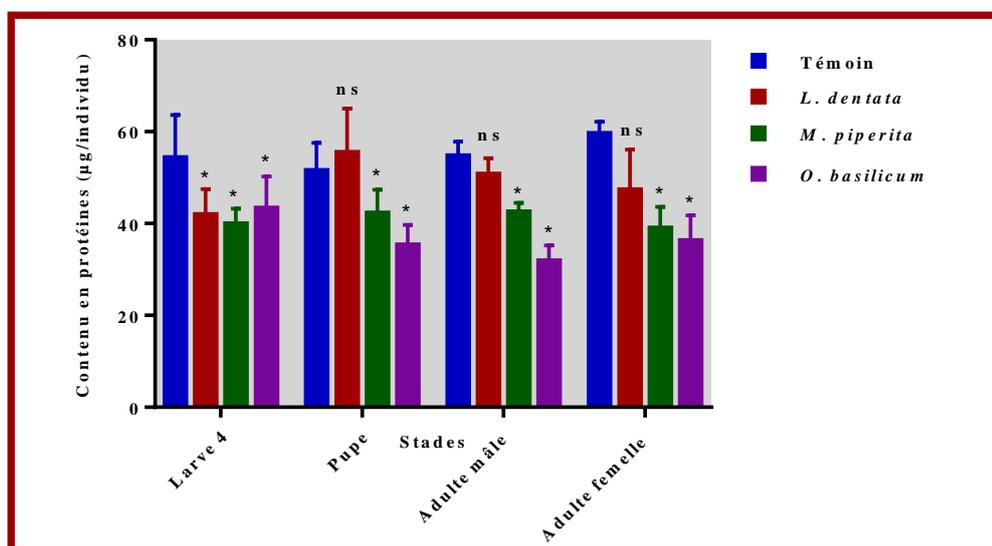


Figure 45. Effet des HEs (CL_{50}) sur le contenu en protéines totales ($\mu\text{g}/\text{individu}$) des individus de quelques stades chez *C. longiareolata* ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus). (ns Différence non significative ($p \geq 0,05$), * Différence significative ($p < 0,05$) entre les séries témoins et traitées).

Un classement par ordre décroissant du taux des protéines chez *C. longiareolata* est résumé dans le Tableau 59. Ces résultats mettent en évidence une seule classe au stade larvaire et deux classes au stade nymphale : la première contient les témoins et les traités à la lavande et la seconde classe renferme les traités à la menthe et au basilic. Chez les adultes mâles, 3 groupes sont constatés : le premier est représenté par les témoins et les traités à la lavande, le deuxième est composé par les traités à la menthe et le troisième constitué des traités au basilic. Cependant, on distingue 2 groupes de moyennes chez les adultes femelles ; le premier englobe les témoins et les traités à la lavande et le second groupe inclue les traités à la menthe et au basilic.

Tableau 59. Classement par ordre décroissant du contenu en protéines, chez *C. longiareolata* après traitement aux HEs (CL₅₀) : test HSD de Tukey.

Stades	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
Larve 4	Témoins	54,33	a
	<i>L. dentata</i>	41,91	a
	<i>O. basilicum</i>	43,29	a
	<i>M. piperita</i>	39,91	a
Pupe	<i>L. dentata</i>	55,43	a
	Témoins	51,52	a
	<i>M. piperita</i>	42,23	b
	<i>O. basilicum</i>	35,33	b
Adulte mâle	Témoins	54,68	a
	<i>L. dentata</i>	50,67	a
	<i>M. piperita</i>	42,47	b
	<i>O. basilicum</i>	31,86	c
Adulte femelle	Témoins	59,57	a
	<i>L. dentata</i>	47,28	a
	<i>M. piperita</i>	38,98	b
	<i>O. basilicum</i>	36,21	b

3.9.1.2. Efficacité comparée des HEs chez *C. pipiens*

Les résultats du dosage des protéines totales de *C. pipiens* sont présentés dans la Figure 46. Le traitement des larves 4 à la menthe et au basilic induit une diminution significative du contenu en protéines chez les larves 4 ($p=0,022$ et $p=0,020$), les pupes ($p=0,014$ et $p=0,018$), les mâles ($p=0,026$ et $p=0,015$) et les femelles ($p=0,021$ et $p=0,014$). Par contre *L. dentata* affecte significativement les protéines des larves 4 ($p=0,034$) et des pupes ($p=0,016$) mais aucun effet n'a été signalé chez les adultes (Fig. 46).

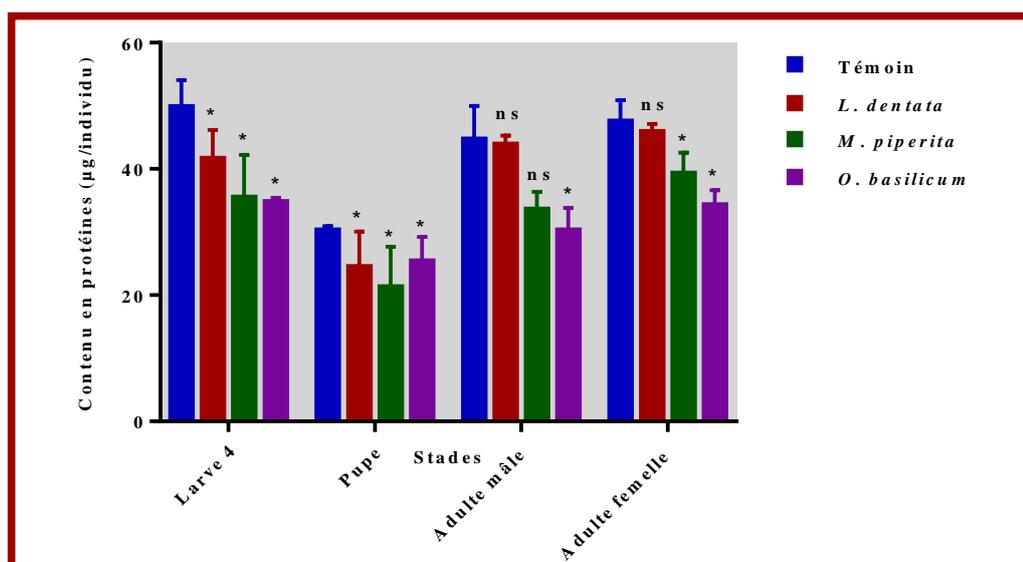


Figure 46. Effet des HEs (CL₅₀) sur le contenu en protéines totales (µg/individu) des individus de quelques stades chez *C. pipiens* ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus) (ns Différence non significative ($p \geq 0,05$), * Différence significative ($p < 0,05$) entre les séries témoins et traitées).

Le classement des moyennes relatives au contenu en protéines (Tableau 60) a permis de mettre en évidence 2 groupes chez les larves 4, les adultes mâles et les adultes femelles, le premier renferme les témoins et les traités à la lavande et le deuxième composé des traités à la menthe et au basilic. Par ailleurs, un seul groupe est remarqué au stade nymphal, donc les traitements n'ont aucun effet sur les pupes.

Tableau 60. Classement par ordre décroissant du contenu en protéines chez *C. pipiens* après traitement aux HES (CL₅₀) : test HSD de Tukey.

Stades	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
Larve 4	Témoins	49,81	a
	<i>L. dentata</i>	41,62	a
	<i>M. piperita</i>	35,45	b
	<i>O. basilicum</i>	34,79	b
Pupe	Témoins	30,29	a
	<i>O. basilicum</i>	25,36	a
	<i>L. dentata</i>	24,47	a
	<i>M. piperita</i>	21,25	a
Adulte mâle	Témoins	44,67	a
	<i>L. dentata</i>	43,86	a
	<i>M. piperita</i>	33,56	b
	<i>O. basilicum</i>	30,26	b
Adulte femelle	Témoins	47,55	a
	<i>L. dentata</i>	45,86	a
	<i>M. piperita</i>	39,25	b
	<i>O. basilicum</i>	34,25	b

3.9.1.3. Effet comparé de *L. dentata* sur le contenu en protéines totales des individus chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes met en évidence un seul groupe chez les larves 4 et 2 groupes chez les pupes et les adultes mâles, chaque groupe renferme les témoins et les traités d'une espèce de moustique. Au stade adulte femelle, 2 groupes sont également signalés, le premier groupe composé des témoins de *Culiseta* et le deuxième constitué des autres séries (Tableau 61).

Tableau 61. Effet de l'HE de *L. dentata* (CL₅₀) sur le contenu en protéines totales des individus de différents stades chez *C. longiareolata* et *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Stades	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>	
	Témoins	CL ₅₀	Témoins	CL ₅₀
Larve 4	54,33 ± 9,31 a	41,91 ± 5,60 a	49,81 ± 4,24 a	41,62 ± 4,55 a
Pupe	51,52 ± 6,07 a	55,43 ± 9,61 a	30,29 ± 0,62 b	24,47 ± 5,63 b
Adulte mâle	54,68 ± 3,13 a	50,67 ± 1,01 a	44,67 ± 5,31 b	43,86 ± 1,41 b
Adulte femelle	59,57 ± 2,62 a	47,28 ± 8,79 b	47,55 ± 3,34 b	45,86 ± 1,27 b

3.9.1.4. Effet comparé de *M. piperita* sur le contenu en protéines totales des individus chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes relatives au contenu en protéines, met en évidence 2 groupes au stade larvaire et au stade adulte femelle, un groupe renfermant les témoins des deux espèces et un groupe constitué des traités de *Culiseta* et de *Culex*. Au stade nymphal, 2 groupes sont également signalés chacun est représenté par les témoins et les traités d'une espèce de moustique. Par contre, au stade adulte mâle, on distingue 3 groupes, le premier renferme les témoins de *Culiseta*, le deuxième constitué des témoins de *Culex* et des traités de *Culiseta* et un dernier groupe formé des traités de *Culex* (Tableau 62).

Tableau 62. Effet de l'HE de *M. piperita* (CL₅₀) sur le contenu des protéines totales des individus de quelques stades chez *C. longiareolata* et *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Stades	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>	
	Témoins	CL ₅₀	Témoins	CL ₅₀
Larve 4	54,33 ± 9,31 a	39,91 ± 3,30 b	49,81 ± 4,24 a	35,45 ± 6,75 b
Pupe	51,52 ± 6,07 a	42,23 ± 5,11 a	30,29 ± 0,62 b	21,25 ± 6,42 b
Adulte mâle	54,68 ± 3,13 a	42,47 ± 2,06 b	44,67 ± 5,31 b	33,56 ± 2,81 c
Adulte femelle	59,57 ± 2,62 a	38,98 ± 4,67 b	47,55 ± 3,34 a	39,25 ± 3,32 b

3.9.1.5. Effet comparé de l'*O. basilicum* sur le contenu en protéines totales des individus chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes met en évidence 2 classes au stade larvaire, l'une constituée des témoins des deux espèces et les traités de *Culiseta* et l'autre classe renferme les traités de *Culex*. Au stade nymphal, 2 groupes aussi sont retrouvés, un groupe formé uniquement de témoins de *Culiseta* et l'autre englobe les traités des deux espèces et les témoins de *Culex*. Deux groupes sont également signalés au stade adulte mâle, le premier est composé par les témoins et le deuxième par les traités des deux espèces. Par contre, chez les femelles, on distingue 3 classes, la première renferme les témoins de *Culiseta*, la deuxième englobe les les traités des deux espèces et la dernière est formée de témoins de *Culex* (Tableau 63).

Tableau 63. Effet de l'HE de l'*O. basilicum* (CL₅₀) sur le contenu en protéines totales des individus de différents stades chez *C. longiareolata* et *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Stades	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>	
	Témoins	CL ₅₀	Témoins	CL ₅₀
Larve 4	54,33 ± 9,31 a	43,29 ± 6,95 a	49,81 ± 4,24 a	34,79 ± 0,62 b
Pupe	51,52 ± 6,07 a	35,33 ± 4,37 b	30,29 ± 0,62 b	25,36 ± 3,88 b
Adulte mâle	54,68 ± 3,13 a	31,86 ± 3,34 b	44,67 ± 5,31 a	30,26 ± 3,54 b
Adulte femelle	59,57 ± 2,62 a	36,21 ± 5,56 b	47,55 ± 3,34 c	34,25 ± 2,35 b

3.9.2. Effet sur le contenu en glucides totaux

Le contenu en glucides totaux a été déterminé chez les larves 4, les pupes et les adultes mâles et femelles témoins et traités de deux espèces, *C. pipiens* et *C. longiareolata*.

3.9.2.1. Efficacité comparée des HEs chez *C. longiareolata*

D'après les résultats présentés dans la Figure 47, on remarque que le traitement aux HEs extraites de *L. dentata*, *M. piperita* et *O. basilicum* (CL_{50}) provoque une diminution significative du contenu en glucides chez les larves 4 ($p=0,036$; $p=0,019$ et $p=0,028$ respectivement) et les pupes ($p=0,045$; $p=0,039$ et $p=0,032$ respectivement), par contre aucun effet n'a été enregistré chez les adultes mâles et femelles, puisqu'aucune différence significative n'a été signalée ($p>0,05$) (Fig. 47).

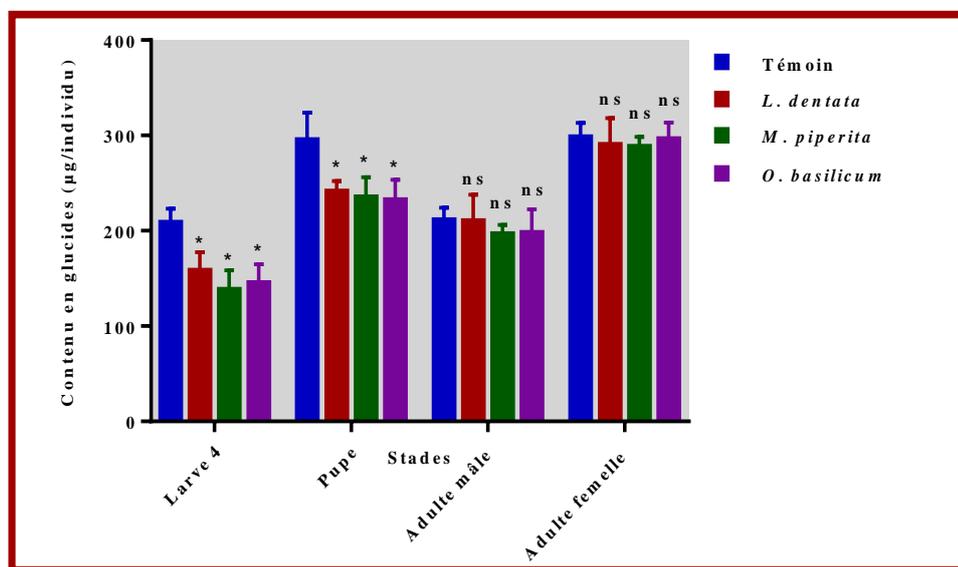


Figure 47. Effet des HEs (CL_{50}) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) des individus de quelques stades chez *C. longiareolata* ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus). (ns Différence non significative ; * Différence significative ($p < 0,05$) entre les séries témoins et traitées).

Un classement par ordre décroissant du contenu en glucides totaux, chez *C. longiareolata* est résumé dans le tableau 64. Ces résultats mettent en évidence un seul groupe chez les adultes mâles et femelles et 2 groupes au stade larvaire et nymphal, le premier est constitué uniquement des témoins et le deuxième regroupe les trois traitements.

Tableau 64. Classement par ordre décroissant du contenu en glucides totaux, chez *C. longiareolata* après traitement aux HEs (CL₅₀) : test HSD de Tukey.

Stades	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
Larve 4	Témoins	208,40	a
	<i>L. dentata</i>	158,30	b
	<i>O. basilicum</i>	145,04	b
	<i>M. piperita</i>	138,30	b
Pupe	Témoins	295,00	a
	<i>L. dentata</i>	241,20	b
	<i>M. piperita</i>	235,20	b
	<i>O. basilicum</i>	232,09	b
Adulte mâle	Témoins	211,20	a
	<i>L. dentata</i>	210,10	a
	<i>O. basilicum</i>	197,96	a
	<i>M. piperita</i>	196,52	a
Adulte femelle	Témoins	298,20	a
	<i>O. basilicum</i>	296,10	a
	<i>L. dentata</i>	290,00	a
	<i>M. piperita</i>	288,06	a

3.9.2.2. Efficacité comparée des HEs chez *C. pipiens*

Les huiles essentielles extraites de *L. dentata*, *M. piperita* et *O. basilicum* induisent une diminution significative du contenu en glucides chez les larves 4 (p=0,049 ; p=0,018 et p=0,008), les pupes (p=0,038 ; p=0,011 et p=0,008). Par contre, ces traitements provoquent une augmentation de ce composé biochimique chez les adultes mâles (p=0,016 ; p=0,011 et p=0,028) et les adultes femelles (p=0,006 ; p=0,029 et p=0,018) (Fig. 48).

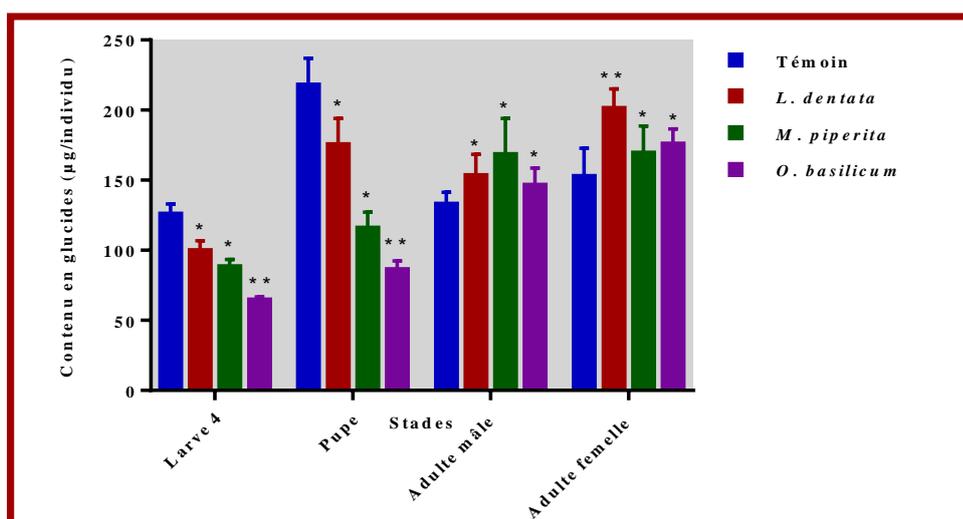


Figure 48. Effet des HEs (CL₅₀) sur le contenu en glucides totaux (µg/individu) des individus de quelques stades chez *C. pipiens* (m ± SD, n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus). (* Différence significative (p<0,05) ; ** Différence hautement significative (p<0,01) entre les témoins et traitées).

Pour *C. pipiens*, le classement des moyennes du contenu en glucides (Tableau 65), révèle l'existence de 3 groupes au stade larvaire, le premier formé seulement des témoins, le second

regroupe les traités à la lavande et la menthe et le dernier contient les traités au basilic. Au stade nymphal, on distingue également 3 groupes, le premier renferme les témoins, mais le deuxième n'inclut que les traités à la lavande et le dernier regroupe les traités à la menthe et le basilic. De plus, un seul groupe a été constaté au stade adulte mâle et 2 groupes au stade adulte femelle, le premier représenté par les traités à la lavande et le deuxième renferme les témoins et les traités à la menthe et au basilic.

Tableau 65. Classement par ordre décroissant du contenu en glucides totaux, chez *C. pipiens* après traitement aux HES (CL₅₀) : test HSD de Tukey.

Stades	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
Larve 4	Témoins	125,70	a
	<i>L. dentata</i>	99,76	b
	<i>M. piperita</i>	88,26	b
	<i>O. basilicum</i>	64,42	c
Pupe	Témoins	217,80	a
	<i>L. dentata</i>	175,30	b
	<i>M. piperita</i>	115,69	c
	<i>O. basilicum</i>	86,15	c
Adulte mâle	<i>M. piperita</i>	168,24	a
	<i>L. dentata</i>	153,30	a
	<i>O. basilicum</i>	146,34	a
	Témoins	132,88	a
Adulte femelle	<i>L. dentata</i>	201,10	a
	<i>O. basilicum</i>	175,73	b
	<i>M. piperita</i>	169,23	b
	Témoins	152,60	b

3.9.2.3. Effet comparé de *L. dentata* sur le contenu en glucides totaux des individus chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, montre 3 groupes de moyennes au stade larvaire et nymphal, un groupe renferme les témoins de *Culiseta*, un deuxième groupe composé des traités de *Culiseta* et un dernier groupe constitué des témoins et des traités de *Culex*. Au stade adulte mâle et femelle, on distingue uniquement 2 groupes, chacun regroupe les témoins et les traités d'une espèce de moustique (Tableau 66). A partir de ces résultats, on peut conclure que le contenu en glucides totaux chez *Culex* est inférieur à celui chez *Culiseta*.

Tableau 66. Effet de l'HE de *L. dentata* (CL₅₀) sur le contenu en glucides totaux des individus de quelques stades chez *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Stades	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>	
	Témoins	CL ₅₀	Témoins	CL ₅₀
Larve 4	208,40 ± 14,60 a	158,30 ± 19,10 b	125,70 ± 7,36 c	99,76 ± 7,02 c
Pupe	295,00 ± 28,70 a	241,20 ± 11,10 b	217,80 ± 19,20 c	175,30 ± 18,80 c
Adulte mâle	211,20 ± 13,10 a	210,10 ± 27,70 a	132,88 ± 8,37 b	153,30 ± 15,09 b
Adulte femelle	298,20 ± 14,90 a	290,00 ± 28,00 a	152,60 ± 20,30b	201,10 ± 14,00 b

3.9.2.4. Effet comparé de *M. piperita* sur le contenu en glucides totaux des individus chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes obtenues chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*, révèle la présence de 3 groupes au stade larvaire et nymphal, un groupe renferme les témoins de *Culiseta*, un deuxième groupe composé des traités de *Culiseta* et des témoins de *Culex* et un dernier groupe constitué des traités de *Culex*. Au stade adulte mâle et femelle, on distingue uniquement 2 groupes, chacun regroupe les témoins et les traités d'une espèce de moustique (Tableau 67). Les fortes valeurs sont observées chez *C. longiareolata* comparativement à *C. pipiens*.

Tableau 67. Effet de l'HE de *M. piperita* (CL₅₀) sur le contenu en glucides totaux des individus de quelques stades chez *C. longiareolata* et de *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Stades	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>	
	Témoins	CL ₅₀	Témoins	CL ₅₀
Larve 4	208,4 ± 14,6 a	138,30 ± 20,11 b	125,70 ± 7,36 b	88,26 ± 5,12 c
Pupe	295,0 ± 28,7 a	235,20 ± 21,02 b	217,80 ± 19,2 b	115,69 ± 11,45 c
Adulte mâle	211,2 ± 13,1 a	196,52 ± 9,67 a	132,88 ± 8,37 b	168,24 ± 25,78 b
Adulte femelle	298,2 ± 14,9 a	288,06 ± 10,30 a	152,60 ± 20,30b	169,23 ± 19,50 b

3.9.2.5. Effet comparé de l'*O. basilicum* sur le contenu en glucides totaux des individus chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Les mêmes observations ont été faites chez les traités au basilic, où note la présence de 3 groupes de moyennes chez les larves 4 et les pupes, un groupe renfermant les témoins de *Culiseta*, un deuxième groupe composé des traités de *Culiseta* et des témoins de *Culex* et un dernier groupe constitué des traités de *Culex*. Au stade adulte mâle et femelle, on distingue également 2 groupes, chacun regroupe les témoins et les traités d'une espèce de moustique (Tableau 68). Les fortes valeurs sont toujours observées chez *C. longiareolata* comparativement à *C. pipiens*.

Tableau 68. Effet de l'HE de l'*O. basilicum* (CL₅₀) sur le contenu en glucides totaux des individus de quelques stades chez *C. longiareolata* et *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Stades	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>	
	Témoins	CL ₅₀	Témoins	CL ₅₀
Larve 4	208,4 ± 14,6 a	145,04 ± 19,67 b	125,70 ± 7,36 b	64,42 ± 2,38 c
Pupe	295,0 ± 28,7 a	232,09 ± 21,46 b	217,80 ± 19,2 b	86,15 ± 6,25 c
Adulte mâle	211,2 ± 13,1 a	197,96 ± 24,66 a	132,88 ± 8,37 b	146,34 ± 12,38 b
Adulte femelle	298,2 ± 14,9 a	296,10 ± 17,33 a	152,60 ± 20,3 b	175,73 ± 10,90b

3.9.3. Effet sur le contenu en lipides totaux

Le contenu en lipides a été déterminé chez les larves 4, les pupes et les adultes des séries témoins et traitées à la menthe, à la lavande et au basilic.

3.9.3.1. Efficacité comparée des HEs chez *C. longiareolata*

L'étude comparative par le test « t » de student des séries témoins et traitées pour *C. longiareolata* montre que le traitement à la lavande provoque une augmentation significative du contenu en lipides chez les individus des stades étudiés, les larves 4 ($p=0,000$), les pupes ($p=0,017$), les adultes mâles ($p=0,022$) et les adultes femelles ($p=0,006$). Par contre les HEs extraites de *M. piperita* et d'*O. basilicum*, provoquent une diminution significative chez les larves 4 ($p=0,047$; $p=0,031$) et les pupes ($p=0,037$; $p=0,039$) et aucun effet n'a été signalé chez les mâles ($p>0,05$). Cependant, une augmentation significative de ce contenu a été observée chez les femelles des séries traitées à la menthe et au basilic respectivement ($p=0,048$; $p=0,043$) (Fig. 49).

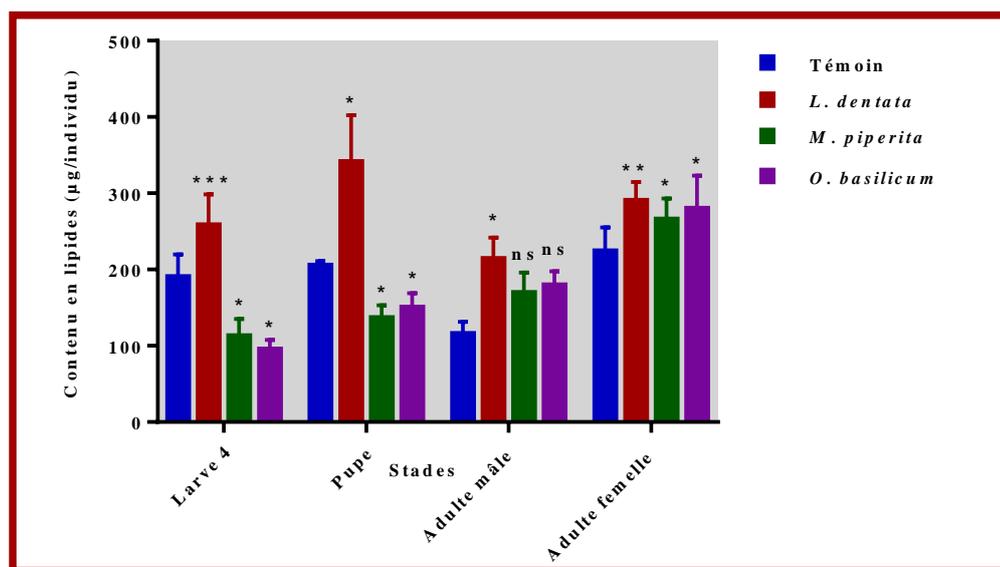


Figure 49. Effet des HEs (CL₅₀) sur le contenu en lipides totaux (µg/individu) des individus de quelques stades chez *Culiseta longiareolata* ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus). (ns Différence non significative ; * Différence significative ($p<0,05$) ; ** Différence hautement significative ($p<0,01$) ; *** Différence très hautement significative ($p<0,001$) entre les séries témoins et traitées).

Un classement par ordre décroissant du contenu en lipides totaux, chez *C. longiareolata* après traitement aux HEs (CL₅₀) est résumé dans le tableau 69. Ces résultats mettent en évidence deux groupes chez les larves 4 et les pupes, le premier groupe est constitué des témoins et des traités à la lavande et le deuxième formé des traités à la menthe et au basilic. Chez les adultes mâles, 2 groupes sont également constatés : le premier regroupe les trois

séries traitées et le deuxième englobe les témoins. Par contre chez les adultes femelles, un seul groupe est enregistré et il renferme toutes les séries.

Tableau 69. Classement par ordre décroissant du contenu en lipides totaux, chez *C. longiareolata* après traitement aux HEs (CL₅₀) : test HSD de Tukey.

Stades	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
Larve 4	<i>L. dentata</i>	258,30	a
	Témoins	190,10	a
	<i>M. piperita</i>	112,89	b
	<i>O. basilicum</i>	95,05	b
Pupe	<i>L. dentata</i>	341,20	a
	Témoins	205,39	a
	<i>O. basilicum</i>	150,35	b
	<i>M. piperita</i>	136,48	b
Adulte mâle	<i>L. dentata</i>	214,10	a
	<i>O. basilicum</i>	179,45	a
	<i>M. piperita</i>	169,25	a
	Témoins	115,66	b
Adulte femelle	<i>L. dentata</i>	290,25	a
	<i>O. basilicum</i>	279,66	a
	<i>M. piperita</i>	265,47	a
	Témoins	223,91	a

3.9.3.2. Efficacité comparée des HEs chez *C. pipiens*

Les résultats du dosage biochimique représentés dans la figure 52 révèlent une augmentation significative du contenu en glucides après traitement à la lavande et cela à tous les stades étudiés, larves L4 (p=0,001), pupes (p=0,004), adultes mâles (p=0,002) et adultes femelles (p=0,006). Par contre, les HEs extraites de *M. piperita* et *O. basilicum* provoquent une diminution significative de ce composé biochimique chez les larves 4 (p=0,036 ; p=0,021), les pupes (p=0,017 ; p=0,001), les mâles (p=0,026 ; p=0,031) et les femelles (p=0,033 ; p=0,016) (Fig. 50).

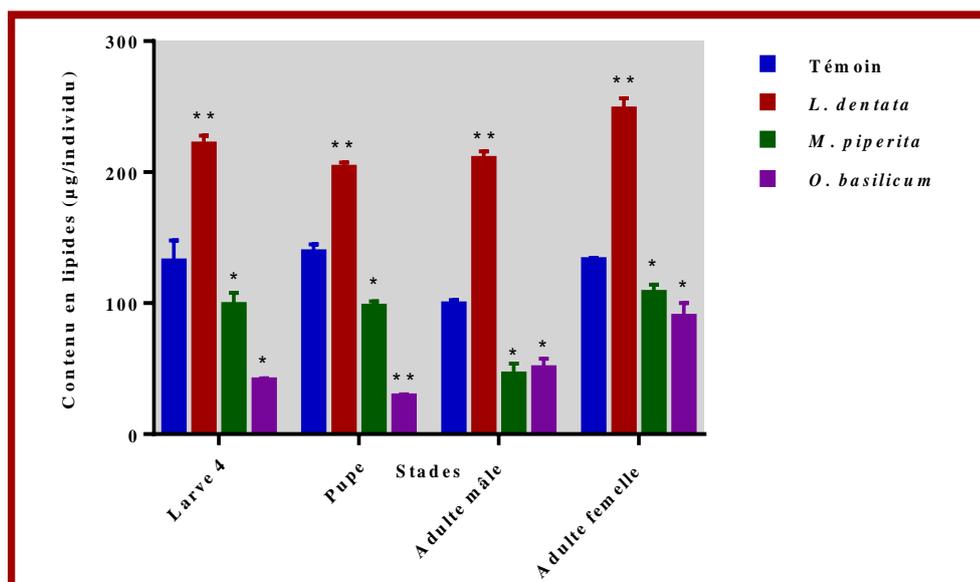


Figure 50. Effet des HEs (CL₅₀) sur le contenu en lipides totaux (µg/individu) des individus de quelques stades chez *Culex pipiens* (m ± SD, n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus). (* Différence significative (p<0,05); ** Différence hautement significative (p<0,01); *** Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).

Chez *C. pipiens*, le classement des moyennes relatives au contenu en lipides totaux (Tableau 70), présente 4 groupes distincts au stade larvaire et nymphal, chacun étant représenté par une série. Chez les adultes mâles et femelles, on distingue 3 groupes différents : le premier contient les traités à la lavande, le second renferme les témoins et le dernier regroupe les traités à la menthe et au basilic. De plus, on remarque que l’*O. basilicum* est la plante qui a le plus d’effet sur ce paramètre.

Tableau 70. Classement par ordre décroissant du contenu en lipides totaux, chez *C. pipiens* après traitement aux HEs (CL₅₀) : test HSD de Tukey.

Stades	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
Larve 4	<i>L. dentata</i>	221,00	a
	Témoins	131,83	b
	<i>M. piperita</i>	98,56	c
	<i>O. basilicum</i>	41,02	d
Pupe	<i>L. dentata</i>	203,42	a
	Témoins	138,98	b
	<i>M. piperita</i>	97,42	c
	<i>O. basilicum</i>	28,79	d
Adulte mâle	<i>L. dentata</i>	210,18	a
	Témoins	99,11	b
	<i>O. basilicum</i>	50,25	c
	<i>M. piperita</i>	45,66	c
Adulte femelle	<i>L. dentata</i>	247,99	a
	Témoins	132,77	b
	<i>M. piperita</i>	107,75	c
	<i>O. basilicum</i>	89,59	c

3.9.3.3. Effet comparé de *L. dentata* sur le contenu en lipides totaux des individus chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey après le traitement avec l'huile essentielle de *L. dentata* met en évidence 2 groupes de moyennes au stade larvaire et au stade adulte mâle, le premier regroupe les traités des deux espèces et le deuxième englobe les deux témoins. Au stade nymphal, on distingue aussi 2 groupes, le premier renferme uniquement les traités de *Culiseta* et le deuxième groupe forme les autres. Par contre, 3 groupes sont retrouvés au stade adulte femelle, un groupe renferme les traités des deux espèces, un deuxième groupe composé des témoins de *Culiseta* et un dernier groupe constitué les témoins de *Culex* (Tableau 71).

Tableau 71. Effet de l'HE de *L. dentata* (CL₅₀) sur le contenu en lipides totaux des individus de quelques stades chez *C. longiareolata* et *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Stades	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>	
	Témoins	CL ₅₀	Témoins	CL ₅₀
Larve 4	190,10 ± 29,60 b	258,30 ± 40,10 a	131,83 ± 16,12 b	221,00 ± 6,90 a
Pupe	205,39 ± 5,71 b	341,20 ± 61,10 a	138,98 ± 5,90 b	203,42 ± 3,93 b
Adulte mâle	115,66 ± 15,80 b	214,10 ± 27,70 a	99,11 ± 3,38 b	210,18 ± 5,69 a
Adulte femelle	223,91 ± 31,24 b	290,25 ± 24,56 a	132,77 ± 1,87 c	247,99 ± 8,31 a

3.9.3.4. Effet comparé de *M. piperita* sur le contenu en lipides totaux des individus chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes relatives au contenu en lipides des individus après traitement à la menthe, met en évidence 3 groupes de moyennes au stade larvaire et nymphal, un groupe renferme les témoins de *Culiseta*, un deuxième groupe est constitué des traités de *Culiseta* et les témoins de *Culex* et un dernier groupe formé des traités de *Culex*. Au stade adulte mâle, 3 groupes sont également signalés, le premier est formé des traités de *Culiseta*, le deuxième est composé des témoins des deux espèces et le dernier groupe est représenté par les traités de *Culex*. Par contre, au stade adulte femelle, on observe uniquement 2 groupes, chacun est représenté par les témoins et les traités d'une espèce de moustique (Tableau 72).

Tableau 72. Effet de l'HE de *M. piperita* (CL₅₀) sur le contenu en lipides totaux des individus de quelques stades chez *C. longiareolata* et *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Stades	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>	
	Témoins	CL ₅₀	Témoins	CL ₅₀
Larve 4	190,10 ± 29,6 a	112,89 ± 22,18 b	131,83 ± 16,12 b	98,56 ± 9,32 c
Pupe	205,39 ± 5,71 a	136,48 ± 16,79 b	138,98 ± 5,90 b	97,42 ± 3,93 c
Adulte mâle	115,66 ± 15,80 b	169,25 ± 26,78 a	99,11 ± 3,38 b	45,66 ± 8,25 c
Adulte femelle	223,91 ± 31,24 a	265,47 ± 27,65 a	132,77 ± 1,87 b	107,75 ± 6,47 b

3.9.3.5. Effet comparé de l'*O. basilicum* sur le contenu en lipides totaux des individus chez *C. pipiens* et *C. longiareolata*

Le classement des moyennes relatives au contenu en lipides des individus après traitement à la menthe, met en évidence 3 groupes de moyennes au stade larvaire et nymphal, un groupe renferme les témoins de *Culiseta*, un deuxième groupe est constitué des traités de *Culiseta* et les témoins de *Culex* et un dernier groupe formé des traités de *Culex*. Au stade adulte mâle, 3 groupes sont également signalés, le premier est formé des traités de *Culiseta*, le deuxième est composé des témoins des deux espèces et le dernier groupe est représenté par les traités de *Culex*. Par contre, au stade adulte femelle, on observe uniquement 2 groupes, chacun est représenté par les témoins et les traités d'une espèce de moustique (Tableau 73).

Tableau 73. Effet de l'HE de l'*O. basilicum* (CL₅₀) sur le contenu en lipides totaux des individus de quelques stades chez *C. longiareolata* et *C. pipiens* : test HSD de Tukey.

Stades	<i>C. longiareolata</i>		<i>C. pipiens</i>	
	Témoins	CL ₅₀	Témoins	CL ₅₀
Larve 4	190,10 ± 29,6 a	95,05 ± 12,58 b	131,83 ± 16,12 b	41,02 ± 1,67 c
Pupe	205,39 ± 5,71 a	150,35 ± 18,69 b	138,98 ± 5,90 b	28,79 ± 1,47 c
Adulte mâle	115,66 ± 15,80 b	179,45 ± 18,40 a	99,11 ± 3,38 b	50,25 ± 7,32 c
Adulte femelle	223,91 ± 31,24 a	279,66 ± 43,35 a	132,77 ± 1,87 b	89,59 ± 10,42 b

DISCUSSION

IV. Discussion

4.1. Rendement des huiles essentielles

Le rendement des huiles essentielles extraites de *L. dentata*, *M. piperita* et *O. basilicum* est de l'ordre de 1,18, 1,46 et 1,56% respectivement de la matière sèche de la partie aérienne de la plante. Ces résultats sont supérieurs à ceux signalés dans certaines régions de l'Algérie. Le bon rendement des huiles obtenu dans cette étude, peut être dû au climat semi-aride qui caractérise la région de Tébessa et il est bien connu que les rendements maximaux sont obtenus dans les régions à climat sec (Ouibrahim, 2014).

D'après Bousmaha *et al.* (2006), le rendement des HEs extraites de *L. dentata* marque des variations d'une région à une autre dans la willaya de Tlemcen, il est de : 0,40 à 0,79% dans la région d'Enjajra, 0,31–0,59% dans la région de Souk-El-Khémis, 0,33–0,47% dans la région de Sidi-Dris, 0,25–0,46% dans la région de Tafessout, 0,31–1,04% dans la région de Honaine, 0,75–0,98% dans la région de Ouled-Sid-Echeikh, 0,28–0,55% dans la région de Souk-Eltnine et de 0,24–0,46% dans la région de Beni-Saf. Par ailleurs, le rendement de cette même plante présente également des variations d'un pays à un autre, il est de 0,80% à l'Espagne (Gamez *et al.*, 1990), 0,58% au Yemen (Mothana *et al.*, 2012), 1,41% au Maroc (Imelouane *et al.*, 2010) et 1,96% en Tunisie (Msaada *et al.*, 2012). De plus, le rendement des HEs varie d'une espèce de lavande à une autre, il présente des valeurs de 2% chez *L. angustifolia* (Belhadj Mostefa *et al.*, 2014), de 2,3% et 2,89% chez *L. abrialis* (Zrira, 2007; Soro *et al.*, 2014), et de 1,97% chez *L. pedunculata* (Soro *et al.*, 2014).

Ayaidia (2011) a signalé également une variation du rendement des huiles de *M. piperita* selon les régions de collecte de la willaya d'Ouargla, avec des taux de 0,8% dans la région de Hdjira, de 0,45% dans la région de Beldet Omor et de 0,72% dans la région d'Awinet Moussa. De même, Pavela *et al.* (2014) ont signalé des rendements variant de 0,69% à 2,33% pour la même espèce, cultivée dans les mêmes conditions de culture. Le rendement d'extraction des huiles de *Mentha spicata* et de *Mentha piperita* cultivées au Bénin sont respectivement de 1,06 % et de 1,2 % (Dahouénon-Ahoussi *et al.*, 2010). Le rendement des HEs extraites des plantes utilisées dans notre travail, est inférieur à celui de *M. piperita* (1,72 %), de *M. pulegium* (2,33 %) et de *M. suaveolens* (4,33 %) cultivées au Maroc (Benayad, 2008).

De plus, le rendement en HE d'*O. basilicum* est de 0,7% dans la région d'Ain-Defla (Brada *et al.*, 2011) et de 0,71% dans la région d'El Kala (Ouibrahim *et al.*, 2013). Le rendement des HEs obtenues à partir des parties aériennes d'*O. basilicum* pourpres et vertes était de 0,2% et 0,5% respectivement (Sajjadi, 2006). Pripdeevch *et al.* (2010) a trouvé un rendement de

1,39% chez *O. basilicum* var. *thyrsiflora* et de 0,61% chez *O. basilicum*. A son tour, Matasyoh *et al.* (2008) signale un rendement de 0,12 jusqu'à 1,4% chez une autre espèce, *Ocimum gratissimum*.

Cette variabilité du rendement peut être due aux facteurs d'origine intrinsèque, spécifique au bagage génétique de la plante ou d'origine extrinsèque, lié aux conditions de croissance et de développement de la plante (Maffei & Sacco, 1987 ; Bruneton, 1999). Ces différences sont dues également à l'origine géographique, les facteurs écologiques notamment climatiques (la température et l'humidité), l'espèce végétale, l'organe végétal, le stade de la croissance, la période de collecte, la conservation du matériel végétal et la méthode d'extraction (Granger *et al.*, 1973; Rosua & Granados, 1987 ; Fournier *et al.*, 1989 ; khajeh *et al.*, 2004 ; 2005 ; Viljoen *et al.*, 2006; Sefidkon *et al.*, 2007). La teneur en huiles essentielles dépend également du moment de la collecte car les sommités fleuries et les feuilles récoltées après la floraison perdent 70% de leurs huiles essentielles par évaporation (Salle & Pelletier, 1991).

4.2. Composition chimique des HEs

L'analyse de la composition chimique des HEs extraites de *L. dentata* par la CPG/SM révèle un chémotype α -terpinolène/camphre car ces deux molécules sont majoritaires. Comparativement aux recherches publiées, le profil chimique décrit dans cette étude a des différences, mais aussi des similarités. Bettaieb *et al.* (2017) montrent que la composition de l'HE de *L. dentata* est dominée par le camphre (26,52%) et le 1,8 cinéole (22,90%). Par ailleurs, Soro *et al.* (2014) montrent un chémotype : camphre (49,75%) / 1,8- cineole (39,84%) chez la même espèce, tandis que le camphre (46,36%), la fenchone (13,19%) et l' α -pinène (10,74%) ont été enregistrés chez *L. pedunculata*. Même étude réalisée sur *L. abrialis* a mis en évidence la dominance du linalool (25%), du camphre (16,06%), de l'acétate de linalool (13,66%) et du bornéol (11,94%) (Soro *et al.*, 2014). La composition chimique de l'HE de *Lavandula augustifolia* Mill., collectée dans la région de Batna, révèle 32 composants dont 1,8-cineole (29,4%) et le camphre (24,6%) sont les constituants majoritaires (Belhadj *et al.*, 2014). Imelouane *et al.* (2010) montrent que le β -pinène (27,08%) est le chémotype des espèces de Lavande collectées dans l'Est Marocain, suivi par le pincarvéol (14,77%) et le myrténal (8,18%). Les mêmes auteurs ont signalé que les espèces de *L. dentata* provenant de Taforalt et Talazart (Maroc) contiennent comme composants majoritaires : le 1,8- cineole (41,28%), le sabinène (13,69%), le myrténal (5,11%) (Imelouane *et al.*, 2009). En Tunisie, les espèces de lavande cultivées, ont le linalool (47,30 %) comme chémotype et linalyl acétate (28,65%), bicyclogermacrène (3,40%), camphre (2,32%) et δ -terpinéol (1,47%) sont les

constituants majoritaires (Msaada *et al.*, 2012). Le Tableau 74 présente les constituants majeurs des HEs de *L. dentata* récoltée dans différentes régions dans le monde.

Tableau 74. Constituants majoritaires des HEs de *L. dentata* collectée dans différentes régions.

Constituants majoritaires	Pays	Références
Camphre, Trans-pinocarvéol, β -eudesmol et α -guaïol	Yémen	Mothana <i>et al.</i> (2012)
1,8-Cinéole, Cis-verbénole, P-cymen-8-ol, Fenchone et Myrténal	Algérie	Bousmaha <i>et al.</i> (2006) ; Dob <i>et al.</i> (2005)
β -pinène, Pinocarvéol et Myrténal	Espagne	Garcia-Vallejo <i>et al.</i> (1987)
Menthe-1,5-dien-8-ol, Caryophyllène oxyde et Guaiol	Egypte	Nevein <i>et al.</i> (2014)
Camphre, Fenchone, d-Fenchol et Linalool	Turquie	Al-Sarar <i>et al.</i> (2014)

Concernant les HEs de *M. piperita*, plusieurs travaux ont mis en évidence de multiples chémotypes dans différentes régions d'Algérie. D'après les résultats obtenus dans notre étude, l'huile de *Mentha* est de type carvone (52,58%) avec dl-limonène (17,40%) et dihydrocarvéol (6,50%) comme composants majoritaires. Des résultats similaires ont été obtenus par Goudjil (2016) dans la région d'Ouargla sur la même espèce où le carvone (51,04 %) et le Limonène (36,37 %) représentent les constituants majoritaires. Pavela *et al.* (2014) ont analysé 20 espèces du genre *Mentha* et ils ont trouvés que les HEs extraites de *M. villosa* a un chémotype de carvone (67,9%) et celles extraites de *M. spicata* sont de type carvone/piperitenone oxyde. Par contre, les HEs de 8 échantillons de *M. piperita* montrent une variation du taux de monoterpènes selon le génotype de la plante : menthol (20,5%-57,3%), carvone (0-56,8%) et piperitenone oxyde (0-31,8%). Par ailleurs, d'autres composants majoritaires ont été signalés chez les HEs de *M. longifolia* tels que le Pulegone (74,95%), 1,8-cinéole (7,35%), L-menthone (6,62%), et l'Eucarvone (2,68%) (Al-Sarar *et al.*, 2014) et chez les huiles de *M. spicata* comme le carvone (59,35%), le limonène (9,87%) et 1,8-cinéole (7,35%) (Sertkaya *et al.*, 2010). Le Tableau 75, présente les constituants majeurs des HEs de *M. piperita* récoltée dans différentes régions.

Tableau 75. Constituants majoritaires des HEs de *M. piperita* collectée dans différentes régions.

Constituants majoritaires	Pays	Références
Linalool (51,8%), Epoxyocimène (19,3%), Sesquiphellandrene (9,4%) et Cadinène (4,0%).	Brésil	Da Silva Ramos <i>et al.</i> (2017)
Linalool (51%), Carvone (23,42%) et 3-octanol (10,1%)	Brésil	Sartoratto <i>et al.</i> (2004)
Carvone (30,5%), 1,8-cinéole (14,7%) et Menthone (5,2%)	Brésil	Gracindo <i>et al.</i> (2006)
α -Terpinène (19,7%), Pipertinone oxyde (19,3%) et Trans-Carvéol (14,5%)	Iran	Yadegarinia <i>et al.</i> (2006)
Menthone (29,01%), Menthol (5,58%) et Menthyl acetate (3,34 %)	Maroc	Derwich <i>et al.</i> (2011)
(+)-Menthol (38,06%), Menthol (35,64%) et Neomenthol (6,73%)	Turquie	Kizil <i>et al.</i> (2010)

Pour l'huile essentielle de l'*O. basilicum* analysée au cours de notre étude, elle est de chémotype Linalyl acétate/Linalool. D'après Telci *et al.* (2006), quatre chémotypes de basilic ont été identifiés :

- Le chémotype européen ayant le Linalool comme composant principal (Italie, France, Bulgarie, Egypte et Afrique du Sud).
- Le chémotype tropicale, riche en cinnamate de méthyle (Inde, Pakistan et Guatemala).
- Le chémotype de la Réunion possédant le méthyl chavicol comme constituant majoritaire (Madagascar, Thaïlande et Vietnam) (Vernin & Metzger, 1984 ; Simon *et al.*, 1999).
- Le chémotype Eugénol d'Afrique du Nord et de la Russie (Vernin & Metzger, 1984).

Hadj Kelifa *et al.* (2012), ont également identifié le Linalool comme composant principal avec un taux de 32,83% suivi d'Acétate de linalyl (16%), lors d'une étude sur l'huile essentielle du basilic issu de la région de Khemis Miliana. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Brada *et al.* (2011) sur l'HE du basilic de la région de Chlef. Ainsi, il ressort des travaux réalisés que l'HE du basilic de différentes régions d'Algérie est de chémotype européen. Sept chémotypes ont été décrits pour l'huile essentielle de l'*O. basilicum*: (1) Linalool, (2) Linalool/Eugénol, (3) Méthyl chavicol sans Linalool, (4) Méthyl chavicol/Linalool, (5) Eugénol de méthyle/Linalool, (6) le Cinnamate de méthyle/Linalool et (7) de chémotype Bergamotène (Zheljazkov *et al.*, 2008). Les travaux de Bassolé *et al.* (2010) ont mis en évidence le Linalool et l'Eugénol comme composés majoritaires de l'huile de cette plante. Les constituants majoritaires des HES d'*O. basilicum* de différentes régions sont présentés dans le Tableau 76.

Tableau 76. Constituants majoritaires des HES de l'*O. basilicum* collecté dans différents pays.

Constituants majoritaires	Pays	Références
<i>iso</i> -pinocamphone (35,10%) et Carvone (39,70%).	Italie	De Martino <i>et al.</i> (2009)
Linalool (30,61%) and Estragole (20,04%)	Mexique	Martinez-Velazquez <i>et al.</i> (2011)
Méthyl chavicol (70,04%), Linalyl acétate (22,54%), Camphène (7,32%), Camphre (56,07%), DL-limonène (13,56%).	Inde	Anand <i>et al.</i> (2011)
α -terpineol (59,78%) et β -caryophyllène (10,54%)	Burkina Faso	Bayala <i>et al.</i> (2014)
1,8cineole (1,5%), β -ocimène (3,54%), Linalool (65,38%), Eugenol (5,26%), δ -guainène (2,27%), Cadinol (8,18%), Camphre (2,13%), α -bergamotène (1,55%).	Roumanie	Stephan <i>et al.</i> (2013)
Geraniol (34,89%), α -pinène (0,23%), Eugenol (1,33%), Linalool (2,21%), Camphre (0,64%).	Inde	Saha <i>et al.</i> (2013)
Linalool (5,8%), Naphthalène (4,98%), Estragole (16,5%), Butylactyl ester (9,72), Eicosène (2,17)	Pakistan	Bariyah (2013)
P-Cymène (2,6%) Thymol (6,5%) Germacrène D (1,1%) N-Phéllandrène (15,3%), Carvacrol (1,8%), N-Bisabolène (0,3%), Limonène (30,9%), (Z)-N-Ocimène (2,1%), R-Cadinène (1%), (E)-N-Ocimène (0,6%), O-Cadinène (1, 8%)	Cameroon	Belong <i>et al.</i> (2013)

Copaène (25,5%), P-menth-2-en-1-ol (7,70%), 3-carène (1,6%), δ -himachalène (3,6%), Eugenyl acétate (4,8%), α -cubebene (2,5%), Bornyl acétate (4,0%).	Ethiopie	Unnithan <i>et al.</i> (2013)
1,8-cineole (6,2%), Linalool (36,3%), Camphre (9,7%), α -terpineol (3,8%), Methyl chavicol (9,1%) et Eugenol (34,9%).	Brésil	Barcelos <i>et al.</i> (2013)
Linalool (52,42%), Méthyl eugenol (18,74%) et 1,8-cineole (5,61%).	Inde	Govindarajan <i>et al.</i> (2013)
Linalool (51,86%), Terpinen-4-ol (2,98%), 1,8, cineole (13,95%), Eugenol (8,39%), Trans- α -bergamotene (1,39%), α -terpineol (1,32%), β -ocimene (1,18%).	Cameroun	Ntonga <i>et al.</i> (2014)
Méthyl eugenol (39,3%), Méthyl chavicol (38,3%), Terpinolène (7,7%), Eugenol (4,5%)	Inde	Joshi (2014)
Linalool (69,87%), Geraniol (9,75%), P-allylanisole (6,02%), 1,8-cineole (4,90%), Trans- α -bergamotene (2,36%) et Neryl acetate (1,24%).	Oman	Abbasy <i>et al.</i> (2015)
Linalool (48,4%), 1,8-cinéol (12,2%), Eugenol (6,6%), Méthyl cinnamate (6,2%), α -cubebene (5,7%), Caryophyllene (2,5%), β -ocimène (2,1%) et α -farnesène (2%)	Egypte	Abou El-Soud <i>et al.</i> (2015)
Méthyl chavicol (85,19%), 1,8 cineole (3,96%), Trans- α bergamotene (1,18%)	Iran	Sharafati-Chaleshtori <i>et al.</i> (2015)
Linalool (33,9%), Eugenol (8,3%), α -7-H-Eudesma-3,5-diene (4,24%), α -Bulnesene (3,31%), α -amorphene (3,95%), β -cubebene (4,33%)	Egypte	Abd El-Azim <i>et al.</i> (2015)

Les variations qualitatives et quantitatives observées dans la composition chimique des HEs testées sont probablement dues à des facteurs génétiques, mais également à des facteurs géographiques, bioclimatiques ainsi qu'aux conditions de récolte et de stockage de la plante (Hussain *et al.*, 2008; Anwar *et al.*, 2009).

La composition des huiles essentielles est sujette à plusieurs facteurs de variabilité, des facteurs externes et internes à la plante. Pour une espèce donnée, la proportion des différents constituants d'une HE peut varier selon les conditions de stockage, la température, l'humidité relative et la durée de séchage. Les vents ont également un effet sur la composition des HEs des plantes, particulièrement chez les espèces qui possèdent des structures histologiques de stockage superficielles (ex : poils sécréteurs des Lamiaceae). Lorsque la localisation est plus profonde, la qualité est beaucoup plus constante (Bruneton, 1999 ; Gyorgyi *et al.*, 2006). Danute *et al.* (2004) ont constaté que la composition chimique de l'HE de *Daucus carota* récoltée dans des régions saines est différente de celle récoltée dans des régions polluées.

La qualité des huiles essentielles est également influencée par les conditions météorologiques au moment de la récolte et l'heure de la récolte (Kofidis *et al.*, 2004). La composition d'une huile essentielle de *Mentha* récoltée le matin est différente à celle récoltée au milieu ou en fin de journée. De plus, le procédé et la durée de distillation, les procédés physiques ou chimiques utilisés lors de l'extraction et de l'analyse peuvent donner lieu à des variations des constituants (Belaiche, 1979 ; Bruneton, 1999 ; Kofidis *et al.*, 2004).

4.3. Toxicité des HEs à l'égard des moustiques

La toxicologie est l'étude des effets nocifs d'une substance chimique naturelle ou synthétique sur les organismes vivants. Les tests toxicologiques sont adoptés pour tester la sensibilité des larves, vis-à-vis des insecticides utilisés en campagnes de lutte (OMS, 1963), ils sont nécessaires d'évaluer les concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀).

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (Cseke *et al.*, 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 les biopesticides à base d'huiles essentielles peuvent être des outils de choix dans les programmes de gestion de la résistance des insectes aux pesticides. Avec les mécanismes d'action particuliers de ces biopesticides, ils peuvent être utilisés seuls et à répétition sans potentiellement inciter 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 pré-synaptiques (Windley *et al.*, 2012). Ces multiples cibles des biopesticides s'opposent à l'apparition du phénomène de résistance chez les insectes.

La toxicité évaluée à partir du taux de mortalité enregistrée après traitement, dépend des doses administrées. Notre étude a pour but de tester la toxicité des huiles essentielles extraites de trois plantes *L. dentata*, *M. piperita* et *O. basilicum* à l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *C. longiareolata* et de *C. pipiens*, dont les résultats montrent une activité larvicide de toutes les HEs appliquées avec une relation dose-réponse. De plus, on note que les HEs de *M. piperita* sont les plus toxiques et que les larves de *C. pipiens* sont plus résistantes que celles de *C. longiareolata*.

L'huile essentielle la plus efficace, obtenue à partir de *M. piperita*, est caractérisée par une teneur élevée en carvone et limonène. Le limonène est considéré comme un important insecticide à cause de sa faible toxicité envers les Mammifères et de leur biodégradabilité élevée (Aidi Wannas, 2011). Lee *et al.* (2001) a montré la toxicité du limonène isolé de *Mentha arvensis* L. contre une espèce de coléoptère, *Sitophilus oryzae*. La toxicité de ce constituant a été mise en évidence lors de l'évaluation de l'activité larvicide de 14 composés monoterpéniques vis-à-vis d'une espèce de moustique, *Aedes aegypti* L. (Santos *et al.*, 2011).

Les caractéristiques structurales qui peuvent contribuer à l'activité larvicide des monoterpènes ont été identifiées expérimentalement car la présence d'hétéroatomes dans la structure de base hydrocarbonée, le remplacement des doubles liaisons par des époxydes plus réactifs et la présence d'hydroxyles dans la structure cyclique diminue le pouvoir larvicide (Santos *et al.*, 2011). Par contre, les doubles liaisons conjuguées et l'augmentation de la polarité semble jouer un rôle important dans l'augmentation de l'efficacité larvicide des composés (Santos *et al.*, 2011). De plus, la structure chimique, la substitution alkyl et la longueur de la chaîne latérale alkyl en position C8 sont essentielles pour conférer une toxicité (Wang *et al.*, 2012).

Dans des travaux antérieurs, les propriétés insecticides de certaines huiles essentielles ont été testées particulièrement sur les larves de moustiques. Nous citons à cet effet, les travaux de Michaelakis *et al.* (2011) qui montrent que les huiles extraites de trois espèces de *Mentha* : *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 27,23 ppm respectivement. Par ailleurs, Singh *et al.* (2003) révèle une activité larvicide des HEs extraites d'*Ocimum canum* avec des concentrations létales (CL₅₀=301, 340 et 234ppm respectivement) supérieures à celles trouvées au cours de notre expérimentation et cela à l'égard de trois espèces de moustiques : *A. aegypti*, *C. quinquefasciatus* et *A. stephensi*.

D'autre part, l'application des HEs extraites de quatre plantes, provoque une toxicité à l'égard des larves d'*Aedes aegypti* avec une CL₅₀ et CL₉₀ de 47,54 et 86,54 ppm pour *Mentha piperita*, de 40,5 et 85,53 ppm pour *Zingiber officinale*, de 115,6 et 193,3 ppm pour *Curcuma longa* et de 148,5 et 325,7 ppm pour *O. basilicum* (Kalavani *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 24h de traitement, avec une concentration de 50 ppm.

Les travaux de Pavela *et al.* (2014) ont montré que le traitement par les HEs de 8 échantillons de la même espèce, *M. piperita* sur les larves 3 de *C. quinquefasciatus* provoque un effet toxique avec des CL₅₀ variant de 54 - 141ppm et des CL₉₀ variant de 88 - 577ppm. Les études de Manzoor *et al.* (2013) réalisées sur cinq plantes à l'égard des larves 3 ont révélé l'efficacité de l'*O. basilicum* à l'égard d'*A. aegypti* et *C. quinquefasciatus* comparativement aux autres plantes, avec des CL₅₀ (75,35ppm et 92,30ppm respectivement) similaires à celles trouvées au cours de notre expérimentation.

Ces activités larvicides à l'égard des différentes espèces de moustiques sont reliées à l'action des constituants majoritaires des HEs. D'après Cetin & Yanikoglu (2006), les HEs d'*Origanum orites* et *Origanum minutiflorum*, où le carvacrol est le constituant majeur,

montrent un effet toxique à l'égard des larves 3 et 4 de *C. pipiens* avec une CL_{50} de 24,8 et 73,8ppm respectivement. De plus, les HEs d'*Artemisia sieberi* et *Artemisia haussknechtii* avec le camphre comme composant majeur, sont très efficaces contre *C. maculatus* (Hashemi & Safavi, 2012 ; Negahban *et al.*, 2007). L'efficacité des HEs d'*Aegle marmelos* sur *C. pipiens* peut être due à la concentration élevée en limonène (64,1%) (Satyal *et al.*, 2012), car l'application de ce constituant sur les larves 3 d'*A. aegypti* montre un effet toxique avec des concentrations létales de 13 μ l/L pour la CL_{50} et de 23,2 μ l/L pour la CL_{90} (Rocha *et al.*, 2015). Plusieurs travaux antérieurs ont montré que le linalool est le responsable de la toxicité des HEs de certaines plantes vis-à-vis des espèces de moustiques (Chantraine *et al.*, 1998 ; Tiwary *et al.*, 2007). Par ailleurs, Govindarajan (2013), montre que les HEs d'*O. basilicum* dont le linalool est le composant principal (52,42%), présentent un effet toxique à l'égard des larves 3 de *C. tritaeniorhynchus*, *A. albopictus* et *A. subpictus* avec une CL_{50} de 14,01 ; 11,97 et 9,75ppm et une CL_{90} de 23,44 ; 21,17 et 18,56ppm, respectivement.

Dans cette étude, on peut expliquer l'activité larvicide des HEs à l'égard de *C. longiareolata* et *C. pipiens*, par l'action de leurs composants majoritaires : *L. dentata* avec terpinolène et camphre, *M. piperita* avec carvone et limonène et *O. basilicum* avec linalyl acétate et linalool. 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 (Manal *et al.*, 2013).

4.4. Effet des HEs sur les biomarqueurs

Une bonne évaluation de l'impact écotoxicologique des contaminants nécessite souvent une approche multifactorielle utilisant plusieurs marqueurs biologiques. Au niveau biochimique, il existe différents types de biomarqueurs regroupés selon leur fonction au niveau cellulaire (Badiou, 2007). Les principaux biomarqueurs utilisés sont des marqueurs enzymatiques comme la catalase, la glutathion peroxydase, les glutathion S-transférases et l'acétylcholinestérase (Durou *et al.*, 2007).

En dépit des diversités chimiques des insecticides et diversités biologiques des insectes, un nombre de mécanismes de résistance sont capable de détoxifier les insecticides en métabolites moins toxiques (Soderlund, 1997). Ces mécanismes sont :

- ✓ Résistance comportementale s'observe au niveau de l'insecte qui présente un comportement différent, empêchant le toxique d'agir.

- ✓ Résistance physiologique s'exprime au niveau des tissus et organes ; elle est caractérisée par une diminution de la pénétration ou par une augmentation de l'excrétion des insecticides.
- ✓ Résistance biochimique se situe au niveau cellulaire. Elle consiste d'une part, en une augmentation de l'activité enzymatique des systèmes de détoxification (Cytochromes P450, GSTs et Carboxylestérases) et d'autre part, en une diminution de l'affinité des sites d'action vis-à-vis des insecticides (Canal sodium "voltage-dépendant", AChE et GABA_R).

Pour contribuer à une compréhension de ces mécanismes, nous avons évalué l'effet des HEs de *L. dentata*, de *M. piperita* et d'*O. basilicum* sur l'activité d'un biomarqueur de neurotoxicité, l'acétylcholinestérase, des biomarqueurs du stress oxydatif, glutathion S-transférases et son cofacteur, le glutathion, la catalase et un biomarqueur de la peroxydation lipidique, le malondialdéhyde chez deux espèces de moustiques, *C. longiareolata* et *C. pipiens* à différentes périodes après traitement : 24, 48 et 72heures.

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

L'acétylcholinestérase a été découverte en 1938 par Nachmanshn (Haubruge & Amichot, 1998). Son rôle est d'hydrolyser l'acétylcholine en acétate et choline afin de stopper la stimulation du récepteur et par conséquent la dépolarisation de la membrane (Soreq & Zakut, 1993 ; Charpentier *et al.*, 2000). Son site actif possède un site catalytique qui peut être décomposé en 2 parties, le sous-site estérasique et anionique. Le sous-site anionique est responsable de la stabilisation du substrat lors de catalyse par fixation de l'ammonium quaternaire de la partie choline de l'ACh (Rosenberry, 1975). Le sous-site estérasique contenant la triade catalytique Ser200, His440 et Glu327 constitue le lieu de la catalyse (Eldefrawi, 1985).

Au niveau des jonctions neuromusculaires et interneuronales, l'influx nerveux est transmis grâce à la libération d'acétylcholine par la terminaison nerveuse dans l'espace synaptique, ce qui permet la transmission du message nerveux d'une cellule à une autre. Une fois l'information transmise, l'acétylcholine est rapidement inactivée par l'acétylcholinestérase, ce qui permet au système de revenir à son état de repos (Badila, 1995 ; Bocquéné, 1997 ; Bainy, 2000).

Plus de 90 % des insecticides de synthèse sont des organophosphorés, des carbamates et des pyréthriinoïdes, avec des sites d'action localisés dans le système nerveux, dont l'acétylcholinestérase (AChE) est le plus important (Haubruge & Amichot, 1998). Les organophosphorés et les carbamates agissent en inhibant l'activité catalytique de l'AChE. Ils

se fixent en effet sur le site actif de l'enzyme, à la place de l'acétylcholine ; au cours de la liaison de ces insecticides à l'enzyme, l'AChE des insectes est inactivée par phosphorylation ou carbamylation des résidus de la sérine dans le site actif (Eldafrawi, 1985 ; Haubruge & Amichot, 1998). L'accumulation de l'ACh dans la région synaptique provoque une transmission permanente de l'influx nerveux, causant finalement la mort de l'insecte par tétanie. La mort fait suite à une liaison de manière covalente du groupement acétyl de l'acétylcholinestérase empêchant ainsi toute liaison ultérieure de l'enzyme avec une molécule d'acétylcholine (Bainy, 2000). En effet l'exposition à des doses données d'insecticide, 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 (Braquenier, 2009 ; Samuel & Laurent, 2005).

L'analyse des résultats obtenus après dosage de l'activité enzymatique de l'AChE des larves 4 chez *C. longiareolata* et *C. pipiens*, traitées par les HEs de *L. dentata*, de *M. piperita* et de l'*O. basilicum* à la CL₅₀ à différents temps 24, 48 et 72 heures, révèle une diminution significative de l'activité de l'AChE comparativement aux témoins. Cette diminution est probablement due à l'inhibition de cette enzyme par les HEs. Le traitement avec certaines huiles essentielles ou leurs constituants purifiés a provoqué des symptômes qui prouvent leur mode d'action neurotoxique. Ces symptômes manifestés, y compris l'hyperactivité, les convulsions et les tremblements suivis de paralysie, sont similaires à ceux produits par les organophosphorés et les carbamates (Kostyukovsky *et al.*, 2002). Plusieurs monoterpènes des huiles essentielles agissent comme étant des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (Grundy & Still, 1985 ; Ryan & Byrne, 1988).

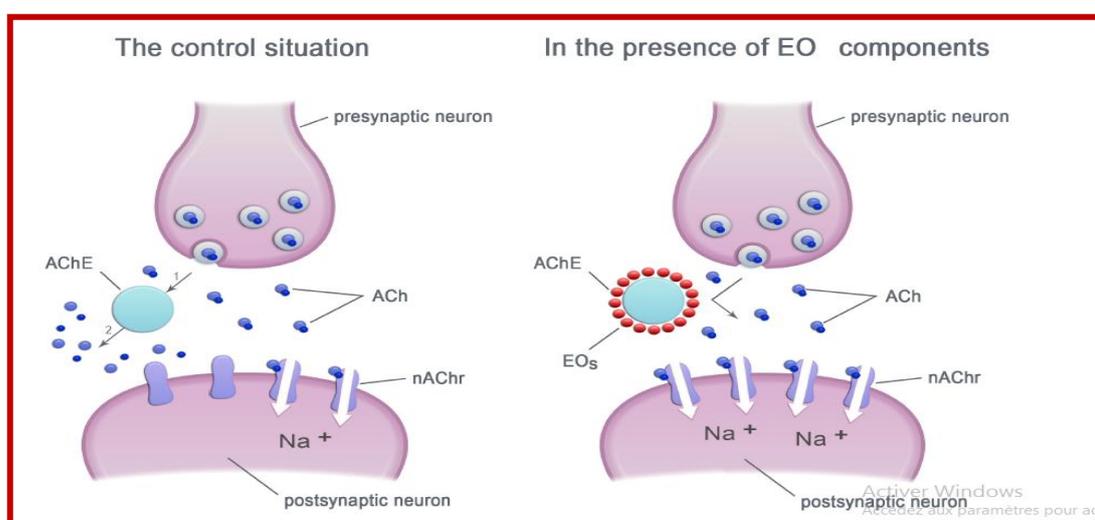


Figure 51. Mécanisme d'action des huiles essentielles au niveau des synapses cholinergiques. ACh- acétylcholine, nAChr- récepteurs de l'acétylcholine nicotinique, OE-composants de l'HE (Jankowska *et al.*, 2018).

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Al-Asrar *et al.* (2014) qui démontrent que les HEs de *M. longifolia* et de *L. dentata* expriment une activité anti-acétylcholinestérase à l'égard des adultes de *Callosobruchus maculatus*. Les HEs extraites d'*Artemisia dracunculus* L., *Inula graveolens* L., *Lavandula officinalis* C., et *Ocimum sanctum* L. provoquent une inhibition de l'activité de l'AChE avec un effet plus puissant enregistré chez *Artemisia dracunculus* (50% d'inhibition pour la CL₅₀) (Dohi *et al.*, 2009). Lopez & Pascual-Villalobos (2010), et Abdelgaleil *et al.* (2009) ont prouvé que le fenchone et le camphre sont des inhibiteurs de l'AChE chez *Sitophilus oryzae* (L.) et *Tribolium castaneum*. De plus, les HEs extraites à partir de *Chamaemelum nobile*, *Eriocephalus punctulatus*, *Ormenis multicaulis*, *Santolina chamaecyparissus*, *Cyclotrichium niveum*, *Thymus praecox subsp. caucasicus var. caucasicus*, *Echinacea purpurea*, *Echinacea pallida*, *Salvia chionantha*, *Anethum graveolens*, *Salvia lavendulaefolia* peuvent inhiber l'activité de l'AChE (Seo *et al.*, 2014 ; Orhan *et al.*, 2009 ; Tel *et al.*, 2010 ; Orhan *et al.*, 2013 ; Perry *et al.*, 2002). 23 sur 28 composés testés sur l'AChE des insectes, ont provoqué son inhibition, avec un effet marqué de α -pinène, β -pinène, β -phellandrène, carvacrol, limonène, menthol, menthone, 1,8-cineole, cis-ocimène, niloticin (Seo *et al.*, 2014 ; Yeom *et al.*, 2015 ; Anderson & Coats, 2012 ; Park *et al.*, 2016 ; Lee *et al.*, 2001 ; Picollo *et al.*, 2008 ; Park, 2014 ; Reegan *et al.*, 2016). Singh *et al.* (2017) ont montré que l'activité de l'AChE est fortement inhibée chez les insectes : *Periplaneta americana* et *Sitophilus oryzae* exposés à l'anhydride 2,3-diméthylmaléique (molécule naturelle biofumigante isolée de la racine de *Colocasia esculenta*) et l'inhibition était compétitive. De plus, les alcaloïdes qui sont principalement toxiques contre les insectes (Kennedy & Wightman, 2011) servent potentiellement de larvicides naturels contre les moustiques (Talontsi *et al.*, 2011). Ils provoquent une inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) et les canaux sodiques (Rattanam *et al.*, 2014). Ghosh (2012) a déclaré que l'inhibition de l'AChE est la perturbation physiologique la plus importante des métabolites secondaires des plantes chez les insectes, car elle fonctionne comme une enzyme clé responsable de l'arrêt de la transmission de l'influx nerveux au niveau synaptique. En conséquence, l'exposition des insectes, tels que les moustiques à des substances contenant des métabolites secondaires induit la paralysie et la mort de ces derniers (Rattanam *et al.*, 2014).

Les monoterpènes avec un petit poids moléculaire peuvent se fixer sur des récepteurs cibles qui modifient l'activité nerveuse (Chaubey, 2017). López *et al.* (2015) dans ses travaux, a étudié la cinétique de l'inhibition et le volume spatial des terpènes et leurs capacités de liaison. Ils ont conclu que deux molécules de monoterpènes peuvent se lier à une seule molécule d'AChE au même temps et la liaison du premier composé d'HE favorise l'attachement du deuxième. Egalement, ces auteurs ont montré que certains monoterpènes tels

que le carvone et le fenchone, peuvent se lier à plusieurs sites d'AChE. Par contre, ils ont trouvé un seul site de liaison pour le terpinène et le camphre. Les résultats obtenus par Praveena & Sanjayan (2011) ont prouvé que le linalool se fixe sur un site cible de l'AChE, contenant des acides aminés hydrophobes tels que "PHE", "ILE", "TRP", "LEU", "GLY", "SER", "TYR" chez *Aedes aegypti*, *Leptinotarsa decemlineata* et *Spodoptera litura*. Savelev *et al.* (2003) montrent un effet synergique antiacétylcholinestérase de 1,8-cineole et α -pinène et ils ont obtenu des résultats similaires avec le 1,8-cineole et le caryophyllène oxide. Par contre, une interaction antagoniste est trouvée avec le 1,8-cineole et le camphre. Miyazawa *et al.* (1998) ont également observé une action antagoniste de certains composés des HEs. Ils ont comparé l'effet inhibiteur des HEs extraites à partir de certaines plantes à la somme d'efficacité inhibitrice des composés majeurs et le mélange synthétique de ces composés. Ils ont trouvé que les HEs provoquent une forte inhibition de l'activité de l'AChE (46%), comparativement à la somme d'action inhibitrice des composés qui atteint une valeur de 29,5% et au mélange synthétique de ces composés qui induit une inhibition de 19%. Par contre, l'étude de Jukic *et al.* (2007), a montré que les HEs extraites de thym induisent une inhibition de l'activité de l'AChE inférieure à celle des composés majeurs seuls. Certainement, l'interaction positive ou négative des composés des HEs dépend de leur pourcentages (Jankowska *et al.*, 2018).

Par ailleurs, l'activité insecticide de plusieurs terpènes tels que la coumarine est directement reliée à leurs capacité d'inhiber l'AChE (Olmedo *et al.*, 2015 ; Rajashekar *et al.* 2014). Ceci concorde avec nos résultats car le degré d'inhibition de l'activité de l'AChE est corrélé avec la toxicité des HEs. Les huiles extraites de *Mentha piperita* sont les plus toxiques et ont plus d'impact sur l'AChE par rapport aux autres huiles testées. L'activité insecticide des huiles essentielles de *Melaleuca alternifolia* à l'égard de *Helicoverpa armigera* (Liao *et al.*, 2017) et celles extraites de deux plantes, *Cuminum cyminum* et *Piper nigrum* à l'égard de *Sitophilus zeamais* et *Sitophilus oryzae* est liée à leurs effets inhibiteurs sur l'activité de l'AChE (Chaubey, 2011 ; 2017). Une étude d'Oboh *et al.* (2017) révèle l'efficacité des huiles essentielles de *Citrus sinensis* contre *T. confusum*, *C. maculatus* et *S. oryzae* et qui est associée à ses effets inhibiteurs sur l'activité acétylcholinestérase et Na^+ / K^+ -ATPase. L'étude d'Olmedo *et al.* (2015) présente une inhibition de l'AChE de plus de 60% chez *Tribolium castaneum* après traitement par le composé majeur (anéthole) des HEs de *Tagetes filifolia*. Par contre, Lee *et al.* (2001) n'ont pas trouvé une corrélation directe entre la toxicité par le menthone à l'égard de *Sitophilus oryzae* et l'inhibition de l'AChE. Par ailleurs, Herrera *et al.* (2015) indiquent que le camphre présente une activité insecticide faible et une inhibition d'AChE élevée. Les mêmes observations ont été faites par Yeom *et al.* (2012) après

traitement à l' α -pinène. Cela peut être dû à la faible pénétration de ces composés au niveau du site cible des insectes traités.

4.4.2. Effet des HEs sur le taux de glutathion

L'activité du système antioxydant subit une augmentation ou une inhibition sous l'effet d'un produit toxique ou un polluant, ces deux types de réponse dépendent de la durée d'exposition d'une part et de la sensibilité de l'espèce exposée d'autre part. L'induction du système de défense antioxydant peut être considérée comme une adaptation de l'organisme à un environnement pollué (Droge, 2002).

Le glutathion (GSH) est un tripeptide soluble dans l'eau, constitué de trois acides aminés ; glutamate, cystéine et glycine (L- γ -glutamyl-L cysteinyl glycine) (Meister & Anderson, 1983 ; Noctor *et al.*, 1998 ; Kim *et al.*, 2005). Dans la plupart des organismes, le glutathion est majoritairement synthétisé dans le cytoplasme à partir de deux acides aminés, la cystéine et le glutamate. Mais, dans des conditions physiologiques, cette forme ne représente que 5-12% de la concentration du glutathion total qui varie entre 0,1 et 10 mM selon les espèces (Foyer *et al.*, 1991; Frendro *et al.*, 1999). Le glutathion peut être transporté et/ou produit dans d'autres compartiments cellulaires. Dans la plupart des organismes vivants, le glutathion joue plusieurs rôles incluant le transport des acides aminés, la synthèse de l'ADN, la croissance cellulaire, la régulation des activités enzymatiques et la régulation du cycle cellulaire (Kim *et al.*, 2005 ; Lu, 2009 ; Meister & Anderson, 1983 ; Penninckx, 2002 ; Shan *et al.*, 1990 ; Sies, 1999 ; Wang & Ballatori, 1998). Le glutathion est un biomarqueur non-enzymatique qui joue un rôle primordial dans la 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, une forme oxydée (GSSG) et une forme réduite (GSH), et ses enzymes comprennent la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion S-transférase (GST) qui sont impliquées dans la détoxification (Yu, 1994 ; Kisek *et al.*, 2004 ; Zehnalek *et al.*, 2004, Singh *et al.*, 2017).

L'analyse des résultats obtenus au cours de nos expérimentations, révèle une diminution significative du taux de la GSH chez les séries traitées par les trois plantes, avec un effet marqué des HEs de *L. dentata* et d'*O. basilicum* à l'égard de *C. pipiens*. Cela explique l'effet moins toxique de ces plantes par rapport à *M. piperita* et la sensibilité de *C. longiareolata* par rapport à *C. pipiens*. La diminution du glutathion peut être expliquée par une consommation accrue de ce cofacteur par les GSTs afin de détoxifier ces biopesticides. Kiran *et al.* (2017) observent une réduction du taux de la GSH chez *Callosobruchus chinensis* et *C. maculatus* après traitement (CL₅₀) à l'HE de *Boswellia carterii*. Cette diminution a été également observée chez *S. oryzae* et *R. dominica* traités à la CL₅₀ d'HE de *Gaultheria procumbens*

(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.

4.4.3. Effet des HEs sur l'activité spécifique des GSTs

Les GSTs sont des enzymes antioxydantes impliquées dans la phase II de détoxification des xénobiotiques (Sau *et al.*, 2010) en catalysant la conjugaison de ces substances avec le groupement thiol du glutathion endogène (Chelvanayagama *et al.*, 2001 ; Boyer, 2006 ; Walters *et al.*, 2009 ; Ebadoallahi *et al.*, 2013). 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 (Oppenoorth *et al.*, 1977 ; Kao & Sun, 1991 ; George, 1994 ; Sun *et al.*, 2001).

Dans la présente étude, l'activité spécifique des GSTs chez les larves 4 de *C. longiareolata* et *C. pipiens*, traitées aux HEs, a augmenté d'une manière significative à différentes périodes, par rapport aux témoins. L'augmentation de l'activité des GSTs se traduit par une mise en place du processus de détoxification. Par ailleurs, la surproduction d'enzymes peut être due à une modification d'un gène régulateur contrôlant le degré d'expression de l'enzyme, et à une augmentation du nombre de copies du gène qui code pour ces enzymes (Cédric, 2008). Le processus de détoxification est incapable d'empêcher l'effet insecticide de ces extraits de plantes.

Les travaux antérieurs montrent des résultats similaires à ceux obtenus dans notre étude (Vanhaelen *et al.*, 2001, Dugravot *et al.*, 2004; Khosravi *et al.*, 2010 ; Zibae & Bandani 2010 ; Bouayad *et al.*, 2013). 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 *Tribolium castaneum* traitées à la CL₃₀, CL₅₀ et CL₇₀ de l'HE d'*Artemisia dracunculus* avec une relation dose-réponse. Par contre, une réduction de l'activité des GSTs a été notée chez les larves du troisième stade de *T. castaneum* et *C. maculatus* traitées aux HEs de cardamome, la cannelle et la muscade (Tarigan *et al.*, 2016), les larves de *Tribolium castaneum* traitées à l'huile de *Agastache foeniculum* (Ebadoallahi *et al.*, 2013), les larves de *Culex*

quinquefasciatus traitées à l'HE de *Citrus grandis* (Mahanta *et al.*, 2017) et les larves de *T. castaneum* traitées aux HEs de six plantes : *Allium sativum*, *Mentha piperita*, *Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris*, *Sesamum Indicum* et *Chamaemelum nobile*) (Abd El-Aziz & El-Sayed, 2009). Ce faible niveau de détoxification qui se traduit par une diminution de l'activité des GSTs, peut être à l'origine du pouvoir insecticide.

4.4.4. Effet des HEs sur le taux de la MDA

Le stress oxydatif cause des dommages cellulaires au niveau membranaire qui se traduit par une inactivation des enzymes et des récepteurs et une dépolymérisation des polysaccharides (Kumar *et al.*, 2017). Puisque les lipides jouent un rôle important dans le maintien et l'intégrité du fonctionnement cellulaire (Klowden, 2007). La fragmentation des lipides membranaires et la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés grâce aux radicaux oxygénés, provoquent des changements de la structure, la fluidité, le transport et les propriétés antigéniques de la membrane cellulaire, conduisant à la formation d'importantes lésions au niveau des tissus et des organes (Van der Vaart *et al.*, 2004). La peroxydation lipidique est un processus complexe correspondant à la dégradation oxydative des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires conduisant à la formation de divers aldéhydes toxiques pour l'organisme dont le principal composé est le malondialdéhyde (MDA) (Zeilinski & Pörtner, 2000). Kohn & Liversedge (1944) sont les premiers à décrire la réaction colorimétrique de l'acide thiobarbiturique (TBA) avec une substance inconnue formée durant l'incubation de l'homogénat d'un tissu. Cette substance inconnue est identifiée plus tard par Patton & Kurtz (1951) comme le malondialdéhyde (MDA), second produit de la peroxydation lipidique. Le MDA est dérivé de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés, ce processus commence par une élimination de l'atome d'hydrogène de l'acide gras polyinsaturé pour former ensuite, via les radicaux libres, un produit primaire stable lipide-hydroperoxide qui sera décomposé pour former un deuxième produit plus stable le malondialdéhyde, produit final de la peroxydation lipidique qui peut réagir avec des groupes amines libres, des peptides, des phospholipides et des acides nucléiques (Storey, 1996 ; Stohs *et al.*, 2000). L'expression d'une peroxydation lipidique par un taux élevé du MDA est utilisée comme biomarqueur du stress oxydatif chez les organismes aquatiques, bioindicateurs de la pollution (Dewes *et al.*, 2006 ; Oruc & Usta, 2007).

Le taux de la MDA a été évalué à 24, 48 et 72h chez les larves 4 témoins et traitées de *C. longiareolata* et de *C. pipiens*. Les résultats obtenus montrent une augmentation significative de ce biomarqueur après traitement par les HEs, avec un effet plus marqué de la lavande et cela sur *C. pipiens* par rapport à *C. longiareolata*. Des résultats similaires ont été rapportés

par Prakash (2015) qui a révélé que la toxicité de l'HE de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Sitophilus oryzae* et *Oryzaephilus surinamensis*, pourrait être associée à un stress oxydatif (activité antioxydante accrue des enzymes) et une inhibition de l'activité de l'ACHé. Les résultats d'Olmedo *et al.* (2015) suggèrent que l'HE de *T. filifolia* et le composé (E)-anethole présentent une activité insecticide et induisent un stress oxydatif représenté par une augmentation du taux de la MDA.

4.4.5. Effet des HEs sur l'activité spécifique de la catalase

La catalase joue un rôle crucial dans l'élimination de l'hydrogène peroxyde des cellules ainsi que dans la défense contre le stress oxydatif (Aebi, 1984). Les résultats obtenus chez les larves 4 de *C. longiareolata* et *C. pipiens*, révèle une augmentation significative de l'activité de la catalase chez les traités comparativement aux témoins, avec un effet marqué de l'*O. basilicum*. Cette augmentation de l'activité traduit une mise en place du processus de détoxication qui est une forme de défense de l'insecte contre le pesticide (Clark, 1989).

Nos résultats concordent avec ceux de Pinho *et al.* (2014), qui ont démontré une augmentation de l'activité de la CAT chez les mouches traitées à l'HE de *Psidium guajava*. Une augmentation du taux de CAT de l'ordre de 30,29% et 38,82%, a été observée après 24 h d'exposition à la CL₅₀ de l'HE de *Boswellia carterii* chez *C. chinensis* et *C. maculatus* respectivement (Kiran *et al.*, 2017). Par contre, une diminution de l'activité de CAT a été observée chez *S. oryzae* et *R. dominica* traités à l'HE de *Gaultheria procumbens* (Kiran & Prakash, 2015), ce qui peut être en raison de la production accrue du radical anion superoxyde (Kurutas *et al.*, 2009 ; Sreejai & Jaya, 2010). Cette diminution de l'activité de CAT induit une accumulation de H₂O₂ toxique à la cellule, conduisant à la peroxydation des lipides membranaires (Sharma *et al.*, 2012).

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 chez les 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). Des études ont montré que les réserves d'énergie des moustiques dépendent de leur taille (Briegel, 1990).

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, des pupes et des

adultes mâles et femelles, avec un effet marqué de la menthe suivi par le basilic et enfin par la lavande et cela sur *C. pipiens* par rapport à *C. longiareolata*. Nos résultats ont montré une grande concordance avec l'hypothèse de Chopa & Descamps (2012) qui révèle une forte corrélation entre la toxicité des HEs et les niveaux de sensibilité métabolique, biochimique, physiologique et morphologique (taille du corps, texture et épaisseur de la cuticule).

Les biopesticides d'origine végétales ont montré des effets délétères sur la croissance et le développement des insectes, en réduisant le poids des larves, des pupes et des adultes et l'allongement des stades de développement (Talukder, 2006). Les HEs réduisent également le taux de survie des larves et des pupes ainsi que l'émergence des adultes (Koul *et al.*, 2008). Il a été rapporté que les graines d'azadirachtine et l'huile de neem ont augmenté significativement la mortalité nymphale des pucerons à 80 et 77% respectivement, en même temps, que la durée de développement des individus qui survivent jusqu'à l'âge adulte (Kraiss & Cullen, 2008). Plusieurs pesticides botaniques ont été signalés avoir un effet prononcé sur la période de développement, la croissance et l'émergence des adultes (Shaalán *et al.*, 2005). Les résultats de Qin *et al.* (2010) ont montré que l'HE de *Piper sarmentosum* et la myristicine (composé majeur) présentaient un effet inhibiteur sur la croissance et le développement de *Brontispa longissima* (Coleoptera : Hispididae) avec un effet marqué de la myristicine. L'extrait éthanolique de *Melia azedarach* a réduit la consommation d'aliments et la digestibilité des larves, induisant ainsi une diminution du taux de croissance des larves de *Spodoptera littoralis*, un blocage de la pupaison et une réduction du poids de la pupa (Akacha *et al.*, 2017). L'extrait éther de pétrole d'*Artemisia annua* a influencé le cycle de vie d'*An. Stephensi*, en réduisant le pourcentage d'éclosion, la survie des larves et des nymphes et l'émergence des adultes et en allongeant leurs périodes. L'indice de croissance de cette espèce a été également réduit de manière significative (Sharma *et al.*, 2006). Le même indice a diminué chez *C. quinquefasciatus* après traitement à l'extrait méthanolique d'*Azadirachta indica*, avec une réduction de la taille moyenne des pupes émergées, enflure du céphalothorax, et rétrécissement de l'abdomen de 2,506 à 1,984 mm, suite au déplacement de l'hémolymphe de l'abdomen au céphalothorax (Sharma *et al.*, 2009).

4.6. Impact des HEs sur les réserves énergétiques 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 (Yazdani *et al.*, 2014). Les protéines sont des composants biochimiques importants, nécessaires au développement de l'organisme et à sa croissance pour réaliser ses activités vitales (Yazdani *et al.*, 2014). Le dosage des constituants biochimiques est réalisé dans le corps entier des

larves 4, pupes et adultes mâles et femelles de *C. longiareolata* et *C. pipiens*, après traitement aux HEs. Les résultats révèlent une réduction du contenu en protéines chez les traités comparativement aux témoins, avec un effet marqué de la menthe poivrée et du basilic par rapport à la lavande. La réduction des protéines est un phénomène fréquent chez les insectes traités par les produits toxiques (Nathan *et al.*, 2008), et qui peut être attribuée à un ou plusieurs facteurs, tels que la diminution de leurs synthèse ou augmentation de leurs dégradation pour détoxifier les principes actifs présents dans les extraits de plantes ou les HEs (Vijayaraghavan *et al.*, 2010). La dégradation des protéines en acides aminés a pour but de faciliter leur incorporation dans le cycle de Krebs comme acides cétoniques afin de compenser les faibles taux d'énergie causés par le stress (Nath *et al.*, 1997). De plus, la réduction en réserve protéique peut être également due à l'adaptation physiologique de l'insecte à un état de stress causé par les insecticides (Ribeiro *et al.*, 2001).

Les glucides forment un groupe de composés très importants. Certains représentent une source d'énergie pour les organismes vivants, soit immédiatement utilisable (tréhalose), soit sous forme de réserves (glycogène) ; d'autres ont un rôle structural (cellulose, chitine, acide hyaluronique) (Nation, 2008). Les taux de glycogène et de tréhalose dans les tissus sont étroitement liés aux événements physiologiques tels que le vol, la mue, et la reproduction (Kaufmann et Brown, 2008). Le tréhalose est la fraction la plus importante des glucides circulants. Il joue un rôle métabolique de premier plan dans le cycle de développement (Steele, 1981) et constitue une source énergétique essentielle en libérant le glucose sous l'action d'une enzyme, tréhalase.

Nos résultats indiquent une réduction significative du contenu en glucides chez les larves 4 et les pupes et une augmentation chez les adultes mâles et femelles des deux espèces traités avec les trois plantes testées. Cet épuisement pourrait être expliqué par une demande accrue d'énergie et d'un métabolisme intense en raison de l'effet de l'huile et l'état de stress des insectes (Sancho *et al.*, 1998 ; Olga *et al.*, 2006). Des travaux antérieurs ont montré les effets négatifs des huiles essentielles sur les réserves glucidiques (Sak *et al.*, 2006 ; Abdul Razak & Sivasubramanian, 2007). Des résultats similaires ont été obtenus chez le criquet pèlerin traité par *Metarhizium anisopliae* (Seyoum *et al.*, 2002) et chez la larve de *G. pyloalis* traitée avec l'extrait de *A. annua* (Khosravi *et al.*, 2011).

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, 1986 ; Van Hensden & Law, 1989). Les lipides augmentent pendant la période d'alimentation et leur quantité varient selon le stade de croissance et les conditions d'alimentation (Chapman, 1998).

L'épuisement des lipides après traitement aux produits toxiques pourrait être dû à une altération de leurs synthèse (Klowden, 2007), à un dysfonctionnement hormonal pour le contrôle du métabolisme lipidique (Steel, 1985) et à l'utilisation de cette réserve métabolique (Sak *et al.*, 2006). Une perturbation des composés biochimiques peut avoir un effet direct ou indirect sur les adultes émergés (Sak *et al.*, 2006). La diminution des lipides tissulaires sous l'effet d'un insecticide peut être due à la formation des lipoprotéines, à la réparation des dommages cellulaires et à l'augmentation de la lipolyse pour fournir de l'énergie (Steele, 1985 ; Lohar & Wright, 1993). Les lipides et les glucides (sucres et glycogène) sont les principaux déterminants de la survie larvaire et de la synthèse des hormones juvéniles (Clements, 1999 ; Caroci *et al.*, 2004). Ces réserves servent de précurseurs pour la métamorphose des larves en pupes et en adultes (Timmermann & Briegel, 1999). Cela suggère que la réduction des réserves métaboliques larvaires peut empêcher la métamorphose et supprime ainsi l'émergence des adultes. Les résultats obtenus au cours de nos expérimentations révèlent une augmentation du contenu en lipides chez tous les stades testés des deux espèces traitées à la lavande et une diminution chez les traités à la menthe et au basilic.

De nombreux travaux ont montré que l'application des HEs provoque la réduction du taux des protéines chez les insectes (Smirle *et al.*, 1996 ; Caballero *et al.*, 2008 ; War *et al.*, 2011 ; Khosravi & Sendi, 2013). De plus, plusieurs études ont démontré que les insecticides synthétiques et botaniques pouvaient modifier la quantité des glucides, des lipides et des protéines chez les insectes. Une réduction significative du contenu en protéines a été observée chez *Glyphodes pyloalis* traitée par l'HE de *Lavandula angustifolia* (Yazdani *et al.*, 2013). Tarigan *et al.* (2016) trouvent que les HEs de cardamome, cannelle et muscade diminuent le taux des protéines, des glucides et des lipides chez *Tribolium castaneum* Herbst et *Callosobruchus maculatus* F. Khosravi *et al.* (2010) indiquent des résultats similaires et montrent une réduction du taux des lipides et des glucides chez les larves de *G. pyloalis* traitées avec l'extrait d'*A. annua*. Les quantités de protéines, de glycogène et de triglycérides chez les larves d'*Ephestia kuehniella* traitées avec les huiles essentielles de *Teucrium polium* (Lamiaceae) et l' α -pinène, ont diminué significativement par rapport aux témoins (Shahriari *et al.*, 2017). War *et al.* (2013) observent également une diminution du contenu en protéines et en lipides chez *Helicoverpa armigera* après traitement aux HEs d'*Azadirachta indica*. Ebadollahi *et al.* (2013) ont signalé que la teneur en glucides, protéines et lipides totaux a diminué chez les larves de *T. castaneum* soumises à la fumigation avec *A. foeniculum*. Une réduction de ces paramètres a été également observée chez les larves de *Plodia interpunctella* après traitement avec la CL₃₀ de l'HE d'*Artemisia khorassanica* (Borzoui *et al.*, 2016). Sneha & Preet (2016) étudient l'effet de l'HE de neem sur les larves d'*A. aegypti*, ils signalent une

diminution de 90% et 82% du contenu en glucides et lipides respectivement chez les traités comparativement aux témoins. Preet & Sneha, (2018) confirment que les moustiques sont capables d'ajuster leurs voies métaboliques en fonction des besoins et des contraintes. Ils trouvent que la diminution en sucre et en lipide est maximale après 72 h de traitement. Par ailleurs, la teneur en protéines, glucides et lipides chez les larves de *P. interpunctella* et de *Helicoverpa armigera* traitées par les concentrations subléthales de l'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 du vers blanc *rhizotrogini*. Askar *et al.* (2016) signalent que l'application d'huile de girofle chez les adultes de trois espèces de *Sitophilus* a augmenté les niveaux de lipides et des protéines, en revanche, l'huile d'anis a réduit significativement la teneur totale en protéines chez *S. granarius* et l'a augmenté chez *S. oryzae*. La réduction ou l'augmentation du contenu en protéines totales peut également être attribuée aux changements dans la synthèse de l'ADN, à la synthèse réduite des protéines, la faible assimilation des aliments et la faible absorption des acides aminés pendant la synthèse des protéines après exposition aux insecticides (Askar *et al.*, 2016).

Plusieurs études ont montré que les moustiques résistants aux traitements contenaient moins de réserves énergétiques que les moustiques sensibles (Hardstone *et al.*, 2010), ce qui suggère qu'elles ont utilisé ces réserves pour activer le processus de détoxification.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

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

Les huiles essentielles sont des substances aromatiques, d'une composition chimique complexe, ce qui leur confère des propriétés insecticides très intéressantes et le développement de la résistance très lent, comparativement aux insecticides de synthèse.

Les HEs de trois plantes appartenant à la famille des Lamiaceae présentent des rendements de 1,18 %, 1,46% et 1,56% de la matière sèche de la partie aérienne de *L. dentata*, *M. piperita* et *O. basilicum* respectivement. L'analyse chimique par CPG-SM des HEs extraites de *L. dentata* a révélé une abondance des composés monoterpéniques dominés par la présence de l' α - terpinolène (51,13%) et le camphre (13,43 %). Alors que les HEs de *M. piperita* sont caractérisées par la présence de carvone (52,58%) et dl-limonène (17,40%) comme composés majoritaires. Par ailleurs, les HEs de l'*O. basilicum* sont de Chémotype Acétate de linalyl/ linalool avec des pourcentages de 53,89% et 22,52% respectivement.

Ces HEs ont été testées sur *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*, les espèces de moustiques les plus abondantes dans la région de Tébessa. Leurs actions ont été évaluées sur plusieurs aspects : toxicologique, biomarqueurs, morphométriques et biochimiques.

Les essais toxicologiques ont permis de déterminer les concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) des huiles de trois plantes à l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *C. longiareolata* et *C. pipiens*. Elles révèlent un effet insecticide avec une relation dose-réponse. Les HEs de *M. piperita* présentent un pouvoir larvicide très élevé contre *Culex* et *Culiseta*, suivies par l'*O. basilicum* et *L. dentata*. De plus, *C. pipiens* est l'espèce la plus résistante aux traitements appliqués comparativement à *C. longiareolata*.

L'évaluation d'un biomarqueur de neurotoxicité, indique que les HEs de *L. dentata*, *M. piperita* et *O. basilicum* provoquent une inhibition de l'activité spécifique de l'AChE chez les 2 espèces testées, avec un effet marqué chez *C. pipiens* et qui dépasse les 50%. De plus, ces huiles provoquent une réduction du taux de la GSH et une augmentation de l'activité de la GST chez les traités comparativement aux témoins. D'autre part, un biomarqueur de peroxydation lipidique, le MDA et la catalase ont été également affectés par l'application de

ces huiles en les augmentant chez les 2 espèces étudiées, suggérant une induction des processus de détoxication.

De plus, les HEs extraites de 3 plantes, affectent la croissance linéaire et pondérale des individus, en réduisant le volume et le poids corporel des larves 4, des pupes et des adultes de *C. pipiens* et *C. longiareolata*, avec un effet marqué de la menthe.

Enfin, les réserves énergétiques des individus sont également perturbées sous l'effet des huiles essentielles. Les résultats révèlent une diminution significative du contenu en protéines, glucides et lipides chez les individus de différents stades étudiés.

Cette étude basée sur l'utilisation des plantes aromatiques comme insecticide, ouvre de larges perspectives dans le domaine des connaissances fondamentales d'une part et dans le domaine appliqué d'autre part. A l'avenir, il serait intéressant de compléter le présent travail par :

- Evaluation de l'effet des principes actifs (composants majoritaires) des huiles essentielles des plantes et leur formulation pour leur application comme biocide.
- Etude de l'impact des HEs sur le potentiel reproducteur de ces espèces de moustiques.
- Etude de l'effet répulsif et fumigant de ces HEs à l'égard des adultes mâles et femelles des espèces testées.
- Evaluation de l'activité antibactérienne, antifongique et antioxydante de ces HEs.

Au terme de cette étude nous formulons les recommandations suivantes :

- Aux chercheurs : Nous recommandons de poursuivre d'autres travaux sur les extraits de plantes dont les activités larvicides ont été prouvées dans cette étude. Des investigations doivent être menées pour découvrir d'autres substances larvicides provenant de notre patrimoine végétal. L'utilisation des extraits de nos plantes, contribuera à réduire le coût des insecticides et à préserver notre environnement.
- Aux autorités :
 - A l'état, de s'investir dans la promotion et la valorisation des plantes médicinales,
 - Aux décideurs de la Santé, de renforcer les réseaux de recherches scientifiques, en les dotant de moyens conséquents pour atteindre leurs objectifs.

RESUMES

VI. Résumé

Cette présente étude a pour but de déterminer la composition chimique des huiles essentielles extraites de *Lavandula dentata* (lavande), *Mentha piperita* (menthe poivrée) et *Ocimum basilicum* (basilic), et d'évaluer leurs activités larvicides à l'égard de deux espèces de moustiques les plus abondantes, *Culex pipiens* L. et *Culiseta longiareolata* A. (Diptera, Culicidae).

Les HEs extraites de l'*O. basilicum*, de *M. piperita* et de *L. dentata* ont été testées à différentes concentrations sur les larves 4 nouvellement exuviées de *Culex* et *Culiseta* dans les conditions du laboratoire selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé.

Les effets ont été examinés sur la mortalité, les biomarqueurs enzymatiques (AChE, GSTs et catalase) et non-enzymatiques (GSH et MDA), les paramètres morphométriques et la composition biochimique des larves, pupes et adultes.

Le rendement des HEs de *L. dentata*, *O. basilicum* et *M. piperita* obtenues par hydrodistillation affiche des valeurs de 1,18 ; 1,56 et 1,46% de la matière sèche respectivement. Leur composition chimique a été déterminées par CPG/SM. L'analyse chimique a montré que les HEs de *L. dentata*, *O. basilicum* et *M. piperita* contiennent 8, 38 et 65 composés respectivement, avec α -terpinolène (51,13%), carvone (52,58%) et acétate de linalyl (53,89%) comme constituants majoritaires respectivement.

Les tests toxicologiques effectués selon le protocole standard de l'OMS, ont révélé l'activité larvicide de ces HEs. De plus, l'HE de *M. piperita* est plus efficace par rapport aux autres plantes et *C. longiareolata* est l'espèce de moustique la plus sensible.

L'activité enzymatique déterminée chez les larves traitées (CL₅₀) aux huiles essentielles a révélé une activité neurotoxique et une induction du système de détoxification, traduites par une inhibition de l'AChE et une augmentation de l'activité des GSTs et de la catalase, respectivement. En outre, une augmentation de la MDA et une diminution de la GSH ont été enregistrées après traitement aux HEs. L'HE de *M. piperita* peut être efficace dans la lutte biologique contre les moustiques et cela peut être dû à ses effets inhibiteurs sur l'activité de l'acétylcholinestérase, malgré la stimulation du système de détoxification.

Par ailleurs, l'étude morphométrique montre que les HEs provoquent une diminution de la croissance des individus de différents stades. De plus, elles réduisent significativement le contenu en protéines, glucides et lipides chez les larves, les pupes et les adultes mâles et

femelles. Cela est probablement dû aux conditions de stress imposées par le traitement à ces insectes qui ont besoin d'un apport supplémentaire d'énergie provenant du métabolisme glucidique et lipidique

Mots clés: Moustiques, Huiles essentielles, *C. longiareolata*, *C. pipiens*, *M. piperita*, *O. basilicum*, *L. dentata*, Toxicité, Biomarqueurs, Morphométrie, Composition biochimique.

Abstract

The present study was undertaken in order to determine the chemical composition of the leaf essential oil of *Lavandula dentate*, *Mentha piperita* and *Ocimum basilicum*, (Lamiaceae) cultivated in Tebessa (Algeria) and to assess their potential larvicidal activity against two most abundant and investigated mosquito species, *Culex pipiens* L. and *Culiseta longiareolata* A. (Diptera, Culicidae).

The essential oils extracted from *O. basilicum*, *M. piperita* and *L. dentata* were tested at different concentrations on newly molted fourth-instar larvae of *Culex* and *Culiseta* under standard laboratory conditions according to the World Health Organization recommendations.

The effects were examined on the mortality, the enzymatic (AChE, GSTs and catalase) and non-enzymatic (GSH and MDA) biomarkers, the morphometric measurements and the biochemical composition of larvae, pupae and adults body.

The essential oils contents of *L. dentata*, *O. basilicum* and *M. piperita* leaves obtained by hydrodistillation were 1.18%, 1.56% and 1.46% of the dry weight respectively. Its chemical compositions have been investigated by GC/MS. The chemical analysis showed that *L. dentata*, *O. basilicum* and *M. piperita* essential oils contained eight, thirty eight and sixty five compounds respectively, with α -terpinolene (51.13%), carvone (52.58%) and linalyl acetate (53.89%) as major components respectively.

Bioassay test done following the World Health Organization standard protocol revealed that these essential oils exhibited larvicidal activity. Moreover, *M. piperita* EO appeared most toxic in comparison with *Lavandula* and *Ocimum* and *Cs. longiareolata* is the most sensitive species.

The enzymatic measurements performed in LC₅₀ treated larvae revealed a neurotoxic activity and a stimulation of the detoxification system as evidenced by an inhibition of AChE and an increase in GST and Catalase activity, respectively. In addition, an increase in MDA and a decrease in GSH were recorded after treatment with EOs. *M. piperita* EO may be effective in the biological control against mosquitoes and this may be due to its inhibitory effects on acetylcholinesterase activity, despite the stimulation of the detoxification system

Otherwise, the morphometric study showed that the tested essential oils were found to decrease the individual growth of different developmental stages. Moreover, it reduces significantly the body contents of proteins, carbohydrates and lipids of larvae, pupae, adult

male and female. 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.

Keywords: Mosquitoes, Essential oils, *C. longiareolata*, *C. pipiens*, *M. piperita*, *O. basilicum*, *L. dentata*, Toxicity, Biomarkers, Morphometry, Biochemistry

ملخص

تهدف هذه الدراسة الى تحديد التركيبة الكيميائية للزيوت الاساسية المستخلصة من الخزامة , النعناع و الريحان وتحديد فعاليتها ضد يرقات *Culex pipiens* و *Culiseta longiareolata*.

الزيوت الاساسية المستخلصة من الخزامة ، النعناع و الريحان تم تجريبيها باستعمال عدة تراكيز على يرقات الطور الرابع لنوعين من الباعوض *Culex* و *Culiseta* في ظروف مخبرية حسب توجيهات المنظمة العالمية للصحة.

تأثيرات هذه الزيوت تم فحصها على موت اليرقات المؤشرات الحيوية الانزيمية (AChE, GSTs et catalase) و غير الانزيمية (GSH et MDA) ، المعايير القياسية و البيوكيميائية لليرقات و العذراء و الكاملة.

مردود الزيوت الأساسية المستخلصة من الخزامة ، الريحان و النعناع يظهر قيم 1,18 ، 1,48 و 1,56% من المادة الجافة على التوالي. وكشف التحليل الكيميائي عن طريق (CPG / SM) لهذه الزيوت عن وجود 8 ، 38 و 65 مركبا مع توفرها على α - terpinolène (51,13%) ، carvone (52,58%) و acétate de linalyl (53,89%) كمكونات سائدة في الخزامة ، النعناع و الريحان على التوالي.

أظهرت اختبارات السمية التي أجريت حسب توجيهات المنظمة العالمية للصحة أن هذه الزيوت تمتلك خصائص مبيدات حشرية و أن الزيت المستخلص من النعناع هو الأكثر فعالية كما أن *C. longiareolata* هو الباعوض الأكثر حساسية.

يكشف النشاط الانزيمي المعين عند اليرقات المعالجة بالزيوت الأساسية عن تأثير عصبي عن طريق تثبيط النشاط النوعي لAChE، و تحفيز نظام إزالة السموم بواسطة زيادة في GSTs و catalase على التوالي . بالاضافة الى ارتفاع في MDA و نقصان في GSH بعد معالجتها بالزيوت الاساسية. الزيت الاساسي للنعناع يظهر فعالية كبيرة في المكافحة البيولوجية ضد الباعوض وهذا راجع الى التأثير التثبيطي لنشاط acetylcholinestérase رغم تنشيط نظام ازالة السمية.

من جهة أخرى الدراسة القياسية توضح أن الزيوت الاساسية تسبب نقص في نمو الافراد المنتمية الى مختلف الاطوار. كما أنها تنقص من محتوى البروتينات، الكربوهيدرات والدهون عند اليرقات، العذراء و الكاملة وهذا يحتمل أن يكون راجع الى احتياجاتهم الاضافية للطاقة والناجمة عن الاستقلاب السكري و الدهني.

الكلمات المفتاحية: البعوض، الزيوت الاساسية، *C. pipiens* ، *C. longiareolata*، النعناع، الريحان، الخزامة، السمية، المؤشرات الحيوية، المعايير القياسية، المعايير البيوكيميائية.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

- Abbasy, D.W.A., Pathare, N., Al-Sabahi, J.N. & Khan, S.A.** (2015). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil isolated from Omani basil (*Ocimum basilicum* Linn.). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* **5**: 645-649.
- Abbott W.B.** (1925). A method for 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.
- Abd El-Azim, M.H.M., Abdelgawad, A.A.M., El-Gerby, M., Ali, S. & El-Mesallamy, A.M.D.** (2015). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of Egyptian *Ocimum basilicum*. *Indo American Journal Of Pharmaceutical Sciences* **2**: 837-842.
- Abd El-Aziz, M.F. & El-Sayed Y.A.** (2009). Toxicity and biochemical efficacy of six essential oils against *Tribolium confusum* (du val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences* **2 (2)**: 1 – 11.
- Abdel-Malek, A.** (1960). The culicine mosquitoes of the northern region of the United Arab Republic, *Bulletin de la Société Entomologique d'Egypte* **44** : 11-128.
- Abdul Razak, T. & Sivasubramanian, P.** (2007) Effect of three botanical oils on carbohydrate content in *Cheilomenes sexmaculata Fabricius* and *Chrysoperla carnea Stephens*. *Asian Journal of Biochemistry* **2**: 124-129.
- Abou El-Soud, N.H., Deabes, M., El-Kassem, L.A. & Khalil, M.** (2015). Chemical Composition and Antifungal Activity of *Ocimum basilicum* L. Essential Oil. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences* **3(3)**:374-379.
- Adams, R.P.** (2001). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Carol Stream, IL., USA: Allured Publishing Co.
- Adeyi, A.O., Akozi1, 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.
- Aebi, H.** (1984). "Catalase in vitro," *Methods in Enzymology*. **105**: 121–126.
- AFNOR.** (1987). Huiles essentielles, recueil dans des normes française. 5 ème editions.1. échantillonnage et méthodes d'analyses, 2. Spécifications, AFNOR, Paris.
- Aidi Wannas, W.** (2011). Caractérisation biochimique des différents organes de deux variétés de myrte: *Myrtus communis var. baetica* & *Myrtus communis var. italica* et évaluation de leur activité antioxydante. Thèse de Doctorat en Biologie, Université de Sfax, Faculté des Sciences de Sfax, 212 p.
- Ait Fella, R.** (2010). Les activités biologiques du genre *Lavandula* (La lavande). Univ. Ferhat Abbas Sétif. 35p.

- Aitken T.H.G.**, (1954). The culicidae of Sardinia and Corsica (Diptera). Bulletin of entomological research **45(3)**: 437-494.
- 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.
- Alayat, M. S.** (2012). Bio-écologie, position taxonomique et compétence vectorielle du complexe *Culex pipiens* (Diptera ; Culicidae) responsable de la transmission du virus West Nile et du virus de la fièvre de la vallée du Rift en Algérie. Mémoire de Magistère en Biologie environnementale, option de Biologie et écologie animale. Université Annaba .67p.
- Alouani A., Rehim N., Soltani N.** (2009). Larvicidal Activity of a Neem Tree Extract (Azadirachtin) Against Mosquito Larvae in the Republic of Algeria. Jordan Journal of Biological Sciences **2** : 15-22.
- Alouani, A., Rehim, N. & Soltani, N.** (2013). Bioefficacy of azadirachtin in controlling *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae). Jordan Journal of Biological Sciences **6(3)**: 217–222.
- 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 – DergiPark **38 (1)**: 11-18.
- Amer, A. & Mehlhorn, H.** (2006). Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* larvae (Diptera, Culicidae). Parasitology Research **99**: 466–472.
- Anand, A.K., Manindra, M., Haider, S.Z. & Sharma, A.** (2011). Essential oil composition and antimicrobial activity of three *Ocimum* species from Uttarakhand (India). International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research **3**: 223-225.
- Anderson, J.A. & Coats, J.R.** (2012). Acetylcholinesterase inhibition by nootkatone and carvacrol in arthropods. Pesticide Biochemistry and Physiology **102**: 124–128.
- 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 Veterinaire : Toulouse, 128 p.
- André's, M. F., Gonza'lez-Coloma, A., Sanz J., Burillo J. & Sainz P.** (2012). Nematicidal activity of essential oils: a review. Springer Science+Business Media Dordrecht. Phytochem rev 1-20.
- Angel, C., Krzysztof, L., Antoni, S., Adam, F., Angel, A. & Carbonell, B.** (2012). Volatile composition of sweet basil essential oil (*Ocimum basilicum L.*) as affected by drying method. Food Research International **48**: (217-225).
- Ansari, M.A., Vasudevan, P., Tandon, M. & Razdan.** (1999). Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. Bioresource Technology **71(3)**: 267-271.
- Ansari, M.A., Mittal, P.K., Razdan, R.K. & Sreehari, U.** (2005). Larvicidal and mosquito repellent activities of pine (*Pinus longifolia*, Family: Pinaceae) oil. Journal of Vector Borne Diseases **42**: 95–99.
- Anupam, G., Nandita, C. & Goutam, C.** (2012) Plant extracts as potential mosquito larvicides Indian. Journal of Medical Research **135(5)**: 581–598.

- Anwar, F., Ali, M., Hussain, A. I. & Shahid, M.,** (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oils and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Pakistan. *Flavour and Fragrance Journal* **24**: 170-176.
- 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). *Egypt. J. Plant Pro. Res* **4(2)**: 39-55.
- Ayaidia, B.** (2011). Etude comparative de trois variétés d'huiles essentielles de menthe dans la région de Ouargla, Diplôme de Master en Génie des Procédés, 62 p.

-B-

- Badilla, S.** (1995). Regulation and research issues related to cholinesterase inhibition. *Toxicology* **102**: 105.
- 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.
- Baillere, J.B.,** (1984). Arbres et arbustes d'ornementation. Diffusion Lavoisier, Tec et Doc 68-125.
- Bainy, A.C.D.** (2000). Biochemical responses in penaeids caused by contaminants. *Aquaculture* **191**: 163- 168.
- Barcelos, R.C, Jham, G.N., Onkar, D., Fernanda, A., Vania, M. & Valente, M.M.** (2013). Identification and quantification of the major fungi toxic components of the brazilian basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *Journal of Food Research* **2**: 1-5.
- Bariyah, S.K.** (2013). Comparison of the physical characteristics and GC/MS of the essential oils of *Ocimum basilicum* and *Ocimum sanctum*. *International Journal of Scientific Research and Knowledge* **1**: 363-72.
- Bassolé, I.H.N., Lamien-Meda, A., Bayala, B., Tirogo, S., Franz, C., Novak, J., Nebié, R.C., Dicko, M.H.,** (2010). Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination. *Molecular Basel Switz* **15** : 7825– 7839.
- Baudry, M.,** (1998). Encyclopédie des sciences. Édition : 2, France. ISBN 2-253-13020-6, 1456 p.
- Bayala, B., Bassole, I. H. N., Gnoula, C., Nebie, R., Yonli, A., Morel, L., Figueredo, G., Nikiema, J-B., Lobaccaro, J-M A. & Simpre, J.** (2014). Chemical Composition, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Proliferative Activities of Essential Oils of Plants from Burkina Faso. *PLoS ONE* **9(3)**: e92122. <http://scihub.tw/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092122>.
- 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.
- Belaiche, P.** (1979). Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme éd. Maloine. Paris.
- Belhadj, M. M., Kabouche, A., Abaza, I., Aburjai, T., Touzani, R. & Kabouche, Z.** (2014). Chemotypes investigation of *Lavandula* essential oils growing at different

- North African soils. *Journal of Materials and Environmental Science* **5** (6): 1896-1901
- Belong, P., Ntonga, P.A., Fils, E.B., Dadjji, G.A.F. & Tamesse, J.L.** (2013). Chemical composition and residue activities of *Ocimum canum* Sims and *Ocimum basilicum* L. essential oils on adult female *Anopheles funestus* ss. *Journal of Animal and Plant Sciences* **19** : 2854-2863.
- Benayad, N.** (2008). Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V -Agdal. Rabat, 63 p.
- Bendali, F.** (1989). Etude de *Culex pipiens pipiens* anautogène, Systématique et lutte bactériologique (*Bacillus thuringiensis israeliensis* serotype H14. *B. sphaericus* 1953) et deux espèces d'hydracariens. Thèse de magister en Arthropodologie. Université d'Annaba. Algérie.
- Bendali, F., Djebbar, F. & Soltani, N.** (2001). Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire. *Parasitica* **57**(4) : 255 - 265.
- Bendali-Saoudi, F.** (2006). Etude bioécologique, systématique, et biochimique des Culicidae (Diptera-Nematocera) de la région d'Annaba. Lutte biologique anti-Culicidienne. Thèse de Doctorat d'Etat en science naturelle. Université Annaba.
- Beniston, NT. WS.** (1984). Fleurs d'Algérie. Entreprise nationale du livre, Alger, 359 p.
- Berliner, E.** (1915). User die schalffsuchider Mehlmottenraupo and threen Erreger *Bacillus thuringiensis* n.sp. *Zeitschfit fur Angewandte Entomologie* **2** : 29-56.
- Bettaieb rebey, I., Bourgou, S., Saidani tounsi, M., Fauconnier, M.L. & Ksour, R.** (2017). Etude de la composition chimique et de l'activité antioxydante des différents extraits de la Lavande dentée (*Lavandula dentata*). *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology* **39**(2) : 2096-2105
- Bocquené, G., Galgani, F. & Walker, H.** (1997). Les cholinestérases, biomarqueurs de neurotoxicité. In: Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C. and Ramade, F., (eds), Biomarqueurs en écotoxicologie-Aspects fondamentaux. Masson, Paris, pp. 209 – 240.
- 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* **45**(5): 1220-1226.
- Boti, J.B., Muselli, A., Tomi, F., Kouakou, G., N'guessan, Y.T. Costa, J. & Casanova, J.** (2006). Combined analysis of *Cymbopogon giganteus* Chiov. Leaf oil from Ivory Coast by GC/RI, GC/MS and 13-NMR. *Compte rendu de Chimie* **99** : 164-168.
- Botineau, M.** (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Edition TEC & DOC. Lavoisier. 1031.
- Bouabida, H., Tine-Djebbar, F. & Soltani, N.** (2012). Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). *Entomologie faunistique* **65** : 99-103.
- 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

- Bouabida, H., Tine-Djebbar, F., Tine, S. & Soltani, N.** (2017a). Activity of spiromesifen on growth and development of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae): Toxicological, biometrical and biochemical aspects. *Journal of Entomology and Zoology Studies* **5(1)**: 572-577.
- Bouabida, H., Tine-Djebbar, F., Tine, S. & Soltani, N.** (2017b). Activity of a lipid synthesis inhibitor (spiromesifen) in *Culiseta longiareolata* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **7(12)**: 1120–1124.
- Bouayad, N., Rharrabe, K., Ghailani, N.N., Jbilou, R., Castañera, P. & Ortego, F.** (2013). Insecticidal effects of Moroccan plant extracts on development, energy reserves and enzymatic activities of *Plodia interpunctella*. *Spanish Journal of Agricultural Research* **11(1)**: 189-198.
- Bouaziz, A., Boudjelida, H. & Soltani, N.** (2011). Toxicity and perturbation of the metabolite contents by a chitin synthesis inhibitor in the mosquito larvae of *Culiseta longiareolata*. *Annals of Biological Research* **2(3)**: 134–142.
- Boudjelida, H., Bouaziz, A., Soin, T., Smaghe, G. & Soltani, N.** (2005). Effects of ecdysone agonist halofenozide against *Culex pipiens*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **83**: 115-123.
- Boudjelida, H., Aissaoui, L., Bouaziz, A., Smaghe, G. & Soltani, N.** (2008). Laboratory evaluation of *Bacillus thuringiensis* (Vec tobac WDG) against mosquito larvae, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *Communications in Applied Biological Science, Ghent University* **73(3)**: 603–609.
- Boudjelida, H. & Soltani, N.** (2010). Lutte biologique avec un champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* Metch. à l'égard de *Cydia pomonella* L. *Travaux de l'Institut Scientifique, Série Zoologie, Rabat* **47** : 113–116.
- Boudjelida, H. & Soltani, N.** (2011). Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on *Ceratitis capitata* (Wied) (Diptera: Tephritidae). *Annals of Biological Research* **2(2)**: 104–110.
- 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 Researchn* **4 (1)**: 37-42.
- Bousmaha, L., Boti, J.B., Bekkara, F.A., Castola, V. & Casanova, J.** (2006). Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Lavandula dentata* L. from Algeria. *Flavour and Fragrance Journal* **21**: 368–372.
- 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., Khelifa, L.H., Achour, D., Wathélet, J.P. & Lognay, G.** (2011). Essential Oil Composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* **14(6)**: 810 – 814.
- Bradford, M.M.** (1976). A rapid and sensitive method of the quantitation microgram quantities of Protein utilising the principale dye binding. *Analytical Biochemistry* **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.

- Bravo, E., Amrani, S., Aziz, M., Harnafi, H. & Napolitano M.** (2008). *Ocimum basilicum* ethanolic extract decreases cholesterol synthesis and lipid accumulation in human macrophages. *Fitoterapia* **79(7-8)**:515-523.
- Briegel, H.** (1990). Metabolic relationship between female body size, reserves, and fecundity in *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology* **36**: 165-172.
- Bruneton, J.** (1993). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} édition, Ed. TEC et DOC, Paris, 915p.
- Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier 3^{ème} édition, Paris.
- Bruneton, J.** (2009). Menthe *in* : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., Tec & Doc, Paris, pp. 631-638.
- 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).
- Burt, S.** (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food and Microbiology* **94**: 223-253.

-C-

- Caballero, C., Lopez-Olguin, J., Ruiz, M., Ortego, F. & Castanera, P.** (2008). Antifeedant activity and effect of terpenoids on detoxification enzymes of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner). *Spanish Journal of Agricultural Research* **6**:177–84.
- Carlos, Espinel-Correal.** (2010). Analyse de l'évolution des populations du granulovirus PhopGV en contact avec des hôtes alternatifs *Phthorimaea operculella* et *Tecia solanivora* (Lepidoptera : Gelechiidae). École Nationale Supérieure des Mines de Saint-Étienne.192p.
- 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, A.F.U., Melo, V.M.M., Craveiro, A.A., Machado, M.I.L.M.B. & Bantim Rabelo, E.F.** (2003). Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham against *Aedes aegypti* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **98**: 569–571.
- Cavalcanti, E.S.B.C., Morais, S.M., Lima, M.A.A. & Santana, E.W.P.** (2004). Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **99(5)**: 541–544.
- Cavanagh, H.M.A. & Wilkinson J.M.** (2002). Biological Activities of Lavender Essential Oil. *Phytotherapy Research* **16** : 301–308.
- Cédric, P.** (2008). Interactions entre insecticides non pyréthrinoïdes et répulsifs pour la lutte contre *Anopheles gambiae* : Mécanismes, efficacité et impact sur la sélection de la résistance. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Université de Montpellier I, Formation doctorale : Parasitologie, 65 p.
- Cetin, H. & Yanikoglu, A.** (2006). A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey. *Journal of Vector Ecology* **31(1)**: 118-122.
- Chantraine, J.M, Laurent, D., Ballivian, C., Saavedra, G., Ibanez, R. & Vilaseca, L.A.** (1998). Insecticidal activity of essential oils on *Aedes aegypti* larvae. *Phytotherapy Research* **12**: 350–4.

- Chapman, R.F.** (1998). *The Insects Structure and Function*. Cambridge University Press: New York.
- Charpentier, A., Menozzi, P., Marcel, V., Villatte, F. & Fournier, D.** (2000). A Method to Estimate Acetylcholinesterase-Active Sites and Turnover in Insects. *Analytical Biochemistry* **285**: 76–81.
- Chaubey, M.K.** (2011). Fumigant toxicity of essential oils against rice weevil *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: curculionidae). *Journal of Biological Sciences* **11(6)**: 411-416.
- Chaubey, M.K.** (2017). Evaluation of insecticidal properties of *Cuminum cyminum* and *Piper nigrum* essential oils against *Sitophilus zeamais*. *Journal of Entomology* **14**: 148-154.
- Chelvanayagama, G. Parker, M.W. & Board, P. G.** (2001). "Fly fishing for GSTs: A unified nomenclature for mammalian and insect glutathione transferases," *Chemico-Biological Interactions* **133 (1–3)**: 256–260.
- Chopa, C.S. & Descamps, L.R.** (2012). Composition and biological activity of essential oils against *Metopolophium dirhodum* (Hemiptera: Aphididae) cereal crop pest. *Pesticide of Management Science* **68(11)**: 1492-1500.
- Claiborne, A.** (1985) Catalase activity. In: Greenwald RA (eds) *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research* Boca Raton, FL: CRC 283–284 p.
- Clark, AG.** (1989). The comparative enzymology of GST from non-vertebrate organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology* **92**: 419-446.
- Clements, A.N.** (1999). *The biology of mosquitoes: development, nutrition and reproduction*. CAB International Publishing, Eastbourne.
- Crosby, D.G.** (1966). Natural pest control agents. In Gould, R.F. (Ed.). *Natural Pest Control Agents*. *Advances in Chemistry Series* **53** : 1-16.
- Cseke, L.J., Kirakosyan, A., Kaufman, P.B., Warber, S., Duke, J.A., Brielmann, H.L.** (1999). *Natural products from plants* Second edition. CRC, London, Newyork. 551p.

-D-

- Dahchar, Z., Bendali-saoudi, F. & Soltani, N.** (2016). Larvicidal activity of some plant extracts against two mosquito species *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *Journal of Entomology and Zoology Studies* **4(4)**: 346–350.
- Dahouénon-Ahoussi, E., Sessou, P., Wotto, D.V., Yéhouénon, B., Kinsoudé, E., Kpatinvoh, B., Soumanou, M. & Sohounhloué, D.** (2010). Mise au point d'une technologie de production d'une boisson locale «Africa drink» à base d'huiles essentielles de menthe verte et poivrée, *Bulletin d'information de la Société Ouest Africaine de Chimie* **7** : 39- 53.
- Danute M. & Ona N.** (2004). Sabinene Chemotype of Essential Oil of Seeds of *Daucus carota* L. ssp. *carota* Growing Wild in Lithuania. *Journal of Essential Oil Research* **16(4)** : 277-281
- Da Silva Ramos, R., Rodrigues, A.B. Farias, A.L, Simões, R.C., Pinheiro, M.T., Ferreira, R.M, Costa Barbosa, L.M, Picanço Souto, R.N, Fernandes, J.B, Santos, L.D. & de Almeida, S.S.** (2017). Chemical composition and in vitro antioxidant, cytotoxic, antimicrobial, and larvicidal activities of the essential oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae). *The Scientific World Journal*. 8 pages.

- De Billerbeck, V.G., Roques, C., Vanière, P. & Marquier, P.** (2002). Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Revue hygiène* **(3)**: 248 – 254.
- Delaquis, P.J., Stanich, K., Girard, B. & Mazza, G.** (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology* **74**: 101-109.
- De Martino, L., De Feo, V. & Nazzaro, F.** (2009). Chemical Composition and in Vitro Antimicrobial and Mutagenic Activities of Seven Lamiaceae Essential Oils. *Molecules* **14**: 4213-4230.
- Derwich, E., Chabir, R. Taouil, R. and Senhaji, O.** (2011). In-vitro antioxidant activity and GC/MS studies on the leaves of *Mentha piperita* (*Lamiaceae*) from Morocco. *International Journal of Pharmaceutical Science and Drug Research* **3(2)**: p. 130-136.
- Dewes, L.J., Sandrin, J.Z., Monserra, J.M. & Yunes, J.S.** (2006). Biochemical and physiological responses after exposure to microcystins in the crab *Chasmagnathus granulatus* (Decapod, Brachyura). *Ecotoxicology and Environment Safety* **65**: 201-208
- Dharmagadda, V.S.S., Naik, S.N., Mittal, P.K. & Vasudevan, P.** (2005). Larvicidal activity of *Tagetes patula* essential oil against three mosquito species. *Bioresource and Technology* **96**: 1235–1240.
- Dob, T., Dahmane, D., Tayeb, B. & Chelghoum, C.** (2005). “Chemical Composition of the Essential Oil of *Lavandula dentata* L. From Algeria”, *The International Journal of Aromatherapy* **15**: 110-4.
- 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.
- Dossoukpevi, R., Ahanhanzo, C., Adoukonou-Sagbadja, H., Cacai, G., Naitchede, H., Eileen, M.K. & Emily, D.N.** (2011). Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Food Chemistry* **128**: 1044-1050.
- Downer, R.G.H.** (1985). Lipid metabolism. *In* *Compr. Insect. Physiol. Biochem. And Pharm.* (G. A. Kerkert et L. I. Gilbert, eds). Pergamon Press. Oxford **10** :77 - 113.
- Draper, H.H. & Hadley, M.** (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxydation. *Journal: Meth. Enzymol* **186**: 241 – 431.
- Dröge, W.** (2002). Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Scientific Society Publisher Alliance* **82(1)**: 47-95.
- Duchateau, G. & Florkin, M.** (1959). Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* **67**: 306-314.
- Dugrovot, S., Thibout, E., Abo-Ghalia, A. & Huignard, J.** (2004). How a specialist and a non specialist insect cope with dimethyl disulfide produced by *Allium porrum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **113 (3)**: 173–179.
- Durou, C., Poirier, L., Amiard, J.C., Budzinski, H., Gnassia-Barelli, M., Lemenach, K., Peluhet, L., Mouneyrac, C., Romeo, M. & Amiard-Triquet, C.** (2007). Biomonitoring in a clean and a multi-contaminated estuary based on biomarkers and chemical analyses in the endobenthic worm *Nereis diversicolor*. *Environmental Pollution* **148**: 445-458.

-E-

- 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.
- Edris, A.E. & Farrag, E.S.,** (2003). Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. *Nahrung* **47**: 117–121.
- Eldefrawi, M.E.** (1985). Nicotine. In *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Vol.12. Insect Control (G.A. Kerkut and L.I. Gilbert, Eds.), pp. 263-272. Pergamon, Elmsford, NY.
- El haib, A.** (2011). Valorisation de terpene naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques, Thèse en vue de l'obtention du Doctorat de l'université de Toulouse, Délivré par l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. Discipline ou spécialité : Chimie organique et catalyse. 09-10.
- El kalamouni, C.** (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, Thèse en vue de l'obtention du Doctorat de l'université de Toulouse. 43- 75.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. & Featherstone, R.M.** (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* **7**: 88 – 95.
- El-Seedi, H.R., Khalil, N.S., Azeem, M., Taher, E.A., Göransson, U., Pålsson, K., Borg-Karlson, A.-K.,** (2012). Chemical composition and repellency of essential oils from four medicinal plants against *Ixodes ricinus* nymphs (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology* **49** : 1067–1075.
- Elumalai, K., Krishnappa, K., Anandan, A., Govindarajan, M. & Mathivanan, T.** (2010). Certain essential oil against the field pest army worm, *spodoptera litura* (Lepidoptera: noctuidae). *International Journal of Recent Scientific Research* **02**: 056-062.
- Enan, E.E.** (2001). Insecticidal activity of essential oils: Octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology* **130**: 325–337.
- Enan, E.E.** (2005). Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* **35**: 309–321.

-F-

- Fallah, I.** (2010). Etude d'une plante Aromatique et Médicinale, la Lavande *Lavandula stoechas* L. dans le Parc National d'El Kala, Nord-Est Algérien ; Aspect Phytochimique, Histologique et Antibactérien. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Magister, Université Badji Mokhtar de Annaba.126p.
- Faraj, C., Elkohli, M. & Lyagoubi, M.** (2006). Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* **99(2)**:119-121
- Fischer, R.A. & Yates.** (1957). *Statistical tables for biological agricultural and medical research*. 5ème édition, Oliver and Boyd. London. pp 64-66.

- 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.
- Fournier, G., Habib, J., Reguigui, A., Safta, F., Guetari, S. & Chemli, R.** (1989). Etude de divers échantillons d'huile essentielle de *Rosmarinus* de Tunisie. *Plantes médicinales et phytothérapies* **XXIII (3)**: 180- 185.
- Foyer, C., Lelandais, M., Galap, C. & Kunert, K. J.** (1991). Effects of Elevated Cytosolic Glutathione Reductase Activity on the Cellular Glutathione Pool and Photosynthesis in Leaves under Normal and Stress Conditions. *Plant physiology* **97**: 863-872.
- Frendo, P., Gallesi, D., Turnbull, R., Van de Sype, G., Hérouart, D. & Puppo, A.** (1999). Localisation of glutathione and homoglutathione in *Medicago truncatula* is correlated to a differential expression of genes involved in their synthesis. *The plant journal* **17(2)**: 215-219.
- G-
- Gamez, M.J., Jimenez, J., Navarro, C. & Zarzuelo, A.** (1990). Study of the essential oil of *Lavandula dentata* L. *Pharmazie* **45**: 69-70.
- 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.
- Garcia-Vallejo, M.I., Garcia-Vallejo, M.C. & Valasco-Negueruela, A.** (1987). "Composicion Quimica de Aceites Esenciales de *Lavandula dentata* L. En Espana; Quimotipos", Proceedings of the 7th Congreso Nacional de Quimica, Sevilla, Espana, EFCE Publication, *Quim. Agric. Aliment* **68 (1)**: 415-422.
- 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, Molecul. Biochem and Cell.Perspect* Lewis, Boca Raton, FL, pp. 37-85.
- Ghosh, G.R.** (1995). Tulasi (N.O.Labiatae, Genus-*Ocimum*). *New Approaches to Medicine and Health (NAMA)* **3**: 23-29.
- Goldsworthy, A. C., Mordue, W. & Guthkelch, J.** (1972). Studies on insect adipokinetic hormone. *General and Comparative Endocrinolog.* **18**: 306-314.
- Gomes, B., Carla, A.S., Maria, T.N., Ferdinando, B.F., Ricardo, A., Ana, R.C.R., Patricia, S., Martin, J.D., António, P.G.A. & João, P.** (2009). A symmetric introgression between *Sympatric molestus* and forms of *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) in the Comporta region, Portugal. *BMC Evolutionary Biology* **9** : 262.
- Gonny, M., Bradesi, P. & Casanova, J.,** (2004). Identification of the components of the essential oil from Corsican *Daucus carota* L. using ¹³C-NMR spectroscopy. *Flavour and Fragrance Journal* **19**: 424-433.
- Govindarajan, M.** (2010). Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena anisata* (Willd.) Hook. f. ex Benth (Rutaceae) against three mosquito species. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* **3(11)**: 874-877.
- Govindarajan, M., Sivakumar, R., Rajeswary, M. & Yogalakshmi, K.** (2013). Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.)

- against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Experimental parasitology* **134(1)**: 7-11.
- Goudjil, M.B.** (2016). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat (LMD) Université Kasdi Merbah-Ouargla. 132p.
- Gracindo, L., Grisi, M., Silva, D., Alves, R., Bizzo, H. & Vieira, R.** (2006). Chemical characterization of mint (*Mentha spp.*) germplasm at Federal District, Brazil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **8**: 5-9.
- Grainge, M., & Armed, S.,** (1988). *Handbook of Plants with Pest Control Properties*. John Wiley & Sons, New York. 470p.
- Granger, M.M.R., Passet, J. & Arbousset, G.** (1973). L'essence de *Rosmarinus officinalis*, influence du mode de traitement du matériel végétal. *Perfumes, Cosmetics and Soaps*. France **3(3)**: 133-137.
- Grundy, D.L. & Still, C.C.** (1985). Inhibition of acetylcholinesterases by pulegone-1,2-epoxide. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **23**: 383–388.
- Guenez, R., ouzia Tine-Djebbar, F., Tine, S. & Soltani, N.** (2018). Larvicidal Efficacy of *Mentha Pulegium* Essential Oil Against *Culex Pipiens* L. And *Aedes Caspius* P. Larvae. *World Journal of Environmental Biosciences* **7(1)**: 1-7.
- Guitsevitch, A.V., Monchadski, A. & Sktakel'Berg, A.A.** (1974). *Fauna of Diptera*. U.S. Departement of Commerce Natiolal Technical Inforamation. Va. pp: 22-51.
- Guitton, Y.** (2010). Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula* : aspects évolutifs et physiologiques. St-Etienne, Université Jean Monnet: 224.
- Gyorgyi, H., Laszlo, G.S. & Éva, H.** (2006) - Essential oil composition of three cultivated *Thymus* chemotypes from Hungary. *Journal of Essential Oil Research* **18(3)**: 315-317.

-H-

- Habig, W.H., Pabst, M.J. & Jakoby, W.B.** (1974). Glutathione S-Tranferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem* **249**: 7130-7139.
- Hadj Khelifa, L., Brada, M., Brahmi, F., Achour, D., Fauconnier, M.L. & Lognay, G.** (2012). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil of *Ocimum basilicum* Leaves from the Northern Region of Algeria. *Topclass Journal of Herbal Medicine* **1(2)**: 53-58.
- Hamaidia, K. & Soltani, N.** (2016). Ovicidal activity of an insect growth disruptor (methoxyfenozide) against *Culex pipiens* L. and delayed effect on development. *Journal of Entomology and Zoology Studies* **4(4)**: 1202–1207.
- Hardstone, M.C., Komagata, O., Kasai, S., Tomita, T. & Scott, J.G.** (2010). Use of isogenic strains indicates CYP9M10 is linked to permethrin resistance in *Culex pipiens quinquefasciatus*. *Insect Molecular Biology* **19**: 717-726
- Hashemi, S.M. & Safavi, S.A.** (2012). Chemical constituents and toxicity of essential oils of oriental arborvitae, *platycladus orientalis* (L.) franco, against three stored-product beetles. *Chilean journal of agricultural research* **72(2)**: 188-194.
- Haubruege, E. & Amichot, M.** (1998). Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. France. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* **2 (3)**: 161–174.

- Herrera, J.M., Zunino, M.P., Dambolena, J.S., Pizzolitto, R.P., Gañan, N.A., Lucini E.I. & Zygadlo, J.A.** (2015). Terpene ketones as natural insecticides against *Sitophilus zeamais*. *Industrial Crops and Products* **70**: 435–442.
- Höld, K.M. Sirisoma, N.S., Ikeda, T., Narahashi, T. & Casida, J.E.** (2000). Thujone (the active component of absinthe): γ -aminobutyric acid type A receptor modulation and metabolic detoxification. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97**: 3826-3831.
- Hosoi, T.** (1954). Egg production in *Culex pipiens pallens* coquillett. I V. Influence of breeding conditions on wing length, body weight and follicule production. *Japanese Journal of Medical Science & Biology* **7**: 129 - 134.
- Hosseini, R.J., Kimerle, R.A., Mehler, P.M. & Bergman, H.L.** (2010). Biomarkers: biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. *Boca Raton, Lewis Publisher*, 347 pages.
- Hussain, A.I., Anwar, F., Sherazi, S.T.H. & Przybylski, R.** (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry* **108**: 986-995.

-I-

- Il Idrissi, A.**, (1982). Etude des huiles essentielles de quelques Espèces Salivia, Lavandula et *Mentha* du Maroc, Thèse de troisième cycle, Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat.
- Imelouane, B., Elbachiri, A., Ankit M., Benzeid H. & Khedid K.** (2009). Physico-Chemical Compositions and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Eastern Moroccan *Lavandula dentata*. *International Journal of Agriculture and Biology* **11**: 113–118.
- Imelouane, B., Elbachiri, A., Wathelet, J.P., Dubois, J. & Amhamdi, H.** (2010). “Chemical Composition, Cytotoxic and Antioxidant Activity of the Essential Oil of *Lavandula dentata*”, *World Journal of Chemistry* **5 (2)**: 103-110.
- Intirach, J., Choochote, W., Junkum, A., Chaithong, U., Champakaew, D., Tuetun, B., Jitpakdi, A. & Pitasawat, B.** (2012). Chemical constituents and combined larvicidal effects of selected essential oils against *Anopheles cracens* (Diptera: Culicidae). *Psyche A Journal of Entomology* Volume 2012, Article ID 591616, 11 pages doi:10.1155/2012/591616.
- Isman, Murray B.** (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* **19**: 603-608.

-J-

- Jahandiez, E. & Maire, R.**, (1932). Catalogue des plantes du Maroc (Spermatophytes et Ptéridophytes). Minerva, Alger. 2 (Dicotylédones Archichlamydées), 489-496.
- Jankowska, M., Rogalska J., Wyszowska, J. & Stankiewicz, M.** (2018). Molecular targets for components of essential oils in the insect nervous system. Review. *Molecules* **23(34)**: 1-20.
- Joshi, R.K.** (2014). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum basilicum* L. (sweet basil) from Western Ghats of North West Karnataka, India. *Ancient Science of Life* **33**: 151–156.

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* **21**: 259–261.

-K-

Kalaivani, K., Senthil-Nathan, S. & Murugesan, A.G. (2012). Biological activity of selected Lamiaceae and Zingiberaceae plant essential oils against the dengue vector *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research* **110**: 1261–1268.

Kao, C.H. & Sun, C.N. (1991). In vitro degradation of some organophosphorus insecticides by susceptible and resistant diamondback moth. *Pestic Biochem Physiol* **41**: 132-141.

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.

Keely, L.L. (1986). Physiology and biochemistry of Fat body, pp. 211 – 248. In GA Kerkut & L.I. Gilbert (eds): *Comprehensive Insect Biochemistry, physiology and pharmacology*, vol. 3, Pergamon Press, Oxford.

Kennedy, D.O. & Wightman, E.L. (2011). Herbal Extracts and Phytochemicals: Plant Secondary Metabolites and the Enhancement of Human Brain Function. *Advances in Nutrition* **2**: 32-50.

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

Khajeh, M., Yamini, Y., Sefidkon, F. & Bahramifar, N. (2004). Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry* **86**: 587-591.

Khajeh, M., Yamini, Y., Bahramifar, N., Sefidkon, F. & Pirmoradei, M.R. (2005). Comparison of essential oil composition of *Ferula assafoetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrosistillation methods. *Food Chemistry* **91**: 639-644.

Khosravi, R., Jalali-Sendi, J. & Ghadamyari, M. (2010). Effect of *Artemisia annua* L. on deterrence and nutritional efficiency of lesser mulberry pyralid (*Glyphodes pyloalis* Walker) (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research* **50(4)**: 423-428.

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.

Kim, B.J., Choi, C.H., Lee, C.H., Jeong, S.Y., Kim, J.S., Kim, B.Y., Yim, H.S. & Kang, S.O. (2005). Glutathione is required for growth and prepore cell differentiation in *Dictyostelium*. *Developmental biology* **284**: 387-398.

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 **139**: 17-23.
- Kisek, R., Vacek, J., Trnkova, L. & Jelen, F.** (2004). Cyclic voltammetric study of the redox system of glutathione using the disulfide bond reductant tris (2-carboxethyl) phosphine. Bioelectrochemistry **63**: 19 – 24.
- Kizil, S., Hasimi, N., Tolan, V., Kilinc, E. & Yuksel, U.** (2010). Mineral content, essential oil components and biological activity of two mentha species (*M. piperita* L., *M. spicata* L.). Turkish Journal of Field Crops **15**(2): 148-153.
- Klimankova, E., Holadova, K., Hajslova, J., Cajka, T., Poustka, J. & Koudela, M.** (2008). Aroma profiles of five basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown under conventional and organic conditions. Food Chemistry **107**: 464-472
- Klowden, M.J.** (2007). Physiological systems in insects, Amsterdam: Elsevier, Academic Press. pp. 688.
- Kofidis., G., Bosabalidis, A. & Kokkini, S.** (2004). Seasonal variation of essential oils in a Linalool-Rich chemotype of *Mentha spicata* grown wild in Greece. Journal of Essential Oil Research **16**: 469- 472.
- Kohn, H.I. & Liversedge, M.** (1944). In: **Ohkawa, H., Ohishi, N. & Yagi, K.** (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Biochemistry **95** : 351 -358.
- 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.
- Kostyukovsky, M., Rafaeli, A., Gileadi, C., Demchenko, N. & Shaaya, E.** (2002). Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. Pest Management Science **58**:1101-1106.
- Koul, O., Waliai, S. & Dhaliwal, G.S.** (2008). Essential oils as green pesticides: Potential and constraints. Biopesticide International **4**(1): 63–84.
- Kraiss, H. & Cullen, E.M.** (2008). Insect growth regulator effects of azadirachtin and neem oil on survivorship, development and fecundity of *Aphis glycines* (Homoptera: Aphididae) and its predator, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). Pest Management Science **64**(6): 660–668.
- Kumar, R.S., Narasingappa, R.B., Joshi, C.G., Girish, T.K., Prasada Rao, U.J. & Danagoudar, A.** (2017). Evaluation of *Cassia tora* Linn. against oxidative stress-induced DNA and cell membrane damage. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences **9**(1):33-43.
- Kuppusamy, C. & Murugan, K.** (2008). Mosquitocidal effect of *Euphorbia heterophylla* Linn against the Bancroftian filariasis vector *Culex quinquefasciatus* say Diptera: Culicidae. International Journal of Integrative Biology **4**(1): 34-39.
- Kurutas, E.B., Sahan, A. & Altun, T.** (2009). Oxidative stress biomarkers in liver and gill tissues of spotted barb (*Capoeta barroisi* Lortet, 1894) living in the river Ceyhan, Adana, Turkey. Turkish Journal of Biology **33**: 275– 282.

-L-

- Laouabdia–Sellami, N.** (1992). Lutte biologique contre *Culex pipiens pipiens* (Diptera : Culicidae) : effet de la reculture et de la conservation de *Bacillus sphaericus* sur la toxicité à l'égard des moustiques. Mémoire de Magister en Biologie et Physiologie des invertébrés, option Arthropodologie. ISN, Université d'Annaba.
- Lee, S.E., Lee, B.H., Choi, W.S., Park, B.S., Kim, J.G. & Campbell, B.C.** (2001). Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). *Pest Management Science* **57**: 548-553.
- Liao, M., Xiao, J.J., Zhou, L.J., Yao, X., Tang, F., Hua, R.M., Wu, X.W. & Cao, H.Q.** (2017). Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on the *Helicoverpa armigera*. *Journal of Applied Entomology* **141**: 721–728.
- Linné, C.** (1753). *Species plantarum : exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digesta*. Biodiversity Heritage Library. Vol. 2. Holmiae: 561-1200 p.
- Linné, C.** (1758). *Systema naturae per regna tria naturae*. Edition 10. Vol. 1. Holmiae: 824p.
- 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.
- López, M.D. & Pascual-Villalobos, M.J.** (2010). Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. *Industrial Crops and Products* **3**: 284–288.
- López, 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* **229**: 36–43.
- Lu, S. C.** (2009). Regulation of glutathione synthesis. *Molecular aspects of medicine* **30**: 42-59.

-M-

- 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* **27** : 73 - 78.
- Maffei, M. & Sacco, N.** (1987). Perfumer and flavorist. Vol. 13, N° 5, 61p. In **Besombes, C.**, (2008). Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, 289p.
- Mahanta, S., Khanikor, B. & Sarma, R.** (2017). Potentiality of essential oil from *Citrus grandis* (Sapindales: Rutaceae) against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies* **5(3)**: 803-809.
- Manal, A.A., Abd El-razik & 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.
- Manzoor, F. Samreen, K.B. & Parveen, Z.** (2013). Larvicidal activity of essential oils against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* larvae (diptera: culicidae). The Journal of Animal & Plant Sciences **23(2)**: 420-424.
- Martinez-Velazquez, M., Castillo-Herrera, G.A., Rosario-Cruz R., Flores-Fernandez, J. M., Lopez-Ramirez, J., Hernandez-Gutierrez R. & del Carmen Lugo-Cervantes, E.** (2011). Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). Parasitology Research **108**: 481–487.
- Matasyoh, Lexa G., Matasyoh, Josphat C., Wachira, Francis N., Kinyua, Miriam G., Thairu, Muigai, Anne W. & Mukiamae, Titus K.** (2008). Antimicrobial Activity of Essential Oils of *Ocimum Gratissimum* L. from Different Populations of Kenya. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines **5(2)**: 187–193.
- Mawussi, G.** (2008). Bilan environnemental de l'utilisation de pesticides organochlorés dans les cultures de coton, café et cacao au Togo et recherche d'alternatives par l'évaluation du pouvoir insecticide d'extraits de plantes locales contre le scolyte du café (*Hypothenemus hampei*). Thèse de Doctorat. Université de Toulouse. 187 p.
- Mc Lafferty, F.W. & Stauffer D.B.** (1994). Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th edn. Mass spectrometry library search system BenchTop/PBM, version 3.10d. Palisade Co., Newfield.
- 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.
- Mihajilov-Krstev, T., Jovanović, B., Jović, J., Ilić, B., Miladinović, D., Matejić, J., Rajković, J., Dorčević, L., Cvetković, V. & Zlatković, B.** (2014). Antimicrobial, antioxidative, and insect repellent effects of *Artemisia absinthium* essential oil. Planta Medica **80**: 1698–1705.
- Mittal, P.K., Wijeyaratne, P. & Pandey, S.** (2004). Status of insecticide resistance of malaria, kala-azar and Japanese encephalitis vectors in Bangladesh, Bhutan, India and Nepal (BBIN), Environmental Health Project, Washington, DC, USA.
- Miyazawa, M., Watanabe, H., Umemoto, K., Kameoka, H.** (1998). Inhibition of acetylcholinesterase activity by essential oils of *mentha* species. Journal of Agriculture and Food Chemistry **46**: 3431–3434.
- 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)**: 371-377.
- Mothana, R. A., Alsaid, M. S., Hasoon, S. S., Al-Mosaiyb N. A., Al-Rehaily, A. J. & Al-Yahya, M. A.** (2012). Antimicrobial and antioxidant activities and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) analysis of the essential oils of *Ajuga bracteosa* Wall. Ex Benth and *Lavandula dentata* L. growing wild in Yemen. Journal of Medicinal Plants Research **6(15)**: 3066-3071.

- Mourre, C.** (1923). *Lavandula* française, sa culture, son industrie, son analyse. Ed. Gauthier Villard et Cie. Paris 136p.
- Msaada, K., Salem, N., Tammar, S., Hammami, M., Saharkhiz, M. J., Debiche, N., Limam, F. F & Marzouk, B.** (2012). Essential oil composition of *Lavandula dentata*, *L. stoechas* and *L. multifida* cultivated in tunisia. Journal of Essential Oil Bearing Plants 15 (6): 1030-1039.

-N-

- Nath, S.S., Kalaivan, K. & Chung, P.G.** (1997). The effects of azadirachtin and nucleopolyhedrovirus on midgut enzymatic profile of *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae). Pesticide Biochemistry Physiology **83(1)**: 46-57.
- 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 **70**: 244–250.
- Nation, J.L.** (2008). Insect physiology and biochemistry, 2nd ed. CRC Press, London, UK.
- National Institute of Standards and Technology**, (1999). PC Version 1.7 of The NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, The Perkin Elmer Corporation.
- Negahban, M., Moharramipour, S. & Sefidkon, F.** (2007). Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects **43 (2)**: 123-128.
- Nevein, M.A.H., Gamil, M.A.A. & Nagi, F.I.** (2014). Phytochemical studies and *in vivo* antioxidant activity of two *lavandula* species (lamiaceae) against streptozotocin induced oxidative stress in albino rats. Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research **3 (4)**: 30-40.
- Noctor, G., Arisi, A.C.M., Jouanin, L., Kunert, K.J., Rennenberg, H. & Foyer, C.H.** (1998). Glutathione: Biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants. Journal of Experimental Botany **49**: 623-647.
- Ntonga, P., Baldovini, N., Mouray, E., Mambu, L., Belong, P. & Grellier P.** (2014). Activity of *Ocimum basilicum*, *Ocimum canum*, and *Cymbopogon citratus* essential oils against *plasmodium falciparum* and mature-stage larvae of *Anopheles funestus* s.s. Parasite 21:33.
- Ntonifor, N.N., Ngufor, C.A., Kimbi, H.K & Oben, B.O.** (2006). Traditional use of indigenous mosquito-repellents to protect humans against mosquitoes and other insect bites in a rural community of Cameroon, East African Medical Journal **83(10)**: 553-558.
- Nuttall, I.** (1997). Web pages, Division of control of tropical Diseases world health organization, Geneva, Switzerland.

-O-

- Oboh, G., Ademosun, A.O., Olumuyiwa, T.A., Olasehinde, T.A., Ademiluyi, A.O. & Adeyemo, A.C.** (2017). Insecticidal activity of essential oil from orange peels (*Citrus sinensis*) against *Tribolium confusum*, *Callosobruchus maculatus* and *Sitophilus oryzae* and its inhibitory effects on acetylcholinesterase and Na⁺/K⁺-ATPase activities **45 (4)**: 501-508.

- Okigbo, R.N., Okeke, J.J., Madu, N.C.** (2010). Larvicidal effects of *Azadirach taindica*, *Ocimum gratissimum* and *Hyptissu aveolens* against mosquito larvae. *Journal of Agricultural Science and Technology* **64**:703-719.
- Olga, S., Fevzi, U. & Ekrem 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** (1): 53–58.
- 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* **32** (2): 113-121.
- Oppenoorth, F.J, Smissaert, H.R, Welling, W., Van Der Pas, L.J.T. & Hitman, K.T.** (1977). Insensitive acetylcholinesterase, high glutathione-S-transferase, and hydrolytic activity as resistance factors in a tetrachlorvinphos-resistant strain of house fly. *Pesticides Biochemistry and Physiology* **7**: 34-47.
- Organisation Mondiale de la Santé.** (1963). Méthode à suivre pour déterminer la sensibilité ou la résistance des larves de moustiques aux insecticides. In *Résistance aux insecticides et lutte contre les vecteurs*. Treizième rapport du comité OMS d'experts des insecticides, Genève : OMS, *Sér. Rapp. Techn.* **265**, p. 55–60.
- Organisation Mondiale de la Santé.** (2006). Rapport sur la situation dans le monde 2006 : travailler ensemble pour la santé. Genève. 215p.
- Organisation Mondiale de la Santé.** (2009). Rapport sur la santé en Europe 2009 : santé et systèmes de santé. Genève. 203p.
- Organisation Mondiale de la Santé.** (2014). World Malaria Report. WHO, Geneva.
- Orhan, I.E., Senol, F.S., Gülpinar, A.R., Kartal, M., Sekeroglu, N., Devenci, 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* **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* **59**: 96–103.
- Oruc, E.O. & Usta, D.** (2007). Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* **95**: 48-55.
- Ouibrahim, A., Tlili-Ait-kaki, Y., Bennadja, S., Amrouni, S., Djahoudi, A. G. & Djebbar, M. R.** (2013). Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. *African Journal of Microbiology Research* **7(42)**: 4968-4973
- Ouibrahim, A.** (2014). 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 de Doctorat. Université d'Annaba. 95 p.
- Oussou, K.R., Youlou, S., Kanko, C., Guessennd, K. N., Boti, J.B., Ahibo, C. & Casanova, J.,** (2008). Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. *European Journal of Scientific Reaserch.* **1**: 94-103.

-P-

- Pan, C., Li, W., Wang, Y. & Jiang, S.** (2005). Octopamine levels in *Blattella germanica* L. tissues by capillary gas chromatography with electron capture detection. *International Journal of Molecular Sciences* **6**: 188–197.
- Park, I.K.** (2014). Fumigant toxicity of oriental sweetgum (*Liquidambar orientalis*) and valerian (*Valeriana wallichii*) essential oils and their components, including their acetylcholinesterase inhibitory activity, against Japanese Termites (*Reticulitermes speratus*). *Molecules* **19**: 12547–12558.
- Park, C.G., Jang, M., Yoon, K.A. & Kim, J.** (2016). Insecticidal and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Lamiaceae* plant essential oils and their major components against *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Industrial Crops and Products* **89**: 507–513.
- Patton, S. & Kurtz, G.W.** (1951). In : Ohkawa, H., Ohishi, N. & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* **95** : 351 -358.
- Pavela, R., Kaffková, K. & Kumšta, M.** (2014): Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from different *Mentha* L. and *Pulegium* species against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Plant Protection Science* **50**: 36–42.
- Pavela, R. & Benelli, G.** (2016). Ethnobotanical knowledge on botanical repellents employed in the African region against mosquito vectors—A review. *Exp. Parasitology* **167**: 103–108.
- Penninckx, M.J.** (2002). An overview on glutathione in *Saccharomyces versus* non-conventional yeasts. *FEMS yeast research* **2**: 295-305.
- Perry, N.S.L., Houghton, P.J., Jenner, P., Keith, A. & Perry, E.K.** (2002). *Salvia lavandulaefolia* essential oil inhibits cholinesterase in vivo. *Phytomedicine* **9**: 48–51.
- Phuong, M.N., Eileen, M.K. & Emily, D.N.** (2010). Potassium rate alters the antioxidant capacity and phenolic concentration of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Food Chemistry* **123**: (1235- 1241).
- Picollo, M. I., Toloza, A. C., G.Mougabure, C., Zygadlo, J. & Zerba, E.** (2008). Anticholinesterase and pediculicidal activities of monoterpenoids. *Fitoterapia* **79**: 271-278.
- 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* **74**: 817-823.
- Prajapati, V., Tripathi, A.K., Aggarwal, K.K. & Khanuja, S.P.** (2005). Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource Technology* **96**: 1749-1757.
- Praveena, A. & Sanjayan, K.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**: 97–105.

Pripdeevech, P., Chumpolsri, W., Suttiarporn, P. & Mahatheeranont, S. (2010). The chemical composition and antioxidant activities of basil from Thailand using retention indices and comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of the Serbian Chemical Society* **75(11)**:1503-1513.

-Q-

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). *Pesticide Biochemistry and Physiology* **96**: 132–139.

-R-

Rajashekar, Y., Raghavendra, A. & Bakthavatsalam, N. (2014). Acetylcholinesterase inhibition by biofumigant (coumaran) from leaves of *Lantana camara* in stored grain and household insect pests. *BioMedicine and Research International* 1-6.

Ramaiah, K.D., Das, P.K., Michael, E. & Guyatt, H. (2000) The economic burden of lymphatic filariasis in India. *Parasitology Today* **16(6)**: 251–253.

Ramar, M., Ignacimuthu, S. & Gabriel, P.M. (2014). Ovicidal and oviposition response activities of plant volatile oils against *Culex quinquefasciatus* say. *Journal of Entomology and Zoology Studies* **2(4)**: 82-86.

Rattanam, A.R., Wan, F.Z., Maniam, T., Sreeramanan, S. & Jeevandran, S. (2014). Larvicidal efficacy of different plant parts of railway creeper, *Ipomoea cairica* extract against dengue vector mosquitoes, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Insect Science* **14(180)**: 1-6.

Reegan, A.D., Stalin, A., Paulraj, M.G., Balakrishna, K., Ignacimuthu, S. & Al-Dhabi, N.A. (2016). In silico molecular docking of niloticin with acetylcholinesterase 1 (AChE1) of *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae): A promising molecular target. *Medicine and Chemistry Research* **25**: 1411–1419.

Rehimi, N. (1993). Activité biologique de trois molécules dérivées de la benzoylurée (Dart, Andalin, Alsystin) à l'égard de *Culex pipiens pipiens*. Thèse de Magister en Biologie et Physiologie des invertébrés, option Arthropodologie. ISN Université d'Annaba.

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.

Rehimi, N., Alouani, A. & Soltani, N. (2011). Efficacy of azadirachtin against mosquito larvae *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) under laboratory conditions. *European Journal of Scientific Research* **57(2)**: 223–229.

Resseguier, P. (2011). Contribution à l'étude du repas sanguin de *Culex pipiens pipiens*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Université Paul – Sabatier de Toulouse.80.

Rhodain, F. & Perez, C. (1985). Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Maloine .SA Editeur 27, Rue de l'école médecine 75006, Paris .443.

- Ribeiro, S., Sousa, J.P., Nogueira, A.J.A. & Soares, A.M.V.M.** (2001) Effect of endosulfan and parathion on energy reserves and physiological parameters of the terrestrial isopod *Procellia dilatatus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **49**: 131- 138.
- Rocha, D.K., Matos, O., Novo, M.T., Figueiredo, A.C., Delgado, M. & Moiteiro, C.** (2015). Larvicidal Activity Against *Aedes aegypti* of *Foeniculum vulgare* Essential Oils from Portugal and Cape Verde. *Natural Product* **4** : 677 – 682.
- Rosenberry, T.L.** (1975). Acetylcholinesterase. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology* **43** : 103-218.
- 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.
- Rutledge, C.R, Clarke, F., Curtis, A. & Sackett, S.** (2003). Larval mosquito control, Technical bulletin of the Florida mosquito control association **4**: 16–19.
- Ryan, M.F. & Byrne, O.** (1988). Plant–insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Chemical Ecology* **14**: 1965–1975.

-S-

- Saha, S., Dhar, T.N., Sengupta, C. & Ghosh, P.** (2013). Biological activities of essential oils and methanol extracts of five *Ocimum* species against pathogenic bacteria. *Czech Journal of Food Science* **31**: 194–202.
- 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.
- Salle, J.L. & Pelletier, J.** (1991). Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche 19-45.
- Salzer, U.J.,** (1977). The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings—acritical review. *C.R.C Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition* **9**: 345-373.
- 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. N° 378. Vol 86.
- Sancho, E., Ferrando, M.D., Fernández, C., Andreu, E.** (1998). Liver energy metabolism of *Anguilla anguilla* after exposure to fenitrothion. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **41(2)**: 168–175.
- Santos, S.R.L., Melo M.A., Cardoso A.V., Santos R. L.C. & Sousa, D.P.** (2011). Structure–activity relationships of larvicidal monoterpenes and derivatives against *Aedes aegypti* Linn. *Chemosphere* **84**: 150–153.
- Sartoratto, A., Machado, A.L.M., Delarmelina, C., Figueira, G.M., Duarte, M.C.T. & Rehder, V.L.G.** (2004). Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* **35**: 275-280.
- Satyal, P., Woods, K. E., Dosoky, N. S., Neupane, S. & Setzer, W. N.** (2012). Essential oil constituents and biological activity of *Aegle marmelos* (L.) Corr. Serr. From Nepal. *Journal of Medicinally Active Plants* **1 (3)**: 114-122.

- Sau, A. Pellizzari Tregno, F. Valentino, F. Federici, G. & Caccuri, A.M. (2010). Glutathione transferases and development of new principles to overcome drug resistance. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **500** (2): 116–122.
- Savelev, S.U., Okello, E., Perry, N.S.L., Wilkins, R.M. & Perry, E.K. (2003). Synergistic and antagonistic interactions of anticholinesterase terpenoids in *Salvia lavandulaefolia* essential oil. *Pharmacol. Biochemistry and Behavior* **75**: 661–668.
- 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.
- Sefidkon, F., Abbasi, K. Jamzad, Z. & Ahmadi S. (2007). The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri*. *Food chemistry* **100**: 1054-1058.
- 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* **113**: 55–61.
- Sertkaya, E., Kaya, K. & Soylu, S. (2010). Acaricidal activities of the essential oils from several medicinal plants against the carmine spider mite (*Tetranychus cinnabarinus* Boisd.) (Acarina: Tetranychidae). *Industrial Crops and Products* **31** :107–112
- Seyoum, E., Bateman, R.P. & Charnley, A.K. (2002). The effect of *Metarhizium anisopliae* var. *acidum* on haemolymph energy reserves and flight capability in the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Journal of Applied Entomology* **126** (2–3): 119–124.
- Shaalán, 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* **31**(8): 1149–1166.
- Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J. & Sukprakarn, C. (1997). Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research* **33**: 7– 15.
- 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.
- Shan, X.Q., Aw, T.Y. & Jones, D.P. (1990). Glutathione-dependent protection against oxidative injury. *Pharmacology & therapeutics* **47**: 61-71.
- Sharafati-Chaleshtori, R., Rokni, N., Rafieian-Kopaei, M., Drees, F. & Salehi E. (2015). Antioxidant and antibacterial activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil in beef burger. *Journal of Agricultural Science and Technology* **17**: 817-826.
- Sharma, P., Mohan, L. & Srivastava, C.N. (2006). Phytoextract-induced developmental deformities in malaria vector. *Bioresource Technology* **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* **105** (5): 1193–1203.
- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany* 1-26.

- Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratnyneck, C., New Hall, & 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* **19**: 415-528.
- Shojaei, A., Talebi, K., Sharifian, I. & Ahsae, S.M.** (2017). Evaluation of detoxifying enzymes of *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* (Col.: Tenebrionidae) exposed to essential oil of *Artemisia dracuncululus* L. *Biharean Biologist* **11 (1)**: 5-9.
- Sies, H.** (1999). Glutathione and its role in cellular functions. *Free radical biology & medicine* **27**: 916-921.
- Simon, J.E., Quinn, J. & Murray, R.G.,** (1999). Basil: a source of essential oils. In: Janick, J., Simon, J.E. (Eds.), *Advanced in New Crops*. Timber Press, Portland 484-489.
- Singh, N.P, Kumari, V. & Chauhan, D.** (2003). Mosquito larvicidal properties of the leaf extract of a herbaceous plant, *Ocimum canum* (Family: Labitae). *Journal of Communicable Diseases* **35**: 43-45.
- Singh, K.D., Labala, R.K., Devi, T.B. Singh, N.I., Chanu, H.D., Sougrakpam, S., Nameirakpam, B.S., Sahoo, D., & Rajashekar, Y.** (2017). Biochemical efficacy, molecular docking and inhibitory effect of 2, 3-dimethylmaleic anhydride on insect acetylcholinesterase. *Scientific report* 1-11.
- Siriporn, P. & Mayura, S.,** (2012). The effects of herbal essential oils on the oviposition – deterrent and ovicidal activities of *Aedes aegypti* (Linn.), *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Tropical Biomedicine* **29**: 138-150.
- 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* **56**: 220-230.
- Sneha, A. & Preet, S.** (2016). Impact of sublethal conventional and biorational larvicidal stress on fitness status in nutritionally challenged *Aedes aegypti* larvae. *International Journal of Mosquito Research* **3(1)**: 39-46.
- 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.
- Soro, N.K., Majdouli, K., Khabbal, Y. & Zair, T.** (2014). Chemical composition and antibacterial activity of *Lavandula species L.dentata* L., *L. pedunculata* Mill and *Lavandula abrialis* essential oils from Morocco against foodborne and nosocomial pathogens. *International Journal of Innovation and Applied Studies* **7 (2)**: 774-781.
- Sosa, S. & Altinier, G.** (2005). Extracts and constituents of *Lavandula multifida* with topical anti-inflammatory activity. *Phytomedicine* **12(4)**: 271-277.
- Steele, J.E.** (1981). The role of carbohydrate metabolism in physiological function. In: Downer, R.G.H. (Ed.), *Energy Metabolism in Insects*. Plenum, New York, pp. 101–133.
- 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 253-271.

- Stephan, M., Zamfirache, M.M., Padurariu, C., Truta, E. & Gostin, I.** (2013). The composition and antimicrobial activity of essential oils in three *Ocimum* species growing in Romania. *Central European Journal of Biology* **8** : 600-608.
- Stohs, S.J., Bagchi, D., Hasoun, E. & Bagchi, M.** (2000). Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* **19**: 201-213
- Storey, K.B.** (1996). Oxidative stress: animal adaptation in nature. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **29**: 1715-1733.
- Sukumar, K., Perich, M.J. & Boobar, L.W.** (1991). Botanical derivatives in mosquito control: a review. *Journal of the American Mosquito Control Association* **7**: 210-237.
- Sun, C.N., Huang, S.Y., Hu, N.T. & Chung, W.Y.** (2001). Glutathione S-transferase and insect resistance to insecticides. In: *Biochemical sites of insecticide action and resistance* (Ishaaya I, ed). Springer, Berlin 239-252.

-T-

- Talontsi, F.M., Matasyoh, J.C., Ngoumfo, R.M. & Chepkorir, R.** (2011). Mosquito larvicidal activity of alkaloids from *Zanthoxylum lemairi* against the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **99(1)**: 82-85.
- 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.
- 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.
- Tchoumboungang, F., Dongmo, P.M.J., Sameza, M.L., Mbanjo, E.G.N., Fotso, G.B.T., Zello, P.H.A. & Menut, C.** (2009). Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* **13 (1)**: 77-84.
- 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* **48**: 3189-3193.
- Telci, I., Bayram, E., Yilmaz, G. & Avcı, B.** (2006). Variability in essential oil composition of Turkish basils (*Ocimum basilicum* L.). *Biochemical Systematics and Ecology* **34**: 489-497.
- Timmermann, S.E. & Briegel, H.** (1999). Larval growth and biosynthesis of reserves in mosquitoes. *Journal of Insect Physiology* **45**: 461-470.
- Tine-Djebbar, F.** (2000). Composition biochimique et profil hormonal (20-hydroxyecdysone) des stades larvaires et nymphal chez deux sous-espèces de moustiques *Culex pipiens molestus* et *Culex pipiens pipiens*. Thèse de Magister en physiologie animale, option, applications agronomiques et médicales. Université d'Annaba, Algérie.
- 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*.
- Tisgratog, R., Sanguanpong, U., Grieco, J.P., Ngoen-Kluan, R. & Chareonviriyaphap, T.** (2016). Plants traditionally used as mosquito repellents and the implication for their use in vector control. *Acta Tropica* **157**: 136–144.
- Tiwary, M., Naik, S.N., Tewary, D. K., Mittal, P.K. & Yadav, S.** (2007). Chemical composition and larvicidal activities of the essential oil of *Zanthoxylum armatum* DC (Rutaceae) against three mosquito vectors. *Journal of Vector Borne Diseases* **44**: 198–204.
- Trevisan, M.T.S., Vasconcelos Silva, M.G., Pfundstein, B., Spiegelhalder, B., Owen, R.W.** (2006). Characterization of the volatile pattern and antioxidant capacity of essential oils from different species of the genus *Ocimum*. *Journal of Agricultural Food and Chemistry* **54**: 4378–4382.

-U-

- Unnithan, C.R., Dagnaw, W., Undrala, S. & Ravi, S.** (2013). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Ocimum basilicum* of Northern Ethiopia. *International Research Journal of Biological Sciences* **2**:1-4.
- Urquhart, G.M., Armour, J. & Duncan J.L.** (1996). *Veterinary Parasitology*, 2^o Edition, Oxford: Blackwell sciences, 307 p.

-V-

- 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.
- Van Den Heuvel.** (1963). The effect of rearing temperature on the wing length, thorax length, leg length and ovariol number of the adult mosquito, *Aedes aegypti* (L.). *Transactions royal entomological society london* **115**: 197 – 216.
- Van der Vaart, H., Potma, D.S., Timens, W. & Ten Hacken, N.H.** (2004). Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review. *Thorax* **29**: 713–721.
- Vanhaelen, N., Haubruge, E., Lognay, G. & Francis, F.** (2001). Hoverfly glutathione S-transferases and effect of Brassicaceae secondary metabolites. *Pesticides Biochemistry and Physiology* **71** (3): 170–177.
- Van Hensden, H.C. & Law, J.H.** (1989). An insect transport particule promotes lipid loading from fat body to lipoprotein. *Journal of Biological Chemistry* **264**: 17287-17292.
- Vernin, G. & Metzger J.** (1984). Analysis of basil oils by GC/MS data bank. *Perfumer & Flavorist* **9**: 71-86.
- 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.

- Vijayaraghavan, C., Sivakumar, C., Zadda Kavitha, M. & Sivasubramanian, P.** (2010). Effect of plant extracts on biochemical components of cabbage leaf webber, *Crociodolomia binotalis* Zeller. *Journal of Biopesticides* **3** (1): 275–277.
- Viljoen, 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 hybridisation in *Plectranthus* (Lamiaceae). *South African Journal of Botany* **72**: 99-104.
- Vinogradova, E.B.** (2003). Ecophysiological and morphological variations in mosquitoes of the *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae). *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* **67**: 41-50.

-W-

- Wall, R. & Shearer, D.** (1997). *Veterinary entomology*. London : Chapman & Hall, 439 pp.
- Walters, K. B. Grant, P. & Johnson, D.L.E.** (2009). Evolution of the GST omega gene family in 12 *Drosophila* species. *Journal of Heredity* **100** (6): 742–753.
- Wang, W. & Ballatori, N.** (1998). Endogenous glutathione conjugates: occurrence and biological functions. *Pharmacological reviews* **50** : 335-356.
- Wang, Z., Kim, J.R., Wang, M., Shu, S. & Ahn, Y.J.** (2012). Larvicidal activity of *Cnidium monnieri* fruit coumarins and structurally related compounds against insecticide-susceptible and insecticide-resistant *Culex pipiens pallens* and *Aedes aegypti*. *Pest Management Science* **68**(7): 1041-1047.
- 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.
- Warikoo, R., Wahab, N., Kumar, S.** (2011). Oviposition -altering and ovicidal potentials of five essential oils against female adults of the dengue vector, *Aedes aegypti* L. *Parasitology Research* **109**: 1125–1131.
- Watt, E.E., Betts, B.A., Kotey, F.O., Humbert, D.J., Griffith, T.N., Kelly, E.W., Veneskey, K.C., Gill, N., Rowan, K.C., Jenkins, A. et al.** (2008). Menthol shares general anesthetic activity and sites of action on the GABA (A) receptor with the intravenous agent, propofol. *European Journal of Pharmacology* **590**: 120–126.
- Weckberker, G. & Cory, J.G.** (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemial 1210 cells in vitro. *Cancer lettres* **40**: 257-264.
- Wiens, A.W. & Gilbert, L.I.** (1967). The phosphorylase system of the silkmoth, *Hyalophora cecropia*. *Comparative Biochemistry and Physiology* **21**: 145-159.
- Wigglesworth, W.** (1972). *The principal of Insect physiology*. Seventh Edition. Chapman and Hall, 827 p.
- Wilson, T.G.** (1988). A correlation between juvenile hormone deficiency and vitellongenicoocyte degeneration in drosophile melanogaster. *Roux's archives of developmental biology* **191**: 257-263.
- Windley, M.J., Herzig, V., Dziemborowicz, S.A., Hardy, M.C., King, G.F. & Nicholson, G.M.** (2012). Spider-venom peptides as bioinsecticides. *Toxins* **4**: 191-227.

- Wolfgang, D. & Werner R.** (1988). Guide des insectes. Traduction et adaptation Michel Cusin. Paris : 180-208.
- Wyatt, G.R.** (1967). The biochemistry of sugars and polysaccharides in insects. *Advances in Insect Physiology* **4**: 287-360.

-Y-

- Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A. & Rasooli, I.** (2006). Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita L.* and *Myrtus communis L.* essential oils. *Phytochemistry* **67**(12): 1249-1255.
- Yazdani, E., Sendi, J.J., Aliakbar, A.R. & Senthil Nathan, S.** (2014). Effect of *Lavandula angustifolia* essential oil against lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lep: Pyralidae) and identification of its major derivatives. *Pesticide Biochemistry Physiology* **107**: 250-257.
- 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.
- Yeom, H.J.; Kang, J.S. Kim G.H. & Park, I.K.** (2012). Insecticidal and acetylcholine esterase inhibition activity of *Apiaceae* plant essential oils and their constituents against adults of German cockroach (*Blattella germanica*). *Journal of Agricultural Food and Chemistry* **60**:7194–7203.
- Yeom, H.J., Jung, C.S., Kang, J.S., Kim, J., Lee, J.H., Kim, D.S., Kim, H.S., Park, P.S., Kang, K.S. & Park, I.K.** (2015). Insecticidal and acetylcholine esterase inhibition activity of *Asteraceae* plant essential oils and their constituents against adults of the German cockroach (*Blattella germanica*). *Journal of Agricultural Food Chemistry* **63**: 2241–2248.
- Yu, B.P.** (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews* **74**: 139 – 162.

-Z-

- Zamani, S., Sendi, J.J. & Ghadamyari, M.** (2011). Effect of *Artemisia Annua 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.
- Zehnalek, J., Adam, V. & Kizek, R.** (2004). Influence of heavy metals on production of protecting compounds in agriculture plants. *Listy Cukrovarnické Reparske* **120**: 222 - 224.
- Zeilinski, S. & Pörtner, H.O.** (2000). Oxidative stress and antioxidative defense in cephalopods: a function of metabolic rate or age. *Comparative Biochemistry and Physiology* **125**:147–160.
- Zheljzkov, V.D., Callahan, A., Cantrell, C.L.,** (2008). Yield and oil composition of 38 basil (*Ocimum basilicum L.*) accessions grown in Mississippi. *Journal of Agricultural Food Chemistry* **56** : 241–245.
- Zibae, A., Bandani, A.R.** (2010). Effects of *Artemisia annua L.* (Asteracea) on digestive enzymes profiles and cellular immune reactions of sun pest, *Eurygaster integriceps*

(Heteroptera: Scutellaridae), against *Beauveria bassiana*. Bulletin of Entomological Research **100 (2)**: 185–196.

Zrira, S. (2007). Le lavandin *Lavandula hybrida abrialis* du Maroc. Revue des régions arides **1** :118-123.

ANNEXE

VIII. ANNEXES

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

PUBLICATIONS

1. **DRIS D.**, TINE-DJEBBAR F. & SOLTANI N. (2017). *Lavandula dentata* essential oils: chemical composition and larvicidal activity against *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *African Entomology* **25(2)**: 387–394.
2. **DRIS D.**, TINE-DJEBBAR F., BOUABIDA H. & SOLTANI N. (2011). 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.

COMMUNICATIONS ORALES

1. **DRIS D.**, GOUASMIA H., BOUCHAGOURA M., TINE-DJEBBAR F. & SOLTANI N. (2013). Etude insecticide des huiles essentielles de *Lavandula dentata* à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata*. 1^{er} colloque international sur la préservation de l'environnement des régions semi-arides Tebessa, 20-21 octobre 2013.
2. **DRIS D.**, GHERAIBIA S. & TINE-DJEBBAR F. (2015). Evaluation préliminaire de l'activité larvicide de l'huile essentielle de *Lavandula dentata* à l'égard d'une espèce de moustique *Culex pipiens*. 1^{er} séminaire national sur l'Entomologie Médicale et la Lutte Biologique qui s'est déroulé à Tébessa les 19 et 20 octobre 2015.
3. **DRIS D.**, TINE-DJEBBAR F., BOUABIDA H., CHEREIT S., GHERAIBIA S & SOLTANI N. (2015). Composition chimique et activité larvicide des huiles essentielles extraites de *Lavandula dentata* et *Mentha piperita* à l'égard d'une espèce de moustique. 1^{er} séminaire national de biologie, santé et stress oxydant (BSSO-2016) à Tébessa le 9 et 10 novembre.
4. BOUABIDA H., **DRIS D.**, MOSBAHI A., HLAIMIA N., TINE-DJEBBAR F & SOLTANI N. (2016). Evaluation de deux plantes larvicides sur les biomarqueurs chez deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*. 1^{er} séminaire national de biologie, santé et stress oxydant (BSSO-2016) à Tébessa le 9 et 10 novembre.

COMMUNICATIONS AFFICHEES

1. **DRIS D.**, BOUABIDA H., TINE-DJEBBAR F., AOUINI M., SAHBI F. Z & SOLTANI N. (2015). Effet des huiles essentielles de *Lavandula dentata* sur la biochimie et la morphométrie chez une espèce de moustique *Culex pipiens*. 1^{er} séminaire national sur l'entomologie médicale et la lutte biologique qui s'est déroulé à Tébessa les 19 et 20 octobre 2015.
2. **DRIS D.**, TINE-DJEBBAR F., BOUABIDA H & SOLTANI N. (2016). Effet des huiles essentielles extraites de deux plantes (*Mentha piperita et Ocimum basilicum*) sur les biomarqueurs biochimiques des larves de *Culiseta longiareolata*. 1^{er} séminaire national de biologie, santé et stress oxydant (BSSO-2016) à Tébessa le 9et 10 novembre.
3. BOUABIDA H.,TINE-DJEBBAR F., **DRIS D.**, Torchene N., Bougatouf A & SOLTANI N. (2015). Impact des huiles essentielles de *Lavandula dentata* sur la biochimie et la morphometrie chez une espèce de moustique *Culiseta longiareolata*. 1^{er} séminaire national sur l'entomologie médicale et la lutte biologique qui s'est déroulé à Tébessa les 19 et 20 octobre 2015.
4. BOUABIDA H., **DRIS D.**, MOSBAHI A., HLAIMIA N., TINE-DJEBBAR F & SOLTANI N. (2016). Effet de *Ecalyptus globulus* sur les mécanisme de résistance à l'égard d'une espèce de moustique *Culex pipiens*. 1^{er} séminaire national de biologie, santé et stress oxydant (BSSO-2016) à Tébessa le 9et 10 novembre.



Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: Toxicological, biometrical and biochemical aspects



D. Dris^{a,b}, F. Tine-Djebbar^{a,b,*}, H. Bouabida^{a,b}, N. Soltani^b

^a Department of Nature and Life Sciences, University of Tebessa, 12000 Tebessa, Algeria

^b Laboratory of Applied Animal Biology, Faculty of Sciences, Department of Biology, University Badji Mokhtar of Annaba, 23000 Annaba, Algeria

ARTICLE INFO

Article history:

Received 8 August 2017

Received in revised form 8 September 2017

Accepted 25 September 2017

Available online xxxx

Edited by J Van Staden

Keywords:

Culex pipiens
Ocimum basilicum
Essential oils
Toxicity
Morphometry
Biochemistry

ABSTRACT

The present study was undertaken in order to determine the chemical composition of the leaf essential oil of *Ocimum basilicum* (Lamiaceae) cultivated in Tebessa (Algeria) and to assess their potential larvicidal activity against the most abundant and investigated mosquito species, *Culex pipiens* L., 1758 (Diptera, Culicidae). The essential oil extracted from *O. basilicum* was tested at different concentrations ranging between 50 and 150 ppm on newly molted fourth-instar larvae under standard laboratory conditions according to the World Health Organization recommendations. The effects were examined on the mortality, the activities of acetylcholinesterase (AChE) and glutathione-S-transferase (GST), the morphometric measurements and the biochemical composition of body of larvae, pupae and adults, respectively. *O. basilicum* essential oil which is extracted from dried leaves with an output of 1.56 ± 0.15%, is yellow pale. Its chemical composition has been investigated by GC/MS. Thirty eight compounds have been identified. The major compounds were: linalyl acetate (53.89%) and linalool (22.52%). The larval mortality was observed after 24 h of exposure. The LC₅₀ and LC₉₀ values were 73.45 and 101.20 ppm, respectively. The enzymatic measurements performed in LC₅₀ treated larvae revealed a neurotoxic activity and a stimulation of the detoxification system as evidenced by an inhibition of AChE and an increase in GST activity, respectively. The morphometric study shows that the essential oil tested was found to decrease the growth of different developmental stages. Moreover, it reduces significantly the body contents of proteins, carbohydrates and lipids of the different stages studied (larvae, pupae, adult male and female). Overall, our results indicate that *O. basilicum* essential oil has potential for the development of new and safe control products against mosquitoes.

© 2017 SAAB. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Mosquitoes are the major vector of several diseases like malaria, dengue fever, yellow fever, filariasis and chikungunya, causing millions of deaths every year (James, 1992). Mosquitoes also cause allergic responses in humans that include local skin and systemic reactions such as angioedema (Peng et al., 1999). Due to its large geographical distribution and high abundance, *Culex pipiens* called the domestic mosquito, represent the most important species in Algeria and many countries in the world (Boudjelida et al., 2008). The larval stage of mosquitoes is attractive targets for pesticides because mosquitoes breed in water, and thus, it is easy to deal with them in this habitat (Amer and Mehlhorn, 2006). However, the use of conventional pesticides have caused many risks to people and/or the environment. Consequently, there is an urgent need to develop

safer, more environmentally friendly and efficient alternatives that have the potential to replace synthetic pesticides and are convenient to use (Tapondjou et al., 2005). Several insect growth disruptors (Tine-Djebbar and Soltani, 2008; Bouaziz et al., 2011; Djeghader et al., 2013; Hamaidia and Soltani, 2016), biological agents such as fish (Bendali et al., 2001), *Bacillus thuringiensis* (Boudjelida et al., 2008; Mansouri et al., 2013), *Metarhizium anisopliae* (Boudjelida and Soltani, 2010; Boudjelida and Soltani, 2011) and plant derivatives (Alouani et al., 2009; Rehim et al., 2011; Alouani et al., 2013; Dahchar et al., 2016) were tested in our laboratory research. The application of easily degradable plant compounds is considered to be one of the safest methods of control of insect pests and vectors (Alkofahi et al., 1989). An important group of plant secondary metabolites are the essential oils (EO) which exhibit both a repellent and a larvicidal action. Plants EO (or their constituents) have been valued as insecticides owing to their broad spectrum of activity such as toxicity, oviposition and feeding deterrence, and repellency and attraction which appear to result from interaction with the insect nervous system, either by acetylcholinesterase inhibition or antagonism of the octopamine receptors (Rattan, 2010; Pavela et al., 2014). The insecticidal properties of

* Corresponding author at: Department of Nature and Life Sciences, University of Tebessa, 12000 Tebessa, Algeria.

E-mail addresses: fouzia.djebbar@yahoo.fr (F. Tine-Djebbar), noureddine.soltani@univ-annaba.org (N. Soltani).

EO are very well documented (Traboulsi et al., 2002; Kellouche and Soltani, 2004; Koul et al., 2008; Pavela, 2008; Kellouche et al., 2010; Urzúa et al., 2010; Toudert-Taleb et al., 2014; Hedjal Chebheb et al., 2015) and no development of resistance against the botanical products has yet been reported (Sharma et al., 1992). Basil (*O. basilicum*), belonging to the Lamiaceae family, is one of the most popular plants grown extensively in many continents around the world. The species of *O. basilicum* L., 1753 is the most cultivated in Algeria. It can be used as condiments and insect repellent (Iwu, 1993; Delille, 2007).

In this study conducted under laboratory conditions on *Cx. pipiens*, a medically important mosquito species, we assessed the efficacy of *O. basilicum* essential oil against fourth-instar larvae by determining the lethality parameters. In a second series of experiments, we investigated the biochemical response following *O. basilicum* essential oil exposure by measuring acetylcholinesterase (AChE) and glutathione S-transferase (GST) activities, biomarkers of neurotoxicity and detoxification, respectively. In addition, its effects on morphometric measurements and on main biochemical components (carbohydrates, proteins and lipids) in whole body of the different instars (fourth instar larvae, pupae and adults) were investigated.

2. Materials and methods

2.1. Plant materials and oil extraction

The leaves of *O. basilicum* (Lamiaceae) were collected in April 2015 in Tebessa (Northeast Algeria) and transported to laboratory. Dried leaves of the plants (about 100 g) were cut into small pieces and hydrodistilled in a clevenger type apparatus for 3 h according to the method recommended in the British Pharmacopoeia (1988). The volatile oils were dried over anhydrous sodium sulfate and stored in sealed vials at 4 °C until analysis. The yield of the oils was calculated based on dried weight of plant materials.

2.2. Gas chromatography-mass spectrometry

The essential oil of *O. basilicum* was subjected to GC-MS analysis using Trace GC ULTRA/Polaris Q (GC-MS, Thermo Electron). A VB-5 (5% phenyl/95% dimethylpolysiloxane) column (length 30 m, internal diameter 0.25 mm, film thickness 0.25 µm) was used with helium as carrier gas. The GC oven temperature was kept at 60 °C for 8 min and programmed to 250 °C for 10 min at rate of 2 °C/min. The injector temperature was set at 250 °C. The split flow was adjusted at 50 ml/min. MS were taken at 70 eV. The sample was dissolved in pure hexane. A volume of 0.2 µl was injected for GC-MS analysis. The composition was reported as relative percentage of the total peak area. The components were identified based on their retention times (RT) (determined with reference to a homologous series of normal alkanes), and by comparison of their mass spectral fragmentation patterns with those obtained from the authentic samples and/or the MS library.

2.3. Mosquito rearing

The larvae of *Cx. pipiens* were obtained from a stock colony of the laboratory of Applied Animal Biology and reared as previously described (Rehimi and Soltani, 1999). Larvae were kept in pyrex storage jar (25 larvae/jar) containing 150 ml of stored tap water and maintained at temperature between 25 and 27 °C. 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 two days.

2.4. Larvicidal test

Larval bioassays were conducted as previously described (Boudjelida et al., 2005). The EO of *O. basilicum* was added to treatment beakers at different final concentrations. Newly molted fourth-instar larvae of

Cx. pipiens were exposed to different concentrations (50, 75, 100, 125 and 150 ppm) for 24 h according to the World Health Organization (WHO) procedure (Anonym, 1983; WHO, 2005). Essential oil was dissolved in 1 ml ethanol solvent, and then diluted in 150 ml of filtered tap water to obtain the desired concentrations. The controls were prepared using 1 ml of ethanol in 150 ml of water for positive controls and no additive with negative ones. After the exposure time (24 h), larvae were removed, washed with untreated water and placed in clean water. The test was carried out with 4 replicates each containing 25 larvae per concentration. The mortality percentage obtained was corrected (Abbott, 1925) and toxicity data were studied by probit analysis (Finney, 1971). Lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₀) and 95% confidence limits (95% CL) were estimated, and slope of the concentration-mortality lines were calculated (Swaroop et al., 1966).

2.5. Enzyme assays

The lethal concentration (LC₅₀ = 73.45 ppm) was applied on fourth instar larvae and its effects examined on AChE and GST activities measured at various times (24, 48 and 72 h) following treatment. The AChE activity was carried out following the method of Ellman et al. (1961) using acetylthiocholine as previously described (Habes et al., 2006). Pooled heads (each containing four heads per series) were homogenized in the following solution containing 38.03 mg ethylene glycol tetra-acetic acid (EGTA), 1 ml Triton X-100, 5.845 g NaCl, and 80 ml Tris buffer (10 mM, pH 7). After centrifugation (5000 rpm for 5 min), the AChE activity was measured in aliquots (100 µl) of resulting

Table 1

Chemical composition of *O. basilicum* oils: retention time (RT) and concentration (%) of different constituents.

N	RT	Compound	Area
1	10.0636	α-pinene	0.08
2	12.4926	Sabinene	0.14
3	12.6565	2-β-pinene	0.21
4	13.7168	Beta-Myrcene	0.77
5	16.0012	Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)	0.04
6	16.3723	Eucalyptol	3.29
7	16.9988	cis-Ocimene	0.66
8	17.7073	β-Ocimene	0.42
9	18.3579	γ-Terpinene	0.15
10	19.2061	Trans Sabinene hydrate	0.04
11	20.4255	α-terpinolene	0.07
12	22.2858	Linalool	22.52
13	22.4785	Octen-1-ol, acetate	0.28
14	23.2449	3-Octanyl Acetate	0.27
15	26.5944	Cyclopentylacetone	0.08
16	27.1004	Terpinene-4-ol	0.05
17	28.4499	α-Terpineol	4.57
18	31.2693	Neral	0.62
19	31.9392	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (S)-	0.18
20	33.2886	Linalyl acetate	53.89
21	35.0333	Neryl acetate	0.48
22	38.8840	Terpinyl acetate	2.95
23	39.8865	Neryl acetate	1.22
24	41.1974	Geranyl acetate	2.53
25	41.4817	Beta-elemene	0.09
26	41.7131	Benzene, 1-ethyl-3,5-dimethyl-	0.28
27	42.4601	5-Ethyl-m-xylene	0.08
28	43.1348	Trans-caryophyllene	0.63
29	45.2505	α-Humulene	0.04
30	45.5927	Trans-β-Farnesene	0.18
31	47.0000	Germacrene-D	0.47
32	51.4821	Cyclohexanemethanol	1.89
33	53.7424	Veridiflorol	0.18
34	56.0221	α-Selinene	0.10
35	57.1112	β-Eudesmol	0.10
36	57.2606	α-Eudesmol	0.13
37	58.1474	Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl-α,α,α,4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, (1R-[1.alpha., 3.alpha., 4.beta.])-	0.04
38	59.3089	3-Methyl-2-butenal	0.06

Bold values signifies important component.

supernatants added to 100 μ l of 5–5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DNTB) in Tris buffer (0.01 M, pH 8) and 1 ml Tris (0.1 M, pH 8). After 5 min, 100 μ l acetylthiocholine was added. Absorbances were read at a wavelength of 412 nm with a run time of 20 min.

GST activities were determined with the soluble fraction as enzyme source. GST activities toward 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) were measured according to Habig et al. (1974). Each decapitated body was homogenized in sodium phosphate buffer (0.1 M, pH 6) and centrifuged (14,000 rpm for 30 min). 200 μ l of the resulting supernatant was added to 1.2 ml of reaction mixture containing 1 mM CDNB and 5 mM reduced glutathione (GSH) in the homogenization buffer. Changes in absorbance were recorded at 340 nm. The protein content was evaluated according to Bradford (1976) using bovine serum albumin as standard (BSA, Sigma). The activity was expressed as μ M/min/mg proteins.

2.6. Morphometric measurements

As above, newly molted fourth instar larvae were treated with *O. basilicum* EO at its LC₅₀ as determined before. The body size was recorded by measuring under a dissecting microscope the width of the thorax in larvae, cephalothorax in pupae and the wing length in adults (Timmermann and Briegel, 1999) on 3 replicates of 10 individuals from each stage (larvae, pupae and adults) and the body weight of individuals from different instars was also determined.

2.7. Biochemical composition of body

Proteins, carbohydrates and lipids were extracted following the procedure of Shibko et al. (1966) and quantified as previously described (Soltani-Mazouni et al., 2012). Briefly, for body biochemical analyses, newly molted individuals from each stage were collected. Pooled samples (10 individuals per pool) were weighed and extracted in 1 ml of

trichloroacetic acid (20%). In brief, quantification of proteins was carried following the Coomassie Brilliant Blue G-250 dye-binding method (Bradford, 1976) with bovine serum albumin as a standard. The absorbance was measured at 595 nm. Carbohydrates were determined following the anthrone method (Duchateau and Florkin, 1959) using glucose as standard. Lipids were measured by the vanillin method (Goldsworthy et al., 1972). Data were expressed in μ g per individual.

2.8. Statistical analysis

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

3. Results and discussion

3.1. Extraction yield and chemical composition of essential oil

The results of the steam distillation show that the yield of extraction of essential oil of *O. basilicum* was $1.56 \pm 0.15\%$ (dry matter of the plant). This yield is higher compared to those reported in other regions in Algeria. It was 0.7% in the region of Ain Defla and El Kala (Brada et al., 2011; Ouibrahim et al., 2013). The relative good performance achieved in our study may be due to the drought that characterizes the Tebessa region. It is known that the maximum yields are achieved in dry weather.

The chemical composition of the EO of *O. basilicum* is given in Table 1 and Fig. 1. Gas chromatography and mass spectrometry of essential oils

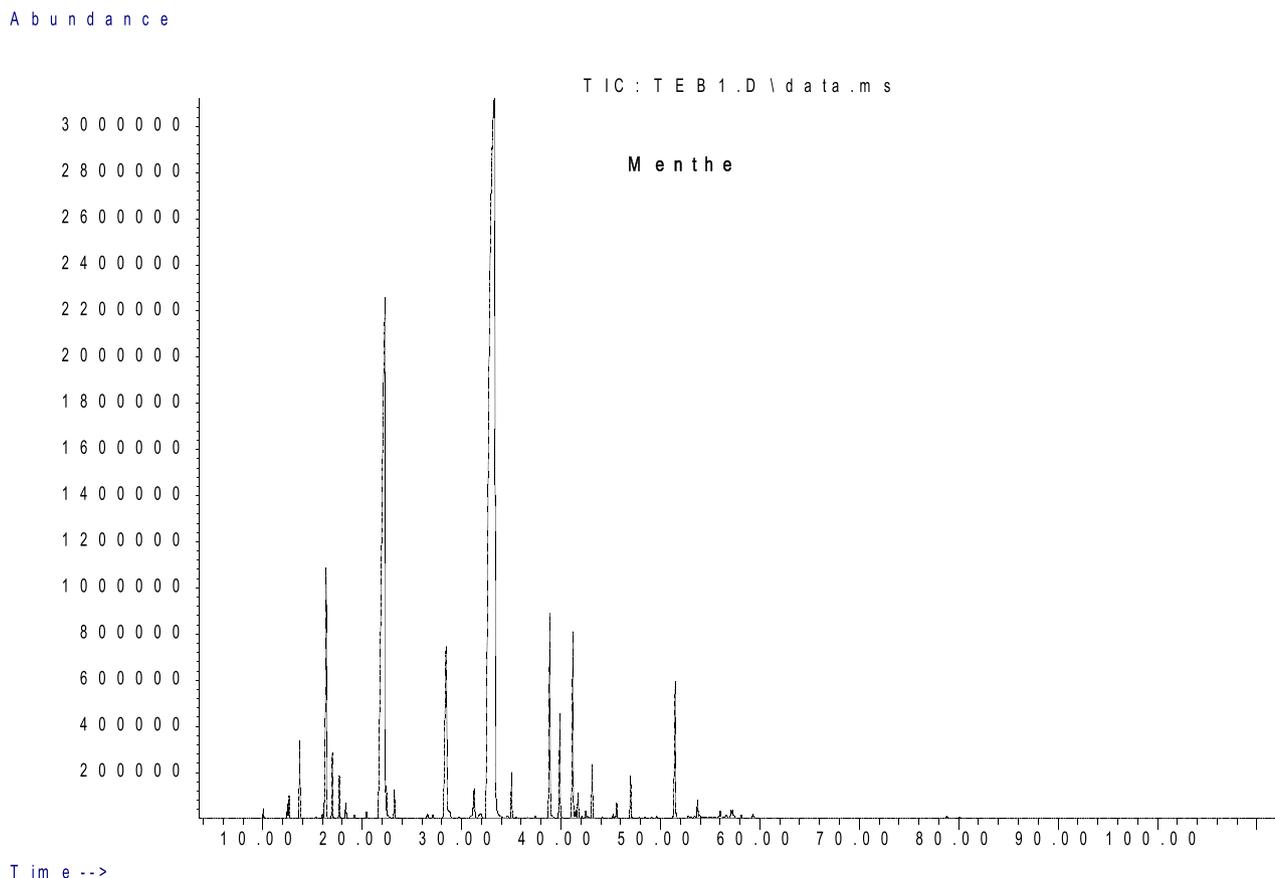


Fig. 1. GC-MS chromatogram for essential oils obtained from *O. basilicum* (abundance as function the time in min).

Table 2The reported major constituents of the volatile oil isolated from *O. basilicum*.

Major constituents	Country	References
Linalool (48.4%), 1,8-cineol (12.2%), eugenol (6.6%), methyl cinnamate (6.2%), α -cubebene (5.7%), caryophyllene (2.5%), β -ocimene (2.1%) et α -farnesene (2.0%).	Egypt	(Abou El-Soud et al., 2015)
<i>iso</i> -pinocampnone (35.10%) et carvone (39.70%).	Italy	(De Martino et al., 2009)
Methyl chavicol (52.4%), Linalool (20.1%)	Iran	(Sajjadi, 2006)
Linalool, α -cardinole, δ -caridnene, γ guaïene, α -selinène, β -selinene, α -guaïene, α -bergamotène	Serbia	(Kostic et al., 2008)
Linalool (30.61%) and estragole (20.04%)	Mexico	(Martinez-Velazquez et al., 2011)
Linalool (69.60%)	Pakistan	(Anwar et al., 2011)

revealed 38 compounds with two major components: linalyl acetate (53.89%) and linalool (22.52%).

Hadj Khelifa et al. (2012) found linalool as a major component with a rate of 32.83% followed by linalyl acetate 16%, in the essential oil of *O. basilicum* from the region Khemis Miliana (Algeria). These results are similar to those obtained by Brada et al. (2011) in Chlef region (Algeria). According to Telci et al. (2006), four chemotypes of basil were identified:

- The European chemotype with linalool as the main component (Italy, France, Bulgaria, Egypt and South Africa).
- Tropical chemotype, rich in methyl cinnamate (India, Pakistan and Guatemala).
- The chemotype of Reunion with methyl chavicol as the majority constituent (Madagascar, Thailand, and Vietnam) (Vernin and Metzger, 1984; Simon et al., 1999).
- The eugenol chemotype of North Africa and Russia (Vernin and Metzger, 1984).

Thus, it appears that the *O. basilicum* EO from different regions of Algeria belongs to European chemotype. The major constituents of *O. basilicum* essential oil from different regions are summarized in Table 2.

3.2. Larvicidal activity

Dose-response relationship was determined for *O. basilicum* essential oil applied to newly molted fourth instar larvae of *Cx. pipiens* (Fig. 2). The mortality was scored at 24 h after treatment. Preliminary tests showed that the solvent (ethanol) had no significant effect on larvae compared to untreated series. With probit, LC_{50} was calculated as 73.45 ppm (FL 95% = 71.02–75.94 ppm) and LC_{90} was 101.20 ppm

(FL 95% = 90.54–113.10 ppm) (Slope = 0.13). After treatment, intoxicated larvae showed a change in their behavior by sinking to the bottom of the jar and remain immobile until they died. Our results indicate that *O. basilicum* essential oils and their active components (linalool and linalyl acetate) could be developed as control agents against mosquito larvae.

Amer and Mehlhorn (2006) have examined the larvicidal activity of the essential oils extracted from 41 plants against third instar larvae of *Aedes aegypti*. The lethal concentration 50 values of these oils ranged between 1 and 101.3 ppm against *A. aegypti*, between 9.7 and 101.4 ppm for *A. stephensi* and between 1 and 50.2 ppm for *C. quinquefasciatus*. The methanol extract of *O. basilicum* applied at its (LC_{50}) was reported to present an insecticidal activity against 2nd, 3rd and 4th stage larvae of *Anopheles stephensi* with mortalities of 0.276%, 0.285% and 0.305%, respectively (Aarthi and Murugan, 2010). The toxic effect of five plants (*Acorus calamus*, *Mentha arvensis*, *Ocimum basilicum*, *Saussurea lappa* and *Cymbopogon citratus*) was examined on third instar larvae of *Ae. aegypti* and *Cx. quinquefasciatus*, the highest larvicidal activity is observed in the volatile oil of *O. basilicum* with LC_{50} of 75.35 ppm and 92.30 ppm against *Ae. aegypti* and *Cx. quinquefasciatus*, respectively (Manzoor et al., 2013).

The larvicidal activity of EOs against different species of insects is connected to the action of their major constituents. Linalool is the major component (57%) of EO extracted from *Zanthoxylum armatum*. It exhibited a larvicidal activity against *Ae. aegypti*, *Anopheles stephensi* and *Cx. quinquefasciatus* with an LC_{50} ranged between 49 and 58 ppm (Tiwary et al., 2007). Similarly, Govindarajan et al. (2013) also reported that in *O. basilicum* EO linalool is the main component (52.42%) and exhibited a toxic effect against 3rd instar larvae of *Cx. tritaeniorhynchus*, *Ae. albopictus* and *An. subpictus* with an LC_{50} of 14.01, 11.97 and 9.75 ppm and a LC_{90} 23.44, 21.17 and 18.56 ppm respectively.

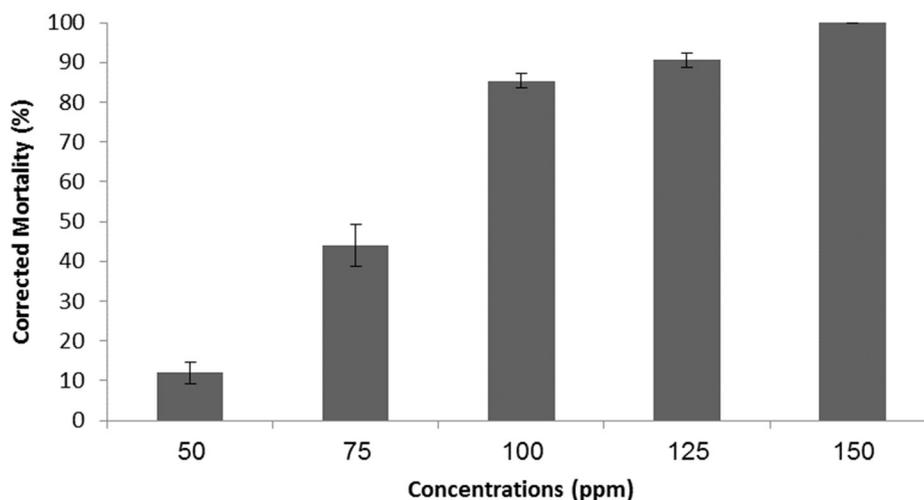


Fig. 2. Efficacy of essential oil of *O. basilicum* applied on fourth instar larvae of *Cx pipiens*: corrected mortality ($m \pm SD$, $n = 4$ repeats each containing 25 individuals).

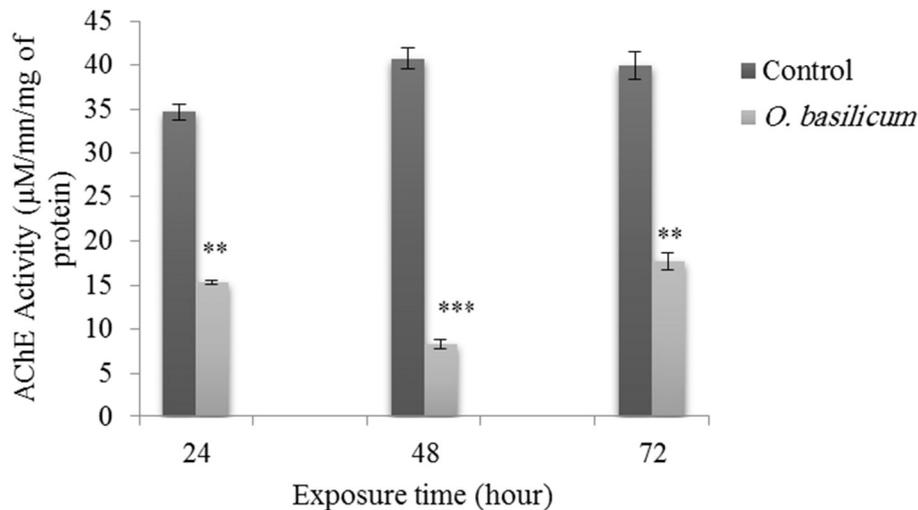


Fig. 3. Effect of *O. basilicum* essential oils (LC_{50}) applied on fourth instar larvae of *Cx. pipiens* on the activity of acetylcholinesterase (mean \pm SD; $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ proteins; $n = 4$) (** = $P < 0.01$, *** = $P < 0.001$).

3.3. Enzymatic activities

In order to obtain information on the mode of action of *O. basilicum* EO, activities of AChE and GST were determined following treatment of fourth instar larvae of *Cx. pipiens*. The results of the AChE determination are shown in Fig. 3. EO was found to inhibit significantly ($P < 0.05$) the specific activity of AChE compared to control series. The inhibition percentages recorded were 58.83, 75.33 and 54.64 ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ proteins) at 24, 48 and 72 h, respectively.

Our results are similar to those obtained by Al-Sarar et al. (2014) showing that EOs of *Mentha longifolia* and *Lavandula dentata* inhibited the AChE activity in *Callosobruchus maculatus* adults. The AChE was also inhibited in the treated insects by pulegone and 1, 8-cineole (Houghton et al., 2006; Picollo et al., 2008). Fenchone and camphor were reported as AChE inhibitors in many species of insects such as: *Sitophilus oryzae*, and *Tribolium castaneum* (Abdelgaleil et al., 2009; López and Pascual-Villalobos, 2010). Kostyukovsky et al. (2002) found that EOs bind to receptors of AChE and octopamine in insects and was offered the second receptor is the main target for the EOs. The working of Enan (2001, 2005a, 2005b) supports the study of Kostyukovsky et al. (2002) and indicates that the presence of octopamine receptors in insects makes EOs more toxic than in mammals.

The GST activity measurements presented in Fig. 4, revealed a significant increase ($P < 0.05$) in the treated series compared to control at 24, 48 and 72 h, respectively. The GST activity is known to be involved in the metabolism of various endogenous compounds and is recognized as one of the major mechanisms conferring insecticide resistance in many pests (Yu, 2004). GSTs play an important role in stress physiology and are implicated in intracellular transport and various biosynthetic pathways (Wilce and Parker, 1994). The GST activities generally take part in converting a reactive lipophilic molecule into a water-soluble, non-reactive conjugate, which may easily be excreted (Yu and Abo-Elghar, 2000).

3.4. Effects on weight and volume of body

Measurements of the whole body weight of *Cx. pipiens* larvae, pupae, male and female adults showed that the weight was affected under treatment of *O. basilicum* EOs at its LC_{50} (Table 3). The treatment decreased significantly the weight of larvae ($p = 0.009$), pupae ($p = 0.002$), male ($p = 0.009$) and female ($p = 0.006$) adults, respectively.

The body volume in control and treated series significantly ($p < 0.001$) increased during the development (fourth instar larvae, pupae and female and male adults). However, treatment with *O. basilicum*

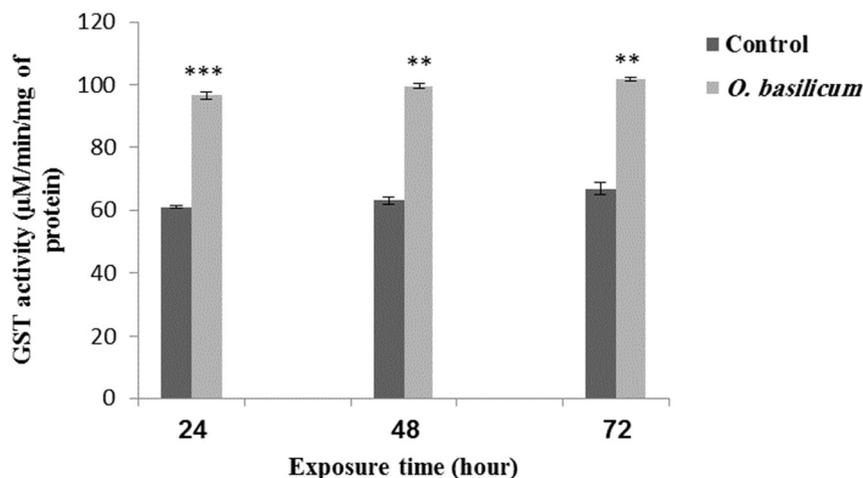


Fig. 4. Effect of *O. basilicum* essential oils (LC_{50}) applied on fourth instar larvae of *Cx. pipiens* on the GST activity (mean \pm SD; $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ proteins; $n = 4$) (** = $P < 0.01$, *** = $P < 0.001$).

Table 3

Effect of *O. basilicum* EOs applied at LC₅₀ on the fresh body weight (mg) and on the body volume (mm³) in different stages of development of *Cx. pipiens* (m ± SD, n = 3 pools each containing 10 individuals).

Stages	Body weight (mg)		Body volume (mm ³)	
	Control	LC ₅₀	Control	LC ₅₀
Larvae	2.19 ± 0.19 a	1.01 ± 0.06 b	3.23 ± 0.34 a	0.40 ± 0.04 b
Pupae	2.37 ± 0.11 a	1.31 ± 0.12 b	3.69 ± 0.31 a	2.90 ± 0.39 a
Male adults	1.09 ± 0.03 a	0.85 ± 0.01 b	43.97 ± 8.62 a	20.75 ± 1.73 a
Female adults	1.44 ± 0.11 a	1.06 ± 0.23 b	45.18 ± 15.71a	27.39 ± 4.48 a

For each stage, mean values followed by the same letter are not significantly different at p = 0.05.

essential oil caused a significant decrease in the body volume only in larvae (p = 0.004) compared to control. There was no significant (p > 0.05) effect of treatment on body volume of pupae, female and male adults.

The body size is a pivotal trait for mosquitoes, because it can influence their blood-feeding ability, host attack rate and fecundity. All of these traits are important determinants of their potential to transmit diseases (Farjana and Tuno, 2013). Harwood et al. (1990) found that D-Limonene, linalool, α-myrcene and α-terpineol significantly increased the pupal duration in German cockroach, *Blattella germanica* when fed through artificial diet (Karr and Coats, 1992). 1,8 Cineole isolated from *Artemisia annua* is also a potential insecticidal allelochemical that could reduce the growth rate, food consumption and food utilization in some post-harvest pests and house hold insects (Jacobson and Halber, 1947; Klocke et al., 1989; Obeng-Ofori and Reichmuth, 1997).

3.5. Effect of *O. basilicum* EOs on biochemical composition of bodies

The amounts of carbohydrates, lipids and proteins were estimated in the whole body from different developmental stages of *Cx. pipiens* using LC₅₀ of *O. basilicum* essential oil (Table 4). The comparison of mean values shows that a significant decrease in the protein amounts was recorded in larvae (p = 0.020), pupae (p = 0.018), male adult (p = 0.015) and female adults (p = 0.014). Concerning the carbohydrate levels, a significant reduction was observed in larvae (p = 0.008) and pupae (p = 0.008) and a significant increase in male adult (p = 0.028) and female adults (p = 0.018) compared to controls. Finally, the lipid content was decreased in treated series in all stages tested: larvae (p = 0.021), pupae (p = 0.045), male adult (p = 0.031) and female adult (p = 0.016) as compared to control.

Carbohydrates play an important role for the structure and functions of all tissues during metamorphosis as well as for the embryonic development (Chippendale, 1978; Kaufmann and Brown, 2008). They form a group of important elements, some represent the energy source for the living organisms, either immediately usable, or in the form of reserves, others have a structural role like cuticle synthesis. Our results showed

Table 4

Effect of *O. basilicum* EOs applied at LC₅₀ on amounts of proteins, carbohydrates and lipids (μg/mg) from different stages of development of *Cx. pipiens* (m ± SD, n = 3 pools each containing 10 individuals).

Stages		Control	LC ₅₀
Larvae	Proteins	49.81 ± 4.24 a	34.79 ± 0.62 b
	Carbohydrates	125.70 ± 7.36 a	64.42 ± 2.38 b
	Lipids	131.83 ± 16.12 a	41.02 ± 1.67 b
Pupae	Proteins	30.29 ± 0.62 a	25.36 ± 3.88 b
	Carbohydrates	217.80 ± 19.2 a	86.15 ± 6.25 b
	Lipids	138.98 ± 5.9 a	88.79 ± 1.47 b
Male adults	Proteins	44.67 ± 5.31 a	30.26 ± 3.54 b
	Carbohydrates	132.88 ± 8.37 a	98.34 ± 12.38 b
	Lipids	99.11 ± 3.38 a	50.25 ± 7.32 b
Female adults	Proteins	47.55 ± 3.34 a	34.25 ± 2.35 b
	Carbohydrates	152.60 ± 20 a	112.73 ± 10.90 b
	Lipids	132.77 ± 1.87 a	89.59 ± 10.42 b

In each line, values followed by the same letter are not significantly different at p = 0.05.

significant changes following treatment with *O. basilicum* essential oils in carbohydrate contents in all considered stages.

Protein synthesis is necessary for the maintenance of body growth and reproduction. Proteins enter in various reactions such as the hormonal regulation and they integrated in the cell as a structural element at the same time as the carbohydrates and the lipids (Cohen, 2010; Sugumaran, 2010). In the present investigation, after treatment of fourth instar larvae of *Cx. pipiens* with *O. basilicum* essential oil, an inhibitory action on proteins was generally exhibited during the tested stages. This depletion might be due to their degradation for metabolic purposes or to an impaired incorporation of amino acids into polypeptide chains or inhibition of protein synthesis.

The lipids represent the independent source of energy and are transported via the hemolymph from their site of storage (Van Hensden and Law, 1989) toward the user organs, in particular the vitellogenesis (Zhou and Miesfeld, 2009) and cuticular synthesis (Dapporto et al., 2008). In the present investigation, total lipid contents of different stages of *Cx. pipiens* were determined in control and treated series. Results revealed that the levels of lipids tended to decline with respect to controls.

4. Conclusion

Phytoproducts possess different bioactive components that can be used as general toxicants against various larval stages of mosquitoes (Shaalán et al., 2005). The combined ovicidal, larvicidal and growth regulating effects displayed by many phytochemicals can produce remarkable effects. In the present study, it can be concluded that the essential oil of *O. basilicum* with linalyl acetate and linalool as major compounds was found to exhibit potent larvicidal activity against *Cx. pipiens* larvae. Moreover, the *O. basilicum* essential oil presented a neurotoxic activity as evidenced by the inhibitor effect on AChE. It caused modification in biochemical composition. Further studies on commercial preparation of repellent products and field trials are needed to recommend the development of ecofriendly chemicals from this plant based oil for mosquito control and protection against the bites of haematophagous insects.

Acknowledgments

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 D01N01UN120120130005).

References

- Aarhi, N., Murugan, K., 2010. Larvicidal and repellent activity of *Vetiveria zizanioides* L., *Ocimum basilicum* Linn and the microbial pesticide spinosad against malarial vector, *Anopheles stephensi* Liston (Insecta: Diptera: Culicidae). *Journal of Biopesticides* 3, 199–204.
- Abbott, W.B., 1925. A method for 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.
- Abou El-Soud, N.H., Deabes, M., El-Kassem, L.A., Khalil, M., 2015. Chemical composition and antifungal activity of *Ocimum basilicum* L. essential oil. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences* 3, 374–379.
- Alkofahi, A., Rupperecht, J.K., Anderson, J.E., Mc Laughlin, J.L., Mikolajczak, K.L., Scott Bernard, A., 1989. Search for new pesticides from higher plants. *Insecticides of Plant Origin* 25–43.
- Alouani, A., Rehim, N., Soltani, N., 2009. Larvicidal activity of a Neem tree extract (Azadirachtin) against mosquito larvae in the republic of Algeria. *Jordan Journal of Biological Sciences* 2, 15–22.
- Alouani, A., Rehim, N., Soltani, N., 2013. Bioefficacy of azadirachtin in controlling *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae). *Jordan Journal of Biological Sciences* 6, 217–222.
- 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). *Türkiye Entomoloji Dergisi* 38, 11–18.

- Amer, A., Mehlhorn, H., 2006. Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes Anopheles*, and *Culex* larvae (Diptera, Culicidae). *Parasitology Research* 99, 466–472.
- Anonym, 1983. Informal Consultation on Insect Growth Regulators. WHO/VBC/83.
- Anwar, F., Sulman, M., Ijaz Hussain, A., Saari, N., Iqbal, S., 2011. Physicochemical composition of hydro-distilled essential oil from coriander (*Coriandrum sativum* L.) seeds cultivated in Pakistan. *Journal of Medicinal Plants Research* 5, 3537–3544.
- Bendali, F., Djebbar, F., Soltani, N., 2001. Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire. *Parasitica* 57, 255–265.
- Bouaziz, A., Boudjelida, H., Soltani, N., 2011. Toxicity and perturbation of the metabolite contents by a chitin synthesis inhibitor in the mosquito larvae of *Culiseta longiareolata*. *Annals of Biological Research* 2, 134–142.
- Boudjelida, H., Soltani, N., 2010. Lutte biologique avec un champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* Metch. à l'égard de *Cydia pomonella* L. Travaux de l'Institut Scientifique, Série Zoologie, Rabat 47, 113–116.
- Boudjelida, H., Soltani, N., 2011. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on *Ceratitis capitata* (Wied) (Diptera:Tephritidae). *Annals of Biological Research* 2, 104–110.
- Boudjelida, H., Bouaziz, A., Soïn, T., Smaghe, G., Soltani, N., 2005. Effects of ecdysone agonist halofenozide against *Culex pipiens*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 83, 115–123.
- Boudjelida, H., Aissaoui, L., Bouaziz, A., Smaghe, G., Soltani, N., 2008. Laboratory evaluation of *Bacillus thuringiensis* (Vec tobac WDG) against mosquito larvae, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *Communications Applied Biological Ghent University* 73, 603–609.
- Brada, M., Khelifa, L.H., Achour, D., Wathelet, J.P., Lognay, G., 2011. Essential Oil Composition of *Ocimum basilicum* L. and *Cimicum gratissimum* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 14, 810–814.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method of the quantitation microgram quantities of protein utilising the principale dye binding. *analytic. The Biochemist* 72, 248–254.
- British pharmacopoeia. 1988. London: HMSO; 2, A137-A138.
- Chippendale, A., 1978. The function of carbohydrates in insect life processes. In: Rockstein, M. (Ed.), *Biochemistry of Insects*. Academic Press, New York, pp. 581–667.
- Cohen, E., 2010. Chitin biochemistry: synthesis, hydrolysis and inhibition. *Advances in Insect Physiology* 38, 5–74.
- Dahchar, Z., Bendali-Saoudi, F., Soltani, N., 2016. Larvicidal activity of some plant extracts against two mosquito species *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 4, 346–350.
- Dapporto, L., Lambardi, D., Turillazzi, S., 2008. Not only cuticular lipids: first evidence of differences between foundresses and their daughters in polar substances in the paper wasp *Polistes dominulus*. *Journal of Insect Physiology* 54, 89–95.
- De Martino, L., De Feo, V., Nazzaro, F., 2009. Chemical composition and *in vitro* antimicrobial and mutagenic activities of seven Lamiaceae essential oils. *Molecules* 14, 4213–4230.
- Delille, L., 2007. Medicinal Plants in Algeria. BERTI, Algeria, pp. 47–48.
- Djeghader, N.E.H., Boudjelida, H., Bouaziz, A., Soltani, N., 2013. Biological effects of a benzoylphenylurea derivative (Novaluron) on larvae of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Advances in Applied Science Research* 4, 449–456.
- Duchateau, G., Florin, M., 1959. Sur la tréhaloseémie des insectes et sa signification. *Archives Indect Physiology and Biochemistry* 67, 306–314.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 7, 88–95.
- Enan, E., 2001. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 130, 325–337.
- Enan, E.E., 2005a. Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from American cockroach and fruit fly in response to plant essential oils. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 59, 161–171.
- Enan, E.E., 2005b. Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 35, 309–321.
- Farjana, T., Tuno, N., 2013. Multiple blood feeding and host-seeking behavior in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* 50, 838–846.
- Finney, D.J., 1971. *Probit Analysis*. 3 ed. Cambridge University Press, London and New York.
- Goldsworthy, A.C., Mordue, W., Guthkelch, J., 1972. Studies on insect adipokinetic hormones. *General and Comparative Endocrinology* 18, 306–314.
- Govindarajan, M., Sivakumar, R., Rajeswary, M., Yagalakshmi, K., 2013. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Experimental Parasitology* 134, 7–11.
- Habes, D., Kilani-Morakchi, S., Aribi, N., Farine, J.P., Soltani, N., 2006. Boric acid toxicity to the German cockroach, *Blattella germanica*: alterations in midgut structure, and acetylcholinesterase and glutathione S-transferase activity. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 84, 17–24.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., 1974. Glutathione S-Transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry* 249, 7130–7139.
- Hadj Khelifa, L., Brada, M., Brahm, F., Achour, D., Fauconnier, M.L., Lognay, G., 2012. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil of *Ocimum basilicum* leaves from the Northern Region of Algeria. *Topclass. Journal of Herbal Medicine* 1, 53–58.
- Hamaidia, K., Soltani, N., 2016. Ovicidal activity of an insect growth disruptor (methoxyfenozide) against *Culex pipiens* L. and delayed effect on development. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 4, 1202–1207.
- Harwood, S.H., Modenke, A.F., Berry, R.E., 1990. Toxicity of peppermint monoterpenes to the variegated cutworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 83, 1761–1767.
- Hedjal Chebheb, M., Kellouche, A., Khouja, M.L., 2015. Essential oils of four Myrtaceae of Tunisia origin and their biological activity against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus*, 1775 (Coleoptera: Bruchidae) and *Vigna unguiculata* seeds. *Integrated Protection of Stored Products* 111, 321–328.
- Houghton, P.J., Ren, Y., Howes, M.J., 2006. Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Natural Product Reports* 23, 181–199.
- Iwu, M., 1993. *Handbook of African medicinal plants*. CRC Press, Boca, Raton, Florida.
- Jacobson, M., Halber, L., 1947. *The Chemistry of Organic Medicinal Plants*. Chapman and Hall, New York.
- James, A.A., 1992. Mosquito molecular genetics: the hands that feed bite back. *Science* 257, 37–38.
- Karr, L.L., Coats, J.R., 1992. Effects of four monoterpenoids on growth and reproduction of the German cockroach (Blattodea: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology* 85, 424–429.
- 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, 367–377.
- Kellouche, A., Soltani, N., 2004. Activité biologique des poudres de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elles sur *Callosobruchus maculatus* (F.). *International Journal of Tropical Insect Science* 24, 184–191.
- Kellouche, A., Ait-Aider, F., Labdaoui, K., Moulda, D., Ouendi, K., Hamadi, N., Ouramdane, A., Frerot, B., Mellouk, M., 2010. Biological activity of ten essential oils against cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: bruchidae). *International Journal of Integrative Biology* 10, 86–89.
- Klocke, J.A., Balandrin, M.F., Yamasaki, R.B., 1989. Limonoids, phenolics and furanocoumarins as insect antifeedants, repellants and growth inhibitory components. In: Arnason, J.T., Morand, P., Philogene, B.J.R. (Eds.), *Insecticides of Plant Origin*. American Chemical Society, Washington DC, pp. 136–149.
- Kostic, M., Popovic, Z., Brkic, D., Milanovic, S., Sivic, L., Stankovic, S., 2008. Larvicidal and antifeedant activity of some plant-derived compounds to *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Limantriidae). *Bioresource Technology* 99, 7897–7901.
- Kostyukovsky, M., Rafaeli, A., Gileadi, C., Demchenko, N., Shaaya, E., 2002. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. *Pest Management Science* 58, 1101–1106.
- Koul, O., Walia, S., Dhaliwal, G.S., 2008. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Pesticides International* 4, 63–84.
- López, M.D., Pascual-Villalobos, M.J., 2010. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. *Industrial Crops and Products* 3, 284–288.
- Mansouri, M., Bendali-Saoudi, F., Benhamed, D., Soltani, N., 2013. Effect of *Bacillus thuringiensis* var israelensis against *Culex pipiens* (Insecta: Culicidae). Effect of Bti on two non-target species *Eylais hamata* (Acari: Hydrachnidia) and *Physa marmorata* (Gastropoda: Physidae) and Dosage of their GST biomarker. *Annals of Biological Research* 4, 85–92.
- Manzoor, F., Samreen, K.B., Parveen, Z., 2013. Larvicidal activity of essential oils against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* larvae (diptera: culicidae). *The Journal of Animal & Plant Sciences* 23, 420–424.
- Martinez-Velazquez, M., Castillo-Herrera, G.A., Rosario-Cruz, R., Flores-Fernandez, J.M., Lopez-Ramirez, J., Hernandez-Gutierrez, R., del Carmen Lugo-Cervantes, E., 2011. Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitology Research* 108, 481–487.
- Obeng-Ofori, D., Reichmuth, C.H., 1997. Bioactivity of eugenol, a major component of essential oil of *Ocimum suave* (wild) against four species of stored product coleopteran. *International Journal of Pest Management* 43, 89–94.
- Ouibrahim, A., Tlili-Ait-kaki, Y., Bennadja, S., Amrouni, S., Djahoudi, A.G., Djebbar, M.R., 2013. Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. *African Journal of Microbiology Research* 7, 4968–4973.
- Pavela, R., 2008. Larvicidal effects of various Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say. larvae (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research* 102, 555–559.
- Pavela, R., Kaffková, K., Kumšta, M., 2014. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from different *Mentha* L. and *Pulegium* species against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Plant Protection Science* 50, 36–42.
- Peng, Z., Yang, J., Wang, H., Simons, F.E.R., 1999. Production and characterization of monoclonal antibodies to two new mosquito *Aedes aegypti* salivary proteins. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 29, 909–914.
- Picollo, M.I., Toloza, A.C., Mougabure, C., Zygadlo, J., Zerba, E., 2008. Anticholinesterase and pediculicidal activities of monoterpenoids. *Fitoterapia* 79, 271–278.
- Rattan, R.S., 2010. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Protection* 29, 913–920.
- Rehimi, N., Soltani, N., 1999. Laboratory evaluation of Alsystin, a chitin synthesis inhibitor, against *Culex pipiens pipiens* (Dip., Culicidae): effects on development and cuticle secretion. *Journal of Applied Entomology* 123, 437–441.
- Rehimi, N., Alouani, A., Soltani, N., 2011. Efficacy of azadirachtin against mosquito larvae *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) under Laboratory Conditions. *European Journal of Scientific Research* 57, 223–229.
- Sajjadi, S.E., 2006. Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. *Daru* 14, 128–130.
- Shaalán, 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* 31, 1149–1166.
- Sharma, R.N., Gupta, A.S., Patwardhan, S.A., Hebbalkar, D.S., Tare, V., Bhonde, S.B., 1992. Bioactivity of Lamiaceae plants against insects. *Indian Journal of Experimental Biology* 30, 244–246.
- Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratnyek, C.A., Newhall, A.R., Friedman, L., 1966. A method for 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* 19, 514–528.
- Simon, J.E., Quinn, J., Murray, R.G., 1999. Basil: a source of essential oils. In: Janick, J., Simon, J.E. (Eds.), *Advanced in New Crops*. Timber Press, Portland, p. 484.

- Soltani-Mazouni, N., Hami, M., Gramdi, H., 2012. Sublethal effects of methoxyfenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella* Zeller. *Invertebrate Reproduction and Development* 56, 157–163.
- Sugumaran, M., 2010. Chemistry of cuticular sclerotization. *Advances in Insect Physiology* 39, 151–209.
- Swaroop, S., Gilroy, A.B., Uemura, K., 1966. *Statistical Methods in Malaria Eradication*. World Health Organisation, Geneva.
- Tapondjou, A.I., Adler, C., Fontem, D.A., Bouda, H., Reichmuth, C., 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus semperviens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais motschulsky* and *Tribolium confusum* du val. *Journal of Stored Products Research* 41, 91–102.
- Telci, I., Bayram, E., Yilmaz, G., Avci, B., 2006. Variability in essential oil composition of Turkish basil (*Ocimum basilicum* L.). *Biochemical Systematics and Ecology* 34, 489–497.
- Timmermann, S.E., Briegel, H., 1999. Larval growth and biosynthesis of reserves in mosquitoes. *Journal of Insect Physiology* 45, 461–470.
- Tine-Djebbar, F., Soltani, N., 2008. Activité biologique d'un agoniste non stéroïdien de l'hormone de mue sur *Culiseta longiareolata*: analyses morphométrique, biochimique et énergétique. *Synthese* 18, 23–34.
- Tiwary, M., Naik, S.N., Tewary, D.K., Mittal, P.K., Yadav, S., 2007. Chemical composition and larvicidal activities of the essential oil of *Zanthoxylum armatum* DC (Rutaceae) against three mosquito vectors. *Journal of Vector Borne Diseases* 44, 198–204.
- Toudert-Taleb, K., Hedjal-Chebheb, M., Hami, H., Debras, J.-F., Kellouche, A., 2014. Composition of essential oils extracted from six aromatic plants of Kabylia origin (Algeria) and evaluation of their bioactivity on *Callosobruchus maculatus* (Fabricius 1775) (Coleoptera: Bruchidae). *African Entomology* 22, 417–427.
- Traboulsi, A.F., Taoubi, K., El-Haj, S., Bessiere, J.M., Rammal, S., 2002. Insecticidal properties of essential plants oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Management Science* 58, 491–495.
- 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. *Journal of the Chilean Chemical Society* 55, 392–395.
- Van Hensden, H.C., Law, J.H., 1989. An insect transport particulate promotes lipid loading from fat body to lipoprotein. *The Journal of Biological Chemistry* 264, 17287–17292.
- Vernin, G., Metzger, J., 1984. Analysis of basil oils by GC/MS data bank. *Perfumer & Flavorist* 9, 71–86.
- WHO, 2005. Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides, Ref. WHO/CDS/WHOPES/GCPP/13 (41pp.).
- Wilce, M.C., Parker, M.W., 1994. Structure and function of glutathione S-transferases. *Biochimica et Biophysica Acta* 12, 1–18.
- Yu, S.J., 2004. Induction of detoxification enzymes by triazine herbicides in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 80, 113.
- Yu, S.J., Abo-Elghar, G.E., 2000. Allelochemicals as inhibitors of glutathione-S-transferase in the fall army worm. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 68, 173–183.
- Zhou, G., Miesfeld, R.L., 2009. Energy metabolism during diapause in *Culex pipiens* mosquitoes. *Journal of Insect Physiology* 55, 40–46.

***Lavandula dentata* essential oils: chemical composition and larvicidal activity against *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae)**

D. Dris^{1,2}, F. Tine-Djebbar^{1,2*} & N. Soltani²

¹Laboratory of Water and Environment, Larbi Tebessi University, 12000-Tebessa, Algeria

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

The current study was undertaken in order to determine the chemical composition of the leaf essential oils of *Lavandula dentata* L. (Lamiaceae) cultivated in Tebessa (Algeria) and to evaluate its potential larvicidal activity against fourth instar larvae of *Culiseta longiareolata* Macquart and *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). The essential oil content of *L. dentata* leaves obtained by hydrodistillation was 1.18 % dry weight. The chemical analysis performed by gas chromatography-mass spectrometry showed that this essential oil contained eight compounds. The major chemical constituents identified were α -terpinolene (51.13 %) and camphor (13.43 %). Bioassay test done following the World Health Organization standard protocol revealed that this essential oil exhibited larvicidal activity. The LC₅₀ and LC₉₀ values against fourth instar larvae were 77.09 and 104.45 ppm for *Cs. longiareolata* and 113.38 and 150.38 ppm for *Cx. pipiens*, respectively. The results proved the potential use of this natural product as an alternative to synthetic insecticides for controlling mosquitoes.

Key words: *Lavandula dentata*, essential oils, mosquito larvicide, *Culiseta longiareolata*, *Culex pipiens*, GC/MS.

INTRODUCTION

Mosquitoes act as a vector for most of the life-threatening diseases like malaria, yellow fever, dengue fever, chikungunya, filariasis, encephalitis and West Nile virus infection. Mosquitoes are considered as 'public enemy number one' (WHO 1996). Mosquito-borne diseases are prevalent in more than 100 countries across the world, infecting over 700 million people every year globally (Ghosh *et al.* 2012). The main effective control is based on the chemical insecticides (Njogu *et al.* 2009) which are generally not safe for humans and the environment. Organochlorine, organophosphate, carbamate and pyrethroid synthetic insecticides are commonly used for controlling the ever-increasing population of vectors (Boudjelida *et al.* 2005; Hamaidia & Soltani 2014). However, these compounds cause an environment hazard due to their potential toxicity to non-target organisms and to the development of resistance among the vectors (Ouma & Russell 2013; Chirchir *et al.* 2013). Consequently, there is an urgent need to find healthy and effectiveness alternatives that preserve the environment in order to replace synthetic pesticides (Tapondjou *et al.* 2005). Several insect growth disruptors (Tine-Djebbar & Soltani 2008; Bouaziz *et al.* 2011; Farnesi *et al.* 2012;

Djeghader *et al.* 2013; Hamaidia & Soltani 2016), biological agents such as fish (Bendali *et al.* 2001), *Bacillus thuringiensis* (Boudjelida *et al.* 2008; Mansouri *et al.* 2013), *Metarhizium anisopliae* (Boudjelida & Soltani 2010; Boudjelida & Soltani 2011) and plant derivatives (Alouani *et al.* 2009; Rehim *et al.* 2011; Alouani *et al.* 2013; Dahchar *et al.* 2016) were tested previously in our laboratory against mosquitoes. The plant world constitutes a rich storehouse of phytochemicals which are widely used as alternatives to synthetic insecticides. Secondary metabolites obtained from plants have shown a real mosquito control potential (Ramar *et al.* 2013). They are often classified into four main groups: terpenes, benzene derivatives, hydrocarbons and other miscellaneous compounds (Tripathi *et al.* 2009). Insecticidal effects of these plant extracts vary not only according to plant species, mosquito species, geographical varieties and parts used, but also due to extraction methodology adopted and the polarity of the solvents used (Ghosh *et al.* 2012). Approximately 1200 plant species have a potential insecticidal value (Roark 1947), and only 344 plant species showed insecticidal activity against mosquitoes (Sukumar *et al.* 1991). The essential oils (EOs) exhibited several activities against mosquitoes such as growth

*Author for correspondence. E-mail: fouziatine@gmail.com

inhibitors and/or larvicides, adulticides, repellents, or oviposition deterrents (Sukumar *et al.* 1991; Carvalho *et al.* 2003; Cavalcanti *et al.* 2004; Ansari *et al.* 2005).

Among the 39 species of the genus *Lavandula* (Lamiaceae) some species produce essential oils. Different species, such as *Lavandula stoechas* L., *L. multifida* L., *L. coronopifolia* Pott., *L. pubescens* Dec. and *L. dentata* L. grow in Algeria (Beloued 1999). *Culex pipiens* L. and *Culiseta longiareolata* Macquart represent the most representative mosquito species in Algeria, particularly in the Tebessa area (Bouabida *et al.* 2012). The present study was designed to investigate the chemical composition of the *L. dentata* essential oil and its larvicidal activity against fourth instar larvae of these two mosquito species that represent medical and veterinary interests.

MATERIAL AND METHODS

Plant materials and oil extraction

The aerial parts of *Lavandula dentata* L. (Lamiaceae) were collected in April 2013 in Tebessa (northeast Algeria). In the laboratory, plants were identified and authenticated by a plant taxonomist. 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. Briefly, the plant was immersed in water and heated to boiling, then the essential oil was evaporated together with water vapour and finally collected in a condenser. The distillate was isolated and dried over anhydrous sodium sulfate. The obtained oil was stored at 4 °C until analysis by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS).

Gas chromatography-mass spectrometry

The essential oil of *L. dentata* was subjected to GC-MS analysis using Trace GC ULTRA/Polaris Q (GC-MS, Thermo Electron).

A VB-5 (5 % phenyl/95 % dimethylpolysiloxane) column (length 30 m, internal diameter 0.25 mm, film thickness 0.25 μ m) was used with helium as the carrier gas. The GC oven temperature was kept at 60 °C for 8 min and programmed to 250 °C for 10 min at rate of 2 °C/min. The injector temperature was set at 250 °C. The split flow was adjusted at 50 ml/min. MS were taken at 70eV. The sample was dissolved in pure hexane. A volume of 0.2 μ l was injected for GC-MS analysis. The composition was reported as relative percentage of the total peak area. The components were identified based

on their retention times (RT) (determined with reference to a homologous series of normal alkanes), and by comparison of their mass spectral fragmentation patterns with those obtained from the authentic samples and/or the MS library.

Mosquito rearing

The larvae of *Cs. longiareolata* and *Cx. pipiens* were obtained from a stock colony of the laboratory of Animal Biology, University of Tebessa and reared as previously described (Rehimi & Soltani 1999). Each batch of 25 larvae were kept in Pyrex storage jars containing 150 ml of stored tap water and maintained at temperature between 25 and 27 °C. Larvae were fed daily with fresh food consisting of a mixture of Biscuit Petit Regal-dried yeast (75:25 by weight), and water was replaced every two days.

Larvicidal bioassays

Larval bioassays were conducted as previously described by Boudjelida *et al.* (2005). The essential oil of *L. dentata* was added to treatment beakers at different final concentrations. Newly moulted fourth instar larvae of *Cx. pipiens* and *Cs. longiareolata* were exposed to different concentrations (50, 75, 100, 125, 150, 175 and 200 ppm) for 24 h according to the World Health Organization (WHO) standard procedure (Anon. 1983; WHO 2005). Essential oils were dissolved in 1 ml ethanol solvent, and then diluted in 150 ml of filtered tap water to obtain the desired concentrations. The controls were prepared using 1 ml of ethanol in 150 ml of water for positive controls and no additive with negative ones. After the exposure time of 24 h, larvae were removed, washed with untreated water and placed in clean water. The test was carried out with four replicates each containing 25 larvae per concentration. Mortality was registered after 24 h of treatment. The mortality percentage obtained was corrected (Abbott 1925) and toxicity data were studied by probit analysis (Finney 1971). Lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₀) and 95 % confidence limits (95 % CL) were estimated, and slope of the concentration-mortality lines were calculated (Swaroop *et al.* 1966).

Statistical analysis

The number of individuals tested in each series is given with the results. Data are presented as mean \pm standard deviation (S.D.). The significance

between different series was tested using Student's *t*-test. All statistical analyses were performed using MINITAB Software (Version 17, PA State College, U.S.A.). The level of significance for statistical tests was $P = 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Extraction yield

From the results of steam distillation, we found that the yield of extraction of essential oil of *L. dentata* was 1.18 ± 0.055 % of the dry matter of the aerial part of the plant. This yield is high compared to those obtained from the same species at different sites in West Algeria (Tlemcen): 0.40 to 0.79 % (Enjajra), 0.31 to 0.59 % (Souk-El Khemis), 0.33 to 0.47 % (Sidi Dris), 0.25 to 0.46 % (Tafessout), 0.31 to 1.04 % (Honaine), from 0.75 to 0.98 % (Ouled-Echeikh Sid), 0.28 to 0.55 % (Souk-Eltnine) and 0.24 to 0.46 % (Beni Saf) (Bousmaha *et al.* 2006) and also in Yemen with a value of 0.8 % (Gamez *et al.* 1990) and 0.58 % (Mothana *et al.* 2012). Our yield is slightly inferior compared to those of other authors when Imelouane *et al.* (2010) reported 1.41 % for extracts from eastern Morocco and 1.96 % from Tunisia (Msaada *et al.* 2012).

Soro *et al.* (2014) found a yield of 2.18 % and 1.97 % of EO for 100 g of dried matter respectively for *L. dentata* and *L. pedunculata*. This difference in essential oil contents of lavender yield from different regions depends on several factors like the species, geographical origin, harvest period, location and duration of drying, temperature and extraction technique (Svoboda & Hampson 1999; Smallfield 2001).

Chemical composition of essential oil

The chemical composition of the EOs of *L. dentata* is given in Table 1 in the order of the retention times of the constituents (Fig. 1). Gas chromatog-

raphy and mass spectrometry of essential oils revealed eight compounds with two major components: α -terpinolene (51.13 %) and camphor (13.43 %). For the remaining components, the contents of 1-borneol (7.93 %), 2-furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro- $\alpha,\alpha,5$ -trimethyl-, cis- (7.14 %), cis-cinaloloxide (7.01 %), 3-cyclohexan-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl) (CAS) (5.45 %), 3,7-octadiene-2,6-diol, 2,6-dimethyl-3,7-octadiene-2,6-diol (4.29 %) and eucalyptol (3.62 %) were significantly higher.

Compared to published data, the chemical profile obtained presents differences, but also some similarities. Soro *et al.* (2014) found camphor (49.75 %) and 1,8-cineole (39.84%) as major components of *L. dentata*'s essential oil. The chemical composition of the essential oil of *L. augustifolia* Mill. collected from Batna (eastern Algerian) revealed 32 components with 1,8-cineole (29.4 %) and camphor (24.6 %) as major components (Belhadj 2014). Imelouane *et al.* (2010) found β -pinene (27.08 %) as the chemotype of eastern Morocco species and other components such as pincarveol (14.77 %) and myrtenal (8.18 %). The same authors showed that the population from Taforalt, Talazart (Morocco) contains 1,8-cineol (41.28 %), sabinene (13.69 %), bicyclo [3.1.0] hexan-3-ol, 4-methylene-1-(1-methylethyl) (6.76 %), myrtenal (5.11 %) and α -pinene (4.05 %) (Imelouane *et al.* 2009). In Tunisia, for the cultivated species, linalool was found as chemotype (47.30 %) and linalyl acetate (28.65 %), bicyclogermacrene (3.40 %), camphor (2.32 %) and δ -terpineol (1.47 %) were registered as major compounds (Msaada *et al.* 2012). The major constituents of *L. dentata* essential oils from different regions are summarised in Table 2.

Larvicidal activity

Dose-response relationship was determined for

Table 1. Chemical composition of *Lavandula dentata* oils: retention time (RT) and concentration (%) of different components.

Components	RT (min)	Concentration (%)
Eucalyptol	16.27	3.62
Cis-linalooloxide	19.41	7.01
2-Furanmethanol,5-ethenyltetrahydro- $\alpha,\alpha,5$ -trimethyl-,cis-	20.55	7.14
α -Terpinolene	21.67	51.13
Camphor	24.38	13.43
1-Borneol	26.30	7.93
3-Cyclohexan-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-(CAS)	27.03	5.45
3,7-Octadiene-2,6-diol,2,6-dimethyl	28.62	4.28

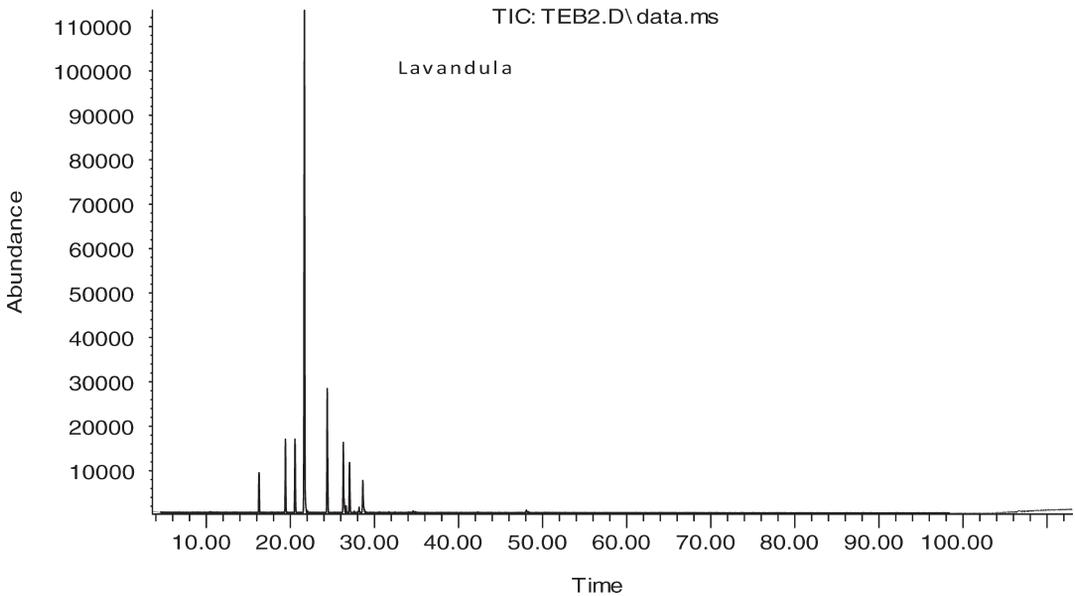


Fig. 1. GC-MS chromatogram for essential oils obtained from *Lavandula dentata* (abundance as a function of the time in minutes).

essential oil of *L. dentata* applied to newly moulted fourth instar larvae of *Cx. pipiens* and *Cs. longiareolata* ($R^2 = 0.98$) (Fig. 2). The mortality was scored at 24 h after treatment. The positive controls showed no effect of ethanol solvent against *Cx. pipiens* and *Cs. longiareolata* larvae. With probit, LC_{50} was calculated as 113.38 ppm (FL 95% = 110.2–116.62 ppm) and 77.09 (FL 95%: 73.92–80.40 ppm) (slope: 1.22 and 1.26) and LC_{90} was 150.38 ppm (FL 95%: 136.09–166.15 ppm) and 104.45 ppm (FL 95%: 103.17–105.72 ppm) for *Cx. pipiens* and *Cs. longiareolata*, respectively. Based on the LC values, *Cs. longiareolata* appeared the most sensitive species. After treatment, intoxicated larvae showed a

change in their behaviour by sinking to the bottom of the jar and remaining immobile until they died. According to Regnault-Roger *et al.* (2012), EOs exert their activities on an insect through neurotoxic effects involving several mechanisms notably through GABA, octopamine synapses and inhibition of acetylcholinesterase, which may explain our results. Our results indicate that *L. dentata* plant essential oils and their active components (α -terpinolene and camphor) could be developed as control agents against mosquito larvae.

Many EOs were reported effective against *Cx. pipiens* larvae. Thus, volatile oils from *Origanum orites* and *Origanum minutiflorum* species showed

Table 2. The major constituents reported in literature and the biological activities of the volatile oils isolated from *Lavandula dentata*.

Major constituents	Uses	Country	References
Camphor, <i>trans</i> -pinocarveol, β -eudesmol and α -guaiaol	Antimicrobial and antioxidant	Yemen	Mothana <i>et al.</i> (2012)
1,8-Cineole, <i>cis</i> -verbenol, <i>p</i> -cymen-8-ol, fenchone and myrtenal	–	Algeria	Bousmaha <i>et al.</i> (2006), Dob <i>et al.</i> (2005)
β -Pinene, pinocarveol and myrtenal	–	Spain	Garcia-Vallejo <i>et al.</i> (1987)
Menthe-1,5-dien-8-ol, caryophyllene oxide and α -guaiaol	Antioxidant	Egypt	Nevein <i>et al.</i> (2014)
Camphor (61.43 %), fenchone (24.3 %), <i>d</i> -fenchol (2.15 %), and linalool (1.52 %)	Fumigant toxicity	Turkey	Al-Sarar <i>et al.</i> (2014)

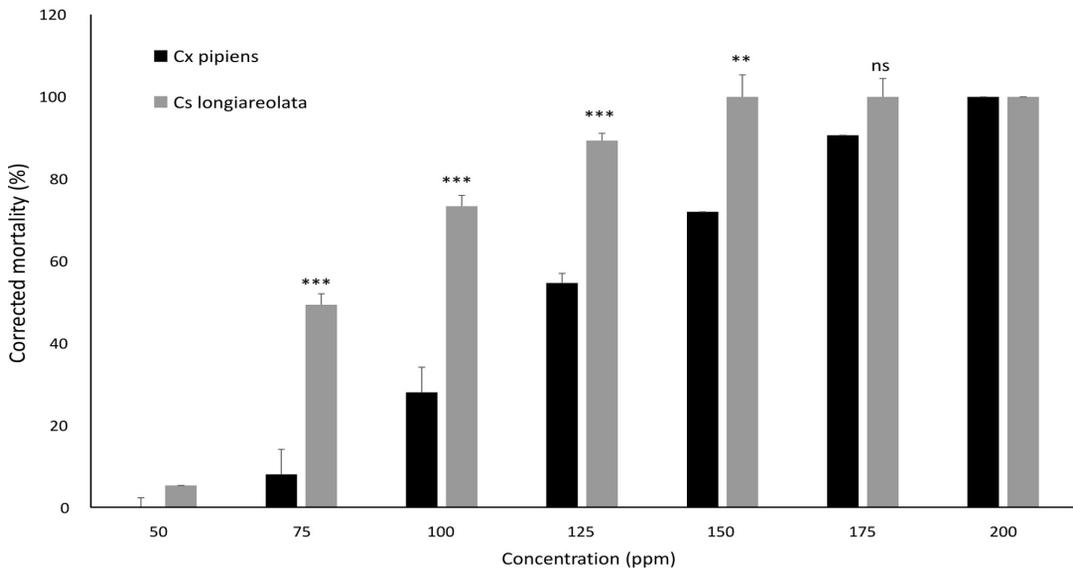


Fig. 2. Efficacy of essential oil of *Lavandula dentata* applied on fourth instar larvae of *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*: corrected mortality (mean \pm S.D., $n = 4$ replicates each containing 25 larvae). Asterisks indicate a significant differences between the two species.

LC₅₀ values of 24.8 and 73.8 ppm against third and fourth instar larvae of *Cx. pipiens*, and carvacrol was the main compound of these oils (Cetin & Yanikoglu 2006). The toxicities of essential oils from *Achillea* species against various insect species (*Sitophilus granarius* and *Tribolium confusum*) are related to the high contents of a number of oxygenated monoterpenes such as camphor, 1,8-cineole, borneol, and bornyl acetate (Calmasur *et al.* 2006). In particular, 1,8-cineole and terpinen-4-ol have been found to be most toxic against *Sitophilus granarius* and *Leptinotarsa decemlineata*, when compared to camphor, borneol, and bornyl acetate (Kordali *et al.* 2006).

Cheng *et al.* (2004) demonstrated that cinnamaldehyde, cinnamyl acetate, and eugenol had an excellent larvicidal activity against fourth instar *Aedes aegypti* larvae in 24 h with an LC₅₀ value of 29, 33, and 33 ppm, respectively. Araújo *et al.* (2003) found that 1,8-cineole induced 100 % larval mortality of *A. aegypti* after 1 day with a dosage of 100 ppm. Cheng *et al.* (2009) demonstrated that α -phellandrene, limonene, p-cymene, c-terpinene, terpinolene, and α -terpinene exhibited great larvicidal performance. Both α -phellandrene and terpinolene are reported to show larvicidal activity against *Ae. aegypti* larvae with an LC₅₀ values of 23.08 and 15.3 ppm, respectively (Perumalsamy *et al.* 2009). Abbas *et al.* (2015) studied the toxic

effect of terpinolene and α -phellandrene against *Ae. aegypti* and *Anopheles quadrimaculatus* and found that terpinolene and α -phellandrene could cause high larval mortality. Also, EOs with main components similar to those of *L. dentata* have been found effective against *Cx. maculatus*; essential oil from *Artemisia sieberi* Besser (54.7 % camphor) showed LC₅₀ value of 1.45 μ l/l (Negahban *et al.* 2007). The EO of *Artemisia haussknechtii*, with camphor as main component, was found very effective against *Cx. maculatus* (Hashemi & Safavi 2012). In this present study, the very important larvicidal activity observed in the EO of *L. dentata* could be explained by the chemical composition of this oil and the action or effect of its major constituent (terpinolene).

CONCLUSION

Phytoproducts possess different bioactive components that can be used against various larval stages of mosquitoes (Shaan *et al.* 2005). The combined ovicidal, larvicidal and growth regulating effects displayed by many phytochemicals can produce remarkable effects. In the present study, it can be concluded that the essential oil of *L. dentata* with α -terpinolene and camphor as major compounds showed a larvicidal activity against *Cx. pipiens* and *Cs. longiareolata* larvae. Moreover, the

L. dentata EO appeared less toxic against *Cx. pipiens* larvae in comparison with *Cs. longiareolata* larvae. Further studies on commercial preparation of repellent products and field trials are needed to recommend the development of the EOs of *L. dentata* as mosquito control and protection against the bites of haematophagous insects.

REFERENCES

- ABBAS, A., NURHAYAT, T., GULMIRA, O., TEMEL, O., ZEKI, A., ULRICH, R.B., NATASHA, M.A., HUSNU, K.C.B. & IKHLAS, A.K. 2015. Essential oils of *Echinophora lamondiana* (Apiales: Umbelliferae): a relationship between chemical profile and biting deterrence and larvicidal activity against mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **52**(1): 93–100.
- ABBOTT, W.B. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* **18**: 265–267.
- ALOUANI, A., REHIMI, N. & SOLTANI, N. 2009. Larvicidal activity of a neem tree extract (azadirachtin) against mosquito larvae in the Republic of Algeria. *Jordan Journal of Biological Sciences* **2**(1): 15–22.
- ALOUANI, A., REHIMI, N. & SOLTANI, N. 2013. Bioefficacy of azadirachtin in controlling *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae). *Jordan Journal of Biological Sciences* **6**(3): 217–222.
- 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-Ulakbim* **38**(1): 11–18
- ANON. 1983. Informal consultation on insect growth regulators. WHO/VBC/83.
- ANSARI, M.A., MITTAL, P.K., RAZDAN, R.K. & SREEHARI, U. 2005. Larvicidal and mosquito repellent activities of pine (*Pinus longifolia*, Family: Pinaceae) oil. *Journal of Vector Borne Diseases* **42**: 95–99.
- ARAÚJO, E.C.C., SILVEIRA, E.R., LIMA, M.A.S., NETO, M.A., ANDRADE, I.L.D. & LIMA, M.A.A. 2003. Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 3760–3762.
- BELHADJ, M.M., KABOUCHE, A., ABAZA, I., ABURJAI, T., TOUZANI, R. & KABOUCHE, Z. 2014. Chemotypes investigation of *Lavandula* essential oils growing at different North African soils. *Journal of Materials and Environmental Science* **5**(6): 1896–1901
- BELOUED, A. 1999. *Encyclopédie des Plantes Utiles: Flore d'Algérie et du Maghreb; Substances Végétales des Régions d'Afrique, d'Orient et d'Occident*. Libraires Modernes, Rouïba, Algérie.
- BENDALI, F., DJEBBAR, F. & SOLTANI, N. 2001. Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire. *Parasitica* **57** : 255–265.
- BOUABIDA, H., DJEBBAR, F. & SOLTANI, N. 2012. Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). *Entomologie faunistique. Faunistic Entomology* **65**: 99–103.
- BOUAZIZ, A., BOUDJELIDA, H. & SOLTANI, N. 2011. Toxicity and perturbation of the metabolite contents by a chitin synthesis inhibitor in the mosquito larvae of *Culiseta longiareolata*. *Annals of Biological Research* **2**(3): 134–142.
- BOUDJELIDA, H., BOUAZIZ, A., SOIN, T., SMAGGHE, G. & SOLTANI, N. 2005. Effects of ecdysone agonist halofenozide against *Culex pipiens*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **83**(2/3): 115–123.
- BOUDJELIDA, H., AISSAOUI, L., BOUAZIZ, A., SMAGGHE, G. & SOLTANI, N. 2008. Laboratory evaluation of *Bacillus thuringiensis* (Vec tobac WDG) against mosquito larvae, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *Communications in Applied Biological Science, Ghent University* **73**(3): 603–609.
- BOUDJELIDA, H. & SOLTANI, N. 2010. Lutte biologique avec un champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* Metch. à l'égard de *Sydia pomonella* L. *Travaux de l'Institut Scientifique, Série Zoologie, Rabat* **47** : 113–116.
- BOUDJELIDA, H. & SOLTANI, N. 2011. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on *Ceratitis capitata* (Wied) (Diptera: Tephritidae). *Annals of Biological Research* **2**(2): 104–110.
- BOUSMAHA, L., BOTI, J.B., BEKKARA, F.A., CASTOLA, V. & CASANOVA, J. 2006. Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Lavandula dentata* L. from Algeria. *Flavour and Fragrance Journal* **21**: 368–372.
- CALMASUR, O., KORDALI, S., KAYA, O. & ASLAN, I. 2006. Toxicity of essential oil vapours obtained from *Achillea* spp. to *Sitophilus granarius* (L.) and *Tribolium confusum* (Jacquelin du Val). *Journal of Plant Diseases and Protection* **113**: 37–41.
- CARVALHO, A.F.U., MELO, V.M.M., CRAVEIRO, A.A., MACHADO, M.I.L.M.B. & BANTIM RABELO, E.F. 2003. Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham against *Aedes aegypti* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **98**: 569–571.
- CAVALCANTI, E.S.B.C., MORAIS, S.M., LIMA, M.A.A. & SANTANA, E.W.P. 2004. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **99**(5): 541–544.
- CETIN, H. & YANIKOGLU, A. 2006. A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey. *Journal of Vector Ecology* **31**(1): 118–122.
- CHENG, S.S., LIU, J.Y., TSAI, K.H., CHEN, Y.J. &

- CHANG, S.T. 2004. Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oil from leaves of different *Cinnamomum osmophloeum* provenances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**: 4395–4400.
- CHENG, S.S., HUANG, C.G., CHEN, Y.J., YU, J.J., CHEN, W.J. & CHANG, S.T. 2009. Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species. *Bioresource Technology* **100**: 452–456.
- CHIRCHIR, D.K., OUMA, R.B.O., CHEPLOGOI, P.K. & OMOLO, J.O. 2013. Larvicidal activity of extracellular secondary metabolites from a *Stereum* species Hill ex Pers. (JO5289) against the dengue fever mosquito, *Aedes aegypti* (Linn.) (Diptera: Culicidae). *African Journal of Biotechnology* **12**(44): 6302–6309.
- DAHCHAR, Z., BENDALI-SAOUDI, F. & SOLTANI, N. 2016. Larvicidal activity of some plant extracts against two mosquito species *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *Journal of Entomology and Zoology Studies* **4**(4): 346–350.
- DJEGHADER, N.E.H., BOUDJELIDA, H., BOUAZIZ, A. & SOLTANI, N. 2013. Biological effects of a benzoyl-phenylurea derivative (Novaluron) on larvae of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Advances in Applied Science Research* **4**(4): 449–456.
- DOB, T., DAHMANE, D., TAYEB, B. & CHELGHOUIM, C. 2005. Chemical composition of the essential oil of *Lavandula dentata* L. from Algeria. *International Journal of Aromatherapy* **15**: 110–114.
- FINNEY, D.J. 1971. *Probit Analysis*. 3rd Edition. Cambridge University Press, London, U.K., and New York, U.S.A.
- FARNESI, L.C., BRITO, J.M., LINSS, J.G., PELAJO-MACHADO, M., VALLE, D. & REZENDE, G.L. 2012. Physiological and morphological aspects of *Aedes aegypti* developing larvae: effects of the chitin synthesis inhibitor novaluron. *PLOS ONE* **7**(1): e30363.
- GAMEZ, M.J., JIMENEZ, J., NAVARRO, C. & ZARZUELO, A. 1990. Study of the essential oil of *Lavandula dentata* L. *Pharmazie* **45**: 69–70.
- GARCIA-VALLEJO, M.I., GARCIA-VALLEJO, M.C. & VALASCO-NEGUERUELA, A. 1987. Composicion quimica de aceites esenciales de *Lavandula dentata* L. en Espana; quimotipos. Proceedings of the 7th Congreso Nacional de Química, Sevilla, Espana. EFCE Publication Series No. 68. *Química, Agricultura y Alimentos* **2** 1: 415–422.
- GHOSH, A., CHOWDHURY, N. & CHANDRA, G. 2012. Plant extracts as potential mosquito larvicides. *Indian Journal of Medical Research* **135**: 581–598.
- HAMAIDIA, K. & SOLTANI, N. 2014. Laboratory evaluation of a biorational insecticide, kinoprene, against *Culex pipiens* larvae: effects on growth and development. *Annual Research & Review in Biology* **4**(14): 2263–2273.
- HAMAIDIA, K. & SOLTANI, N. 2016. Ovicidal activity of an insect growth disruptor (methoxyfenozide) against *Culex pipiens* L. and delayed effect on development. *Journal of Entomology and Zoology Studies* **4**(4): 1202–1207.
- HASHEMI, S.M. & SAFAVI, S.A. 2012. Chemical constituents and toxicity of essential oils of oriental arborvitae, *Platycladus orientalis* (L.) Franco, against three stored-product beetles. *Chilean Journal of Agricultural Research* **72**(2): 188–194.
- IMELOUANE, B., ELBACHIRI, 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.
- IMELOUANE, B., ELBACHIRI, A., WATHELET, J.P., DUBOIS, J. & AMHAMDI, H. 2010. Chemical composition, cytotoxic and antioxidant activity of the essential oil of *Lavandula dentata*. *World Journal of Chemistry* **5**(2): 103–110.
- KORDALI, S., ASLAN, I., CALMASUR, O. & CAKIR, A. 2006. Toxicity of essential oils isolated from three *Artemisia* species and some of their major components to granary weevil *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Industrial Crops and Products* **23**: 162–170.
- MANSOURI, M., BENDALI-SAOUDI, F., BENHAMED, D. & SOLTANI, N. 2013. Effect of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* against *Culex pipiens* (Insecta: Culicidae). Effect of *Bti* on two non-target species *Eylais hamata* (Acari: Hydrachnidia) and *Physa marmorata* (Gastropoda: Physidae) and dosage of their GST biomarker. *Annals of Biological Research* **4**(11): 85–92.
- MOTHANA, R.A., ALSAID, M.S., HASOON, S.S., AL-MOSAIYB N.A., AL-REHAILY, A.J. & AL-YAHYA, M.A. 2012. Antimicrobial and antioxidant activities and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) analysis of the essential oils of *Ajuga bracteosa* Wall. Ex Benth. and *Lavandula dentata* L. growing wild in Yemen. *Journal of Medicinal Plants Research* **6**(15): 3066–3071.
- MSAADA, K., SALEM, N., TAMMAR, S., HAMMAMI, M., SAHARKHIZ, M.J., DEBICHE, N., LIMAM, F.F. & MARZOUK, B. 2012. Essential oil composition of *Lavandula dentata*, *L. stoechas* and *L. multifida* cultivated in Tunisia. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* **15**(6): 1030–1039.
- NEGAHBAN, M., MOHARRAMIPOUR, S. & SEFIDKON, F. 2007. Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research* **43**(2): 123–128.
- NEVEIN, M.A.H., GAMIL, M.A.A. & NAGI, F.I. 2014. Phytochemical studies and *in vivo* antioxidant activity of two *Lavandula* species (Lamiaceae) against streptozotocin induced oxidative stress in albino rats. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research* **3**(4): 30–40.
- NJOGU, E.M., NJUE, A.W., OMOLO, J.O. & CHEPLOGOI, P.K. 2009. Larvicidal activity of (oxiran-2-yl) methylpentanoate extracted from mushroom *Cyptotrama asprata* against mosquito *Aedes aegypti*. *International Journal of Biological and Chemical Science* **3**(6): 1203–1211.
- OUMA, R.B.O. & RUSSELL, B.O. 2013. *Characterisation of Mosquito Larvicidal Compounds from Cultures of a Basidiomycete Coriolus hirsutus*. Egerton University, Nakuru, Kenya.

- PERUMALSAMY, H., KIM, N.J. & AHN, Y.J. 2009. Larvicidal activity of compounds isolated from *Asarum heterotropoides* against *Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti*, and *Ochlerotatus togoi* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **46**: 1420–1423.
- RAMAR, P.S., JAYAPAL, M. & MOHAMMED, A.Q. 2013. Evaluation of aromatic plants and compounds used to fight multidrug resistant infections. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 525613, 17 pages.
- 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 Alsystin, a chitin synthesis inhibitor, against *Culex pipiens pipiens* (Dip., Culicidae): effects on development and cuticle secretion. *Journal of Applied Entomology* **123**: 437–441.
- REHIMI, N., ALOUANI, A. & SOLTANI, N. 2011. Efficacy of azadirachtin against mosquito larvae *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) under laboratory conditions. *European Journal of Scientific Research* **57**(2): 223–229.
- ROARK, R.C. 1947. Some promising insecticidal plants. *Economic Botany* **1**(4): 437–445.
- SHAALAN, E.A.S., CANYON, D., YOUNES, M.W.F., ABDEL-WAHAB, H. & MANSOUR, A.H. 2005. A review of botanical phytochemicals with mosquitoicidal potential. *Environment International* **31**(8): 1149–1166.
- SMALLFIELD, B. 2001. Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research* **45**: 4.
- SORO, N.K., MAJDOULI, K., KHABBAL, Y. & ZAIR, T. 2014. Chemical composition and antibacterial activity of *Lavandula* species *L. dentata* L., *L. pedunculata* Mill and *Lavandula abrialis* essential oils from Morocco against foodborne and nosocomial pathogens. *International Journal of Innovation and Applied Studies* **7**(2): 774–781.
- SUKUMAR, K., PERICH, M.J. & BOOBAR, L.W. 1991. Botanical derivatives in mosquito control: a review. *Journal of the American Mosquito Control Association* **7**: 210–237.
- SVOBODA, K.P. & HAMPSON, J.B. 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Online at: <http://www.csl.gov.uv/ienica/seminars/>
- SWAROOPS, S., GILROY, A.B. & UEMURA, K. 1966. *Statistical Methods in Malaria Eradication*. World Health Organisation, Geneva, Switzerland.
- TAPONDJOU, A.L., ADLER, C., FONTEM, D.A., BOUDA, H. & REICHMUTH, C. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus semperviens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du val. *Journal of Stored Products Research* **41**: 91–102.
- TINE-DJEBAR, F. & SOLTANI, N. 2008. Activité biologique d'un agoniste non stéroïdien de l'hormone de mue sur *Culiseta longiareolata*: analyses morphométrique, biochimique et énergétique. *Synthèse* **18**: 23–34.
- TRIPATHI, A.K., UPADHYAY, S., BHUIYAN, M. & BHATTACHARYA, P.R. 2009. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* **1**: 52–63.
- WHO. 1996. Report of the WHO informal consultation on the evaluation and testing of insecticides. World Health Organization CTD/WHOPES/IC 1–69.
- WHO. 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides, Ref. WHO/CDS/WHOPES/GCPP/13, 41 pp.