



République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de
l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi -Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie des Etres Vivants



Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat L.M.D

Spécialité : Biologie Animale

Option : Physiologie Animale Appliquée à la Santé et l'Environnement

Titre

Efficacité comparée d'une plante médicinale, *Laurus nobilis* à l'égard de deux espèces de moustiques, *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*.

Présentée par : M^{me}. BOUZIDI Oulfa

Devant le jury :

Pr. NEFFAR Souad	Université de Tébessa	Présidente
Pr. TINE-DJEBBAR Fouzia	Université de Tébessa	Promotrice
Pr. TALEB Salima	Université de Tébessa	Examinatrice
Dr. HAMAIDIA Kaouther	Université de Souk Ahras	Examinatrice
Pr. SOLTANI Nouredine	Université d'Annaba	Examineur

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Mes plus vifs remerciements et toute ma considération à Mme. Souad NEFFAR (Professeur au Département de Biologie des êtres vivants, Université de Tébessa) 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 coeur : 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 jugé 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 Kaouther HAMAIDIA (MCA à l'Université De Souk Ahras) 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 Mme. Salima TALEB (Professeur au Département de Biologie Appliquée, Université de Tébessa) qui m'a fait l'honneur de juger le présent travail.

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

TABLE DES MATIERES

Titre	Page
I. INTRODUCTION	1
II. MATERIEL ET METHODES	4
2.1. Présentation de <i>Culex pipiens</i> (Linné, 1758)	4
2.2. Présentation de <i>Culiseta longiareolata</i> (Aitken, 1954)	4
2.3. Collecte et élevage	5
2.4. Présentation de <i>Laurus nobilis</i>	5
2.5. Extraction de l'huile essentielle	6
2.6. Analyse de la composition chimique de l'HE	7
2.7. Traitement et Bioessais	8
2.7.1. Traitement des larves et des pupes	8
2.7.2. Traitement des œufs	9
2.7.3. Traitement des adultes	10
2.8. Sex ratio	10
2.9. Durée de développement	11
2.10. Dosage des biomarqueurs	11
2.10.1. Dosage de l'acétylcholinestérase	11
2.10.2. Dosage des glutathion -S-transférases	12
2.10.3. Dosage du glutathion (GSH)	13
2.10.4. Dosage du malondialdéhyde (MDA)	14
2.10.5. Dosage de la glutathion peroxydase (GPx)	15
2.11. Etude morphométrique	15
2.12. Extraction et dosage des métabolites	16
2.12.1. Dosage des protéines totales	16
2.12.2. Dosage des glucides totaux	17
2.12.3. Dosage des lipides totaux	17
2.13. Détermination des réserves nutritionnelles	18
2.14. Etude histologique	18
2.14.1. Fixation et incubation	18
2.14.2. Enrobage et confection des coupes	19
2.14.3. Coloration et montage des coupes	20
2.14.4. Observation microscopique	21

2.15. Analyses statistiques	21
III. RESULTATS	22
3.1. Caractéristiques organoléptiques et rendement de l'huile essentielle	22
3.2. Composition chimique de l'HE de <i>Laurus nobilis</i>	22
3.3. Effet insecticide de l'HE de <i>L. nobilis</i> à l'égard des moustiques	25
3.3.1. Effet larvicide	25
3.3.2. Effet pupicide	27
3.3.3. Effet ovicide	28
3.3.4. Effet adulticide	29
3.3.5. Effet sur le sex-ratio	30
3.4. Effet sur la durée de développement	31
3.5. Abbérations morphologiques	32
3.6. Effet de l'HE sur les biomarqueurs	33
3.6.1. Effet sur l'activité spécifique de l'AChE	33
3.6.2. Effet sur l'activité spécifique des GSTs	34
3.6.3. Effet sur le taux du GSH	35
3.6.4. Effet sur le taux de la MDA	36
3.6.5. Effet sur l'activité spécifique de la GPx	37
3.7. Impact de l'HE sur la croissance des moustiques	39
3.7.1. Effet sur la croissance pondérale	38
3.7.2. Effet sur la croissance linéaire	39
3.8. Effets sur les réserves nutritionnelles	40
3.9. Effet sur le taux d'épuisement nutritionnel	41
3.10 Etude histologique des larves de moustiques	41
IV. DISCUSSION	45
4.1. Rendement en huile essentielle	45
4.2. Composition chimique de l'HE	47
4.3. Activité larvicide et pupicide de l'HE de <i>Laurus nobilis</i>	49
4.4. Activité ovicide de l'HE de <i>Laurus nobilis</i>	53
4.5. Effet sur le sex-ratio	58
4.6. Effet sur la durée de développement	59
4.7. Abbérations morphologiques	61
4.8. Effet sur les biomarqueurs	62
4.8.1. Effet sur l'activité enzymatique de l'AChE	64
4.8.2. Effet sur l'activité spécifique des GSTs	69

4.8.3. Effet sur le taux du GSH	71
4.8.4. Effet sur le taux de la MDA	72
4.8.5. Effet sur l'activité de la GPx	74
4.9. Effet sur la croissance des moustiques	75
4.10. Effet sur les réserves nutritionnelles	76
4.11. Effet sur l'épuisement des réserves nutritionnelles des moustiques	80
4.12. Effet sur la structure histologique des larves	82
V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	86
VI. RESUMES	88
ABSTRACT	89
ملخص	90
VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	91
VIII. ANNEXES	137
PRODUCTION SCIENTIFIQUE	137

Liste des figures

LISTE DES FIGURES

N°	Titres	Pages
01	Sites de collecte : A) La rocade ; B) Skanska ; C) Pépinière El Hamamet.	05
02	Les parties de <i>Laurus nobilis</i> .	06
03	Montage de l'hydrodistillateur.	07
04	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).	08
05	Essais toxicologiques.	09
06	Traitement des adultes.	10
07	Morphométrie des larves de moustiques.	16
08	Inclusion des échantillons dans un automate de circulation.	19
09	Enrobage des échantillons (A1, A2); Coupe des blocs au microtome (B1, B2) ; Déparaffinage des lames dans l'étuve (C); Elimination des traces de paraffine (D).	20
10	Coloration et montage. A. Hydratation des lames ; B. Produits utilisés lors de la coloration et du montage des lames; C. Application de l'Eukit sur une lamelle; D. Lames prêtes pour l'observation microscopique (photos personnelles).	21
11	Chromatogramme (CPG-SM) de l'HE de <i>L. nobilis</i> (Abondance en fonction du temps en min).	24
12	Toxicité de l'HE de <i>L. nobilis</i> (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>Cs. longiareolata</i> (A) et <i>Cx. pipiens</i> (B) : Mortalité corrigée (%) (m ± SEM, n=6 répétitions de 20 individus chacune).	26
13	Effets de l'HE de <i>L. nobilis</i> , appliquée sur les larves 4 de <i>Cs. longiareolata</i> (A) et <i>Cx. pipiens</i> (B) : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.	26
14	Toxicité de l'HE de <i>L. nobilis</i> (ppm), appliquée sur les pupes nouvellement exuviées de <i>Cs. longiareolata</i> (A) et <i>Cx. pipiens</i> (B) : Mortalité corrigée (%) (m ± SEM, n=6 répétitions de 20 individus chacune).	27
15	Effets de l'HE de <i>L. nobilis</i> , appliquée sur les pupes de <i>Cs. longiareolata</i> (A) et <i>Cx. pipiens</i> (B) : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.	28
16	Toxicité de l'HE de <i>L. nobilis</i> (ppm), appliquée sur les oeufs nouvellement pondus de <i>Cs. longiareolata</i> (A) et <i>Cx. pipiens</i> (B) : Taux d'inhibition d'éclosion (%) (m ± SEM, n=10 répétitions comportant chacune une nacelle) : test HSD de Tukey.	29
17	Toxicité de l'HE de <i>L. nobilis</i> (µL), appliquée sur les adultes mâles et femelles de <i>Cs. longiareolata</i> (A) et <i>Cx. pipiens</i> (B) : Mortalité corrigée (%) (m ± SEM, n=10 répétitions de 10 individus chacune).	30
18	Aberrations morphologiques après traitement avec l'HE du laurier chez <i>Cs. longiareolata</i> et <i>Cx. pipiens</i> .	32
19	Effet de l'HE de <i>L. nobilis</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur l'activité spécifique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> (A) et <i>Cs. longiareolata</i> (B) (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus). Test HSD de Tukey.	34
20	Effet de l'HE de <i>L. nobilis</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs (µM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> (A) et <i>Cs. longiareolata</i> (B) (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) : Test HSD de Tukey.	35
21	Effet de l'HE de <i>L. nobilis</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur le taux du GSH (µM/mg de protéines) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> (A) et <i>Cs. longiareolata</i> (B) (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) : Test HSD de Tukey.	36
22	Effet de l'HE de <i>L. nobilis</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur le taux de la MDA (µM/mg de protéines) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> (A) et <i>Cs. longiareolata</i> (B) (m ± SEM,	37

n=3 répétitions comportant chacune 10 individus) : Test HSD de Tukey.		
23	Effet de l'HE de <i>L. nobilis</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur l'activité spécifique de la GPx ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> (A) et <i>Cs. longiareolata</i> (B) ($m \pm \text{SEM}$, n=3 répétitions comportant chacune 10 individus) : Test HSD de Tukey.	38
24	Effet de l'HE de <i>L. nobilis</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur les réserves nutritionnelles totales (joules) chez <i>Cs. longiareolata</i> (A) et <i>Cx. pipiens</i> (B) à différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, n=3 répétitions comportant chacune 10 larves).	40
25	Effet de l'HE de <i>L. nobilis</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur le taux d'épuisement nutritionnel (%) chez <i>Cs. longiareolata</i> (A) et <i>Cx. pipiens</i> (B) à différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, n=3 répétitions comportant chacune 10 larves) : Test t de student.	41
26	Régions du corps (tête, thorax) chez la larve <i>Cx. pipiens</i> : a) Témoin ; b) Traitée à la CL ₂₅ ; c) Traitées à la CL ₅₀ .	42
27	Parties du corps (tête, thorax) chez la larve de <i>Cs. longiareolata</i> : A) Témoin ; B) Traitée à la CL ₂₅ ; C) Traitée à la CL ₅₀ .	43
28	Les yeux de la larve <i>Cx. pipiens</i> : a) Témoin ; b) Traitée à la CL ₂₅ ; c) Traitée à la CL ₅₀ .	43
29	Paroi de l'intestin moyen chez la larve <i>Cx. pipiens</i> : a) Témoin ; b) Traitée à la CL ₂₅ ; c) Traitées à la CL ₅₀ .	43
30	Paroi de l'intestin moyen chez la larve <i>Cs. longiareolata</i> : A) Témoin ; B) Traitée à la CL ₂₅ ; C) Traitée à la CL ₅₀ .	44
31	Tubules de malpighie chez la larve de <i>Cx. pipiens</i> : a) Témoin ; b) Traitée à la CL ₂₅ ; c) Traitée à la CL ₅₀ .	44
32	Fibres musculaires chez la larve de <i>Cx. pipiens</i> : a) Témoin ; b) Traitée à la CL ₂₅ ; c) Traitée à la CL ₅₀ .	44
33	Processus biochimiques mis en œuvre pour métaboliser les substances toxiques absorbées par l'insecte (Haubruge & Amichot, 1998).	63
34	Site cible de l'insecticide (David <i>et al.</i> , 2013 ; Luz <i>et al.</i> , 2020).	68
35	Mode d'action des huiles essentielles : Effet sur les enzymes antioxydantes (Favier, 2003).	75
36	Différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène (Poisson, 2013).	78

Liste des tableaux

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titres	Pages
01	Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	17
02	Dosage des glucides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	17
03	Dosage des lipides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	18
04	Composition chimique de l'HE de <i>L. nobilis</i> : temps de rétention (TR) et concentrations (%) des différents constituants.	22
05	Familles des composants chimiques de l'HE de <i>L. nobilis</i> .	24
06	Toxicité de l'HE de <i>L. nobilis</i> , appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de <i>Cs. longiareolata</i> et <i>Cx. pipiens</i> : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).	26
07	Toxicité de l'HE de <i>L. nobilis</i> , appliquée sur les pupes nouvellement exuviées de <i>Cs. longiareolata</i> et <i>Cx. pipiens</i> : Détermination des concentrations létales et leurs intervalles de confiance (95%).	28
08	Toxicité de l'HE de <i>L. nobilis</i> , appliquée sur les adultes de <i>Cs. longiareolata</i> et <i>Cx. pipiens</i> : Détermination des concentrations létales et leurs intervalles de confiance (95%).	30
09	Proportions moyennes de sex-ratio femelle et mâle de <i>Cs. longiareolata</i> après exposition des larves L4 à l'HE de <i>L. nobilis</i> (m ± SEM, n= 15 répétitions comportant chacune 10 larves) : Test t de student.	31
10	Effet de <i>L. nobilis</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur la durée de développement (jours) des stades larvaires chez <i>Cs. longiareolata</i> et <i>Cx. pipiens</i> (m ± SEM, n= 15 répétitions comportant chacune 10 larves) : Test t de student.	31
11	Effet de l'HE de <i>L. nobilis</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur le poids corporel des larves L4 de <i>Cs. longiareolata</i> et <i>Cx. pipiens</i> à différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) : Test HSD de Tukey.	39
12	Effet de l'HE de <i>L. nobilis</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur le volume corporel des larves 4 de <i>Cs. longiareolata</i> et <i>Cx. pipiens</i> à différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) : test HSD de Tukey.	39
13	Variations du rendement (%) du <i>L. nobilis</i> en fonction de certains facteurs.	46
14	Variation de la composition chimique de l'HE de <i>L. nobilis</i> en fonction de la partie utilisée de la plante dans différents pays.	49
15	Effet larvicide de certaines plantes à l'égard de différentes espèces de moustiques.	55
16	Activité ovicide de certaines plantes à l'égard des espèces de moustiques.	57

Introduction

I. INTRODUCTION

Les moustiques sont considérés comme l'un des groupes d'arthropodes les plus pertinents en santé publique (Schaffner *et al.*, 2001 ; Becker *et al.*, 2010). Ceux appartenant aux genres *Aedes*, *Anopheles* et *Culex* sont intéressants en raison de leur rôle dans la transmission de divers agents pathogènes et parasites à l'origine de maladies provoquant plus d'un million de décès chaque année telles que le paludisme, la dengue, la fièvre jaune et la filariose (WHO, 2017). Selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) (2013), plus de 250 millions de cas de paludisme, 50 millions de cas de la dengue, et 200 000 cas de la fièvre jaune sont enregistrés chaque année. Ces infections disséminées dans le monde causent la mortalité, la morbidité, les pertes économiques et les perturbations sociales (Sakthivadivel & Daniel, 2008).

La faune Culicidienne d'Algérie, est au nombre de 48 espèces (Brunhes *et al.*, 1999). Elle a fait l'objet d'un grand nombre de travaux qui s'intéressent à la systématique, la bioécologie, la lutte chimique et la lutte biologique (Aissaoui & Boudjelida, 2014 ; Amara Korba *et al.*, 2015 ; Soltani, 2015 ; Dahchar *et al.*, 2016 ; Lounaci *et al.*, 2016 ; Tine-Djebbar *et al.*, 2016; Benhamed, 2017 ; Bouabida *et al.*, 2017 ; Dris, 2018 ; Benhissen *et al.*, 2019 ; Bouguerra, 2019 ; Brahim *et al.*, 2019 ; Guenez, 2020 ; Kharoubi *et al.*., 2020, Seghier *et al.*, 2020). En raison de leur large répartition géographique, de leur abondance et de leur nuisance réelle, surtout dans les zones urbaines (Bendali *et al.*, 2006), *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* représentent les espèces de moustiques les plus importantes en Algérie (Boudjelida *et al.*, 2008), et plus particulièrement dans la région de Tébessa (Tine-Djebbar *et al.*, 2016).

Afin de minimiser la propagation des moustiques et des épidémies y provenant, plusieurs méthodes ont été envisagées et adoptées ; ces stratégies de lutte se sont appuyées dans les premiers temps sur l'utilisation d'insecticides chimiques. Cependant, l'utilisation répétée et abusive de ces derniers a entraîné de nombreux inconvénients néfastes pour l'environnement (Aouinty *et al.*, 2006 ; El Zayyat *et al.*, 2015) et le phénomène de résistance des insectes (Daaboub *et al.*, 2008 ; Vontas *et al.*, 2012). Un récent rapport de l'OMS a confirmé que ces vecteurs développaient une résistance contre les quatre insecticides couramment utilisés : les pyréthrinoides, les organochlorés, les carbamates et les organophosphorés dans le monde (OMS, 2018).

De ce fait, pour servir à une gestion durable de l'environnement et rendre efficace une lutte biologique anti vectorielle, les recherches actuelles se sont orientées vers l'utilisation de substances naturelles d'origine végétale en particulier les huiles essentielles, comme agent bioactif et insecticide plus sélectifs et biodégradables du point de vue écologique (Kamaraj & Rahuma, 2010 ; Ghosh *et al.*, 2012 ; Kemassi *et al.*, 2014). Une grande variété d'HEs a été utilisée comme substances toxiques ayant des activités ovicides, larvicides, pupicides et adulticides, y compris l'action répulsive contre les insectes (Phasomkusolsil *et al.*, 2011 ; Govindarajan & Sivakumar, 2014 ; Aouati, 2015 ; Lija-Escaline *et al.*, 2015 ; Seo *et al.*, 2015 ; El-Bakry *et al.*, 2016 ; Younoussa *et al.*, 2016 ; Al-Mekhlafi, 2018 ; Guettal *et al.*, 2020a et b).

L'utilisation des huiles essentielles comme insecticides est une initiative très prometteuse de développement et de préservation des écosystèmes. Elles sont connues pour être des mélanges complexes de métabolites secondaires, affichant souvent des activités plus élevées que le composé isolé (Dias & Moraes, 2014). D'après Rageau & Delaveau (1980), les extraits de plantes agissent de deux façons possibles ; une action larvicide induisant une mortalité appréciable des larves, ou une action juvénile mimétique de l'hormone juvénile, avec allongement de la durée de la vie larvaire pouvant inhiber la nymphose. Des recherches récentes ont prouvé l'efficacité des composés dérivés de plantes incluant les flavonoïdes, les saponines, les stéroïdes, les alcaloïdes, et les tanins et qui ont un potentiel larvicide contre les moustiques (Vatandoost & Hanafi-Bojd, 2008 ; Akhtar *et al.*, 2010).

L'Algérie est connue pour sa grande biodiversité floristique et la richesse de son patrimoine phytothérapeutique et offre un grand trésor botanique, qui peut être la source de nombreux produits intéressants pour le développement de nouveaux insecticides. Plusieurs études ont été menées sur l'activité insecticide d'extraits de plantes et d'huiles essentielles contre les larves de moustiques et qui peuvent être utilisés comme alternative aux insecticides synthétiques dans le programme de lutte antivectorielle (Ghosh *et al.*, 2011 ; Aouinty *et al.*, 2006 ; Guenez, 2020 ; Seghier *et al.*, 2020a et b ; Zeghib *et al.*, 2020).

Laurus nobilis L. 1753, communément appelé *Laurier noble*, est un arbre aromatique appartenant à la famille des *Lauraceae*. Le laurier est originaire du bassin Méditerranéen (Vetvicka & Matousova, 1991). Son huile essentielle est généralement dominée par le composé monoterpénique, le 1,8-cinéole (Snoussi *et al.*, 2016). Cette espèce est utilisée comme agent aromatisant alimentaire, et dans l'industrie pharmaceutique pour la formulation

de médicaments. Plusieurs études réalisées sur l'huile du laurier ont révélé ses propriétés antibactériennes (Merghni *et al.*, 2016), antifongiques (Gumus *et al.*, 2010), antioxydantes (Inan *et al.*, 2012), insecticides (Pavela, 2009 ; Sertkaya *et al.*, 2010), acaricides (Senfi *et al.*, 2014) et répulsifs (Drapeau *et al.*, 2009).

Dans ce contexte, cette thèse rapporte les effets insecticides d'une plante aromatique et médicinale algérienne, connue dans la bibliographie pour son potentiel insecticide. Les expérimentations ont été menées au niveau du Laboratoire de Biologie Animale- Université de Tébessa- sur deux espèces de moustiques, *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*, très communes en Algérie et notamment dans la ville de Tébessa.

L'objectif de ce travail sera de répondre à ces questions à savoir « **Est ce qu'il existe des effets toxiques de cette huile essentielle testée sur les différents stades de développement de ces deux espèces et si tel est le cas, quels sont les mécanismes d'action de cette huile ?** ».

Ce travail est scindé en quatre parties ; *la première partie* est une introduction donnant un aperçu général sur les Culicidés, les maladies vectorielles y découlant, les méthodes de lutttes utilisées pour éradiquer ces moustiques avec une chronologie des faits.

La deuxième partie s'attardera sur le matériel et les méthodes utilisées, décrivant d'abord le matériel animal sur lequel les tests ont été réalisés à savoir, le moustique *Culex pipiens*, et *Culiseta longiareolata* ensuite le matériel végétal représenté par le laurier et à la fin les techniques utilisées au laboratoire pour toutes les expérimentations d'extractions et celle ayant trait à la toxicologie, les biomarqueurs de la neurotoxicité, du stress oxydatif et de la détoxification, la morphométrie, la biochimie et l'histologie.

La troisième partie sera consacrée aux résultats obtenus de ces expérimentations, soumis à des analyses statistiques pour essayer de répondre aux objectifs fixés au préalable. Dans *la dernière partie*, une discussion est rédigée en référence à des travaux réalisés par d'autres auteurs. Le travail se termine par une conclusion et des perspectives envisagées.

Matériel et méthodes



II. MATERIEL ET METHODES

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

Le choix de *Culex pipiens* comme matériel biologique animal est basé sur son abondance et sa capacité de peupler les zones urbaines et les différents biotopes (Savage & Miller, 1995). Cette espèce est un agent de nuisance et vecteur de plusieurs agents pathogènes affectant l'homme et les animaux, tels que le virus du Nil occidental et de la fièvre de la Vallée du Rift (Reusken *et al.*, 2011). *Culex pipiens* est multivoltine. La femelle pique la nuit l'homme et d'autres espèces animales à sang chaud, pour fournir le repas nécessaire à la production de ses œufs (Schaffner *et al.*, 2001).

La position systématique de *Culex pipiens* est la suivante :

Règne : Animal
Embranchement : Invertébré
Classe : Insecte
Sous-Classe : Ptérygote
Ordre : Diptère
Sous-Ordre : Nématocère
Famille : Culicidae
Sous-famille : Culicinae
Genre : <i>Culex</i>
Espèce : <i>Culex pipiens</i> (Linné, 1758)

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

Culiseta longiareolata est une espèce multivoltine, elle peut présenter une diapause hivernale chez les adultes femelles (régions froides) et chez les larves (régions tempérées) (Bruhnes *et al.*, 1999). Les femelles sont sténogames et autogènes. Elles piquent de préférence les vertébrés surtout les oiseaux, très rarement l'humain, l'espèce est considérée comme vecteur de Plasmodium d'oiseau.

La position systématique de *Culiseta longiareolata* est la suivante :

Règne : Animal
Embranchement : Invertébré
Classe : Insecte
Sous-Classe : Ptérygote
Ordre : Diptère
Sous-Ordre : Nématocère
Famille : Culicidae
Sous-famille : Culicinae
Genre : *Culiseta*
Espèce : *Culiseta longiareolta* (Aitken, 1954)

2.3. Collecte et élevage

Les œufs et les larves de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* sont récoltés des différents sites de la région de Tébessa (Fig. 1). Le choix de ces sites d'échantillonnage est basé sur l'accessibilité, la pérennité et le non-traitement. Les larves sont élevées au laboratoire dans des récipients contenant 150 ml d'eau déchlorurée et nourries avec 0,04g du mélange biscuit 75%, levure 25% (Rehimi & Soltani, 1999). L'eau est renouvelée chaque deux jour. 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 1. Sites de collecte : A) Rocade ; B) Skanska ; C) Pépinière El Hamamet (photos personnelles).

2.4. Présentation de *Laurus nobilis*

Laurus nobilis L. est un arbre ou arbuste de 2 à 10 m de hauteur, à croissance lente. Le feuillage est persistant avec des feuilles aromatiques, simples, alternes et coriaces dont le

pétiole mesure de 2 à 5cm. Le laurier est la seule espèce représentant la famille des lauracées dans la région méditerranéenne d'où elle est originaire. Actuellement, cette espèce est largement cultivée comme plante ornementale et pour la production commerciale dans beaucoup de pays tels que l'Algérie, la Turquie, la France, la Grèce, le Maroc, et l'Amérique centrale (Barla *et al.*, 2007). Le laurier noble jouit d'une place importante tant dans le domaine mythologique, culinaire et médicinale depuis l'antiquité (Vetvicka & Matousova, 1991), car ses feuilles renferment plusieurs substances actives (Bruneton, 1993). La classification botanique de *Laurus nobilis* L. d'après (Quezel & Santa, 1962) est la suivante :

Règne : Plantes

Sous règne : Plantes vasculaires

Embranchement : Spermaphytes

S/Emb : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

S /Classe : Dialypétales

Ordre : Laurales

Famille : Lauracées

Genre : *Laurus*

Espèce : *Laurus nobilis*



Figure 2. Feuilles de *Laurus nobilis* (Photo personnelle).

2.5. Extraction de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *L. nobilis* a été extraite par hydrodistillation grâce à un appareil de type Clevenger. Les feuilles de *L. nobilis* ont été collectées durant la période mars-juillet

2016. Les feuilles ont été séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré. 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. Le mélange est porté à ébullition pendant 3 heures, 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 ombré, hermétiquement fermé.

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

$$R = PB / PA \times 100$$

Ou

$$R = [\Sigma PB / \Sigma PA] \times 100$$

R : Rendement en huile en %.

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

PB : Poids de l'huile en g.



Figure 3. Montage de l'hydrodistillateur (photo personnelle).

2.6. Analyse de la composition chimique de l'HE

L'analyse chimique de l'HE 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 réalisée au Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (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 "Quadrupolaire" de type Hewlett Packard 5973 à impact d'électrons opérant en mode EI 70 eV. La colonne capillaire utilisée est de type HP-5MS (longueur de 30m x diamètre interne de 0,25 mm et épaisseur de film 0,25 mm). 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 270°C. La fragmentation est effectuée par impact électronique sous un champ de 70eV, et une pression de 6,75Psi. Le volume injecté est de 0,2µl. 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 al.*, 1998), 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).



Figure 4. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).

2.7. Traitement et Bioessais

2.7.1. Traitement des larves et des pupes

Après un test de Screening, on a pu déterminer la gamme de concentrations de l'HE de *L. nobilis* qui est de l'ordre de : 25, 50, 100, 150 et 200 ppm. Ces concentrations ont été appliquées dans des pots contenant 150ml d'eau et 20 larves du quatrième stade ou 20 pupes

nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* selon les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (Anonyme, 1983). Après 24h de traitement, les larves et les nymphes sont rincées et placées dans de nouveaux récipients contenant de l'eau propre et de la nourriture. Le témoin négatif ne contenait que de l'eau tandis que le témoin positif renfermait un millilitre d'éthanol. Le suivi de mortalité des larves a été réalisé après le 1er, le 3ème, le 5ème et le 7ème jour après traitement alors que le suivi des nymphes a été fait jusqu'à l'émergence des imagos (Fig. 5). Six répétitions comportant chacune 20 larves ou 20 pupes, ont été réalisées pour chaque concentration. Le pourcentage de mortalité observée est corrigé par la formule d'Abbott (1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle et de déterminer la toxicité réelle du traitement. La détermination des concentrations létales (CL_{25} , CL_{50} et CL_{90}) ainsi que leur intervalle de confiance (95% IC) a été faite grâce à un logiciel GRAPH PAD PRISM 7.

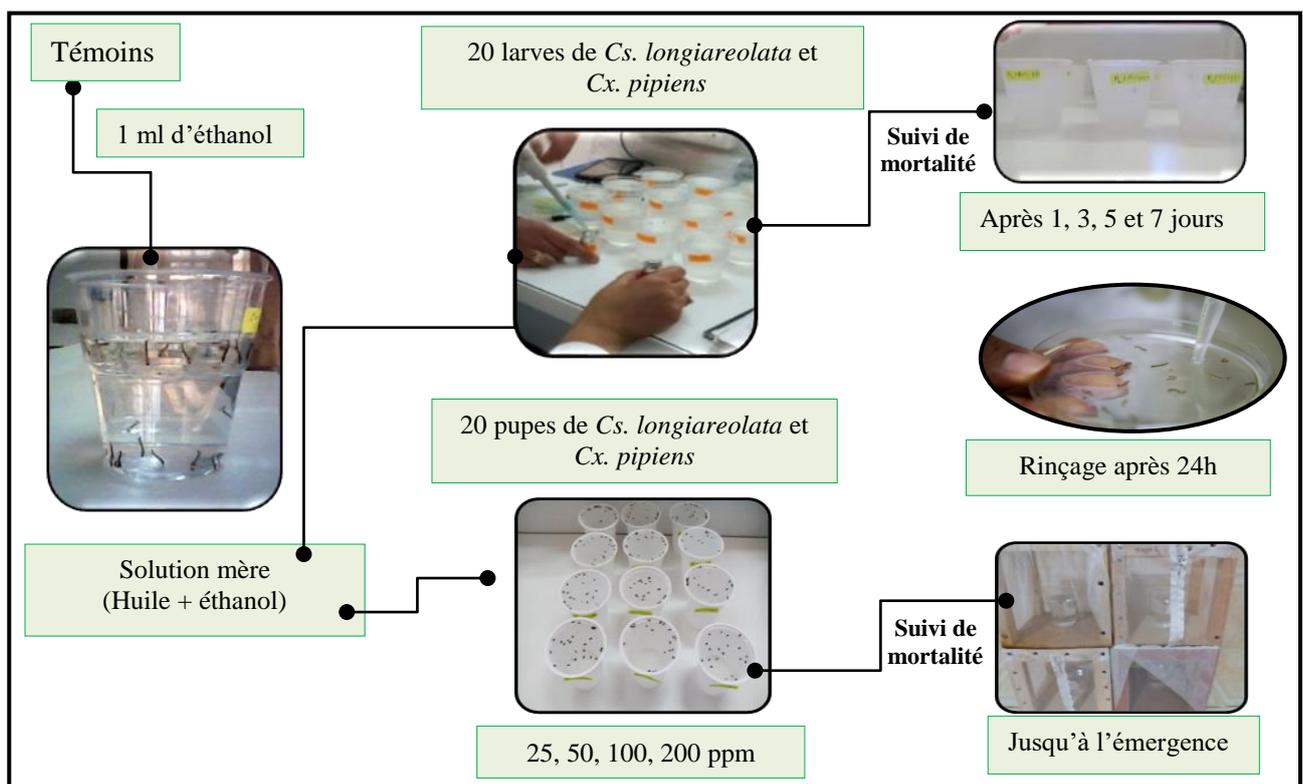


Figure 5. Essais toxicologiques (photos personnelles).

2.7.2. Traitement des œufs

L'activité ovicide a été estimée selon la méthode de Su & Mulla (1998). Des œufs ont été collectés, puis exposés à deux concentrations (8,214 et 23,45 ppm) et (8,99 et 22,39ppm) correspondant à la CL_{25} et la CL_{50} de l'huile de *L. nobilis* à l'égard de *Cs. longiareolata* et *Cx.*

pipiens respectivement préalablement déterminées, dans des récipients en plastique contenant 150ml d'eau déchlorurée. Une série témoin négatif (les oeufs ne subissent aucun traitement) et une série témoin positif (les oeufs reçoivent 1ml d'éthanol) sont conduites en parallèle. Dix répétitions ont été réalisées pour chaque concentration, dont chacune contenant une nacelle. Le taux d'éclosion des œufs témoins et traités a été exprimé à l'aide de la formule suivante:

$$\text{Taux d'éclosion (\%)} = \frac{\text{Nombre d'œufs éclos}}{\text{Nombre total d'œufs}} \times 100$$

2.7.3. Traitement des adultes

Après un screening préalable, l'HE de *L. nobilis* a été appliquée à différentes concentrations : 20 ; 40 ; 80 ; 100 et 200 µl/L d'air sur un disque de papier filtre de 2,5 cm de diamètre suspendu à l'aide d'un fil à la face interne du couvercle.

Les adultes mâles et femelles de *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* ont été introduits dans des boîtes en plastiques d'une capacité de 60 ml (Fig. 6). Dix répétitions de 10 individus ont été réalisées pour chaque concentration. Une série témoin est conduite en parallèle et les individus reçoivent de l'eau distillée.

Les mortalités ont été enregistrées à 1h après traitement et corrigées selon la formule d'Abbott (1925). Les concentrations létales ainsi que leur intervalle de confiance (95% IC) ont été calculées grâce à un Logiciel GRAPH PAD PRISM 7.

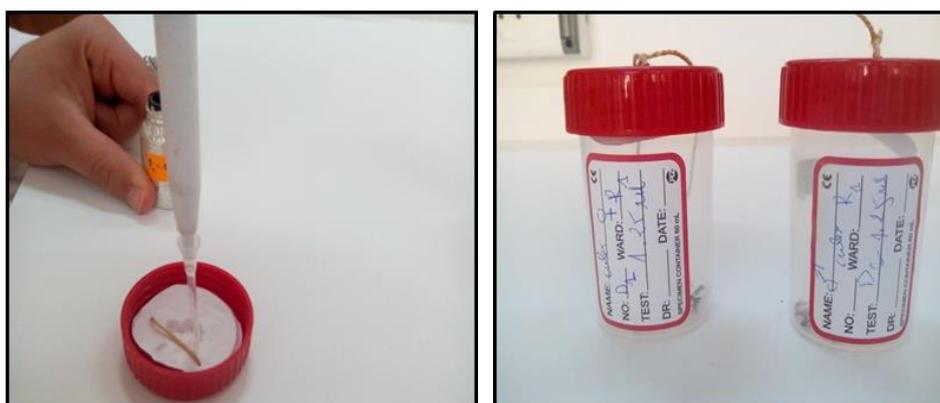


Figure 6. Traitement des adultes (photos personnelles).

2.8. Sex ratio

Un essai biologique a été conçu pour déterminer le sex-ratio des adultes en comptant le nombre des adultes mâles et femelles émergés. Deux concentrations (CL₂₅ et CL₅₀) ont été testées dans des récipients en plastique contenant 150 ml de l'eau propre. Quinze répétitions

de 10 larves L4 ont été réalisées pour chaque concentration. Une série témoin est conduite en parallèle et les individus reçoivent de l'eau propre.

2.9. Durée de développement

Afin d'évaluer l'effet du laurier sur les durées de développement des différents stades de *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata*, des expériences ont été établies. Après traitement des oeufs nouvellement pondus par les deux concentrations létales (CL₂₅ et CL₅₀), les durées des différents stades ont été calculées depuis l'apparition des larves jusqu'à la mue suivante (Ex : La durée du 1er stade larvaire a été calculée depuis l'éclosion jusqu'à la 1ère mue larvaire, celle du 2ème stade depuis la 1ère jusqu'à la 2ème mue larvaire,...).

Après traitement (CL₂₅ et CL₅₀) des larves du quatrième stade nouvellement exuviées, les durées des deux stades ont été calculées ; la durée du 4ème stade larvaire depuis la 3ème mue jusqu'à la mue nymphale, et la durée du stade nymphal depuis l'apparition des pupes jusqu'à l'émergence des adultes. Quinze répétitions de 10 larves ont été réalisées pour chaque concentration. Une série témoin est conduite en parallèle et les individus reçoivent de l'eau propre.

2.10. Dosage des biomarqueurs

Les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* des séries témoins et traitées à l'huile de *L. nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) ont fait l'objet d'un dosage des biomarqueurs enzymatiques : un biomarqueur de neurotoxicité, l'acétylcholinestérase (AChE), des biomarqueurs de détoxification, les glutathion S-transférases (GSTs) et le glutathion peroxydase (GPx) et non enzymatiques : un biomarqueur de la peroxydation lipidique, le malondialdéhyde (MDA) et du stress oxydatif, le glutathion (GSH) à différentes périodes après traitement : 24, 48 et 72 heures.

2.10.1. 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 du quatrième stade de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* témoins et traitées (CL₂₅ et CL₅₀) prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures), sont pesées, ensuite homogénéisées dans 1ml de la solution détergente D [38,03 mg EGTA (éthylène glycol-tris,

β -aminoéthyl éther NNN'N'), 1ml Triton X 100, 5,845 g NaCl (chlorure de sodium), 80 ml tampon tris (10mM, pH 7)]. Après centrifugation (5000 trs/ min pendant 5 min), le surnageant est récupéré et servira comme source d'enzyme. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus avec une série témoin.

Le dosage de l'AChE est réalisé sur une fraction aliquote de 100 μ l à laquelle on ajoute 100 μ l de DTNB préparé extemporanément [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 μ l de substrat acétylthiocholine préparé extemporanément [23,6 mg ASCh, 1 ml eau distillée] sont ajoutés. 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 100 μ l de solution détergente remplace les 100 μ l de surnageant. L'activité spécifique de l'AChE 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 (μ M/min/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 ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

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.

2.10.2. Dosage des glutathion -S-transférases

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 traités 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 μ l 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 μ l d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

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

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

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

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.

2.10.3. Dosage du glutathion (GSH)

Le taux du glutathion (GSH) est quantifié selon la méthode de Weckbecker & Cory (1988), dont le principe repose sur la mesure colorimétrique de l'acide 2-nitro 5-mercapturique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion mesuré à une longueur d'onde de 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 de l'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 10000 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 500 μl d'eau distillée.

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

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

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

Do : 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 : 1 ml [0,2 ml ASS + 0,8 ml 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.

2.10.4. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

Les larves 4 témoins et traitées de *Cs. longiareolata* et *Cx. 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 (10%). 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 TBA (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 TBA-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 :

$$X = (Do/156) \times (Vt/Vs) / \text{mg de protéines}$$

X : Taux du MDA (mM/mg de protéines).

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

156 : Coefficient d'extinction molaire de l'ATB ($\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$).

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

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

mg de protéines : Quantité de protéines exprimée en mg.

2.10.5. Dosage de la glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohe & Gunzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



Dans un tube sec, 200µl de surnageant est additionné à 400 µl de GSH à 0,1 mM (réaction enzymatique) et 200µl de $KNaHPO_4$ à 0,067 M (tampon d'extraction pH 7,8). Pour le blanc, le tube contient 400 µl de GSH et 200µl de $KNaHPO_4$ (réaction non enzymatique). Après une incubation au bain marie à 25°C pendant 5 min, on ajoute 200µl d' H_2O_2 (1,3mM) pour initier la réaction ; puis 1ml de TCA (1%) est additionné pour arrêter la réaction. Le mélange mis dans de la glace pendant 30 min est centrifugé durant 10 min à 3000 tr/min et 480 µl de surnageant récupéré est placé dans une cuve ; à laquelle on ajoute 2,2 ml de Na_2HPO_4 (0,32 M) et 0,32 ml de DTNB (1mM). La densité optique est lue à 412 nm après 5 min. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus.

La détermination de l'activité de la GPx se fait de la façon suivante :

$$Q = \frac{(DO \text{ échantillon} - DO \text{ étalon}) \times 0,04}{DO \text{ étalon}}$$

$$\text{Activité de la GPx } (\mu\text{M GSH}/\text{min}/\text{mg protéines}) = \frac{Q}{\text{mg protéines}}$$

- Q** : Quantité de GSH disparue (oxydée).
DO échantillon : Densité optique de l'échantillon.
DO étalon : Densité optique de l'étalon.
0,04 : Concentration du substrat (GSH)

2.11. Etude morphométrique

Deux paramètres morphométriques ont été pris en considération pour les larves témoins et traitées : le poids (mg) et le volume corporel (mm^3) calculé en fonction de la valeur cubique de la largeur du thorax (Timmermann & Briegel, 1999). Les mensurations ont été réalisées à l'aide d'une balance de précision et une loupe binoculaire préalablement étalonnée. L'étude est conduite avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus.

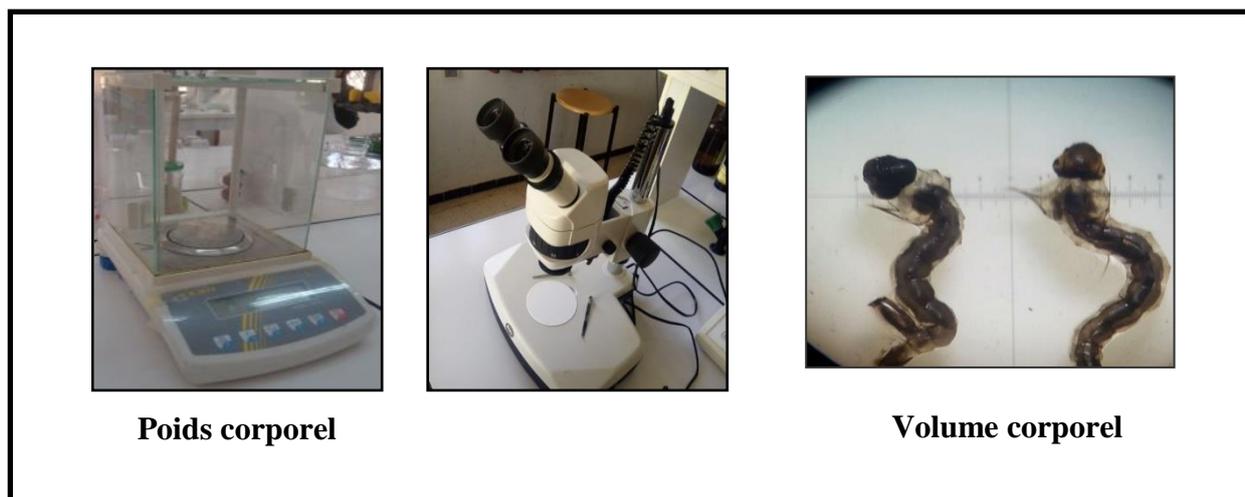


Figure 7. Morphométrie des larves de moustiques (photos personnelles).

2.12. Extraction et dosage des métabolites

L'extraction des différents métabolites a été réalisée selon le procédé de Shibko *et al.* (1966) (Fig.15). Les individus témoins et traités (CL₂₅ et CL₅₀) ont été prélevés à différentes périodes (24, 48 et 72h) et conservés dans 1 ml de TCA (acide trichloracétique) à 20%. Après homogénéisation aux ultrasons, puis centrifugation (5000 tours/min à 4°C pendant 10 min), le surnageant I obtenu est utilisé 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 (0,1N), servira au dosage des protéines selon Bradford (1976). L'essai est conduit avec 3 répétitions, chacune comprend 20 larves du quatrième stade.

2.12.1. 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) G250 (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 bœuf (BSA) titrant 1 mg/ml (Tableau. 1).

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

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution standard d'albumine (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

2.12.2 Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon Duchateau & Florkin (1959). Cette méthode consiste à additionner 100 μl de 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 glucide présente dans l'échantillon. La lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620 nm. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1mg/ml) (Tableau. 2).

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

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

2.12.3. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al.* (1972), utilisant le réactif sulfophosphovanillinique. 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 mn dans un bain de sable à 100°C. Après refroidissement, on prend 200 μl de ce mélange auquel on ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphovanillinique. Après 30mn à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530nm. 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 1ml d'éther chloroforme (1V/1V) (Tableau. 3).

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

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
Quantité de lipides (µg)	0	50	100	150	200	250

2.13. Détermination des réserves nutritionnelles

Les valeurs absolues (µg/larve) des réserves nutritionnelles sont converties en joules (Clements, 1992) ; sachant que :

- 1mg de glucides et protéines correspond à une valeur énergétique de 16,74 joules ;
- 1mg de lipides correspond à une valeur énergétique de 37,65 joules.

L'indice d'épuisement des réserves nutritionnelles (glucides + lipides + protéines) a été déterminé en utilisant la formule suivante :

$$\text{NDI: } [(C - T) / (C + T)] \times 100$$

C = réserves nutritionnelles totales chez les témoins ;

T = réserves nutritionnelles totales chez les traités.

On considère que l'épuisement des réserves nutritionnelles se produit lorsque le NDI est supérieur à 75%, modéré lorsqu'il se situe entre 50-75% et faible lorsqu'il est inférieur à 50%.

2.14. Etude histologique

La technique histologique a été réalisée au Centre Hospitalo-Universitaire de Hussein Dey (Hôpital professeur Nefissa Hamoud (ex Parnet)), selon Hould & de Shawinigan (1984).

2.14.1. Fixation et incubation

Les larves témoins et traitées prélevées, ont été fixées dans une solution de formol à 10%, pendant 48h à 4°C. Cette étape a pour but de préserver la morphologie cellulaire et tissulaire, tout en renforçant la consistance du tissu (Djoudad-Kadji *et al.*, 2011), puis elles sont placées dans des cassettes histologiques marquées avant d'être plongées dans un récipient contenant le fixateur. Ces cassettes ont été mises ensuite dans un panier de l'appareil automate de circulation (Fig.16), contenant 12 cuves où on a pu réaliser les trois étapes suivantes :

Déshydratation : qui a été faite par le passage des échantillons dans 8 cuves d'éthanol de concentration croissante (de 70° à 100°) pour une durée de 45 min chacune. Cette étape permet d'éliminer l'eau des tissus pour les préparer à l'inclusion (Alturkistani *et al.*, 2016).

Clarification : dure une heure, et a été effectuée par le passage du panier dans deux bains de xylène. Cette étape élimine toute trace d'éthanol dans l'échantillon (Alturkistani *et al.*, 2016).

Inclusion (imprégnation) : a été faite par immersion des cassettes dans deux bains successifs de paraffine de 1h30 chacun à une température de 56°C.



Figure 8. Inclusion des échantillons dans un automate de circulation (Photo personnelle).

2.14.2. Enrobage et confection des coupes

Les échantillons ont été délicatement retirés des cassettes avec une pince puis mis dans des moules en inox avant de les remplir de paraffine liquide (Fig. 9A1, A2). Après cela, les moules ont été déposés sur une plaque refroidissante afin de solidifier la paraffine pour la réalisation des coupes. Par la suite, les blocs de paraffine ont été démoulés pour y être placés dans un microtome afin de confectionner des coupes d'environ 3 μm (Fig. 9B1, B2). Ces rubans ont été déposés sur des lames marquées recouvertes d'une fine couche d'eau albumineuse, puis immergées un court instant dans un bain marie de 60°C. Les lames ont été rangées sur un porte-lame puis placées dans l'étuve pendant une durée de 30 minutes (Fig. 9C), avant d'être immergées dans un solvant (bain de xylène) pendant la même durée de temps afin d'éliminer toute trace de paraffine, et ainsi permettre la pénétration des colorants hydrophiles dans les tissus (Fig. 9D).

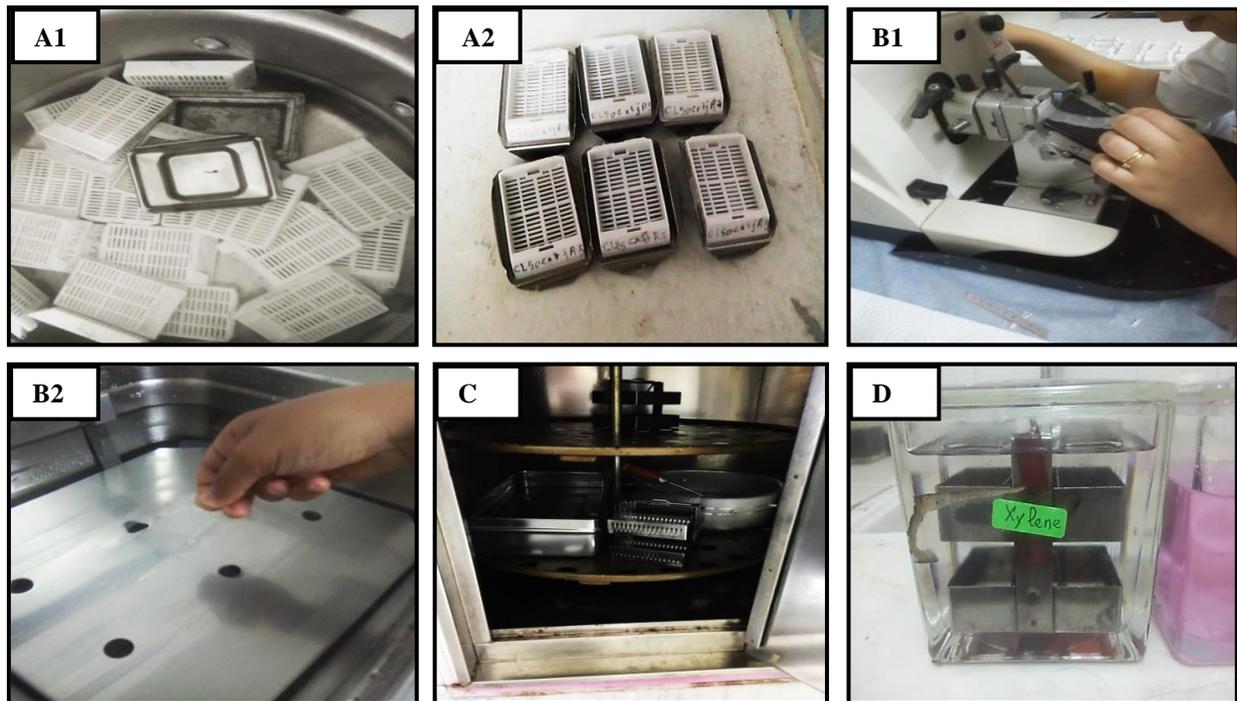


Figure 9. Enrobage des échantillons (A1, A2); Coupe des blocs au microtome (B1, B2) ; Déparaffinage des lames dans l'étuve (C); Elimination des traces de paraffine (D) (photos personnelles).

2.14.3. Coloration et montage des coupes

Cette étape a été précédée d'une hydratation qui consiste à l'immersion des lames dans un bain d'alcool suivi d'une immersion dans un bain d'eau pour une durée de 10 min chacune. La coloration des lames a été faite avec deux colorants qui permettent de mettre en évidence la morphologie cellulaire et tissulaire : l'hématoxyline basique qui colore le noyau acide (basophile) en bleu-violet et l'éosine acide qui colore le cytoplasme basique (acidophile) en rose (Kierszenbaum, 2006). Les lames ont tout d'abord été plongées dans un bain d'hématoxyline pendant 5 minutes, puis rincées à l'eau du robinet. Par la suite, elles ont été plongées dans un bain d'éosine pendant 3 minutes avant de subir un ultime rinçage (Fig. 10 A). La dernière étape de l'histologie est le montage ; elle se déroule par le passage des lames dans un bain d'éthanol suivi d'un bain contenant un mélange d'éthanol/xylène et pour finir dans deux bains successifs de xylène (Fig. 10B). Quelques gouttes d'Eukit (colle biologique) ont été déposées sur des lamelles avant d'être placées sur les lames (Fig. 10C). Les lames et les lamelles ont été par la suite séchées à l'air libre (Fig. 10D).

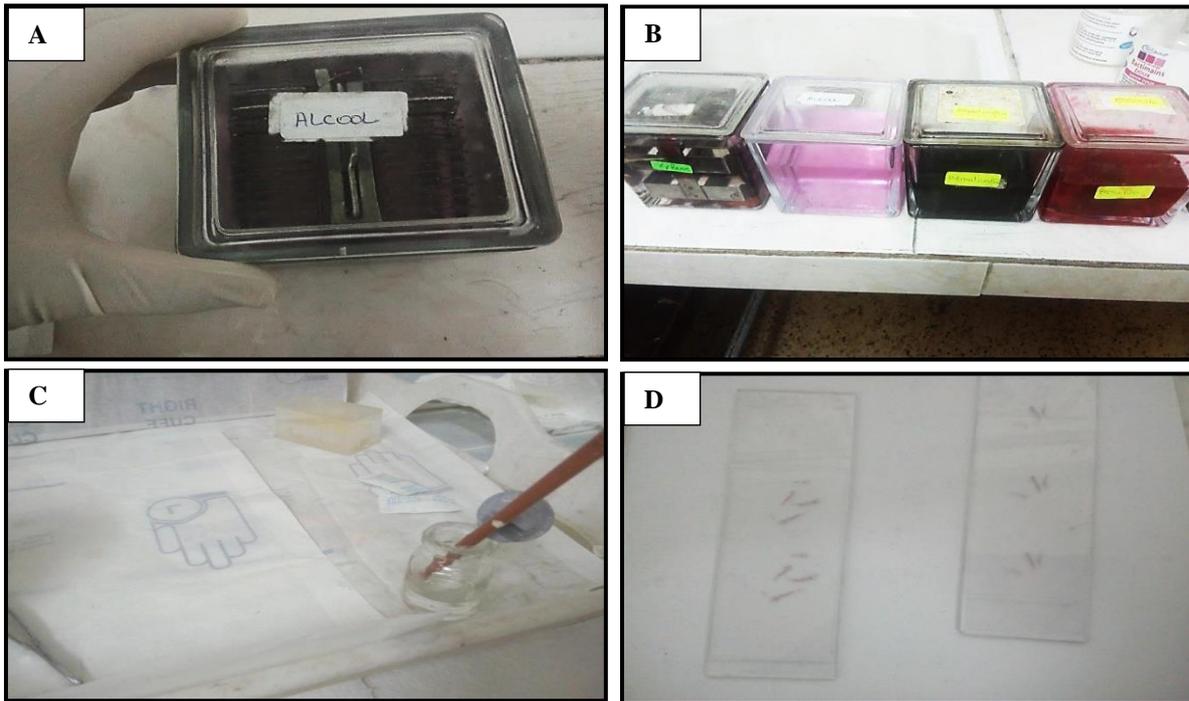


Figure 10. Coloration et montage. **A.** Hydratation des lames ; **B.** Produits utilisés lors de la coloration et du montage des lames; **C.** Application de l'Eukit sur une lamelle; **D.** Lames prêtes pour l'observation microscopique (photos personnelles).

2.14.4. Observation microscopique

Une fois la technique histologique est terminée, les lames ont été observées à l'aide d'un microscope optique de type Leica DM1000LED muni d'une caméra Leica MC170HD. Les images obtenues par cette caméra ont été transférées sur l'écran d'ordinateur à l'aide du logiciel Leica Application EZ (LASEZ).

2.15. Analyses statistiques

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

Résultats



III. RESULTATS

3.1. Caractéristiques organoléptiques et rendement de l'huile essentielle

L'huile essentielle extraite des feuilles séchées de *Laurus nobilis* est légèrement amer avec un aspect liquide mobile limpide, de couleur jaune très pâle, et une odeur aromatique épicée. Le rendement marque une valeur moyenne de $0,96 \pm 0,45$ % de la matière sèche.

3.2. Composition chimique de l'HE de *Laurus nobilis*

L'identification des différents constituants de l'huile extraite de *L. nobilis* et la détermination de la concentration de ses composés ainsi que leur temps de rétention a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (Tableau 4 et Fig. 11). Celle-ci a révélé que l'huile de *L. nobilis* est constituée de cinquante-six composés représentant 100% de la totalité des constituants détectés et appartenant à six familles.

La fraction monoterpénique prédomine avec un taux de 82,71% et elle est constituée majoritairement de monoterpènes oxygénés (65,62%) représentés par l'Eucalyptol (25,62%), le Linalool (11,83%), et α -Terpinyl acétate (10,18%) comme composés majoritaires. Une minorité de monoterpènes hydrocarbonés présentent un taux de 17,09 % avec le Sabinène (7,34 %) et α -Pinène (3,87%) comme constituants majeurs (Tableau 5).

Quant aux sesquiterpènes qui représentent un taux de 8,60%, ils contiennent deux familles, les sesquiterpènes oxygénés avec un taux de 5,15% et les sesquiterpènes hydrocarbonés représentés par un pourcentage de 3,45%. La fraction non terpénique de cette huile est représentée essentiellement par des alcools secondaires et des phénylpropanoïdes avec des taux de 1,94% et 2,64% respectivement de la totalité de l'huile.

Tableau 4. Composition chimique de l'HE de *L. nobilis* : temps de rétention (TR) et concentrations (%) des différents constituants.

N°	TR (min)	Composés chimiques	Concentration (%)
1	7,60	α -Thujène	0,54
2	7,98	α -Pinène	3,87
3	8,69	Camphène	0,31
4	10,28	Sabinène	7,34
5	10,39	β -Pinène	1,93
6	11,27	β -Myrcène	0,46
7	12,02	α -Phellandrène	0,53
8	12,37	Δ . 3-Carène	0,85

Suite Tableau 4

N°	TR (min)	Composés chimiques	Concentration (%)
9	12,83	α -Terpinène	0,29
10	14,14	Eucalyptol	25,62
11	15,68	γ -Terpinène	0,61
12	16,35	Trans-sabinène hydrate	0,32
13	17,64	α -Terpinolène	0,26
14	19,35	Linalool	11,83
15	22,30	Isobutyl caproate	0,09
16	23,27	Borneol L	0,20
17	23,45	Δ - Terpeneol	0,28
18	24,12	4-Carvomenthenol	1,43
19	25,35	α -Terpineol	3,45
20	27,79	Nerol	0,24
21	29,55	Linalyl acetate	0,22
22	31,35	α -Bornyl acetate	0,17
23	33,54	Pseudolimonène	0,71
24	36,00	α-Terpinyl acetate	10,18
25	36,62	Eugenol	1,88
26	38,34	β -elemène	0,73
27	39,24	α -Gurjunène	0,09
28	39,92	Methyl eugenol	11,07
29	40,03	Veratrole methyl	2,73
30	42,04	α -Humulène	0,11
31	43,23	Ethyl cinnamate	1,33
32	43,75	Germacrène-D	0,24
33	44,03	β -Selinène	0,12
34	44,68	γ - Cadinène	0,41
35	44,90	α -Bergamotène	0,12
36	45,04	α -Muuroolène	0,18
37	45,19	Trans - γ - Bisabolène	0,26
38	45,77	α - Amorphène	0,19
39	45,95	Δ -Cadinène	0,22
40	46,37	Naphtalène	0,41
41	46,83	γ - Muuroolène	0,18
42	47,17	Dehydro aromadendrène	0,23
43	47,47	α -Copaen-11-ol	0,16
44	48,78	Elemicin	0,76
45	49,63	Spathulenol	0,73
46	49,74	Caryophyllène oxide	0,32
47	50,37	Veridiflorol	0,56
48	50,94	(+)-Ledol	0,39
49	51,71	Torreyol	0,27

50	52,59	Isobutyl cinnamate	0,61
51	53,06	3-chlorohomo adamantane	0,17
52	53,29	α -Cadinol	0,43
53	53,70	β -Eudesmol	0,61
54	54,01	Cedrelanol	1,00
55	55,05	Calamenène	0,31
56	55,93	Shyobunol	1,45
Total			100

Tableau 5. Familles des composants chimiques de l'HE de *L. nobilis*.

Familles des composés	Concentrations (%)
Monoterpènes hydrocarbonés	17,09
Monoterpènes oxygénés	65,62
Sesquiterpènes hydrocarbonés	3,45
Sesquiterpènes oxygénés	5,15
Alcools secondaires	1,94
Phenylpropanoïdes	2,64
Divers	4,11

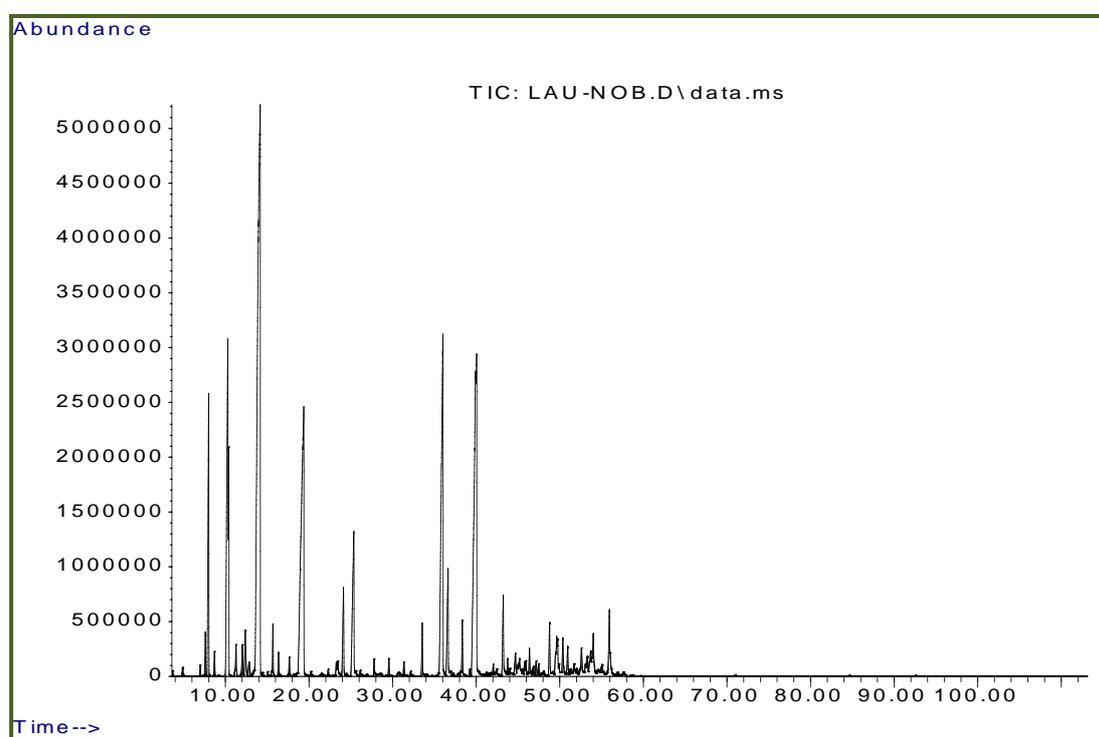


Figure 11. Chromatogramme (CPG-SM) de l'HE de *L. nobilis* (Abondance en fonction du temps en min).

3.3. Effet insecticide de l'HE de *L. nobilis* à l'égard des moustiques

3.3.1. Effet larvicide

Après un test de screening, différentes concentrations de l'HE de *L. nobilis* ont été appliquées sur les larves du quatrième stade de *Cs. longiareolata* et de *Cx. pipiens* (25, 50, 100 et 200 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 augmentent de façon significative en fonction des doses appliquées et du temps après traitement chez *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* respectivement: au 1^{er} jour (F=229,2 ; df=3,20 ; P<0,001 et F=237,7 ; df=3,20 ; P<0,001), au 3^{ème} (F=102,6 ; df=3,20 ; P<0,001 et et F=55,3 ; df=3,20 ; P<0,001), au 5^{ème} (F=151,1 ; df=3,20 ; P<0,001 et et F=62,11 ; df=3,20 ; P<0,001), et au 7^{ème} jour (F=116,5 ; df=3,20 ; P<0,001 et et F=76,93 ; df=3,20 ; P<0,001). Ces mortalités affichent des valeurs allant de 3,33% pour la dose la plus faible (25ppm) enregistrées au premier jour après traitement à plus de 90% pour la dose la plus forte (200 ppm) au septième jour chez *Cs. longiareolata* et de 3,33% pour la dose la plus faible (25ppm) à 97,50% pour la dose la plus forte (200ppm) chez *Cx. pipiens* (Fig. 12A et B). Les résultats montrent de forts taux de mortalité chez *Cx. pipiens* par rapport à *Cs. longiareolata*, traduisant la sensibilité de cette espèce à l'action de l'HE du Laurier.

Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 3 groupes au premier et au deuxième jour et 4 groupes au cinquième et septième jour chez *Cs. longiareolata* (Fig. 20A). Chez *Cx. pipiens*, 4 groupes sont signalés au cours du premier, du troisième et du septième jour, par contre au cinquième jour, 3 groupes sont observés.

La courbe dose-réponse exprimant les pourcentages de mortalité en fonction du logarithme des doses appliquées (Fig. 13A et B) a permis l'estimation des concentrations létales (CL) ainsi que leurs intervalles de confiance et le HillSlope (Tableau. 6).

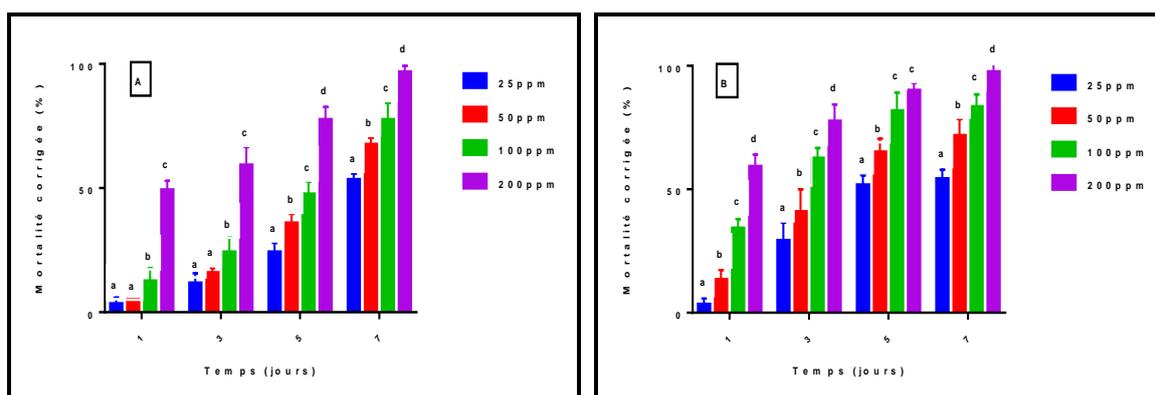


Figure 12. Toxicité de l'HE de *L. nobilis* (ppm), appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* (A) et *Cx. pipiens* (B) : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SEM$, $n=6$ répétitions de 20 individus chacune). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.

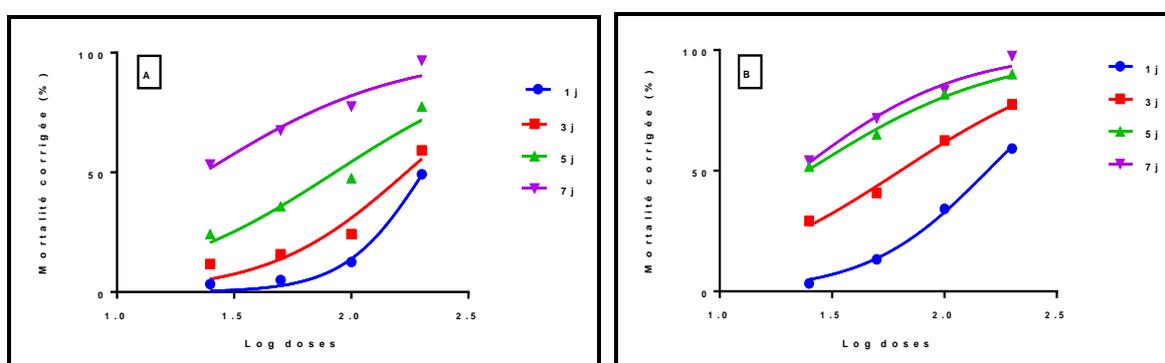


Figure 13. Effets de l'HE de *L. nobilis*, appliquée sur les larves 4 de *Cs. longiareolata* (A) et *Cx. pipiens* (B) : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.

Tableau 6. Toxicité de l'HE de *L. nobilis*, appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).

Temps (jours)	Espèces	Hill Slope	R ²	CL ₂₅ (ppm) 95% IC	CL ₅₀ (ppm) 95% IC	CL ₉₀ (ppm) 95% IC
1	<i>Cs. longiareolata</i>	0,34	0,98	132,80 (105,60 - 167,10)	203,70 (168,10 - 246,90)	479,1 (260,80 - 879,90)
	<i>Cx. pipiens</i>	0,08	0,99	97,07 (66,79 - 92,23)	155,9 (137,4 - 180,8)	605,5 (134,2 - 958,50)
3	<i>Cs. longiareolata</i>	0,38	0,92	81,96 (38,30 - 175,40)	171,9 (86,93 - 339,90)	756 (94,44 - 605,20)
	<i>Cx. pipiens</i>	0,08	0,99	22,47 (12,34 - 32,84)	63,72 (49,37 - 81,14)	512,6 (279,6 - 1396)
5	<i>Cs. longiareolata</i>	0,23	0,94	31,25 (11,07 - 88,19)	85,10 (45,42 - 159,40)	631 (85,22 - 46,72)
	<i>Cx. pipiens</i>	0,08	0,99	8,281 (3,316 - 13,67)	24,49 (15,85 - 31,8)	214,2 (129,50 - 455,90)
7	<i>Cs. longiareolata</i>	0,24	0,93	8,214 (1,33 - 50,44)	23,45 (9,58 - 57,38)	191,20 (37,85 - 965,60)
	<i>Cx. pipiens</i>	0,18	0,97	8,999 (1,296 - 17,52)	22,39 (8,328 - 32,81)	138,6 (68,66 - 496,90)

3.3.2. Effet pupicide

Après un test de screening, différentes concentrations de l'HE de *L. nobilis* ont été appliquées sur les larves du quatrième stade de *Cs. longiareolata* et de *Cx. pipiens* (25, 50, 100 et 200 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 augmentent de façon significative en fonction des doses appliquées chez *Cs. longiareolata* ($F_{4,20}=347,3$; $P<0,001$) et *Cx. pipiens* ($F_{4,20}=318,7$; $P<0,001$) (Fig. 14A et B).

Ces mortalités varient de 8% et 6% pour la dose la plus faible (25 ppm) à 96% et 95% pour la dose la plus forte (200 ppm) chez *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* respectivement (Fig. 22 A et B). Les résultats montrent une mortalité plus importante chez *Cs. longiareolata* par rapport à *Cx. pipiens*, traduisant une plus grande sensibilité de cette espèce à l'action de l'HE du Laurier.

Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 5 groupes chez *Culiseta* et 4 groupes chez *Culex*. La courbe dose-réponse exprimant les pourcentages de mortalité en fonction du logarithme des concentrations appliquées (Fig. 15A et B) a permis l'estimation des valeurs des différentes concentrations létales (CL) ainsi que leurs intervalles de confiance et le Slope (Tableau. 7).

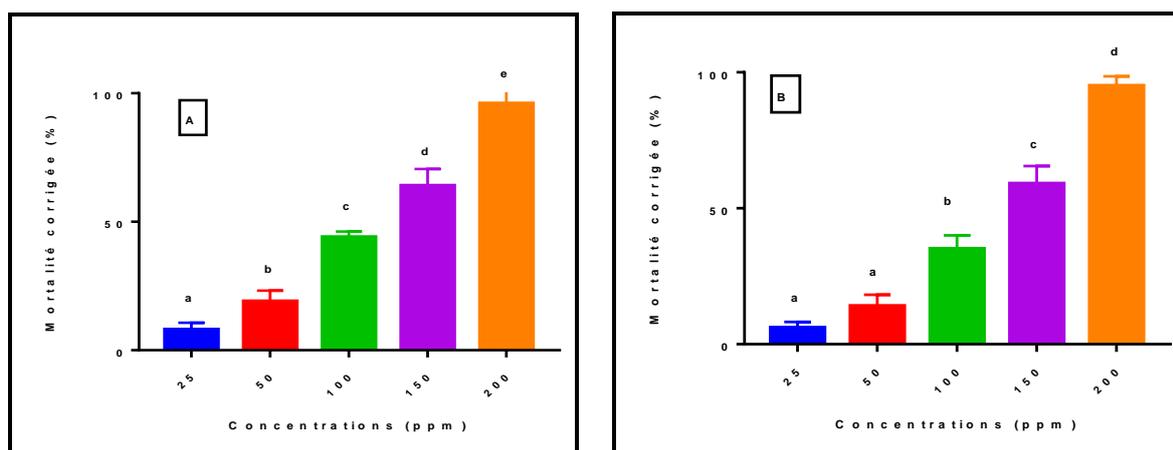


Figure 14. Toxicité de l'HE de *L. nobilis* (ppm), appliquée sur les pupes nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* (A) et *Cx. pipiens* (B) : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SEM$, $n=6$ répétitions de 20 individus chacune) : test HSD de Tukey.

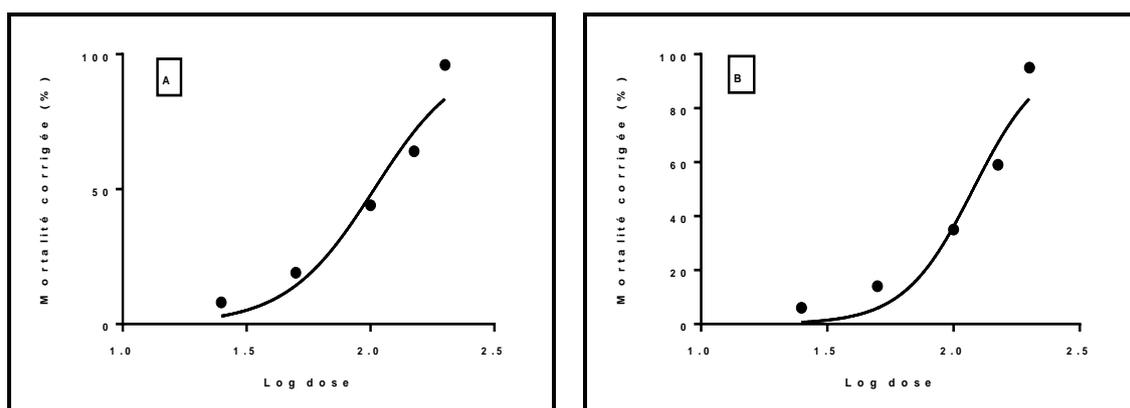


Figure 15. Effets de l’HE de *L. nobilis*, appliquée sur les pupes de *Cs. longiareolata* (A) et *Cx. pipiens* (B) : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.

Tableau 7. Toxicité de l’HE de *L. nobilis*, appliquée sur les pupes nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* : Détermination des concentrations létales et leurs intervalles de confiance (95%).

Espèces	HillSlope	R ²	CL ₂₅ (ppm) 95% IC	CL ₅₀ (ppm) 95% IC	CL ₉₀ (ppm) 95% IC
<i>Cs. longiareolata</i>	0,63	0,94	66,21 (105,60 - 167,10)	103,60 (67,94 - 142,30)	253,30 (143,80 - 872,50)
<i>Cx. pipiens</i>	0,93	0,94	84,59 (38,09 - 130,30)	119,70 (80,45 - 157,20)	239,60 (147,00 - 827,40)

3.3.3. Effet ovicide

Une fois, les concentrations létales (CL₂₅, CL₅₀) sont déterminées, l’HE du laurier a été testée sur le taux d’inhibition d’éclosion des œufs chez *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens*. L’activité ovicide du *L. nobilis* contre *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* est maximale avec des taux de l’ordre de 75,91% et 40,12% à la CL₅₀ respectivement par rapport aux témoins (Témoins vs CL₅₀ : p = 0,0008 et 0,0007 respectivement). Les séries traitées avec la CL₂₅ chez *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* ont montré un taux d’inhibition de 26,27% et 15,39% contre 15,50% et 4,95% respectivement chez les témoins (Témoins vs CL₂₅: p < 0,0001). De plus, un effet concentration a été enregistré (CL₂₅ vs CL₅₀: p < 0,0001) (Fig. 16A et B).

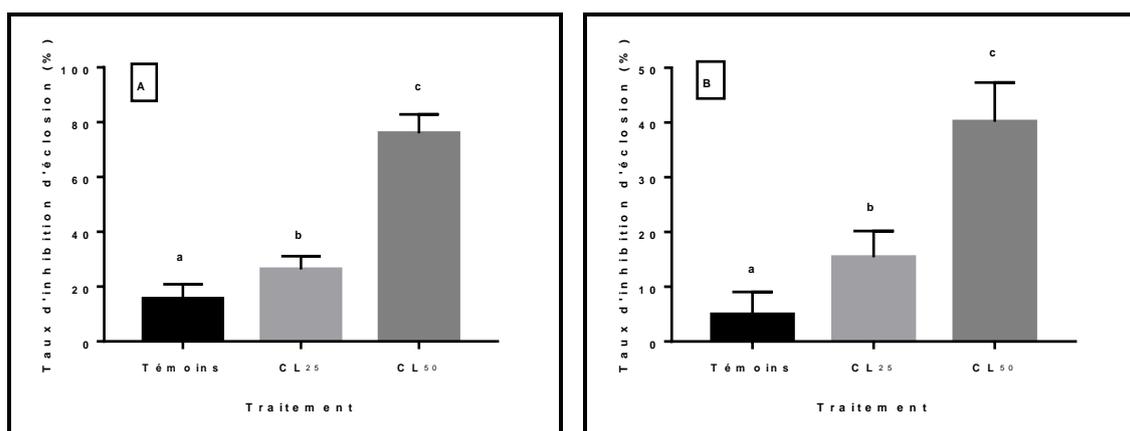


Figure 16. Toxicité de l'HE de *L. nobilis* (ppm), appliquée sur les oeufs nouvellement pondus de *Cs. longiareolata* (A) et *Cx. pipiens* (B) : Taux d'inhibition d'éclosion (%) ($m \pm SEM$, $n=10$ répétitions comportant chacune une nacelle) : test HSD de Tukey.

3.3.4. Effet adulticide

Après un test de screening, différentes concentrations de l'HE de *L. nobilis* ont été appliquées par fumigation sur les adultes mâles et femelles de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* (20, 40, 80, 100 et 200 $\mu\text{l/l}$ d'air). Aucune mortalité n'a été observée dans les séries témoins.

Les mortalités corrigées enregistrées augmentent de façon significative en fonction des doses appliquées chez *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* respectivement (Fig. 17A et B): pour les mâles ($F_{4,15}=170,4$; $P<0,001$ et $F_{4,15}=68,89$; $P<0,001$), et les femelles ($F_{4,15}=139,6$; $P<0,001$ et $F_{4,15}=81,08$; $P<0,001$). Les résultats montrent une mortalité plus importante chez *Cx. pipiens* par rapport à *Cs. longiareolata* et chez les mâles par rapport aux femelles.

Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 4 groupes pour les mâles et les femelles chez *Cs. longiareolata* et chez *Cx. pipiens*, 2 groupes sont signalés pour les mâles, et 3 groupes pour les femelles.

L'estimation des concentrations létales (CL) ainsi que leurs intervalles de confiance et le HillSlope (Tableau 8) a été faite par le GRAPH PAD PRISM 7.

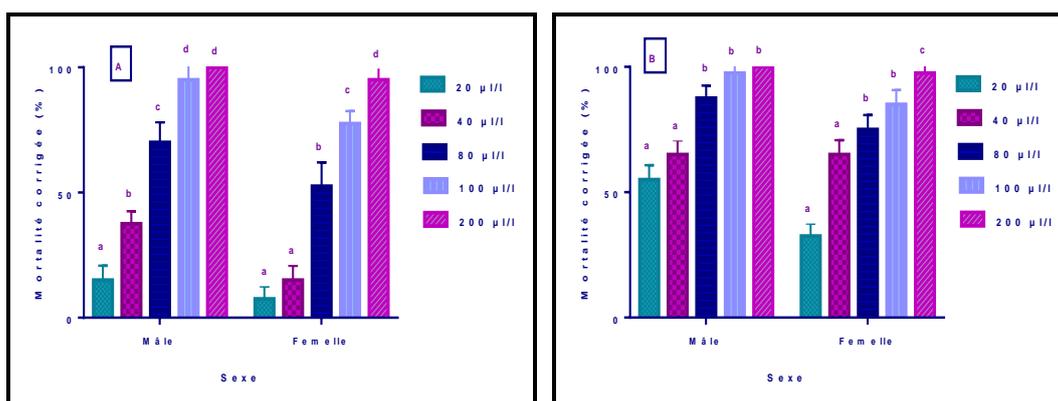


Figure 17. Toxicité de l’HE de *L. nobilis* (µl/l), appliquée sur les adultes mâles et femelles de *Cs. longiareolata* (A) et *Cx. pipiens* (B) : Mortalité corrigée (%) (m ± SEM, n=10 répétitions de 10 individus chacune) : test HSD de Tukey.

Tableau 8. Toxicité de l’HE de *L. nobilis*, appliquée sur les adultes de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* : Détermination des concentrations létales et leurs intervalles de confiance (95%).

Espèces	Adultes	HillSlope	R ²	CL ₂₅ (ppm) 95% IC	CL ₅₀ (µl/l) 95% IC	CL ₉₀ (µl/l) 95% IC
<i>Cs. longiareolata</i>	Mâle	3,00	0,96	30,63 (16,80 - 46,93)	48,09 (34,08 - 64,59)	118,50 (69,55 - 244,90)
	Femelle	2,43	0,98	50,30 (35,85 - 70,46)	72,51 (60,14 - 84,68)	150,70 (106 - 240,40)
<i>Cx. pipiens</i>	Mâle	1,40	0,91	8,86 (0,73 - 17,67)	19,42 (4,92 - 30,57)	93,23 (43,60 - 363,40)
	Femelle	1,48	0,96	14,59 (6,93 - 22,02)	30,59 (21,09 - 40,15)	134,50 (78,18 - 286,20)

3.3.5. Effet sur le sex-ratio

Le sex-ratio observé chez les adultes de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* issus des larves traitées avec l'huile essentielle de *L. nobilis* était en faveur des femelles par rapport aux mâles pour les différents concentrations appliquées (Tableau. 9). De plus, on note une augmentation de la proportion des femelles et une diminution de la proportion des mâles en fonction des concentrations.

Tableau 9. Proportions moyennes de sex-ratio femelle et mâle de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* après exposition des larves 4 à l'HE de *L. nobilis* ($m \pm SEM$, $n= 15$ répétitions comportant chacune 10 larves) : Test t de student.

Concentrations (ppm)	Sexe	Proportion (%)	
		<i>Cs. longiareolata</i>	<i>Cx. pipiens</i>
25	Femelle	63,36 ± 7,45 a	64,00 ± 6,80 a
	Mâle	36,64 ± 7,45 b	36,00 ± 6,80 b
50	Femelle	66,51 ± 7,17 a	66,00 ± 6,00 a
	Mâle	33,48 ± 7,17 b	34,00 ± 6,00 b
100	Femelle	72,97 ± 8,69 a	69,00 ± 7,20 a
	Mâle	27,02 ± 8,69 b	31,00 ± 7,20 b
150	Femelle	73,27 ± 11,56 a	74,00 ± 6,80 a
	Mâle	26,72 ± 11,56 b	25,00 ± 7,00 b

3.4. Effet sur la durée de développement

Après traitement des oeufs de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* par l'huile du Laurier (CL₂₅ et CL₅₀), la durée des stades larvaires a été déterminée et les résultats sont présentés dans le Tableau 10.

La durée des stades larvaires chez *Cs. longiareolata* montre des fluctuations dues au traitement par le Laurier par rapport aux témoins. Les concentrations appliquées (CL₂₅ et CL₅₀) prolongent significativement la durée du 1er, 2ème, 3ème et 4ème stade larvaire ($p < 0,001$). De plus, on note un effet dose à tous les stades étudiés (CL₂₅ vs CL₅₀ : $p=0,0344$; $0,0016$; $0,001$ et $0,0125$ respectivement). Cependant, chez *Cx. pipiens*, la durée des stades augmente significativement sous l'effet des deux concentrations létales comparativement aux témoins ($p < 0,001$) avec une relation dose-réponse au stade larvaire L2 (CL₂₅ vs CL₅₀: $p < 0,001$).

Tableau 10. Effet de *L. nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur la durée de développement (jours) des stades larvaires chez *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* ($m \pm SEM$, $n= 15$ répétitions comportant chacune 10 larves) : Test t de student.

Espèces	Traitement	L1	L2	L3	L4
<i>Cs. longiareolata</i>	Témoins	2,90 ± 0,40 a	3,48 ± 0,97 a	4,00 ± 0,73 a	6,55 ± 0,85 a
	CL ₂₅	3,75 ± 0,71 b	4,84 ± 0,44 b	6,24 ± 0,72 b	8,91 ± 0,76 b
	CL ₅₀	3,85 ± 0,82 c	6,13 ± 0,96 c	8,00 ± 0,58 c	10,11 ± 0,92 c

	Témoins	2,61 ± 0,65 a	3,53 ± 0,64 a	4,86 ± 0,66 a	7,84 ± 0,97 a
<i>Cx. pipiens</i>	CL₂₅	3,96 ± 0,70 b	5,65 ± 0,70 b	7,89 ± 0,74 b	9,14 ± 0,77 b
	CL₅₀	4,31 ± 0,73 b	7,36 ± 0,91 c	8,21 ± 0,84 b	9,63 ± 0,69 b

3.5. Les aberrations morphologiques

L'examen des larves après traitement montre des aberrations morphologiques variées chez *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens*. Les larves traitées avaient des mouvements agités. Elles commencent à avoir des tremblements et des convulsions, et elles se déposent au fond des récipients, incapables d'arriver vers la surface pour respirer. On a noté également l'échec de l'émergence des adultes, traduite par l'incapacité de détacher leurs pattes et leurs ailes de l'exuvie nymphale. De plus, l'exposition à l'huile induit un brunissement des larves et des pupes. D'autres malformations se manifestent comme l'apparition des pupes avec une seule trompette respiratoire (Fig. 18).

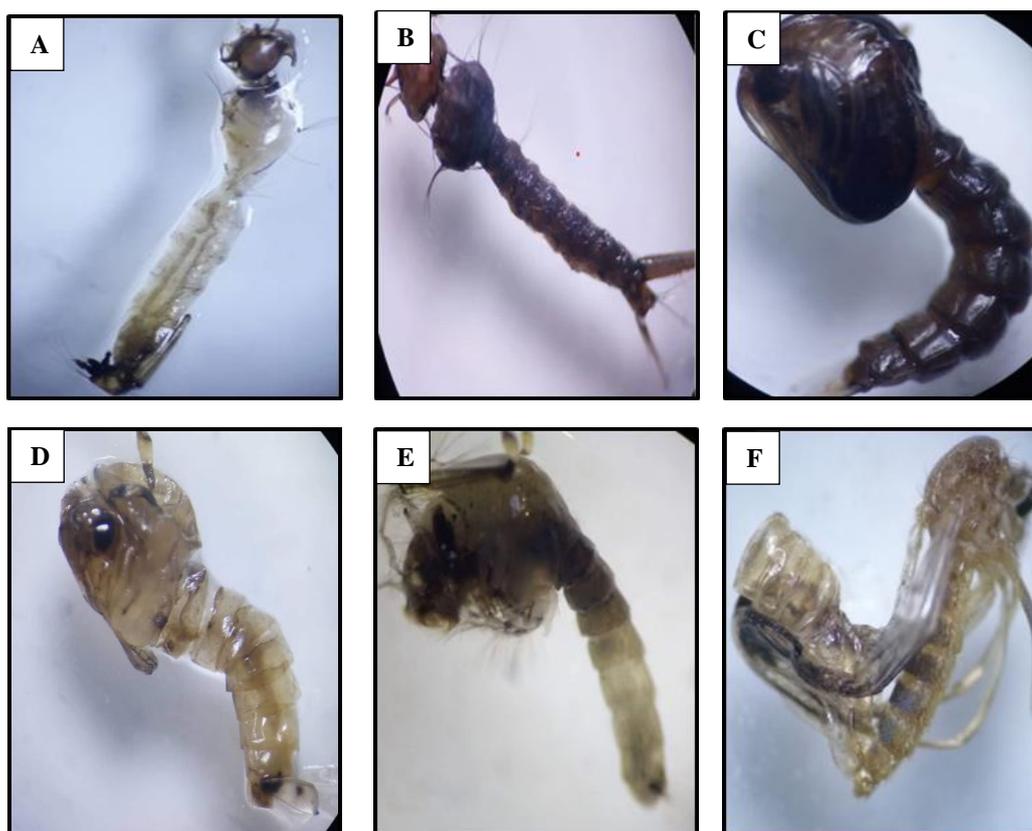


Figure 18. Aberrations morphologiques après traitement avec l'HE du laurier chez *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* (A: Larve L4 déformée; B : Brunissement de la larve L4; C : Noircissement de la pupe ; D : Déformation de la pupe avec une seule trompette respiratoire ; E : Métamorphose interrompue; F : Blocage de la mue imaginale) (Photos personnelles).

3.6. Effet de l'HE sur les biomarqueurs

L'HE du *L. nobilis* a été appliquée sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviées à deux concentrations létales (CL₂₅, CL₅₀). L'effet de cette huile a été évalué à différentes périodes (24, 48 et 72 heures après traitement). Elle a été testée sur un biomarqueur de neurotoxicité, l'acétylcholinestérase (AChE), et les biomarqueurs de détoxification, les glutathion S-transférases (GSTs) et son cofacteur, le glutathion (GSH), sur un biomarqueur de la peroxydation lipidique, le malondialdéhyde (MDA) et un biomarqueur du stress oxydatif, la glutathion peroxydase (GPx).

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

Les résultats de l'activité spécifique de l'AChE exprimés en nanomoles par minutes et par milligramme de protéines (nM/min/mg de protéines) sont mentionnés dans la figure 19 (A et B).

Chez *Cx. pipiens*, l'HE du laurier (CL₂₅ et CL₅₀) provoque une inhibition significative de l'activité spécifique de l'AChE au cours de différentes périodes testées avec une relation dose-réponse : à 24 (Témoins vs CL₂₅ : p= 0,0008; Témoins vs CL₅₀ : p<0,0001 ; CL₂₅ vs CL₅₀ : p= 0,0002), 48 (Témoins vs CL₂₅ : p= 0,0021; Témoins vs CL₅₀ : p<0,0001 ; CL₂₅ vs CL₅₀: p= 0,0021) et 72 heures après traitement (Témoins vs CL₂₅ : p=0,0029 ; Témoins vs CL₅₀ : p<0,0001 ; CL₂₅ vs CL₅₀ : p= 0,0005).

Chez *Cs. longiareolata*, les résultats montrent une inhibition significative de l'activité spécifique de l'AChE à 24 heures avec la plus forte concentration (CL₅₀) (Témoins vs CL₅₀ : p=0,017) et avec les deux concentrations appliquées (CL₂₅ et CL₅₀) à 48 heures (Témoins vs CL₂₅ : p= 0,0129; Témoins vs CL₅₀ : p=0,0046) et 72 heures (Témoins vs CL₂₅ : p=0,0353 ; Témoins vs CL₅₀ : p=0,0012). L'effet dose a été signalé à 24 heures (CL₂₅ vs CL₅₀ : p= 0,036) et à 72 heures après traitement (CL₂₅ vs CL₅₀ : p= 0,0295).

On peut conclure que le laurier manifeste un effet neurotoxique via l'inhibition de l'activité spécifique de l'AChE chez les deux espèces testées avec un effet plus marqué chez *Cx. pipiens* par rapport à *Cs. longiareolata*.

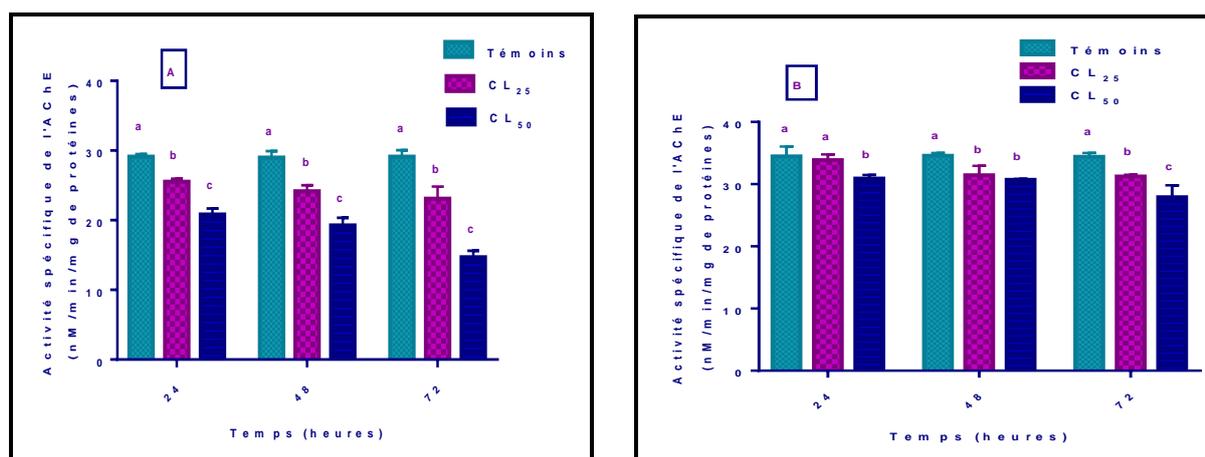


Figure 19. Effet de l'HE de *L. nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur l'activité spécifique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) chez les larves L4 de *Cx. pipiens* (A) et *Cs. longiareolata* (B) ($m \pm SEM$, $n=3$ répétitions comportant chacune 20 individus). Test HSD de Tukey.

3.6.2. Effet sur l'activité spécifique des GSTs

Les résultats de l'activité spécifique des glutathion S- transférases (GSTs) sont exprimés en nanomoles par minutes et par milligramme de protéines ($\mu M/min/mg$ de protéines). Ils sont mentionnés dans la figure 20 (A et B).

Chez *Cx. pipiens*, les résultats obtenus révèlent une augmentation significative de l'activité spécifique des GSTs à 24 heures ($F_{2,6}= 20,28$; $p=0,0021$), à 48 heures ($F_{2,6}= 62,58$; $p<0,001$) et à 72 heures ($F_{2,6}= 95,2$; $p<0,001$). Le test HSD de Tukey indique une relation dose-réponse à tous les temps testés (CL₂₅ vs CL₅₀ : 24h : $p=0,0356$; 48h : $p=0,0039$; 72h : $p=0,0006$).

Chez *Cs. longiareolata*, le traitement induit une élévation significative de l'activité spécifique des GSTs avec les deux concentrations appliquées (CL₂₅ et CL₅₀) à 24 heures ($F_{2,6}= 35,65$; $p<0,001$), à 48 heures ($F_{2,6}= 108,9$; $p<0,001$) et à 72 heures ($F_{2,6}= 124,2$; $p<0,001$). Le test HSD de Tukey indique une relation dose-réponse à tous les temps testés (CL₂₅ vs CL₅₀ : 24h : $p=0,0045$; 48h : $p<0,001$; 72h : $p<0,001$).

A partir de ces données, on peut conclure que l'huile de *L. nobilis* affecte le plus l'activité spécifique des GSTs chez *Cx. pipiens* comparativement à *Cs. longiareolata*.

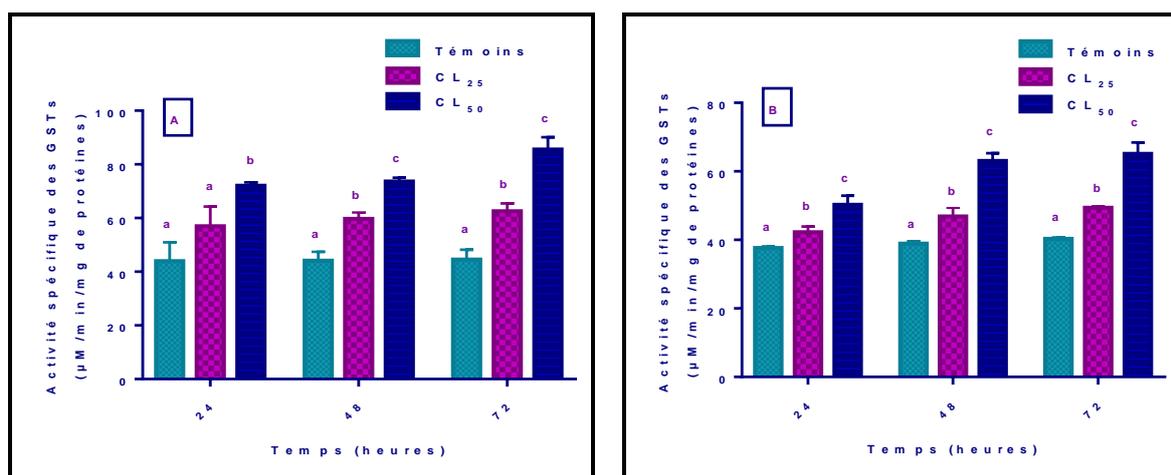


Figure 20. Effet de l'HE de *L. nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs (µM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* (A) et *Cs. longiareolata* (B) (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) : Test HSD de Tukey.

3.6.3. Effet sur le taux du GSH

Les résultats du taux du glutathion (µM/mg de protéines) chez les larves L4 témoins et traitées (CL₂₅, CL₅₀) de *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* sont présentés dans la figure 21(A et B) à différentes périodes après traitement : 24, 48 et 72 heures.

Chez *Cx. pipiens*, les résultats montrent que le taux du glutathion (GSH) diminue significativement suite à l'exposition des larves au traitement par l'HE de *L. nobilis* à 24 heures : ($F_{2,6}= 9,243$; $p=0,0147$), à 48 heures ($F_{2,6}= 14,62$; $p=0,0049$) et à 72 heures ($F_{2,6}= 173,5$; $p<0,001$). Le test HSD de Tukey indique une relation dose-réponse à tous les temps testés (CL₂₅ vs CL₅₀ : 24h : $p=0,0406$; 48h : $p=0,0291$; 72h : $p<0,001$).

Les mêmes observations ont été signalées chez *Cs. longiareolata*, où le traitement induit une diminution significative du taux du GSH à 24heures : ($F_{2,6}= 19,04$; $p=0,0025$), à 48heures ($F_{2,6}= 39,81$; $p<0,001$) et à 72heures ($F_{2,6}= 392,1$; $p<0,001$). Le test HSD de Tukey indique une relation dose-réponse à tous les temps testés : (CL₂₅ vs CL₅₀ : 24h : $p=0,0382$; 48h : $p=0,0040$; 72h : $p<0,001$).

D'après ces résultats, on constate que le traitement des larves par l'HE active un système de détoxification qui se traduit par une augmentation de l'activité des GSTs et une réduction du taux du GSH. Cette diminution est plus marquée chez *Cx. pipiens* par rapport à *Cs. longiareolata*.

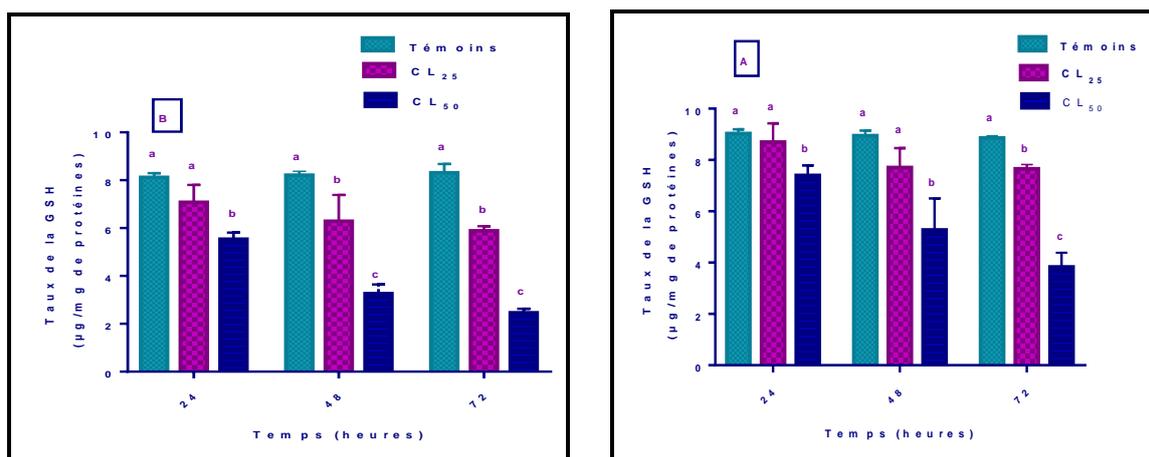


Figure 21. Effet de l'HE de *L. nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le taux du GSH (µM/mg de protéines) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* (A) et *Cs. longiareolata* (B) (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) : Test HSD de Tukey.

3.6.4. Effet sur le taux du MDA

Le taux du Malondialdéhyde a été estimé chez les larves L4 témoins et traitées avec la CL₂₅ et la CL₅₀. Les résultats exprimés en µM/mg de protéines sont enregistrés à 24, 48 et 72 heures après traitement et sont mentionnés dans la figure 22 (A et B).

Chez les larves de *Cx. pipiens*, les résultats relatifs aux taux du malondialdéhyde (MDA) montrent une augmentation significative à tous les temps testés avec une relation dose réponse: (24h : $F_{2,6} = 49,64$; $p < 0,001$; 48h : $F_{2,6} = 433,6$; $p < 0,001$; 72h : $F_{2,6} = 293,1$; $p < 0,001$).

Chez *Cs. longiareolata*, les résultats obtenus montrent que l'HE de *L. nobilis* provoque une augmentation significative du taux de la MDA au cours des différentes périodes testées : à 24h ($F_{2,6} = 214,2$; $p < 0,001$), à 48h ($F_{2,6} = 96,77$; $p < 0,001$) et à 72h après traitement ($F_{2,6} = 164$; $p < 0,001$). Le test HSD de Tukey révèle un effet dose à tous les temps testés (LC₂₅ vs LC₅₀ : 24h : $p < 0,001$; 48h : $p = 0,0013$; 72h : $p < 0,001$).

A partir de ces données, on remarque que l'huile du laurier induit un stress oxydatif traduit par une augmentation du taux de la MDA chez les 2 espèces étudiées avec un effet comparable.

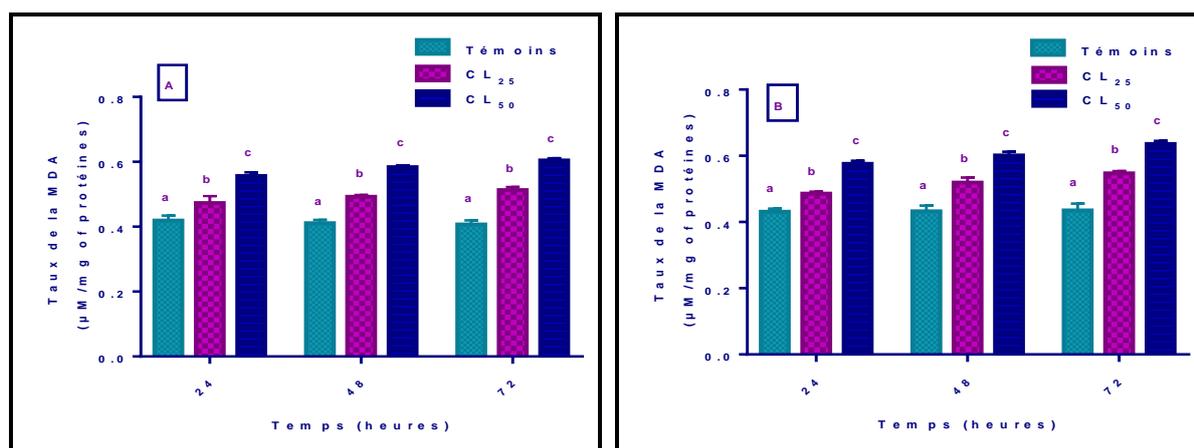


Figure 22. Effet de l'HE de *L. nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le taux de la MDA (µM/mg de protéines) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* (A) et *Cs. longiareolata* (B) ($m \pm SEM$, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) : test HSD de Tukey.

3.6.5. Effet sur l'activité spécifique de la GPx

L'activité spécifique de la GPx chez les larves 4 de *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* a été exprimée en micromoles par minute et par milligramme de protéines (µM/min/mg de protéines) (Figure 23 A et B).

Chez *Cx. pipiens*, le traitement par le laurier induit une augmentation de l'activité spécifique de la GPx à tous les temps testés : (24h : $F_{2,6} = 11,88$; $p = 0,0082$; 48h : $F_{2,6} = 176$; $p < 0,001$; 72h : $F_{2,6} = 50,29$; $p < 0,001$). Le test HSD de Tukey indique une différence significative entre les deux concentrations appliquées (LC₂₅ vs LC₅₀ : 24h : $p = 0,042$; 48h : $p < 0,001$).

Chez *Cs. longiareolata*, les résultats obtenus marquent une augmentation de ce biomarqueur à 24 ($F_{2,6} = 11,02$; $p = 0,0098$), à 48 ($F_{2,6} = 22,92$; $p = 0,0016$), et à 72 heures après traitement ($F_{2,6} = 24,87$; $p = 0,0012$). Le Test HSD de Tukey révèle un effet dose à 48 et 72 heures (CL₂₅ vs CL₅₀: $p = 0,0235$ et $0,0191$ respectivement).

De plus, on remarque que le laurier a un effet le plus marqué sur ce biomarqueur chez *Cx. pipiens* comparativement à *Cs. longiareolata*.

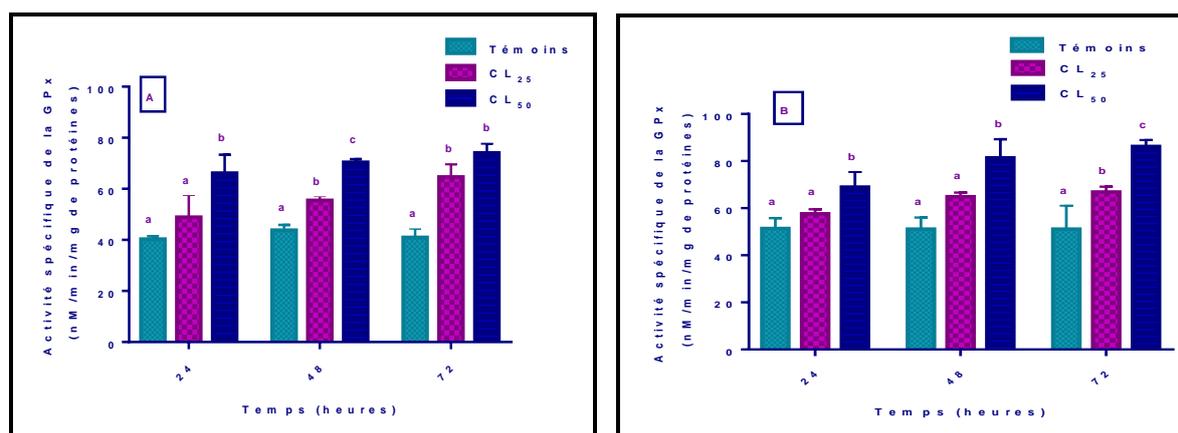


Figure 23. Effet de l'HE de *L. nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur l'activité spécifique de la GPx ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* (A) et *Cs. longiareolata* (B) ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 20 individus) : Test HSD de Tukey.

3.7. Impact de l'HE sur la croissance des moustiques

Les deux concentrations létales de l'HE de *L. nobilis* : CL₂₅ (8,21 ppm ; 8,99 ppm) et CL₅₀ (23,45 ppm ; 22,39 ppm) déterminées à 7 jours chez les larves L4 de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* respectivement, ont été évaluées sur deux paramètres biométriques (poids et volume corporels) au cours de différentes périodes (1, 3, 5 et 7 jours).

3.7.1. Effet sur la croissance pondérale

Chez *Cx. pipiens*, le traitement par le laurier induit une diminution du volume corporel des larves L4 à 1j ($F_{2,6}= 87,93$; $p < 0,0001$), 3j ($F_{2,6}= 117,80$; $p < 0,0001$) et 5j ($F_{2,6}= 53,99$; $p = 0,0001$). Le Test HSD de Tukey ne révèle aucun effet dose et cela à tous les temps testés (Tableau 11).

Par ailleurs, chez *Cs. longiareolata*, les résultats mentionnés dans le tableau 11, montrent que l'HE du Laurier (CL₂₅ et CL₅₀) induit une diminution significative du poids corporel des larves L4 au 1^{er} jour (Témoins vs CL₂₅ : $p < 0,0001$; Témoins vs CL₅₀ : $p < 0,0001$). Aucun effet n'a été signalé au cours des autres temps testés.

De plus, on note que le poids des larves L4 de *Cx. pipiens* est le plus touché par ce traitement par rapport à *Cs. longiareolata*.

Tableau 11. Effet de l'HE de *L. nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le poids corporel des larves L4 de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* à différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) : test HSD de Tukey.

Espèces	Traitement	1	3	5	7
<i>Cx. pipiens</i>	Témoins	3,94 ± 0,10a	3,96 ± 0,08a	3,98 ± 0,04a	4,02 ± 0,13a
	CL ₂₅	2,15 ± 0,20b	2,38 ± 0,12b	2,50 ± 0,20b	3,31 ± 0,43a
	CL ₅₀	2,11 ± 0,12b	2,34 ± 0,12b	2,37 ± 0,16b	3,14 ± 0,28a
<i>Cs. longiareolata</i>	Témoins	5,04 ± 0,42a	5,94 ± 1,72a	5,96 ± 0,95a	6,05 ± 1,22a
	CL ₂₅	3,86 ± 0,06b	3,96 ± 1,30a	5,79 ± 0,27a	5,89 ± 0,76a
	CL ₅₀	2,82 ± 0,14c	2,91 ± 0,08a	4,69 ± 0,41a	4,79 ± 0,07a

3.7.2. Effet sur la croissance linéaire

Chez *Cx. pipiens*, le traitement par le laurier induit une diminution du volume corporel des larves L4 à 3j ($F_{2,177} = 4,05$; $p = 0,0019$) ; 5j ($F_{2,177} = 10,88$; $p < 0,0001$) et 7j ($F_{2,177} = 12,28$; $p < 0,0001$). Le Test HSD de Tukey révèle un effet dose uniquement à 7j (CL₂₅ vs CL₅₀: $p = 0,0004$) (Tableau 12).

Chez *Cs. longiareolata*, les résultats obtenus marquent une augmentation de ce paramètre à tous les temps testés : 1j ($F_{2,177} = 6,51$; $p = 0,0019$) ; 3j ($F_{2,177} = 28,12$; $p < 0,0001$) ; 5j ($F_{2,177} = 29,49$; $p < 0,0001$) et 7j ($F_{2,177} = 57,03$; $p < 0,0001$). Le Test HSD de Tukey révèle un effet dose à 3 et 7j (CL₂₅ vs CL₅₀: $p = 0,039$ et $0,035$ respectivement) (Tableau 12).

De plus, on remarque que le laurier a un effet le plus marqué sur ce paramètre chez *Cs. longiareolata* comparativement à *Cx. pipiens*.

Tableau 12. Effet de l'HE de *L. nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le volume corporel des larves 4 de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* à différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) : test HSD de Tukey.

Espèces	Traitement	1	3	5	7
<i>Cx. pipiens</i>	Témoins	5,08 ± 1,37a	5,40 ± 1,56a	7,40 ± 1,54a	8,10 ± 1,81a
	CL ₂₅	4,61 ± 1,12a	5,30 ± 0,95a	5,98 ± 1,56b	7,83 ± 1,48a
	CL ₅₀	4,49 ± 1,14a	4,68 ± 0,91ab	5,84 ± 1,58b	6,43 ± 1,60b
<i>Cs. longiareolata</i>	Témoins	13,64 ± 2,13a	16,6 ± 2,21a	19,94 ± 5,44a	22,19 ± 4,45a
	CL ₂₅	12,83 ± 1,87a	14,14 ± 2,12b	14,14 ± 2,12b	16,48 ± 2,32b
	CL ₅₀	11,80 ± 2,02ab	12,92 ± 2,11c	14,19 ± 2,51b	14,63 ± 1,91c

3.8. Effets sur les réserves nutritionnelles

Les concentrations létales (CL_{25} et CL_{50}) de l'HE du Laurier ont été appliquées sur les larves 4 nouvellement exuviées de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* et leurs effets ont été évalués sur les réserves nutritionnelles (glucides, lipides et protéines) à différentes périodes. Les résultats du dosage sont présentés dans la figure 24 (A et B).

Le traitement provoque une diminution significative de ces réserves chez les larves L4 de *Cs. longiareolata* ; au 1^{er} jour ($F_{2,6}= 80,53$; $p < 0,001$), au 3^{ème} jour ($F_{2,6}= 31,7$; $p < 0,001$) ($p=0,0059$), au 5^{ème} jour ($F_{2,6}= 28,07$; $p < 0,001$) et au 7^{ème} jour ($F_{2,6}= 80,86$; $p < 0,001$) ; CL_{25} vs CL_{50} : $p=0,0038$) avec une relation dose réponse à tous les temps testés (CL_{25} vs CL_{50} : $p < 0,001$; 0,0059 ; 0,0237 et 0,0038 respectivement).

Les mêmes observations ont été signalées chez *Cx. pipiens*, où on a noté une réduction significative de ces réserves énergétiques après traitement avec les deux concentrations appliquées (CL_{25} et CL_{50}) et à tous les temps testés : (1 jour : $F_{2,6}= 321,5$; $p < 0,001$; 3 jours : $F_{2,6}= 217,8$; $p < 0,001$; 5 jours : $F_{2,6}= 130,1$; $p < 0,001$ et 7 jours : $F_{2,6}= 76,92$; $p < 0,001$) avec un effet dose-réponse (CL_{25} vs CL_{50} : $p=0,0011$; 0,0011 ; 0,0022 et 0,0005 respectivement).

Cette réduction est plus marquée chez l'espèce *Cx. pipiens* comparativement à *Cs. longiareolata*.

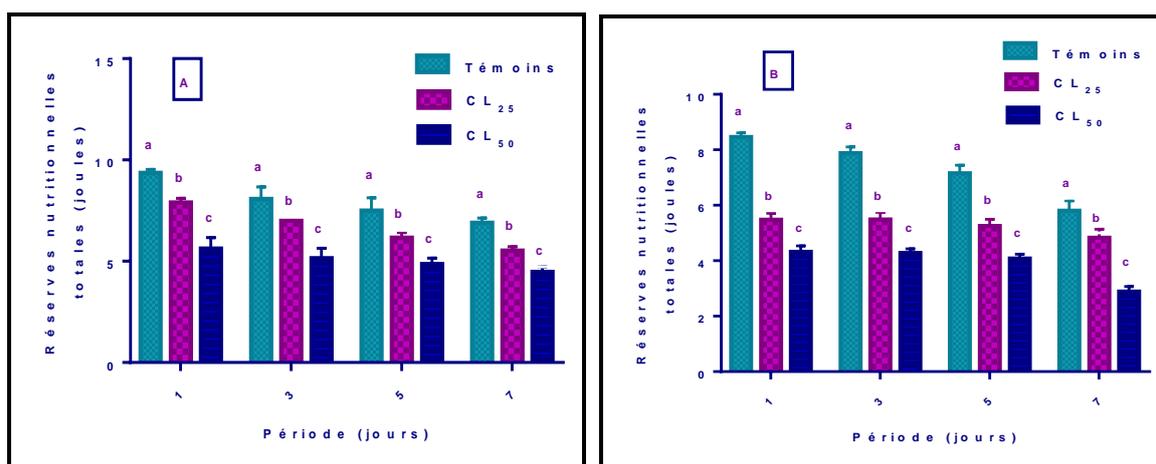


Figure 24. Effet de l'HE de *L. nobilis* (CL_{25} et CL_{50}) sur les réserves nutritionnelles totales (joules) chez *Cs. longiareolata* (A) et *Cx. pipiens* (B) à différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 larves) : test HSD de tukey.

3.9. Effet sur le taux d'épuisement nutritionnel

Les résultats du taux d'épuisement nutritionnel calculés chez les traités à la CL₂₅ et la CL₅₀ à différentes périodes chez *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* sont représentés dans la Figure 25 (A et B).

Chez *Cs. longiareolata*, le taux d'épuisement augmente en fonction des concentrations testées du laurier au 1^{er} jour ($t=5,334$; $df=2$; $p=0,0334$), au 3^{ème} jour ($t=5,6$; $df=2$; $p=0,0304$) et au 7^{ème} jour ($t=6,204$; $df=2$; $p=0,025$). Aucun effet dose n'a été observé à 5 jours après traitement ($t=3,98$; $df=2$; $p=0,0576$).

Par contre chez *Cx. pipiens*, le taux d'épuisement marque une augmentation significative à tous les temps testés : (1jour : $t=7,646$; $df=2$; $p=0,0167$; 3jours : $t=5,37$; $df=2$; $p=0,033$; 5jours : $t=7,038$; $df=2$; $p=0,0196$ et 7jours après traitement : $t=21,38$; $df=2$; $p=0,0022$).

De plus, on remarque que le taux d'épuisement des réserves nutritionnelles est trop affecté chez *Cx. pipiens* comparativement à *Cs. longiareolata*.

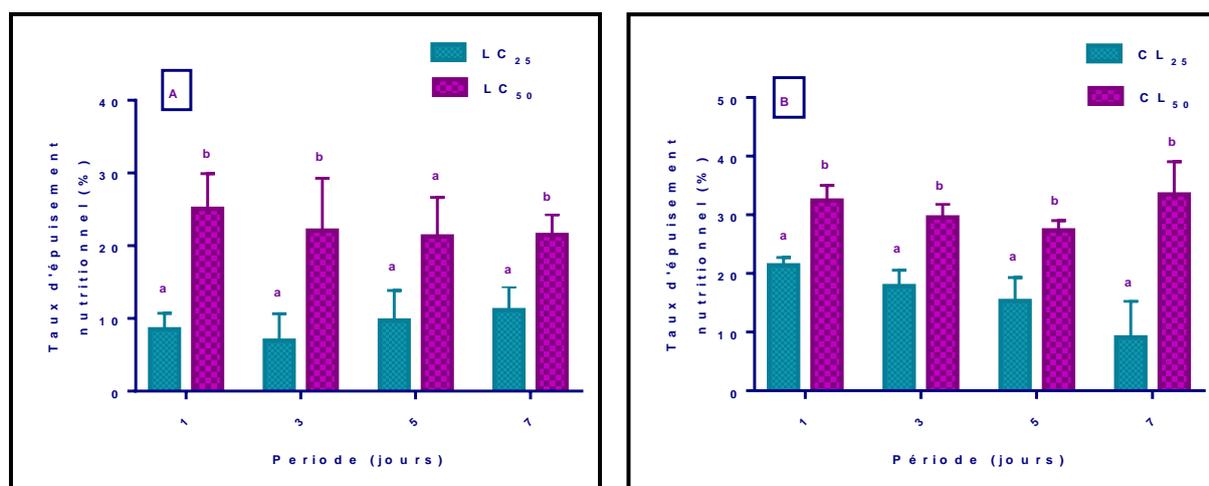


Figure 25. Effet de l'HE de *L. nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le taux d'épuisement nutritionnel (%) chez *Cs. longiareolata* (A) et *Cx. pipiens* (B) à différentes périodes ($m \pm SEM$, $n=3$ répétitions comportant chacune 20 larves) : test t de student.

3.10. Etude histologique des larves de moustiques

L'histologie de la larve témoin présente une apparence normale des trois régions (tête, thorax et abdomen) avec une couche cuticulaire bien délimitée chez les deux espèces (Fig. 26A et 27A). Cependant, les larves exposées au traitement présentaient des dommages au niveau de la cuticule et des cellules épithéliales des deux espèces étudiées (Fig. 26, 27B et C).

Tête : chez les témoins, la partie céphalique est sans anomalies avec la présence des yeux complexes intacts (Fig. 28A). La dégradation des yeux composés chez les traités est caractérisée par la suppression et l'affaissement des couches cellulaires rétiniennes et pigmentées avec une destruction totale de la cornée et de la rétine (Fig. 28B et C).

Intestin moyen : L'intestin moyen des larves témoins présente une architecture intestinale intacte avec des cellules épithéliales bien serrées (Fig. 29, 30A). Par contre, il est trop affecté par le traitement provoquant un gonflement de la région interne (Fig. 29, 30C). La membrane périthrophique est endommagée avec une fuite importante du contenu de l'intestin moyen suivie par un détachement des cellules épithéliales (Fig. 29, 30B). Une lyse cellulaire est observée avec un rejet des débris cytoplasmiques dans la lumière intestinale (Fig. 29C).

Tubules de malpighie : Ces tubules chez les témoins ne présentent aucune anomalie (Fig. 31A). D'après les figures 31B et C, nous pouvons noter un élargissement des tubules de malpighie des larves traitées par rapport aux témoins avec une disparition des noyaux.

Fibres musculaires : La coupe longitudinale des larves témoins montre que les fibres musculaires présentent des schémas réguliers et denses comparativement aux larves traitées, où le traitement avec l'huile essentielle de laurier induit une altération au niveau des tissus musculaires tels que la lyse de la couche musculaire, une dégénérescence des noyaux, une absence de striation (Fig. 32A, B et C).

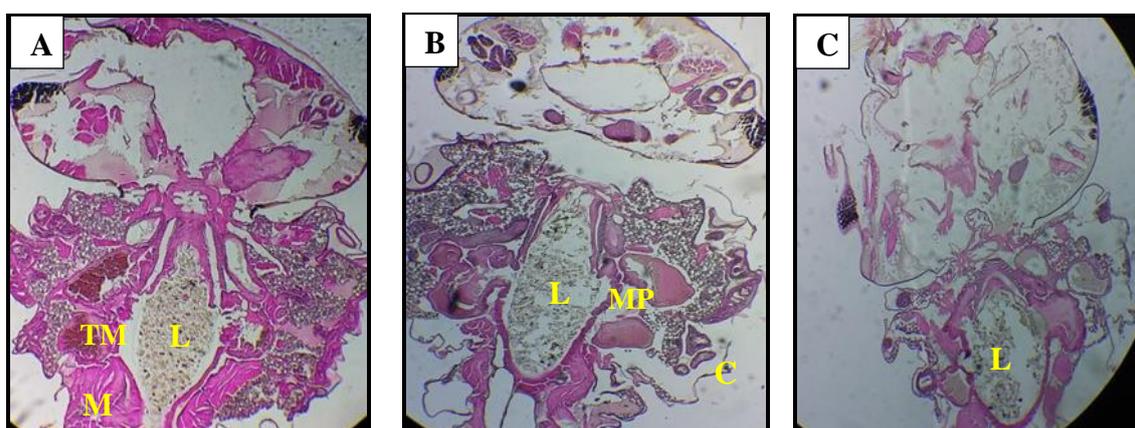


Figure 26. Régions du corps (tête, thorax) chez la larve de *Cx. pipiens* : **A)** Témoin ; **B)** Traitée à la CL₂₅ ; **C)** Traitées à la CL₅₀. **L** : Lumière ; **M** : Muscle ; **MP** : Membrane périthrophique ; **TM** : Tubule de malpighie ; **C** : Cortex

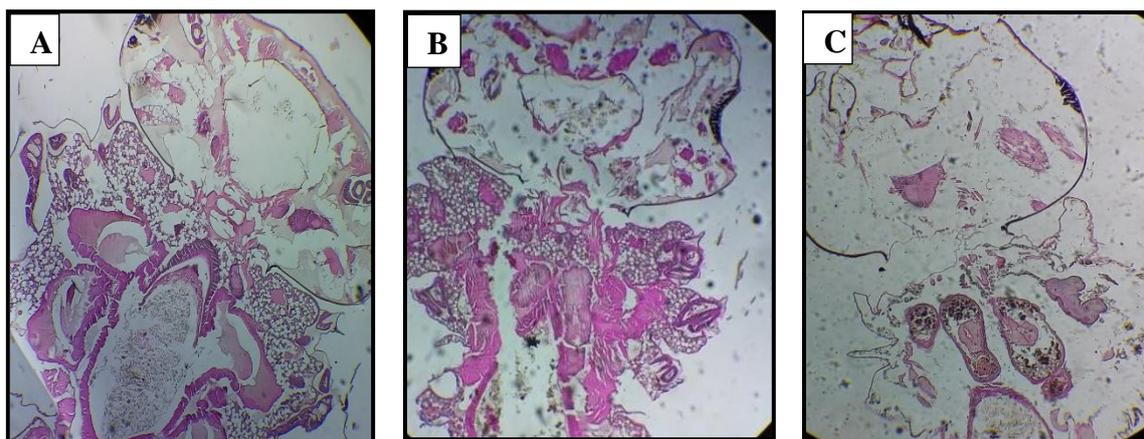


Figure 27. Parties du corps (tête, thorax) chez la larve de *Cs. longiareolata* : **A)** Témoin ; **B)** Traitée à la CL₂₅ ; **C)** Traitée à la CL₅₀.

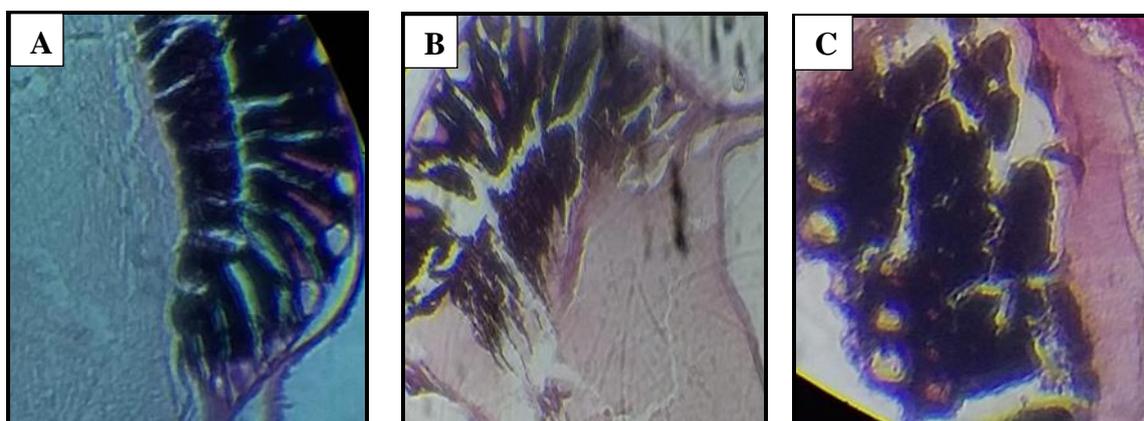


Figure 28. Les yeux de la larve *Cx. pipiens* : **A)** Témoin ; **B)** Traitée à la CL₂₅ ; **C)** Traitée à la CL₅₀.

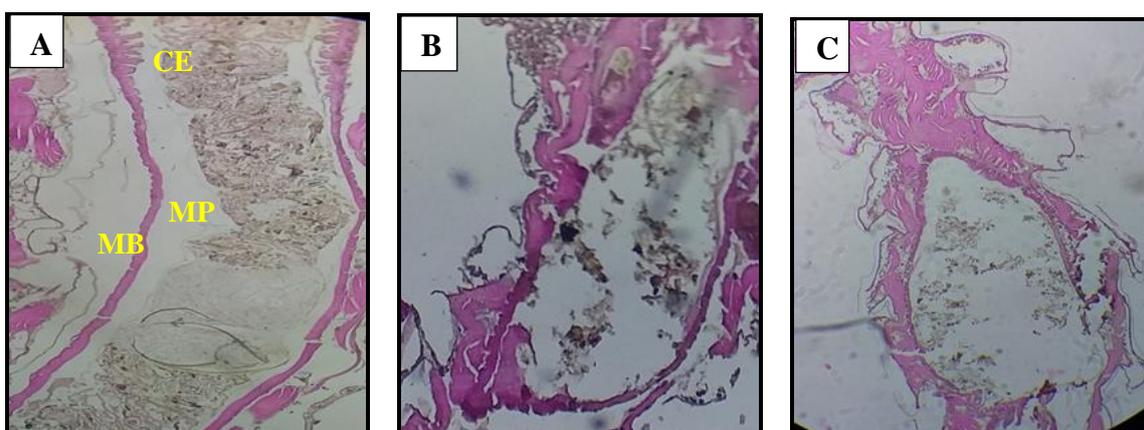


Figure 29. Paroi de l'intestin moyen chez la larve *Cx. pipiens* : **A)** Témoin ; **B)** Traitée à la CL₂₅ ; **C)** Traitées à la CL₅₀. **MP** : Membrane péritrophique ; **CE** : Cellule épithéliale ; **MB** : Membrane basale.

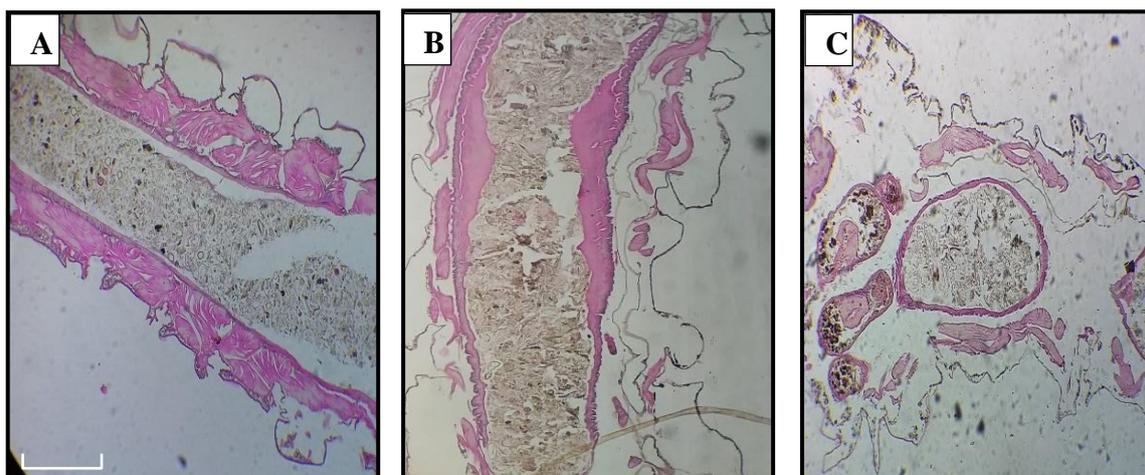


Figure 30. Paroi de l'intestin moyen chez la larve *Cs. longiareolata* : **A)** Témoin ; **B)** Traitée à la CL₂₅ ; **C)** Traitée à la CL₅₀.

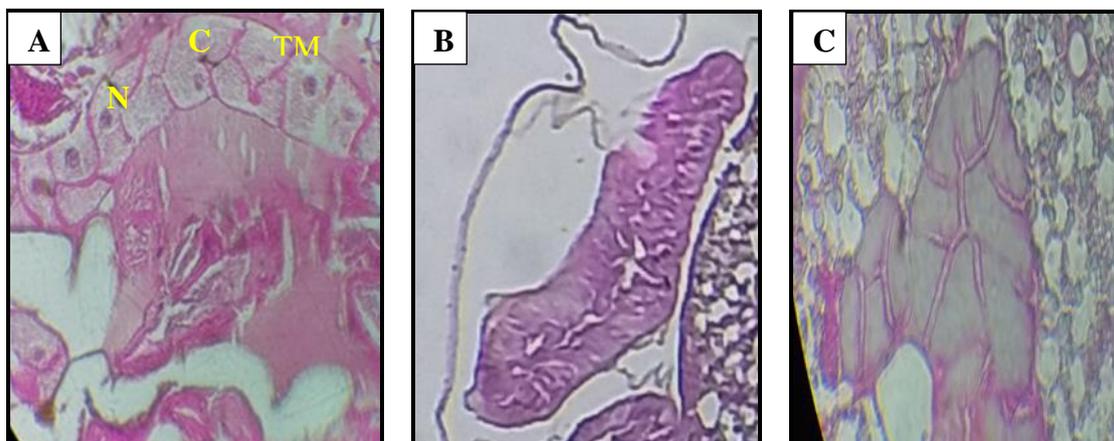


Figure 31. Tubules de malpighie chez la larve de *Cx. pipiens* : **A)** Témoin ; **B)** Traitée à la CL₂₅ ; **C)** Traitée à la CL₅₀. **C** : cytoplasme ; **TM** : Tubule de malpighie ; **N** : Noyau

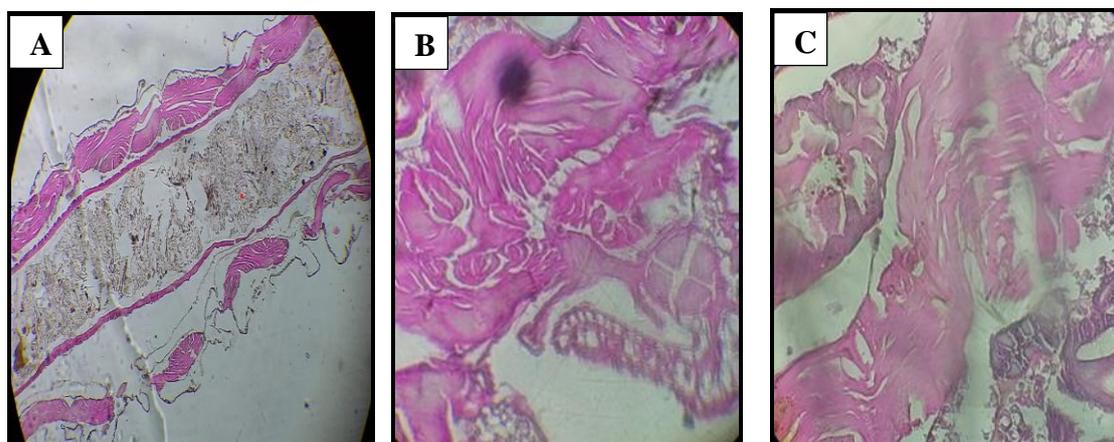


Figure 32. Fibres musculaires chez la larve de *Cx. pipiens* : **A)** Témoin ; **B)** Traitée à la CL₂₅; **C)** Traitée à la CL₅₀.

Discussion



IV DISCUSSION

4.1. Rendement en huile essentielle

L'huile essentielle extraite de *Laurus nobilis* a une odeur agréable avec un rendement de $0,96 \pm 0,45$ % de la matière sèche des feuilles. Le rendement de cette HE marque des variations d'une région à une autre en Algérie, il est de : 0,79% dans la région de Blida (Guedouari, 2012), 0,71% dans la région d'El Kala (Ouibrahim, 2014), 1,10% à Tizi Ouzou (Taleb-Toudert, 2015), 0,88% à Béjaia (Kheyar, 2014) et 0,87% à Skikda (Goudjil *et al.*, 2016). En outre, le rendement d'une HE peut varier considérablement dans une même plante selon l'organe (feuille, fleur, fruit, bois) (Selles, 2012 ; Möller, 2008). Des études réalisées par Guedouari (2012) ont montré que le rendement le plus élevé est obtenu à partir des fruits (1,15 %), puis des fleurs (0,82 %), suivi par celui des feuilles (0,79 %) et enfin le pourcentage le plus faible est celui obtenu à partir des tiges (0,1 %), tandis que les racines ne contiennent pas d'huile essentielle (0 %).

Par ailleurs, le rendement de cette même plante présente également des variations d'un pays à un autre, il est de 0,52% au Liban (Chmit *et al.*, 2014) et de 0,66% au Brésil (Fernandez-Andrade *et al.*, 2016). Le tableau 13, présente les variations du rendement de l'HE de *L. nobilis* récolté dans différentes régions dans le monde. Plusieurs chercheurs ont montré que le rendement varie en fonction de l'état de la matière végétale, car les feuilles fraîches présentent un rendement plus faible par rapport aux feuilles sèches (Pharmacopée Européenne, 2008). Les travaux de Guedouari & Nabiev (2015) ont signalé un rendement du Laurier de l'ordre de 0,79% pour les feuilles sèches versus 0,16% pour les feuilles fraîches. La plante, après sa récolte continue à vivre et son activité de biosynthèse des terpènes et dérivés s'accroît. Il s'agit pour la plante d'un moyen de défense contre le stress hydrique. C'est ce qui explique l'augmentation des rendements en huiles essentielles pendant les premières phases. Après la mort définitive de la plante, toutes les activités de biosynthèse s'arrêtent et les pertes d'huiles essentielles par évaporation ne sont plus compensées, d'où les baisses des rendements (Bencheikh *et al.*, 2015).

Par ailleurs, des variations du rendement de la même plante sont observées en fonction de la méthode de séchage. Sellami *et al.* (2011) ont testé l'effet de différentes méthodes de séchage (à l'air, étuve, microonde, infrarouge) sur le rendement des feuilles du Laurier noble et ils ont trouvé que le séchage à l'air ambiant et par infrarouge augmente significativement le rendement en huile essentielle. Car ces deux méthodes n'ont causés pratiquement aucune perte de substances volatiles par rapport à l'herbe fraîche (Díaz-Maroto *et al.*, 2002 ; Yourtlu

et al., 2010 ; Dahak *et al.*, 2014). Par ailleurs, le séchage solaire a un effet significatif sur le rendement en HE de Laurier noble. Le pourcentage maximal est de l'ordre de 2,37 %, il a été obtenu pour les feuilles séchées à une $T^{\circ}= 50^{\circ}\text{C}$ et $V= 25\text{m/s}$, tandis que le minimum a été observé pour le produit frais (Ouafi *et al.*, 2017). Aussi, ce rendement est tributaire du régime des vents qui exercent une influence directe, surtout chez les espèces qui possèdent des structures histologiques superficielles de stockage (Demarne, 1985) car on remarque que la diminution de la vitesse de séchage favorise l'augmentation du rendement en huile essentielle (Ouafi *et al.*, 2017). Ainsi les plantes dont l'huile essentielle est située dans des glandes exogènes auront un temps d'extraction relativement court, comme dans le cas des espèces de Lamiaceae ; tandis que les plantes dont les glandes sont endogènes, le temps d'extraction sera plus long, comme dans le cas de *L. nobilis* (Taleb-Toudert, 2015).

Les fluctuations et les variations constatées dans le rendement peuvent être attribuées non seulement aux facteurs intrinsèques, spécifiques au bagage génétique de la plante mais également aux facteurs extrinsèques, liés aux conditions de croissance et de développement de la plante (Maffeur & Sacco, 1987 ; Bruneton, 1999). Ces différences sont dues également à l'origine géographique de la plante, les facteurs écologiques notamment climatiques (température et humidité), l'espèce végétale, l'organe végétal, le stade de croissance, la période de collecte, la conservation du matériel végétal et la méthode d'extraction (Svoboda & Hampson, 1999 ; Smallfield, 2001).

Tableau 13. Variations du rendement (%) du *L. nobilis* en fonction de certains facteurs.

Facteurs	Type d'extractions	Rendement	Références
Méthode d'extraction	Extraction par solvant	7,79% à 11,86%	Mouden <i>et al.</i> (2012)
	Pression à froid	3,47% à 8,08%	
	Soxhlet	11%	Chaaben <i>et al.</i> (2015)
	Extraction à froid	8,29%	
	CO ₂	1,37%	
	Hydrodistillation	1,43%	Ivanović <i>et al.</i> (2010)
Origine de la plante	Pays	Rendement	Références
	Brésil	0,66%	Fernandez-Andrade <i>et al.</i> (2016)
	Tunisie	0,86%	Dammak <i>et al.</i> (2019)
	Maroc	0,23%	Cherrat (2012)
	Italie	0,57%	Caputo (2017)
Partie de la plante	Organe	Rendement	Références
	Feuilles	3,25%	Fidan <i>et al.</i> (2019)

	Tiges	3,25%	
	Fruits	0,78%	
	Cycle	Rendement	Références
Cycle végétatif	Stade végétatif	0,7%	Verdianrizi & Hadjiakhoondi (2008)
	Bourgeon	0,8%	
	Floraison	1,1%	
	Graine	0,6%	

4.2. Composition chimique de l'HE

La composition chimique d'une huile essentielle est très complexe et soumise à de très nombreuses variables. Connaître avec exactitude les constituants d'une huile essentielle est fondamental, à la fois pour vérifier sa qualité et expliquer ses propriétés (Couic-Marinier & Lobstein, 2013). Les huiles essentielles se présentent pratiquement sous forme d'un mélange complexe constitué de plusieurs dizaines voire d'une centaine et plus de composés en proportions variables (Sutour, 2010). Il s'agit de mélanges naturels généralement dominés par des composés mono- ou sesquiterpéniques, plus rarement diterpéniques, et parfois par des phénylpropanoïdes (Chiasson & Beloin, 2007).

L'HE de *L. nobilis* a fait l'objet de plusieurs travaux décrivant sa composition chimique très variée. L'analyse chimique par la technique CPG/SM a permis d'identifier 56 constituants représentant 100% de l'ensemble des pics identifiés. Le 1,8-Cinéole (25,62%), Linalool (11,83%), α -Terpinyl acétate (10,18%), Méthyl eugénol (11,07%) sont les composés majoritaires. Comparativement aux recherches publiées, le profil chimique décrit dans cette étude a des différences, mais aussi des similarités. Nos résultats concordent avec les investigations réalisées dans la région de Tizi Ouzou, car les résultats ont révélé l'existence de 30 composants dont le 1,8-Cinéole (28,6%) et le Terpinolène (13,75%) sont les constituants majoritaires (Taleb-Toudert, 2015). Dans la région d'El Kala, Ouibrahim *et al.* (2015) a montré la présence de 17 constituants avec le 1,8-cinéole (36,31%), le β -linalool (22,52%) et l'Eugénol méthyl éther (9,17%) comme composés principaux. Des résultats similaires ont été obtenus par Goudjil *et al.* (2016) dans la région de Skikda sur la même espèce où le 1,8-Cinéole (45,36%), le Bornylène (17,25%) et le Linalool (8,13%) représentent les constituants majoritaires.

La composition chimique de l'HE de *L. nobilis* trouvée dans notre étude est proche de celle analysée par Jemâa *et al.* (2012) ; en effet, ces chercheurs ont rapporté que les HES de cette

plante provenant de trois pays, l'Algérie, le Maroc et la Tunisie, ont des compositions chimiques proches et que les composés majoritaires communs sont le 1,8-Cinéole, le Linalool et l'Isovaleraldéhyde. Ils précisent également que certains composés n'ont été détectés que chez l'une ou l'autre des trois huiles considérées. C'est ainsi que le 2-Carène (5,62%), le 4-Terpinéol (1,52%) et le L-Bornyl acétate (0,52%) caractérisent l'huile marocaine uniquement, alors que le Pentane (2,14%), le Phénol (1,73%) et le Terpinène (0,92%) ont été retrouvés dans l'huile algérienne. L'huile tunisienne est caractérisée par la présence du Camphre (2,66%), du Terpinène-1-ol (1,7%), du 2-Norbornanone (1,20%). Ces auteurs ont conclu que le facteur localité (pays) a eu un effet sur la composition chimique de ces huiles essentielles.

Le profil chimique de l'HE de *L. nobilis* est en accord avec celui signalé chez la même plante dans divers pays : Maroc (Derwich *et al.*, 2009), Turquie (Sangun *et al.*, 2007), Tunisie et Algérie (Jemâa *et al.*, 2012), Iran (Verdian-rizi *et al.*, 2009), Argentine (Di Leo Lira *et al.*, 2009) et Italie (Carreda *et al.*, 2002 ; Corato *et al.*, 2007 ; 2010) où on note une proportion élevée en 1,8-Cinéole, avec l'absence ou la présence de certains composants. Cependant, les travaux de Kivrak *et al.* (2017) réalisés sur la variabilité chimique de cette espèce, ont révélé l'existence d'un seul chémotype à savoir le 1,8-Cinéole, celui constaté dans notre travail. Différents chercheurs qui ont analysé la composition chimique de l'huile du Laurier provenant de différentes régions dans le monde, ont signalé le 1,8-Cinéole comme composant principal (Tableau 14).

La composition chimique d'une huile essentielle dépend d'une série de facteurs propre à la plante et à son environnement. Toutes les étapes allant de la récolte de la matière végétale au stockage de l'HE peuvent également induire des variations dans la concentration des composés ou même l'apparition de nouvelles molécules (Deschepper, 2017). L'origine de récolte de l'espèce, la période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage et la méthode d'extraction sont des facteurs parmi d'autres qui peuvent engendrer une grande variabilité de la composition d'une HE (Allali *et al.*, 2008). Des études antérieures ont rapporté que les variations saisonnières, les variations génétiques, les stades de croissance, la partie de la plante utilisée et le séchage et le stockage après récolte peuvent influencer la composition des huiles essentielles (Marotti *et al.*, 1994 ; Hussain *et al.*, 2008 ; Anwar *et al.*, 2009). Uribe-Hernandez *et al.* (1992) ont également signalé que la composition des HEs varie considérablement selon l'endroit où poussaient les plantes. En outre, des facteurs climatiques tels que la chaleur et la sécheresse étant également liées aux profils des huiles essentielles (Milos *et al.*, 2001). De plus, Vokou *et al.* (1993) ont souligné que l'altitude semble être un

autre facteur environnemental important influençant la teneur en huile essentielle et la composition chimique.

Tableau 12. Variation de la composition chimique de l'HE de *L. nobilis* en fonction de la partie utilisée de la plante dans différents pays.

Composées majoritaires	Organe	Pays	Références
1,8-Cinéole (25,7%), Sabinène (8,7%), α -Pinène (5,25%), α -Terpinène (3,48%)	Feuilles	Iran	Maghtader & Salari (2012)
1,8-Cinéole (18,69%), β -Elemène (8,87%), Sabinène (7,93%), α -Pinène (7,38%)	Fleurs		
1,8- Cinéole (60,50%), Sabinène (6,63%), α -Pinène (3,72%), Terpinène-4-ol (3,29%)	Feuilles	Liban	Said & hussein (2014)
1,8-Cinéole (32,47%), Sabinène (3,63%), α -Phellandrène (13,36%), α -Pinène (12,45%)	Fruits		
1,8-Cinéole (33,69%), Linalool (15,66%), Sabinène (7,02%), α -Terpinyl acétate (14,81%)	Feuilles	Brésil	Fernandez-Andrade <i>et al.</i> (2016)
1,8-Cinéole (33,3%), α -Terpinyl acétate (10,3%), α -Pinène (11%), β -Elemène (7,5%)	Fruits	Bulgarie	Fidan <i>et al.</i> (2019)
1,8-Cinéole (48,5%), α -Terpinyl acétate (13,1%), Méthyl eugénol (6,6%), β -Linalool (3,8%)	Tiges		
1,8-Cinéole (41%), α -Terpinyl acétate (14,4%), Sabinène (8,8%), Méthyl eugénol (6%)	Feuilles		
1,8-Cinéole (27,2%), α -Terpinyl acétate (10,2%), Linalool (8,4%), Méthyl eugénol (5,4%)	Graine	Turquie	Siriken <i>et al.</i> (2018)
1,8-Cinéole (46,16%), α -Terpinyl acétate (10,62%), α -Pinène (6,27%), Terpinène-4-ol (5,07%)	Feuilles		Kivrak <i>et al.</i> (2017)
1,8-Cinéole (18,0%), Terpinène-4-ol (13,1%), Sabinène (7,8%), α -Pinène (4,5%)			Elkiran <i>et al.</i> (2018)
1,8-Cinéole (39,81%), 2-Carène (13,08%), Trans-Ocimène (7,05%), Sabinène (6,17%)	Partie aérienne	Maroc	Cherrat <i>et al.</i> (2014)
1,8-Cinéole (31,9%), Sabinène (12,2%), Linalool (10,2%),	Feuilles	Italie	Caputo <i>et al.</i> (2017)
1,8-Cinéole (24,55%), Linalool (17,67%), Méthyl eugénol (6%), Isovaleraldéhyde (9,65%)	Feuilles	Tunisie	Jemâa <i>et al.</i> (2012)
1,8-Cinéole (38,86%), Isovaleraldéhyde (10,47%), Linalool (9,45%), α -Terpinéol (5,83%)		Maroc	
1,8-Cinéole (34,62%), Linalool (12,57%), Camphène (8,91%), Isovaleraldéhyde (8,82%)		Algérie	

4.3. Activité larvicide et pupicide de l'HE de *Laurus nobilis*

L'utilisation des extraits de plantes comme insecticides est une alternative prometteuse car les espèces végétales produisent des composés bioactifs qui agissent généralement en synergie. Ils sont biodégradables et présentent un faible risque de développer une résistance (Dias *et al.*, 2015 ; Martello *et al.*, 2019 ; Hikal *et al.*, 2017).

Les HEs sont des métabolites secondaires utilisées comme moyen de défense par les plantes pour lutter contre les ravageurs phytophages (Cseke & Kaufman, 1999). Ces extraits

contiennent en moyenne 20 à 60 composés soit des monoterpènes avec leurs phénols reliés, et des terpènes plus complexes, dont les sesquiterpènes (Chiasson & Beloin, 2007). Les biopesticides à base d'huiles essentielles forment une classe de pesticides intéressante puisqu'en étant constituées de plusieurs composés à mécanismes d'action multiples, elles ont des modes d'application variés. Les extraits de plantes sollicitent simultanément plusieurs mécanismes physiologiques (par opposition à des pesticides n'ayant qu'une seule cible moléculaire), ce qui peut retarder l'apparition de populations résistantes d'insectes.

La plupart de ces composés ont présenté une toxicité efficace contre les moustiques comme adulticides (Michaelakis *et al.*, 2014 ; Zahran *et al.*, 2017), larvicides (Pavela 2015; Maggi et Benelli, 2018 ; Badawy *et al.*, 2018), ovicides (Benelli, 2015 ; Govindarajan *et al.*, 2011), pupicides (Chellappandian *et al.*, 2018) et répulsifs (Amer et Mehlhorn, 2006; Conti *et al.*, 2012; Gleiser *et al.*, 2011). Ils peuvent agir sur divers cibles du système nerveux des insectes, notamment l'acétylcholinestérase (AChE) (Abdelgaleil *et al.*, 2019), les récepteurs de l'acide γ -aminobutyrique (GABA), les récepteurs de l'octopamine, les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChR) et les canaux sodiques en provoquant la mort de l'insecte (Kostyukovsky *et al.*, 2002; Tong, 2010 ; Pavela *et al.*, 2018; Isman & Seffrin, 2018). Leurs efficacités varient en fonction du profil phytochimique des extraits de plantes et de la cible entomologique (Regnault-Roger *et al.*, 2012). Les effets acaricides/insecticides des huiles essentielles dépendent de leur composition chimique (Pascual-Villalobus & Ballesta-Acosta, 2003).

Notre étude a pour but de tester le potentiel ovicide, larvicide, pupicide et adulticide de l'huile essentielle extraite d'une plante aromatique *L. nobilis* chez deux espèces de moustiques : *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens*, dont les résultats montrent une activité insecticide avec une relation dose-réponse. Fernandez *et al.* (2018) ont testé l'impact des variations saisonnières sur le potentiel larvicide du Laurier contre *Ae. aegypti* et ils ont trouvé l'ordre d'efficacité suivant selon les concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₉): printemps (410 et 770ppm) > automne (600 et 1370ppm) > hiver (660 et 3190 ppm) > été (910 et 2500ppm). D'autre part, l'application de cette même plante, provoque une toxicité importante contre les larves d'*An. stephensi* et *Cx. pipiens* avec une CL₅₀ et une CL₉₀ de 14,9 et 22,3ppm et de 16,5 et 28,6ppm respectivement (Verdian-Rizi, 2009). Andrade-Ochoa *et al.* (2018) ont testé l'efficacité de l'huile du *L. nobilis* et ses constituants majeurs à l'égard des larves et des pupes de *Cx. quinquefasciatus* et ils ont trouvé que l'Eucalyptol avait une meilleure activité insecticide (double) par rapport à l'huile essentielle. Cela suggère que les autres constituants de cette huile avaient des interactions antagonistes avec l'eucalyptol comme molécule pure. Par contre,

une faible activité larvicide de cette même molécule a été signalée précédemment contre les larves d'*Ae. aegypti* (Klocke *et al.*, 1987), *An. anthropophagus* (Cheng *et al.*, 2009) et *Cx. pipiens* (Perumalsamy *et al.*, 2009), mais elle s'est avérée efficace comme molécule répulsive dans les aliments et très efficace comme anti-oviposition (Klocke *et al.*, 1987), mais l'effet n'a pas duré plus de 30 minutes (Alvarez Costa *et al.*, 2017).

L'effet insecticide des extraits de 5 plantes algériennes : *Thymus vulgaris*, *Artemisia herba-alba*, *Juniperus phoenicea*, *Rosmarinus officinalis* et *Eucalyptus globulus* a été évalué par Nabti & Bounechada, (2019) et qui ont signalé l'efficacité du Thym contre les larves L4 de *Cs. longiareolata* avec des concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) de 25,64 ppm et 50,53 ppm par rapport à *J. phoenicea* (59,83 et 137,68 ppm), *R. officinalis* (64,18 et 96,55ppm), *A. herba-alba* (86,67 et 139,55 ppm), puis *E. globulus* (95,83 et 168,25 ppm). 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 Dris (2018) qui montre que les huiles extraites de trois espèces de Lamiacea : *M. piperita*, *L. dentata* et *O. basilicum* possèdent une activité larvicide à l'égard de *Cx. pipiens* avec des CL₅₀ de l'ordre de : 47,58; 113,38 et 73,45 ppm et *Cs. longiareolata* avec des CL₅₀ de l'ordre de : 41,63 ; 77,09 et 122,70 ppm respectivement. Par ailleurs, Bouguerra, (2019) révèle une activité larvicide des HEs extraites d'*Origanum vulgare* et *Thymus vulgaris* avec des concentrations létales (CL₅₀= 13,69 et 72,04ppm respectivement) inférieures à celles trouvées au cours de notre expérimentation et cela à l'égard de *Cx. pipiens*.

L'activité insecticide des huiles essentielles dépend de leurs compositions chimiques et les interactions entre les différents composants majeurs et mineurs (Abagli & Alavo, 2011; Gnankiné & Bassolé, 2017). Ben Abdelkader (2012) a montré que l'efficacité insecticide d'une HE est due à la nature et à la structure chimique de ses constituants terpéniques. Cette activité peut être attribuée aux effets synergiques de ses principaux composants (Wu *et al.*, 2015). L'HE obtenue à partir du *L. nobilis*, est caractérisée par une teneur élevée en 1,8-Cinéole. L'Eucalyptol est considéré comme un important larvicide contre *Ae. aegypti* (Yang *et al.*, 2009), *An. anthropophagus* (Gonzalez-Audino *et al.*, 2001) et *Cx. pipiens* (Gallardo *et al.*, 2012).

La structure chimique des composés présents dans l'huile essentielle affecte directement le potentiel larvicide (Luz *et al.*, 2020). La lipophilie joue principalement un rôle fondamental dans cette activité parce qu'elle permet la rupture de la matrice de lipoprotéines larvaires (Gomes *et al.*, 2016). Plusieurs composés sont reconnus par leur activité larvicide puissante

l' α -Pinène, le β -Pinène, le Sabinène et le 1,8-Cinéole (Luz *et al.*, 2020).

De Carvalho *et al.* (2017) ont montré que les HEs peuvent agir sur différents mécanismes physiologiques en perturbant la respiration, la reproduction, la digestion ou en provoquant la neurotoxicité (Allal-Benfekih *et al.*, 2011). Simon-Oke *et al.* (2015) expliquent l'efficacité des HEs par leurs richesses en composants chimiques par exemple les alcaloïdes provoquent une vasoconstriction et une perturbation de l'activité du système nerveux autonome, contribuant ainsi au pouvoir insecticide de ces dernières pour tuer les larves de moustiques et perturber leur cycle de vie. Le pouvoir insecticide des HEs varie généralement en fonction du stade de l'insecte, de l'espèce et de l'origine végétale et qui serait attribuée à la composition chimique diversifiée des huiles et les interactions qui peuvent se produire entre les composants individuels du mélange (Negahban *et al.*, 2006 ; Ayvaz *et al.*, 2010 ; Alzogaray *et al.*, 2011) (Tableau 15).

Les travaux effectués par Ramar *et al.* (2014) ont montré une activité pupicide modérée à efficace des HEs appartenant à sept plantes à savoir ; *Pimpinella anisum*, *Cinnamomum veerum*, *Myrtus caryophyllus*, *Citrus sinensis*, *Thymus vulgaris*, *Ocimum sanctum* et *Vetiveria* vis-à-vis deux espèces de moustiques : *Cx. quinquefasciatus* et *An. stephensi* (Gokulakrishnan *et al.*, 2013). Nasir *et al.* (2015) ont rapporté des valeurs de CL₅₀ des HEs d'Eucalyptus (799ppm), de Neem (709ppm), de la Menthe poivrée (715ppm), du Basilic (219ppm) et du Gingembre (777ppm) à l'égard des nymphes d'*Ae. aegypti*. Les résultats de la toxicité ont enregistré des CL₅₀ de l'ordre de 206,08ppm chez *Cx. quinquefasciatus* traité par l'Eucalyptus (Jayakumar *et al.*, 2016), de 2,9% chez *Ae. aegypti* traité par *Graveolens* (Chantawee & Soonwera, 2018) et de 9,640 ppm chez *An. stephensi* traité par *J. virginiana* (Aizoun *et al.*, 2014).

De nombreux auteurs ont largement rapporté que cette mortalité est causée par certaines perturbations neuronales et musculaires due à la présence de composés bioactifs dans les plantes (Deepalakshmi & Jeyabalan, 2017).

Les résultats obtenus au cours de nos essais toxicologiques ont révélé la sensibilité des larves 4 par rapport aux pupes et ceci concorde avec plusieurs études qui ont montré que la sensibilité des larves est due au fait qu'elles se nourrissent de microplanctons et de matières organiques présents dans l'eau, ingérant ainsi les molécules d'insecticide (Arruda *et al.*, 2003 ; Silva & Silva 1999 ; Ileke *et al.*, 2017) et que les pupes ne s'alimentent pas.

4.4. Activité ovicide de l'HE de *Laurus nobilis*

Le traitement des œufs de deux espèces de moustiques *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* avec l'HE de *L. nobilis* provoque un effet ovicide avec une relation dose-réponse. Cela pourrait être expliqué par le pouvoir de pénétration ou la toxicité directe de ses composants actifs (Don Pedro, 1989). Des résultats similaires ont été obtenus par de nombreux auteurs ayant testé différentes HEs. Muturi *et al.* (2018) ont montré que l'exposition des œufs de *Culex* aux HEs d'ail et d'asafoetida a provoqué une inhibition de l'éclosion avec un taux de l'ordre de 73,1% et 55,8% respectivement. Tabari *et al.* (2017) ont testé l'efficacité de l'HE de *Pelargonium roseum* et ses principaux composants contre les œufs de *Cx. pipiens* et ils ont trouvé que cette huile a exercé une forte activité ovicide, suivi du Géraniol, Citronellol et Linalool avec des CL_{50} de 0,45 ; 0,67 ; 0,8 et 1,27 ppm respectivement. A une concentration de 200 ppm, l'HE de *Polygala arvensis* induit une forte activité ovicide contre *Ae. aegypti*, *An. stephensi* et *Cx. quinquefasciatus* (Deepa *et al.*, 2014). D'après l'étude de Raveen *et al.* (2017), l'exposition des œufs d'*Ae. aegypti* aux divers extraits de plantes : *Alternanthera sessilis* (Amaranthaceae), *Amaranthus dubius* (Amaranthaceae), *Sesbania grandiflora* (Fabaceae) et *Solanum nigrum* (Solanaceae) a provoqué non seulement la mortalité des œufs, mais a également retardé leur éclosion. L'HE d'*Ocimum basilicum* caractérisée par la présence de monoterpènes comme groupe principal et avec le 1-8 Cinéole, et la β -Pinène comme composés majoritaires a provoqué un effet ovicide et un taux d'inhibition d'éclosion très important contre *An. gambiae* après 24 heures d'exposition à 30 ppm (Aurelie *et al.*, 2016). Xue *et al.* (2005) et Santos *et al.* (2012) ont signalé la pénétration du produit chimique à l'intérieur de la coquille, lorsque les œufs ont été directement exposés à des concentrations très élevées, ce qui affecte l'embryogenèse. Les extraits bruts de plantes semblent être plus efficaces que les composés isolés ce qui pourrait être attribué à l'effet synergique de ces derniers qui possèdent différents modes d'action pour inhiber le développement d'un embryon dans les œufs (Ramkumar *et al.*, 2019). La combinaison de trois HEs d'*Alpinia galanga*, *Curcuma zedoaria* et *E. globulus* a fortement inhibé l'éclosion des œufs de deux espèces de moustiques avec un taux de 100%. Par ailleurs, les travaux de Danga *et al.* (2018) réalisés sur les feuilles de *Pristimantis glandulosus* et *Callistemon rigidus* ont montré que les classes chimiques suivantes : alcaloïdes, terpénoïdes, composés phénoliques (tanins), stéroïdes, saponines et les huiles ont causé à la fois une activité anti-oviposition et une activité ovicide vis-à-vis de trois espèces de moustiques *Ae. aegypti*, *An. gambiae* et *Cx. quinquefasciatus*. Les extraits de feuilles (Warikoo *et al.*, 2015) et de tiges (Warikoo *et al.*, 2014) d'*Argemone*

mexicana ont provoqué une mortalité de 50% des œufs d'*Ae. aegypti*. Par ailleurs, l'extrait de la partie aérienne d'*Andrographis paniculata* contre *An. subpictus* a causé un effet ovicide inférieur à 40% avec la dose 46 ppm (Chenniappan & Kadarkarai, 2008). L'activité ovicide des extraits de plantes est influencée par la concentration appliquée, l'âge des œufs, et l'espèce de moustique étudiée (Su & Mulla, 1998). Subashini *et al.* (2017) ont signalé que l'exposition des œufs nouvellement pondus aux extraits de plantes était plus efficace que celle des œufs plus âgés. Des résultats antérieurs ont montré que certains composés d'huiles essentielles ont également une activité ovicide élevée tels que l'Eugénol, Linalool, Terpinène-4-ol, Carvéol, Géraniol, Nérolidol, Thymol, α -Terpinéol, 1,8-Cinéole, Carvone, α -Pinène, β -Pinène et Limonène (Tolozza, 2010, Yang *et al.*, 2003 ; Priestley *et al.*, 2006 ; Yang *et al.*, 2009). Cependant, d'autres études n'ont révélé aucune activité des composés suivants : Menthol, Isomenthol, Citronellol, Géraniol, Camphre, Menthone, Eugénol, Thymol, Terpinène, Caryophyllène, Humulène, Isoeugénol et Méthyl eugénol (Dambolena *et al.*, 2016).

Le taux d'inhibition de l'éclosion des œufs de *Cx. quinquefasciatus* fraîchement pondus est inversement proportionnel à la concentration des extraits de *Cipadessa baccifera*. L'activité ovicide maximale a été observée dans les extraits d'acétone entraînant des aberrations dans la morphologie de la coquille (Ramkumar *et al.*, 2019). Une étude récente a montré que les lectines des graines de *Moringa oleifera* et de l'écorce de *Myracrodruon urundeuva* sont des agents ovicides qui pourraient provoquer des altérations de la surface chorionique des œufs d'*Ae. aegypti*, ils ont observé la déformation ainsi que la destruction du réseau exochorionique. Il semble que l'activité ovicide de *Moringa* implique des effets plus drastiques sur l'intégrité de la coquille d'œuf que la perturbation des couches exochorioniques et endochorioniques, ainsi que la perturbation de la cuticule séreuse (Alves *et al.*, 2019). D'autre part, les lectines de *Myracrodruon urundeuva* ont pu former une couverture d'agrégats de lectine à la surface de l'œuf sans provoquer de perturbation de la coquille. Les effets sur le chorion (endochorion et exochorion) et la cuticule séreuse sont importants car ils sont des couches impliquées dans la protection des œufs de moustiques contre les changements de température et la perte d'eau, ce qui confère aux œufs une résistance à la dessiccation (Urbanski *et al.*, 2010). À l'appui des conclusions actuelles, Soonwera, (2015) et Sarma *et al.* (2017a et b) ont également déclaré que la variation des constituants biochimiques du tégument de la larve de moustique et la coquille de l'œuf peut également ajouter une différence dans le taux de pénétration de différents insecticides dans le corps de l'insecte cible.

Tableau 13. Effet larvicide de certaines plantes à l'égard de différentes espèces de moustiques.

Plantes	Partie de la plante	CL (ppm)	Espèce cible	Références
<i>Laurus nobilis</i>	Feuille	CL ₅₀ : 303 ; 337 CL ₉₀ : 814 ; 1198	<i>Ae. aegypti</i> <i>An. stephensi</i>	Mohankumar <i>et al.</i> (2016)
<i>Vitex negundo</i>	Feuille	CL ₅₀ : 29,32 CL ₅₀ : 33,65	<i>An. subpictus</i> , <i>Cx. quinquefasciatus</i>	Gandhi <i>et al.</i> (2016)
<i>Zornia diphylla</i>	Feuille	CL ₅₀ : 65 ; 61 ; 71 CL ₉₀ : 127 ; 121 ; 134	<i>Ae. albopictus</i> <i>An. subpictus</i> <i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	Govindarajan <i>et al.</i> (2016)
<i>Withania somnifera</i>	Fruit	CL ₅₀ : 135 ; CL ₉₀ : 711 CL ₅₀ : 108 ; CL ₉₀ : 523 CL ₅₀ : 1092 ; CL ₉₀ : 2159	<i>Ae. aegypti</i> , <i>An. stephensi</i> <i>Cx. quinquefasciatus</i>	Bansal <i>et al.</i> (2015)
<i>Xanthium strumarium</i>	Graine	CL ₅₀ : 502 ; CL ₉₀ : 867 CL ₅₀ : 531 ; CL ₉₀ : 906	<i>Cx. pipiens</i> <i>Ae. caspius</i>	Al-Mekhlafi <i>et al.</i> (2017)
<i>Salicornia fruticosa</i>	Feuille	CL ₅₀ : 2,4 CL ₉₀ : 6,4	<i>Cx. pipiens</i>	Mahyoub <i>et al.</i> (2016)
<i>Ocimum basilicum</i>	Fleurs	CL ₅₀ : 679 CL ₉₀ : 1218	<i>An. stephensi</i>	Murugan <i>et al.</i> (2015)
	Feuille	CL ₅₀ : 46 CL ₉₀ : 105		
	Tige	CL ₅₀ : 32 CL ₉₀ : 69	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	Pavela (2008)
<i>Kelussia odoratissima</i> <i>Mozaffarian</i>	Fruit	CL ₅₀ : 27,42	<i>An. Stephensi</i> <i>Cx. pipiens</i>	Vatandoost <i>et al.</i> (2012)
<i>Ocimum basilicum</i>	Feuilles	CL ₅₀ : 6,87	<i>Ae. aegypti</i>	Sundararajan <i>et al.</i> (2018)
<i>Laurus nobilis</i>	Feuilles	CL ₅₀ : 49,00 CL ₉₀ : 111,00	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	Andrade-Ochoa <i>et al.</i> (2018)
<i>Allium sativum</i>	Bulbe	CL ₅₀ : 2,7 ; CL ₉₀ : 6,7 CL ₉₀ : 7,5 ; CL ₉₀ : 12,3	<i>Cx. restuans</i> <i>Cx. pipiens</i>	Muturi <i>et al.</i> (2018)
<i>Ferula asafoetida</i>	Tiges	CL ₅₀ : 10,1 ; CL ₉₀ : 15,4 CL ₉₀ : 13,5 ; CL ₉₀ : 18,4	<i>Cx. restuans</i> <i>Cx. pipiens</i>	
<i>Lippia berlandieri</i>	Feuilles	CL ₅₀ : 4,62	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	Andrade-Ochoa <i>et al.</i> (2018)
	Racines	CL ₅₀ : 6,21		

<i>Trachypemum ammi</i>	Fruits	CL ₅₀ : 17,6 CL ₅₀ : 18,9	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	Pavela <i>et al.</i> (2018)
<i>Clinopodium macrostemum</i>	Feuilles	CL ₅₀ : 6,62	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	Rojas-Olivos <i>et al.</i> (2018)
<i>Ruta chalepensis</i>	Feuilles	CL ₅₀ : 93,3	<i>Ae. albopictus</i>	Bedini <i>et al.</i> (2018)
<i>Piper retrofractum</i>	Fruits	CL ₅₀ : 0,9	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	Wiwattanawanichakun <i>et al.</i> (2018)
<i>Senecio laetus Edgew</i>	Racines	CL ₅₀ : 21,71 CL ₉₀ : 41,41	<i>An. stephensi</i> <i>Ae. aegypti</i>	Ali <i>et al.</i> (2018)
<i>Foeniculum vulgare</i>	Graines	CL ₅₀ : 40,00	<i>Cx. pipiens</i>	Zoubiri <i>et al.</i> (2014)
<i>Mentha suaveolens</i>	Feuilles	CL ₅₀ : 47,88 CL ₉₀ : 64,35	<i>Cx. pipiens</i>	Koliopoulos <i>et al.</i> (2010)
<i>Dipsacus asper Wallich ex Candolle</i>	Racines	CL ₅₀ : 56,29 CL ₅₀ : 47,59	<i>Ae. aegypti</i> <i>Cx. pipiens</i>	Lu <i>et al.</i> (2017)
<i>Ruta Chalepensis</i>	Feuilles	CL ₅₀ : 8,82 CL ₉₀ : 14,31	<i>Cs. longiareolata</i>	Benhissen <i>et al.</i> (2019)
<i>Bougainvillea glabra</i>	Feuilles	CL ₅₀ : 198,93 CL ₉₀ : 477,28	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	Vincent <i>et al.</i> (2017)
<i>Laurus nobilis</i>	Feuilles	CL ₅₀ : 45,52 ; CL ₉₀ : 118,80 CL ₅₀ : 52,62 ; CL ₉₀ : 127,80 CL ₅₀ : 38,60 ; CL ₉₀ : 88,56	<i>Cx. pipiens</i> <i>Cs. longiareolata</i> <i>Ae. caspius</i>	Guenez (2020)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Feuilles	CL ₅₀ : 51,33 CL ₉₀ : 86,77	<i>Cx. pipiens</i>	Zeghib <i>et al.</i> (2020)
<i>Petroselinum crispum</i>	Feuilles	CL ₅₀ : 40,65 ; CL ₉₀ : 68,33 CL ₅₀ : 24,45 ; CL ₉₀ : 32,57	<i>Cx. pipiens</i> <i>Cs. longiareolata</i>	Seghier <i>et al.</i> (2020)

Tableau 16. Activité ovicide de certaines plantes à l'égard des espèces de moustiques.

Plantes	Espèces	Dose (ppm)	Références
<i>Coleus aromaticus</i>	<i>An. stephensi</i>	40	Baranitharan <i>et al.</i> (2017)
	<i>Ae. aegypti</i>		
	<i>Cx. quinquefasciatus</i>		
<i>Citrus aurantifolia</i>	<i>Ae. aegypti</i>	4,84	Sarma <i>et al.</i> (2019)
<i>Asparagus racemosus</i>	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	300	Govindarajan & Sivakumar (2014)
	<i>Ae. aegypti</i>	375	
	<i>An. stephensi</i>	225	
<i>Carum copticum</i>	<i>Cx. pipiens</i>	150	Al-Mekhlafi (2018)
<i>Crataeva magna</i>	<i>An. Stephensi</i>	240	Veni <i>et al.</i> (2016)
	<i>Ae. aegypti</i>	320	
	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	400	
<i>Terminalia chebula</i>	<i>An. stephensi</i>	200	Veni <i>et al.</i> (2017)
	<i>Ae. aegypti</i>	250	
	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	300	
<i>Ageratum houstonianum</i>	<i>An. stephensi</i>	10	Tennyson <i>et al.</i> (2015)
<i>Albizia lebbeck</i>	<i>An. stephensi</i>	150	Govindarajan & Rajeswary (2015)

4.5. Effets sur le sex-ratio

Le Sex-ratio est un trait fondamental de la structure de la population, car il peut régir le potentiel reproducteur (Mourad *et al.*, 2004) et la variation du succès reproductif, en particulier pour les mâles lorsque les femelles sont le sexe limitant (Biddinger *et al.*, 2006). La détermination du sexe chez les moustiques est génétiquement contrôlée par deux allèles avec une fréquence prévue de 1 : 1 (Graham *et al.*, 2004), ce qui donne des proportions égales de mâles et de femelles à l'éclosion. Ces différences entre les sexes peuvent mener à la possibilité de réponses différentielles aux pressions environnementales, concurrentielles et prédatrices (Bedhomme *et al.*, 2003). Les effets sublétaux sont les changements biologiques, physiologiques et comportementaux des insectes survivants à la suite d'un contact avec une quantité sublétales d'insecticide (Lee, 2000 ; Desneux *et al.*, 2007 ; Biondi *et al.*, 2012).

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que l'application des différentes concentrations de l'HE sur les larves L4 de deux espèces de moustiques a provoqué l'émergence des femelles plus que les mâles. Des résultats similaires ont montré que le sex-ratio des adultes était significativement en faveur des mâles issus des œufs traités avec la CL₅₀ et la LC₉₀ du méthoxyfénozide (Hamaidia & Soltani, 2016). Dans les expériences menées par Klys (2012), les résultats ont montré des changements significatifs dans la structure sexuelle des insectes ravageurs des produits stockés (*Sitophilus oryzae*, *Rhyzopertha dominica* et *Oryzaephilus surinamensis*) suite à l'application des extraits de plantes qui a entraîné une augmentation de la proportion des mâles vivants par rapport aux femelles. Cette augmentation résulte d'une mortalité accrue chez les femelles de ces populations. Des distorsions du sex-ratio chez les mâles ont également été signalées dans des souches indiennes d'*A. Stephensi* traitées avec du fénitrothion, de la cyperméthrine et de la deltaméthrine (Priyalakshmi *et al.*, 1999). L'impact non significatif des insecticides sur le sex-ratio a été précédemment signalé chez *Cx. quinquefasciatus* traité par le malathion, le chlorpyrifos, le méthyl-pirimiphos, le propoxur et la resméthrine (Aguilera *et al.*, 1995) et d'autres espèces d'insectes (Suh *et al.*, 2000). Pour *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*, une distorsion du sex-ratio avec un biais masculin a été observé chez les traités au glyphosate, mais cet effet a été atténué chez les traités à l'atrazine (Bara *et al.*, 2014). Cependant, les différences de mortalités observées chez les larves mâles et femelles en réponse au stress environnemental peuvent entraîner des biais importants dans le sex-ratio (Lounibos & Escher, 2008). Le stress nutritionnel et thermique entraîne également un fort biais masculin chez les moustiques (Vinogradova, 2011 ; Alto *et al.*, 2012). De plus, l'exposition sublétales des larves de *Chironomus tentans* au DDT a entraîné un biais masculin significatif (Rakotondravelo *et al.*, 2006). Une autre méthode potentielle

pour supprimer ou éliminer les populations de moustiques consiste à induire un sex-ratio extrêmement biaisé par les mâles (Schliekelman *et al.*, 2005).

Les modifications génétiques peuvent entraîner un biais en faveur de la production de gamètes mâles en induisant une dégradation préférentielle du chromosome X pendant la méiose masculine. Cette dégradation empêche sa transmission à la génération suivante, ce qui donne des moustiques pleinement fertiles qui produisent plus de 95% de descendants mâles chez *An. gambiae* (Galizi *et al.*, 2014).

Les agonistes de l'hormone juvénile, affectent la signalisation chimique responsable de l'induction de la production de progéniture mâle, par exemple le méthyl farnesoate, le méthoprène, le pyriproxifène et le fénoxycarbe réduisaient la production de progéniture et produisaient des sex-ratios dominés par les daphnies mâles (Tatarazako *et al.*, 2003). Cette suggestion est confirmée par les travaux de d'Olmstead & Le Blanc (2002), qui ont rapporté que le pyriproxifène, le fénoxycarbe et d'autres agonistes de la JH peuvent agir sur des cibles moléculaires responsables de l'activation de la production masculine (Tatarazako *et al.*, 2003). L'exposition précoce de la *Drosophila melanogaster* à l'azadirachtine affecte le développement de l'adulte et un sex-ratio masculin biaisé (Ferdenache *et al.*, 2019). Les observations cytologiques ont indiqué que le biais du sex-ratio envers le mâle chez *Ae. meigen* est associé à une rupture préférentielle du chromosome X pendant la méiose masculine (Newton *et al.*, 1976). Les mécanismes moléculaires de la distorsion du sex-ratio ont été attribués à une endonucléase de référence hautement spécifique I-PpoI7, qui coupe une séquence conservée sur le chromosome X du moustique (*An. gambiae*) et des expériences ont indiqué que la majorité des embryons chez *An. gambiae* avaient été fécondés par des spermatozoïdes porteurs de Y (Windbichler *et al.*, 2007, 2008). Par contre, les extraits aqueux des feuilles et d'écorce de *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae) n'ont montré aucun effet sur le sex-ratio de *Spodoptera frugiperda* (Sâmia *et al.*, 2016). Les travaux de Shaalan *et al.* (2005) ont montré que le traitement avec un mélange contenant des insecticides et d'HE de *Callitris glaucophylla* n'affecte pas le sex ratio chez *Ae. aegypti* (Shoukat *et al.*, 2016).

4.6. Effet sur la durée de développement

Les métabolites secondaires de nombreuses plantes affectent la croissance et le développement de divers stades de la vie des moustiques, entraînant de nombreux effets, tels que la mortalité, les anomalies morphologiques, l'inhibition de la mue, le retard de développement nymphal et le prolongement de la durée des stades larvaires (Al-Mekhlafi *et al.*, 2020). Plusieurs anomalies du développement ont été signalées chez de nombreux insectes

à la suite du traitement par les extraits de plantes (Shazad *et al.*, 2018).

Après traitement des oeufs par l'HE de *L. nobilis*, on a noté un prolongement de la durée de développement larvaire chez *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata*. Des résultats similaires sont signalés par El-Sabrouit *et al.* (2020) qui ont montré que les huiles de *Cupressus macrocarpa* et *Callistemon viminalis* ont augmenté significativement la durée du développement des larves (19,70 et 16,26 jours respectivement vs 10,63 jours chez les témoins) et des nymphes de *Cx. pipiens*, tandis que la longévité des adultes a considérablement diminué. Les mêmes effets ont été signalés chez *Ae. aegypti* traité par les extraits de *Vitex negundo* et *Acalypha alnifolia* (Kamalakaran *et al.*, 2015), et chez *Cx. quinquefasciatus* traité par l'extrait des feuilles de *Pseudocalymma alliaceum* et l'extrait méthanolique des fleurs de *Lavandula officinalis* (Granados-Echegoyen *et al.*, 2014 ; El-Bokl, 2016). De plus, Il a été rapporté que le traitement avec l'huile d'oliban, de fenugrec, d'oignon, de sésame et de nigelle induit une prolongation significative des périodes de développement larvaire chez *Cx. pipiens* (Khater, 2003). Les travaux d'Al-Mekhlafi *et al.* (2020) ont montré que les extraits de fleurs de *M. chamomilla* prolongent la durée de développement larvaire chez *Cx. pipiens* (5 jours) comparativement aux témoins. Zahran & Abdelgaleil (2011) ont trouvé que le traitement avec le Carvone, le Cuminaldéhyde et le Limonène augmente la durée de développement nymphal de *Cx. pipiens* de 3 à 4 jours de plus que les témoins. Le neem a également induit un prolongement de la durée des stades larvaires chez *Cx. quinquefasciatus* (Singh, 1996) et chez *An. stephensi* (Murugan *et al.*, 1996 ; Su & Mulla, 1999). Les travaux de Granados-Echegoyen *et al.* (2014 ; 2015) ont montré un prolongement de la durée de développement de *Cx. quinquefasciatus* traité à l'huile de *Persea Americana* et aux extraits de *Pseudocalymma alliaceum*.

L'allongement des périodes de développement causé par les extraits de plantes et les huiles essentielles explique leur activité de régulation de la croissance des insectes (Khater 2003 ; Sivagnaname & Kalyanasundaram 2004 ; Khater & Shalaby 2008). Shaalan *et al.* (2005) ont montré que les métabolites secondaires de nombreuses espèces végétales révèlent des effets sur la croissance et le développement de divers stades de la vie des moustiques, provoquant un large éventail d'effets tels que le prolongement du développement larvaire et nymphal, l'inhibition de la mue, les anomalies morphologiques et la mortalité. Sendi & Ebadollahi, (2014) ont remarqué que l'HE de *Cymbopogon schoenanthus* a induit une inhibition du développement à tous les stades de *C. maculatus*. L'application des HEs de *Trachyspermum ammi*, *Anethum graveolens* et *Nigella sativa* par fumigation sur *T. castaneum* a provoqué l'inhibition de développement des larves aux pupes et des pupes aux adultes (Chaubey, 2007).

Chapman (1998) a constaté que la mue et la métamorphose des insectes dépend de plusieurs hormones de croissance. L'effet régulateur de la croissance des insectes est attribué aux composés qui imitent l'hormone juvénile des arthropodes (Mulla, 1991), en retardant ou en prolongeant leur développement ou en provoquant des malformations qui entraînent la mort de l'insecte.

4.7. Les aberrations morphologiques

Les HEs et leurs constituants perturbent l'équilibre endocrinologique des insectes. Elles ont induit une neurotoxicité via divers mécanismes perturbant ainsi le processus normal de la morphogénèse (Chantawee & Soonwera, 2018).

Rocha *et al.* (2015) ont rapporté des changements morphologiques des papilles anales chez les larves d'*Ae. aegypti* exposées à certaines HEs et les principaux constituants chimiques tels que le Limonène. Après contact avec ce composé, une accumulation de pigmentation foncée a été observée sur tout le thorax et la base des papilles anales étendues à la région apex. Les mêmes observations ont été faites par Chantawee & Soonwera (2018) après traitement des larves d'*Ae. aegypti* par les HEs de quatre plantes, *Alpinia galanga*, *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* et *Pimpinella anisum*. La diminution de l'épaisseur de l'exosquelette peut être liée à une diminution de la synthèse de la chitine (Merzendorfer & Zimoch, 2003). Nos résultats corroborent avec ceux déjà rapportés par d'autres chercheurs, révélant des changements morphologiques similaires tels que la pigmentation de la tête et de l'abdomen, la déformation du corps, et rétrécissement de la cuticule.

Ces résultats sont en accord avec les recherches d'Osman *et al.* (2020) qui ont montré que l'*Eucalyptus. globulus* et *Ocimum basilicum* pouvaient provoquer une malformation importante des antennes larvaires, du siphon et des pièces buccales des adultes de *Cx. pipiens*. Plusieurs auteurs ont rapporté des aberrations morphologiques induites par des extraits de plantes chez les larves de moustiques. Chez *Ae. aegypti*, l'extrait de *Trichodesma indicum* et ses dérivés chimiques affectent gravement la tête, le thorax, la lumière intestinale et les segments (Chellappandian *et al.*, 2019). Le traitement des larves par *Spathodea campanulata* induit une déchitinisation, un endommagement des voies digestives et un blocage des larves dans leurs exuvies (Saranya *et al.*, 2013). De plus, les larves d'*Ae. albopictus* et *Ae. aegypti* traitées avec l'extrait d'*Ipomoea cairica* ont montré un assombrissement et un noircissement de l'abdomen (AhbiRami *et al.*, 2014).

Après exposition à l'HE de *Schinus terebinthifolia*, les segments du corps des larves de *Stegomyia aegypti* présentaient des altérations suivantes : perte des touffes de soies;

diminution de l'épaisseur de l'exosquelette et perte d'intégrité de la membrane pérित्रophique, (Pratti *et al.*, 2015). Par ailleurs, les HEs de *Salvia officinalis* et de *Thymus vulgaris* ont causé des malformations chez les larves, les pupes et les adultes de *Spodoptera littoralis* (Wahba & Gaballa, 2019). De plus, le géraniol et le camphène ont provoqué des malformations chez les pupes et les adultes de *Tribolium confusum* et *Rhynchophorus ferrugineus* (Stamopoulos *et al.*, 2007 ; Sharaby, 2016). Chaithong *et al.* (2006) ont montré que l'application des extraits de plantes sur les larves de moustiques entraîne une déformation des papilles anales, réduisant ainsi l'absorption des ions du milieu aquatique et perturbant la régulation osmotique. Les perturbations des concentrations d'ions affectent le taux de survie du moustique et que le déséquilibre ionique qui en résulte crée une condition nocive pour les larves (Chaithong *et al.*, 2006, Warikoo & Kumar, 2013). Les malformations morphologiques des larves de moustiques en développement ont pour effet de perturber les hormones de régulation de la croissance entraînant leur mortalité (Palanikumar *et al.*, 2017).

Les HEs de *C. citratus* et *S. aromaticum* appliquées sur les larves d'*Ae. aegypti* et d'*An. dirus* ont induit un allongement du cou, un gonflement du thorax et absence des touffes (Soonwera & Phasomkusolsil, 2016). L'étude microphotographique réalisée par Warikoo & Kumar (2013) a montré un rétrécissement des papilles anales et une rupture des plaques de stigmathe chez les larves d'*Ae. aegypti* traitées avec l'huile d'*Argemone mexicana*. Cette rupture provoque la destruction de la surface hydrophobe de ces stigmates, entraînant l'entrée d'eau dans le tronc trachéal, ce qui nuit au système respiratoire des larves (Yu *et al.*, 2015). Ces aberrations structurales étaient similaires à celles observées par Araújo *et al.* (2020) et Sarquis *et al.* (2020).

4.8. Effet sur les biomarqueurs

Les extraits de plantes pénètrent dans les tissus et les organes des insectes cibles et affectent l'activité de diverses enzymes détoxifiantes (Mathews *et al.*, 2010). Pour réussir leur mission insecticide, les molécules toxiques doivent tout d'abord traverser l'exosquelette du moustique, particulièrement la cuticule pour atteindre le site cible. Afin de survivre, les moustiques ont développé un mécanisme qui permet de réduire la pénétration du composé insecticide (Wang, 2018) (Fig. 33).

Une fois en contact avec des molécules insecticides, trois familles majeures de gènes de détoxifications métaboliques seront activées et impliquées dans le processus de biodégradation, ce sont les cytochromes P450 mono-oxygénases, carboxyl/cholinestérases, et glutathion S-transférases (Hemingway *et al.*, 2004). L'insecticide est reconnu comme une

substance étrangère au moustique comme pour les autres organismes vivants, celui-ci va être métabolisé et évacué par des enzymes en trois phases. Les enzymes de la phase I dites de fonctionnalisation, y compris les cytochromes P450 et carboxyl/cholinestérases, catalysent essentiellement les réactions d'oxydo-réduction et d'hydrolyse pour les insecticides hydrophobes. L'introduction de groupements fonctionnels augmente la solubilité dans l'eau et permet, soit leur stockage loin des tissus sensibles, soit leur excrétion. Ces métabolites issus des xénobiotiques peuvent être pris en charge par les enzymes impliquées dans la phase II; dites de conjugaison (glutathion-S-transférases). Les réactions de la phase II, ou réactions de conjugaisons, permettent la combinaison des groupements fonctionnels ainsi introduits ou des groupements préexistants, avec des métabolites endogènes fortement hydrophiles (glycosides, glutathion ou acides aminés), ce qui en favorise l'excrétion. Finalement, les transporteurs de la phase III, transportent les dérivés, en vue de leur élimination de la cellule (Guéguen *et al.*, 2006 ; Ramsey *et al.*, 2010). La détermination des capacités inhibitrices des composés exogènes sur l'activité des enzymes dans le corps de l'insecte est une méthode importante pour évaluer les activités insecticides de ces composés (Li *et al.*, 2007 ; Tatun *et al.*, 2014 a et b).

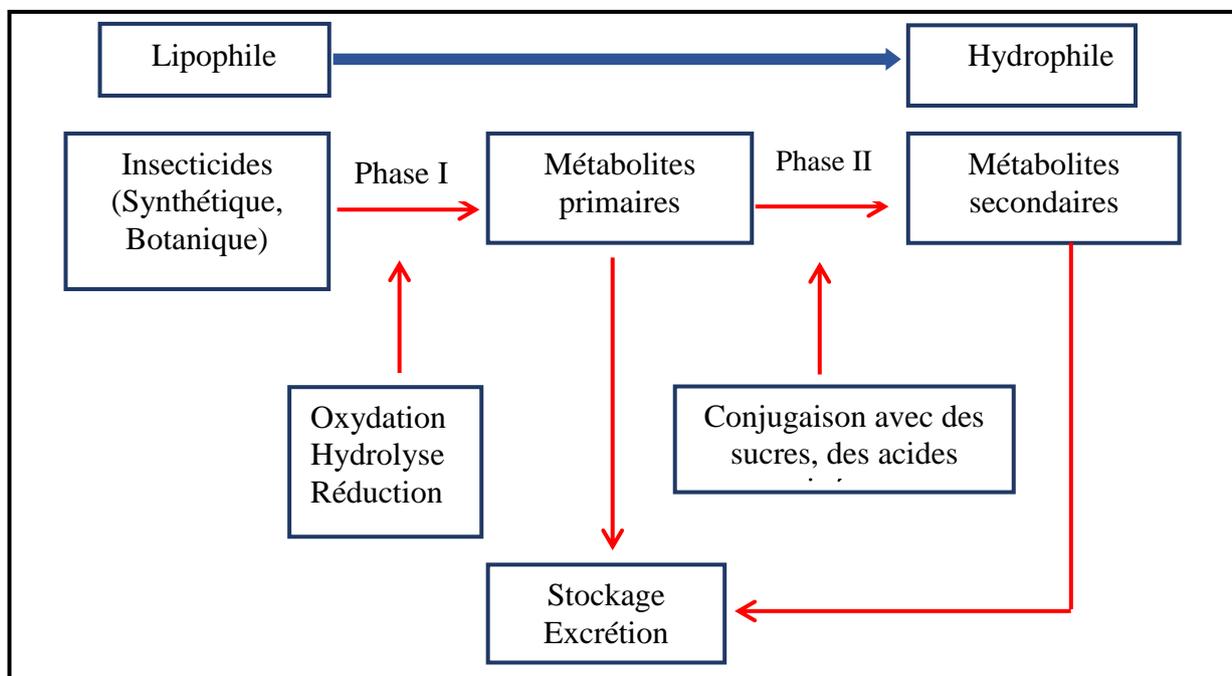


Figure 33. Processus biochimiques mis en œuvre pour métaboliser les substances toxiques absorbées par l'insecte (Haubruge & Amichot, 1998).

4.8.1. Effet sur l'activité enzymatique de l'AChE

L'AChE connue comme enzyme cible pour les produits de lutte contre les insectes, joue un rôle important dans le maintien de la transmission normale des impulsions neuronales dans la fente synaptique (Bezerra da Silva *et al.*, 2016 ; Kim *et al.*, 2015). Le rôle de cette enzyme est d'hydrolyser l'acétylcholine en acétate et en choline afin de stopper la stimulation du récepteur et par conséquent la repolarisation de la membrane (Soreq & Zakut, 1993 ; Charpentier *et al.*, 2000). L'inhibition de l'enzyme par de nombreux toxiques entraîne une accumulation du médiateur chimique dans l'espace synaptique, ce qui va maintenir une transmission permanente de l'influx nerveux, conduisant généralement à la mort de l'insecte par tétanie (Badilla, 1995 ; Bocquené, 1996 ; Bainy, 2000).

De plus, les monoterpènes abondamment présents dans les HEs, sont de nature lipophile et peuvent interférer avec les fonctions métaboliques, biochimiques, physiologiques et comportementales des insectes (Brattsten *et al.*, 1983 ; Mann & Kaufman, 2012). En raison de leurs produits chimiques bioactifs, les HEs de plantes aromatiques agissent sur le système nerveux des insectes (Abdullah *et al.*, 2015 ; El-Wakeil, 2013). Le niveau élevé d'estérase chez diverses espèces d'insectes, y compris les moustiques, a été principalement associé au phénomène de résistance contre les composés insecticides (Brogdon & McAllister, 1998 ; Polson *et al.*, 2011).

L'analyse des résultats de l'activité spécifique de l'AChE chez les larves L4 de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens*, traitées par l'HE de *L. nobilis* à la CL₂₅ et la CL₅₀ à différents temps : 24, 48 et 72 heures, révèle une diminution significative de ce biomarqueur comparativement aux témoins. Cette diminution est probablement due à l'inhibition de cette enzyme par l'HE. L'application de certaines HEs ou leurs constituants purifiés a provoqué des symptômes tels l'hyperactivité, les convulsions et les tremblements suivis de paralysie, ce qui prouve leur mode d'action neurotoxique. Ces symptômes manifestés sont similaires à ceux produits par les organophosphorés et les carbamates (Chintalchere *et al.*, 2020 b). Plusieurs monoterpènes des HEs agissent comme étant des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (Ryan & Byrne, 1988).

Des résultats similaires ont été signalés par Dris (2018), qui a observé une diminution de l'activité de l'AChE chez *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* après traitement avec les HEs de trois plantes, *Mentha piperita*, *Ocimum basilicum* et *Lavandula dentata*. Des travaux récents réalisés sur les HEs extraites de *Mentha pulegium* et *L. nobilis* ont montré une inhibition de

l'activité de l'AChE chez trois espèces de moustiques, *Cx. pipiens*, *Cs. longiareolata* et *Ae. caspius* (Guenez, 2020). Par contre, aucun effet n'a été signalé chez *Cx. pipiens* traité par *Origanum vulgare* et *Thymus vulgaris* (Bouguerra, 2019).

Nos résultats sont également similaires à ceux obtenus par Kharoubi *et al.* (2020), qui montrent que les HEs de *Mentha rotundifolia* présentent une activité anti-acétylcholinestérase à l'égard de *Cx. pipiens*. Rattan (2010) a examiné le mécanisme d'action des HEs chez les insectes et a signalé des perturbations physiologiques, telles que l'inhibition de l'AChE, des perturbations moléculaires de la morphogénèse et l'altération du comportement et du système cholinergique. Il attribue ces effets à l'interférence des HEs avec les chaînes d'ions localisées sur la membrane des nerfs, au cours de la liaison de ces insecticides à l'enzyme (Alves *et al.*, 2018). Par ailleurs, certains insecticides dérivés de groupes de phénols peuvent se lier au centre stérique de l'AChE, en inhibant son activité, et provoquant ainsi une augmentation de l'acétylcholine dans les terminaisons nerveuses. Cette accumulation induit une stimulation continue du système nerveux central ce qui conduit à la paralysie et la mort de l'insecte (Rajashekar *et al.*, 2014) (Fig. 34).

De nombreux métabolites secondaires tels que les HEs et les monoterpènes des plantes aromatiques sont connus pour inhiber l'activité de l'AChE des insectes (Nathan *et al.*, 2008). Ferreira *et al.* (2006) rapportent que les extraits de *L. nobilis* provoquent une inhibition de l'activité de l'AChE *in vitro* de l'ordre de 64%. De plus, l'application de l'HE de *L. nobilis* (CL₅₀) induit des effets neurotoxiques en inhibant l'activité de l'AChE chez les larves de *M. domestica* après 24 h de traitement (Chintalchere *et al.*, 2020a). Certains monoterpènes modifient les fonctions physiologiques par inhibition de l'acétylcholinestérase chez les mouches domestiques et les cafards (Ryan & Byrne, 1988). Les effets toxiques exercés par l'HE de *L. nobilis* pourraient être attribués aux constituants toxiques comme l'Eugénol, le Linalol, le Myrcène et d'autres composés phénoliques qui y sont présents (Chintalchere *et al.*, 2020 a).

Rajashekar *et al.* (2014) ont montré également une inhibition de l'AChE chez *M. domestica* traité par l'extrait de *Lantana camara*. Ces résultats concordent également avec d'autres études qui ont démontré une réduction de l'activité enzymatique après exposition de différents ravageurs à plusieurs HEs (Liu *et al.*, 2014 ; Waliwitiya *et al.*, 2012). Par conséquent, pour concevoir une stratégie de lutte biologique, il devient impératif de comprendre l'interaction du pesticide avec l'AChE de l'organisme cible (Chintalchere *et al.*, 2020a). Une étude réalisée

par Oboh *et al.* (2017) révèle l'efficacité de l'HE de *Citrus sinensis* contre *Tribolium confusum*, *Callosobruchus maculatus* et *S. oryzae* et qui est associée à ses effets inhibiteurs sur l'activité acétylcholinestérase et Na^+ / K^+ -ATPase. Makarem *et al.* (2015) ont signalé une diminution significative de l'activité de l'AChE chez *Sitophilus granarius* après traitement par l'huile d'anis. Par ailleurs, Abdelgaleil *et al.* (2016) ont montré l'effet inhibiteur des HEs de différentes plantes sur l'activité de l'AChE chez le charançon du riz (*Sitophilus oryzae*) et ils ont trouvé que l'huile d'*Artemisia judaica* (Asteraceae) a un effet plus marqué par rapport à aux huiles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) et d'*Origanum vulgare*. L'activité spécifique de l'AChE a également diminué chez les larves de *Cx. quinquefasciatus* après exposition à l'huile extraite des feuilles de *Baccharis dracunculifolia* (Alves *et al.*, 2019).

De nombreux travaux ont montré que les HEs et leurs monoterpènes tels que le Géraniol, 3-Carène, α -Caryophyllène, Limonène, Terpène-4-ol et Eucalyptol, inhibent l'activité de l'AChE (Howes & Houghton, 2003 ; Mukherjee *et al.*, 2007 ; Siramon *et al.*, 2009). Ils ont signalé également la sensibilité du site actif hydrophobe de l'AChE aux interactions hydrophobes, favorisant ainsi leur liaison avec plusieurs monoterpènes cycliques tels que l'Eucalyptol et l' α -Pinène et acycliques tels que le Géraniol et le Linalool, qui sont constitués d'un squelette hydrocarboné hydrophobe, et qui peut contribuer à leur activité anti-cholinestérase.

Des recherches récentes ont montré l'interférence des monoterpènes avec l'activité de l'AChE chez les insectes (Chaubey, 2012a et b). Le 1,8-Cinéole (Eucalyptol), s'est révélé un puissant inhibiteur de l'activité de l'AChE chez les insectes (Houghton *et al.*, 2006 ; Picollo *et al.*, 2008 ; Abdelgaleil *et al.*, 2009) ; cela pourrait expliquer l'effet inhibiteur de l'huile de *L. nobilis* sur l'activité de cette enzyme dans la présente étude. La corrélation entre le degré d'inhibition enzymatique de l'AChE et la toxicité de l'huile indique que cette enzyme est une cible principale pour les HEs. Cependant, Kostyukovsky *et al.* (2002) ont constaté que les HEs se lient à l'AChE et les récepteurs de l'octopamine chez les insectes et que la deuxième est la principale cible pour ces huiles (Enan, 2001 ; 2005).

Pradeepa *et al.* (2016) ont montré que le Fenchone, S-Carvone et Linalool ont montré une inhibition élevée de l'enzyme AChE. Il a été rapporté que les HEs et les monoterpènes (α et β -Pinène, Linalool, Thujène, Myrcène, Acétate de géranyle et Formiate de géranyle) agissent comme inhibiteurs compétitifs réversibles de l'AChE chez différentes espèces d'insectes (Picollo *et al.*, 2008 ; Owokotomo *et al.*, 2015). Cela suggère la possibilité d'une synergie entre les composants bioactifs prédominants pour provoquer une inhibition de l'activité de l'AChE indépendamment des composés actifs mineurs (Owokotomo *et al.*, 2015). Cette

constatation a été faite par Seo *et al.* (2015) et Zarrad *et al.* (2015) qui ont rapporté que le α -Pinène montrait une activité hautement inhibitrice de l'AChE chez *Ae. albopictus* de 97,36%. De plus, différents monoterpènes tels que le Thymol, Linalool, Menthol, Camphre, Carvone, Bornéol se lient aux récepteurs GABA chez les insectes, et se sont révélés être des modulateurs allostériques positifs de ces récepteurs (Tong, 2010). De plus, le 1,8-Cinéole agit comme un inhibiteur de l'AChE et bloque la voie du récepteur de l'octopamine chez *Ae. aegypti* (Khanikor *et al.*, 2013). Le mécanisme par lequel ces métabolites secondaires des plantes agissent sur la neurotransmission reste encore mal expliqué (Park, 2014). Les travaux réalisés par Lee & Ahn (2013) sur *Pinus densiflora* contre les larves L3 d'*Ae. albopictus*, *Ae. aegypti* et *Cx. pipiens pallens* ont montré qu'il existe une corrélation notable entre l'activité larvicide et l'activité inhibitrice de l'AChE (Kiran & Prakash, 2015). Par ailleurs, l'activité inhibitrice de l'AChE la plus élevée a été observée avec les HEs d'*Ocimum canum* et *Hyptis suaveolens* contre *An. gambiae* (Wangrawa *et al.*, 2015). L'HE de *Salvia officinalis* a induit une altération de l'activité AChE chez les larves L3 et L4 d'*Ae. aegypti* qui entraîne la mortalité des individus, en bloquant les fonctions cholinergiques des insectes (Castillo-Morales *et al.*, 2019). Les effets systémiques sur l'émetteur principal des neurones, l'acétylcholinestérase a été significativement réduites en analyse quantitative chez *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* et *Culex quinquefasciatus* après traitement par l'extrait de *Annona muricata* (Parthiban *et al.*, 2020). Les flavonoïdes, chromone 1 et 2 extraits des noyaux du palmier dattier présentaient une grande inhibition de l'AChE de l'ordre de -61,48 et -60,45% respectivement contre les larves L3 de *Cx. pipiens* (Hussein *et al.*, 2018). Les mêmes observations ont été enregistrées chez *Tribolium confusum* traité à l'huile de *S. officinalis* (Abdellaoui *et al.*, 2017). Bessette *et al.* (2013) ont montré que les HEs peuvent pénétrer à travers la cuticule des insectes et entrer en contact avec les terminaisons nerveuses de la trachée des invertébrés nuisibles, et provoquer une activité neurotoxique et une mort plus rapide (Abdellaoui *et al.*, 2017). Pavela & Benelli (2016) ont cité plusieurs modes d'actions des HEs comme l'inhibition des cytochromes P450, des récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), l'inhibition du système cholinergique et la modulation du système octopaminergique.

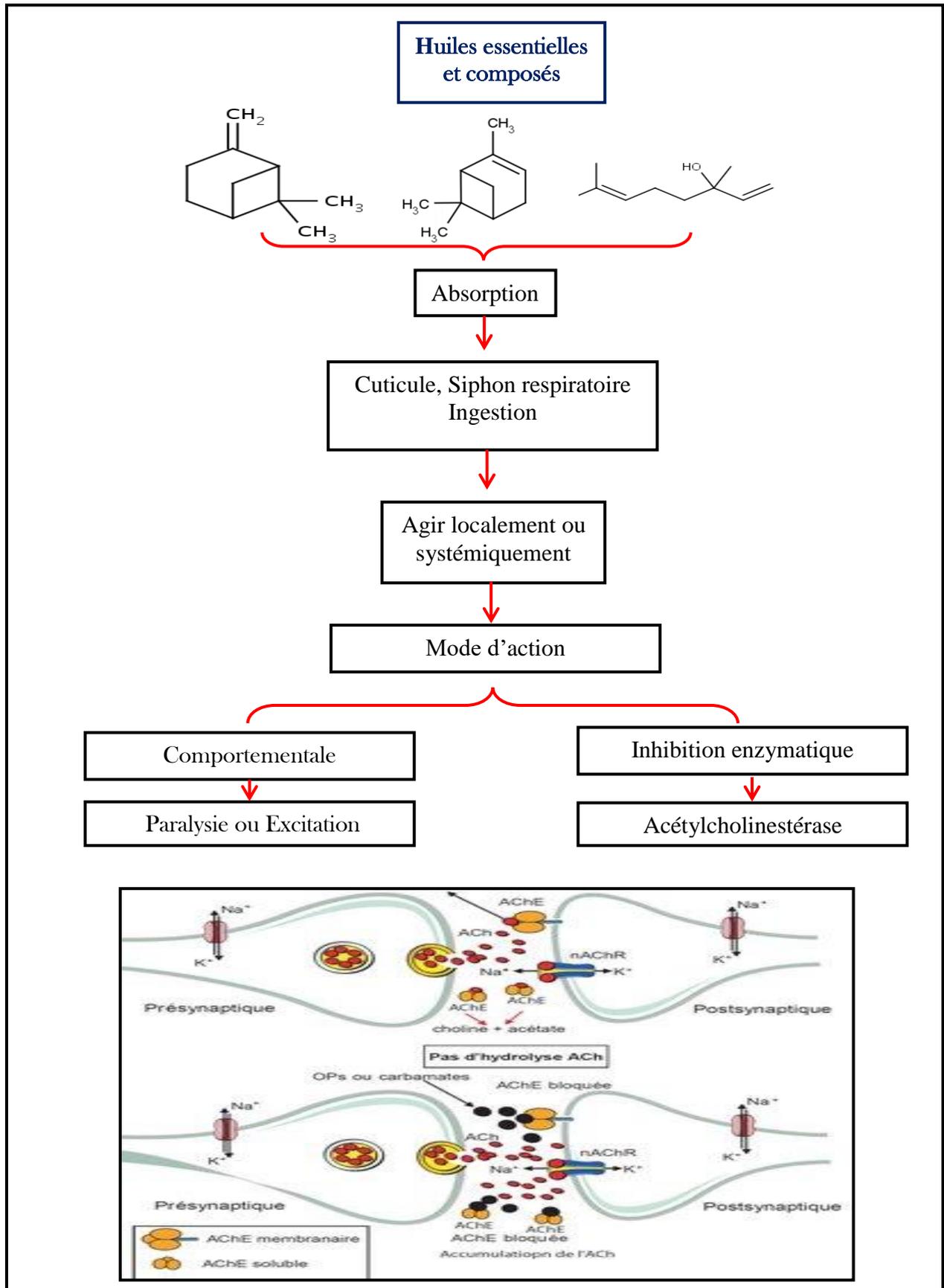


Figure 34. Site cible de l'insecticide (David *et al.*, 2013 ; Luz *et al.*, 2020).

4.8.2. Effet sur l'activité spécifique des GSTs

Les glutathion S-transférases représentent une superfamille d'enzymes multifonctionnelles actives de la phase II du métabolisme des xénobiotiques (Ayedi *et al.*, 2015). Elles sont impliquées dans le transport intracellulaire, la biosynthèse d'hormones et jouent un rôle protecteur contre le stress oxydatif car elles catalysent principalement une réaction de conjugaison qui permet d'associer le substrat au groupement thiol de la molécule de glutathion réduit (GSH). Cette conjugaison neutralise les sites électrophiles des substrats pour protéger les différents composés de la cellule (Enayati *et al.*, 2005). Elle rend également le substrat hydrosoluble et favorise son excrétion ou sa dégradation rapide (Isman, 2000 ; Ramsey *et al.*, 2010, Ebadollahi, 2011 ; Mojarab-Mahboubkar *et al.*, 2015). Les GSTs sont impliquées dans la détoxification des xénobiotiques et la résistance chez de nombreuses espèces d'insectes contre divers insecticides (Ayedi *et al.*, 2015).

La détermination de l'activité spécifique des GSTs chez les larves 4 de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* traitées à l'HE de *L. nobilis* a révélé une remarquable activation de cette enzyme. Cela peut être expliqué par l'implication de cette enzyme de la phase II dans la biotransformation des molécules bioactives de cette huile. Des résultats similaires ont été obtenus par de nombreux auteurs. L'induction des GSTs a été également signalée chez *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* traités au basilic, à la lavande et à la menthe (Dris, 2018), chez *Cx. pipiens* traité au Thym et à l'Origan (Bouguerra, 2019), chez *Cx. pipiens*, *Cs. longiareolata* et *Ae. caspius* traités à la Menthe (Kharoubi *et al.*, 2020), la menthe pouliot et le Laurier (Guenez, 2020), et chez *Ae. aegypti* traité au *Piper betle* (Vasanth-Srinivasan *et al.*, 2017), Chez *Cx. pipiens* traités aux HEs de *Mentha rotundifolia* et *Trichodesma indicum* (Chellappandian *et al.*, 2019) et à l'huile de *Sphaeranthus amaranthoides* (Thanigaivel *et al.*, 2019). L'étude menée par Intirach *et al.* (2019) a montré une augmentation de l'activité des GSTs chez *Ae. aegypti* suite à une exposition à l'HE de *Petroselinum crispum*. Badawy *et al.* (2018) ont rapporté une induction de l'activité de cette enzyme suite au traitement de *Cx. pipiens* par *Citrus reticulata* et *Citrus sinensis*. Par contre, les GSTs des larves d'*Ae. aegypti* ont marqué une diminution suite au traitement à l'extrait méthanolique de *Cynadon dactylon* et *Spilanthes acmella* (Swargiary *et al.*, 2019). Les travaux de Karthi *et al.* (2020) ont montré que l'extrait acétonique d'*Avicennia marina* induit une activation du système de détoxification des GSTs chez les larves L3 de trois espèces de moustiques : *Cx. quinquefasciatus*, *An. stephensi* et *Ae. aegypti*. Une augmentation de l'activité des GSTs est signalée chez *Xanthogaleruca luteola* traitée à l'huile de neem (Valizadeh *et al.*, 2013) ; chez *Zonocerus*

variegatus exposé à l'extrait d'*Ocimum gratissimum* (Adeyi *et al.*, 2015) ; chez *Glyphodes pyloalis* traitée à l'extrait d'*Artemisia annua* (Khosravi *et al.*, 2011), et chez *Drosophila melanogaster* exposée à l'HE de *Psidium guajava* (Pinho *et al.*, 2014 a). De plus, les larves d'*Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* ont montré une augmentation des glutathione-S-transférases (GSTs) après traitement à l'huile d'*Arisaema fargesii* (Huang *et al.*, 2020). Des études récentes suggèrent que la toxicité des HEs peut être associée aux dommages oxydatifs des tissus d'insectes (Ramsey *et al.*, 2010). En effet, l'HE de cannelle a produit une induction de l'activité des glutathione S-transférases par rapport aux huiles de Muscade et de Cardamome chez *Tribolium castaneum* et *Callosobruchus maculatus* (Tarigan & Harahap 2016). De plus, l'huile d'*Artemisia dracunculus* a provoqué une augmentation de l'activité des GSTs chez *Tribolium castaneum* (Shojaei *et al.*, 2017), ce qui conduit à un métabolisme rapide des insecticides avant qu'ils n'atteignent ses sites d'action (David *et al.*, 2013 ; Hemingway *et al.*, 2004). Par contre, Mojarab-Mahboubkar *et al.* (2015) ont rapporté que l'extrait d'*Artemisia annua* diminuait l'activité de cette enzyme chez les larves d'*Helicoverpa armigera*. Les travaux d'Adeyi *et al.* (2015) ont montré une augmentation de l'activité des GSTs chez *Zonocerus variegatus* (Orthoptera : Pyrgomorphidae) exposée aux insecticides synthétiques et botaniques. De plus, ces mêmes auteurs ont constaté que cette activité est plus élevée chez les insectes morts que chez les insectes survivants. La détoxification métabolique des xénobiotiques par les GSTs chez les insectes a été attribuée à la conjugaison à la GSH et l'activité du GSH peroxydase (Yang *et al.*, 2001).

Plusieurs travaux ont révélé la corrélation entre la GST et la résistance aux insecticides chez certaines espèces d'orthoptères telles que *Achaea janata* (Yadwad & Kallapur, 1988), *Spodoptera litura* (Wu & Lu, 2008), *Spodoptera exigua* (Rizwan-ul-Haq *et al.*, 2010) et *Locusta migratoria* (Qin *et al.*, 2011). Ramsey *et al.* (2010) ont suggéré que les effets létaux des métabolites secondaires des plantes sur les insectes sont liés à l'induction ou à l'inhibition des niveaux de GSTs. L'augmentation de l'activité de ce biomarqueur dans la présente étude pourrait être corrélée avec le niveau réduit du GSH (Maharajan *et al.*, 2018). Par contre War *et al.* (2014) ont signalé une diminution de l'activité de cette enzyme dans le corps adipeux d'*Helicoverpa armigera* après avoir été traité avec l'huile extraite de Neem (*Azadirachta indica*). Une réduction de l'activité des GSTs a été également 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 d'*Agastache foeniculum* (Ebadoallahi *et al.*, 2013), les larves de *Cx. quinquefasciatus* traitées à l'HE de *Citrus grandis* (Mahanta *et al.*, 2017) et les larves de *Tribolium castaneum* traitées

aux HEs de six plantes : *Allium sativum*, *Mentha piperita*, *Ocimum basilicum* ; *Thymus vulgaris*, *Sesamum Indicum* et *Chamaemelum nobile*) (El-Aziz & El-Sayed, 2009). L'exposition des mouches adultes de *Drosophila melanogaster* aux extraits hydroalcooliques des feuilles de *Duguetia furfuracea* provoque des altérations de l'activité des GSTs (Pinho *et al.*, 2014 b). Une forte induction de la GST a été également notée chez les larves de *Glyphode pyloalis* après traitement à l'huile de lavande (Yazdani *et al.*, 2013). De plus, Kumrungsee *et al.* (2014) ont démontré des augmentations significatives de l'activité de la GST chez les larves de *Plutella xylostella* traitées au thymol et au 1,8-cinéole. En revanche, certaines études ont montré une inhibition de la GST chez les insectes après un traitement aux HEs (Li *et al.*, 2013 ; Abdelgaleil *et al.*, 2016). Des résultats similaires ont été observés par Zhou *et al.* (2016) chez *Myzus persicae* traité avec différentes concentrations d'extraits d'*Illicium verum*. L'activité de la glutathion-S-transférase a augmenté de manière significative chez *Tetranychus urticae* après traitement avec la CL₅₀ de l'HE de la camomille et la marjolaine. Mahanta *et al.* (2020) ont montré que le mélange d'huile d'*Allium sativum* et d'*Ocimum sanctum* possède un potentiel larvicide très élevé, traduit par une faible activité des glutathion-S-transférases (GSTs) chez les larves de *Cx. quinquefasciatus*. Mahanta *et al.* (2017) ont constaté que le niveau des GSTs varie selon le stade de développement de l'insecte, de leur capacité de détoxification, et de leur habitat. La variation de cette activité peut être responsable de la toxicité sélective des insecticides et du développement de résistance (Mahanta *et al.*, 2020). De même, de nombreux auteurs ont également signalé l'implication des GSTs dans le développement de la résistance chez différentes espèces de moustiques (Ebadollahi *et al.*, 2013 ; Safi *et al.*, 2017).

4.8.3. Effet sur le taux du GSH

L'activation ou l'inhibition du système antioxydant sous l'effet d'un produit toxique ou un polluant dépendent de la durée d'exposition à ces derniers et de la sensibilité de l'espèce exposée (Ferrat *et al.*, 2002 ; Larose *et al.*, 2008 ; Regoli, 1998). L'induction du système de défense antioxydant peut être considérée comme une adaptation de l'organisme à un environnement pollué (Droge, 2002).

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 GSH est l'un des tripeptides les plus abondants. Ses fonctions sont principalement concernées par la neutralisation de radicaux libres tels que H₂O₂ et radicaux superoxyde (Fang *et al.*, 2002 ;

Ogeturk *et al.*, 2005). Le glutathion constitue la première ligne de défense contre les espèces réactives d'oxygène (Valenzuela *et al.*, 1989 ; Ogeturka *et al.*, 2005). Cependant, ces processus de défense sont efficaces lorsqu'ils sont supplémentés par le pouvoir antioxydant des principes actifs des plantes (Zerargui, 2015). Le GSH est une molécule antioxydante non enzymatique et sa quantité pourrait refléter le potentiel antioxydant d'un organisme (Ravindranath & Reed, 1990). Elle est impliquée dans le métabolisme de la phase II via l'activité de la GST et dans les défenses antioxydantes par rapport à sa capacité redox par les activités de la GST et GPx (Lackner, 1998 ; Saint-Denis *et al.*, 1999 ; Lei *et al.*, 2003). De plus, le rapport GSH/GSSG est un indicateur important pour estimer la capacité antioxydante dans les tissus d'insectes (Paulino *et al.*, 2012). Les espèces réactives de l'oxygène peuvent provoquer une peroxydation lipidique qui réduit la disponibilité du glutathion par la constitution de 4-hydroxyalcénals (Ålin *et al.*, 1985), donc la réduction du taux de glutathion (GSH) indique également un oxydant stress (Lalouette *et al.*, 2011).

L'analyse des résultats obtenus au cours de nos expérimentations, révèle une diminution significative du taux du GSH chez les larves L4 de *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* traitées à l'huile de *L. nobilis*. La diminution du glutathion peut être expliquée par une consommation accrue de ce cofacteur par les GSTs afin de détoxifier ce biopesticide. Cette diminution a été également signalée chez les mêmes espèces traitées aux HEs de trois plantes, *Lavandula dentata*, *Mentha piperita* et *Ocimum basilicum* (Dris, 2018), chez *Cx. pipiens* traité par les HEs de *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* (Bouguerra, 2019) et chez les larves de *Culex*, *Culiseta* et *Aedes* traitées aux huiles de *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis* (Guenez, 2020). Une réduction du niveau de glutathion réduit (GSH) a été observée chez *Tribolium castaneum* traité à l'HE d'*Artemisia annua* (Deb & Kumar, 2020), chez *Sitophilus oryzae* et *Oryzaephilus surinamensis* traités à l'HE de *Rosmarinus officinalis* (Kiran & Prakash, 2015) et chez *Rhipicephalus annulatus* traité à l'huile d'Eucalyptus (Arafa *et al.*, 2020). Une diminution du niveau de GSH semble refléter un état d'urgence probablement dû à une incapacité à conférer une protection cellulaire réduite (Yin, 2007 ; Osuala *et al.*, 2017). Par contre, les travaux de Singh *et al.* (2017) mettent en évidence une augmentation du taux du GSH chez *S. oryzae* exposée à l'anhydride 2,3-diméthylmaléique.

4.8.4. Effet 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).

Les insecticides et les bioinsecticides possèdent de différents modes d'action ; leurs effets secondaires suggèrent qu'ils perturbent l'homéostasie cellulaire en générant des radicaux libres qui déclenchent la peroxydation lipidique (Bakkali *et al.*, 2008 ; Aslanturk *et al.*, 2011 ; Yu *et al.*, 2011 ; Leelaja & Rajini, 2012 ; Prakash, 2015). L'activité insecticide des HEs et leurs composants peut affecter des cibles différentes et spécifiques (Enan, 2001, 2005 ; Jbilou *et al.*, 2008 ; Abdelgaleil *et al.*, 2009 ; Rattan, 2010 ; Waliwitiya *et al.*, 2010) (Tableau 14).

Le malondialdéhyde (MDA), est un important biomarqueur de la peroxydation lipidique (Celik & Suzek, 2009). Cette dernière est la dégradation oxydative des acides gras de la membrane cellulaire entraînant des dommages aux cellules (Saraiva *et al.*, 2017). Au niveau cellulaire, le malondialdéhyde peut interagir avec le groupement amine libre des protéines, les phospholipides et les acides nucléiques menant à la modification de la structure, et la mort cellulaire (Pandey & Rizvi, 2010).

Le taux du malondialdéhyde a été évalué chez les larves L4 témoins et traitées de *Cs. longiareolata* et de *Cx. pipiens* à différentes périodes. Les résultats révèlent une augmentation significative du taux de ce biomarqueur après traitement par l'huile du laurier. Des résultats similaires ont été constatés chez les mêmes espèces après traitement aux huiles de la lavande, du basilic et de la menthe poivrée (Dris, 2018). Les HEs des plants de citronnelle, d'arbre à thé et du laurier induisent des dommages oxydatifs chez *Musca domestica* avec la CL₅₀. Cependant, l'augmentation de la concentration de radicaux libres a affecté le niveau de la peroxydation lipidique, conduisant à une hausse de la MDA (Chintalchere *et al.*, 2020 b). 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 qui induit une activation intense du système antioxydant *via* les enzymes. Plusieurs travaux ont montré une forte corrélation entre le taux du malondialdéhyde et l'activité insecticide des HEs. Les travaux d'Olmedo *et al.* (2014) ont montré une augmentation de ce taux chez *T. castaneum* après traitement à l'huile de *Tagetes filifolia*. Lalouette *et al.* (2011) ont déclaré qu'une augmentation de la MDA est un signe du stress oxydatif dans les cellules et qu'un excès des espèces réactives de l'oxygène ERO provoque une peroxydation lipidique qui perturbe la fluidité de la membrane cellulaire

entraînant des lésions cellulaires. Del Rio *et al.* (2005) ont suggéré que la MDA est un produit d'oxydation utilisé pour déterminer le degré de la peroxydation lipidique dans un organisme. Certains de ces produits de la peroxydation lipidique ont également conduit à perturber de nombreuses protéines cellulaires, y compris les enzymes. De nombreux insecticides naturels ou synthétiques ayant différents modes d'action sont connus pour perturber l'homéostasie cellulaire en générant des radicaux libres qui déclenchent la peroxydation lipidique (Bakkali *et al.*, 2008 ; Leelaja & Rajini 2012 ; Prakash, 2015). La production excessive des espèces réactives de l'oxygène (ERO) constitue également une menace pour les cellules, car elles induisent des dommages oxydatifs dans différents tissus, provoquent la peroxydation des lipides, oxydant les protéines, en endommageant l'ADN, en provoquant une inhibition enzymatique, et activent les voies apoptotiques et éventuellement la mort de la cellule (Melusova *et al.*, 2014 ; Shukla *et al.*, 2000 ; Géret *et al.*, 2002).

4.8.5. Effet sur l'activité de la GPx

Le GSH-Px a un rôle important dans la réduction du H₂O₂ en présence de glutathion réduit (GSH) et protège ainsi les membranes et les protéines cellulaires contre le stress oxydatif (Schrader *et al.*, 2006). Cette enzyme a un rôle clé dans les systèmes de défense enzymatiques et réduit les peroxydes organiques en leurs alcools correspondants (Valko *et al.*, 2007). Étant donné que ces enzymes ont un rôle protecteur contre les dommages induits par les radicaux libres, leur induction pourrait être comprise comme une réponse adaptative au stress oxydant (Soudani *et al.*, 2010).

L'analyse des résultats obtenus après dosage du GPx chez les larves L4 de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens*, traitées par l'HE de *L. nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀), révèle une diminution significative du taux de la GPx comparativement aux témoins. Des résultats similaires ont été signalés par El Zayyat *et al.* (2018) qui ont montré que les HEs d'eucalyptus et du clou de girofle induisent une augmentation du taux de GPx chez les larves et les adultes de *Cx. pipiens* avec une relation dose réponse. Valavanidis *et al.* (2006) et Wang *et al.* (2011) ont prouvé que l'activité antioxydante peut augmenter lorsque l'organisme est exposé à de faibles concentrations de produits chimiques ou lors d'une exposition à court terme, mais qu'elle peut diminuer ou être inhibée à une concentration élevée ou après une exposition prolongée.

L'application de l'HE de *Cymbopogon giganteus* sur *Callosobruchus maculatus* et *Callosobruchus subinnotatus* a provoqué une augmentation de l'activité spécifique des

enzymes du stress oxydatif et de détoxication (SOD, CAT, GPx et GST), ce qui montre que cette HE a un effet pro-oxydant (Nyamador, 2009). Elle induit, en effet, au cours du processus respiratoire mitochondrial, la génération importante des espèces réactives de l'oxygène (ERO) incluant les anions superoxydes (O_2^-) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ces ERO provoquent une cascade de réactions (Fig. 35) qui endommagent très sévèrement les cellules probablement par oxydation de l'ADN et des protéines et par peroxydation des lipides membranaires causant ainsi la mort des insectes (Nyamador, 2009).

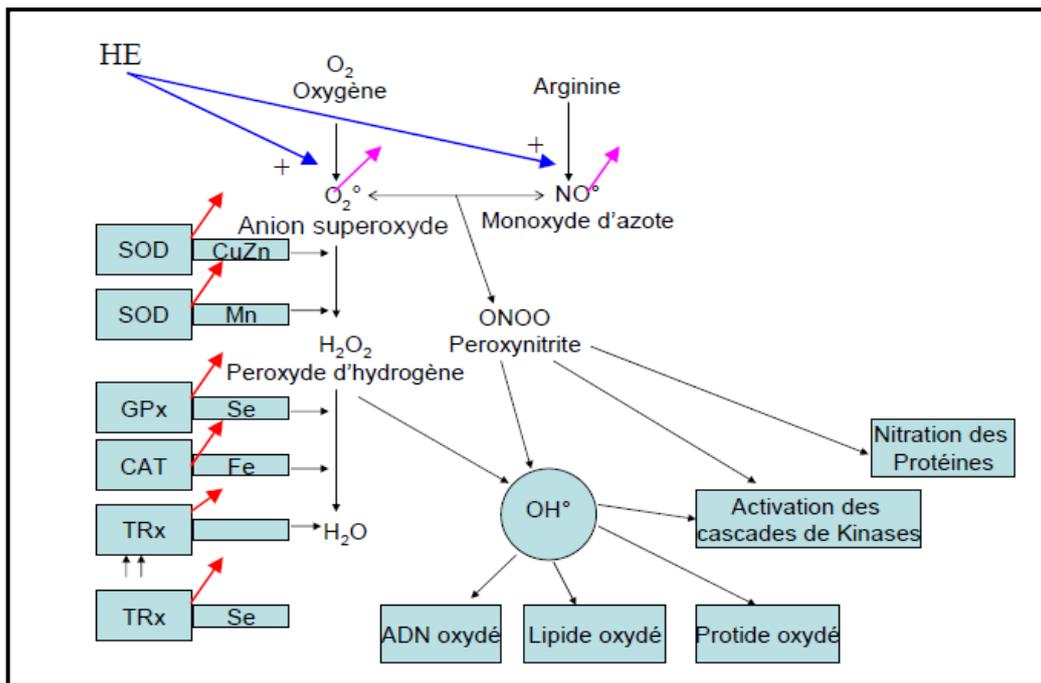


Figure 35. Mode d'action des huiles essentielles : Effet sur les enzymes antioxydantes (Favier, 2003).

4.9. Effet sur la croissance des moustiques

La taille corporelle des moustiques peut influencer un certain nombre de facteurs tels que la fécondité, le repas sanguin, et le taux d'attaque de l'hôte (Klowden & Lea 1978, Xue *et al.*, 1995, Farjana & Tuno, 2012), bien que ces corrélations soient controversées (Klowden & Lea 1978 ; Nasci 1986 ; Briegel, 1990 a ; Chambers & Klowden, 1990 ; Nasci, 1990 ; Xue *et al.*, 1995, Scott *et al.*, 2000 ; Farjana & Tuno, 2012). Une relation entre la fécondité et la taille corporelle est rapportée chez plusieurs espèces de moustiques (Packer & Corbet, 1989 ; Briegel, 1990a, b ; Briegel & Timmermann, 2001).

Dans le but de démontrer l'influence de l'huile du Laurier sur la croissance de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens*, une étude biométrique a été réalisée. Les résultats révèlent une diminution significative de la taille des larves de deux espèces. Nos résultats ont montré une

grande concordance avec l'hypothèse de Sánchez Chopa & Descamps, (2012) qui révèle une forte corrélation entre la toxicité des HEs et leurs impacts métabolique, biochimique, physiologique et morphologique (taille du corps, texture et épaisseur de la cuticule). Des résultats similaires ont été rapportés par Seghier *et al.* (2020) qui ont montré une réduction du poids et du volume corporel de *Culiseta* et *Culex* traités par l'huile de *Petroselinum crispum*. La réduction des paramètres morphométriques des larves, des pupes et des adultes mâles et femelles chez les mêmes espèces suite à un traitement par les HEs de *Lavandula dentata*, *Mentha piperita* et *Ocimum basilicum* a été également signalée dans les travaux de Dris *et al.* (2018). Les mêmes observations ont été signalées par Guenez (2020) qui a montré une inhibition de la croissance pondérale et linéaire chez *Cx. pipiens*, *Cs. longiareolata* et *Ae. caspius* traités par les HEs de *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis* et chez *Cx. pipiens* traité par *Origanum vulgare* et *Thymus vulgaris* (Bouguerra, 2019). 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: Hispidae) avec un effet marqué de la myristicine.

Les métabolites secondaires de nombreuses plantes 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 ; Al-Mekhlafi *et al.*, 2020). Les composés de ces huiles agissaient individuellement ou en synergie comme un mimique ou un analogue de l'hormone juvénile (HJ) et affectaient la croissance et le développement (Shazad *et al.*, 2018). La croissance des nymphes de *Dysdercus koenigii* a diminué avec l'augmentation des concentrations de l'extrait de *Lantana camara*. Une perturbation de la production d'un type d'hormone peut avoir un impact sur la fonction hormonale globale pour inhiber la croissance et le développement des insectes (Sutiningsih *et al.*, 2017). L'inhibition de la croissance larvaire pourrait être expliquée par une perturbation de la production d'hormone de croissance par cette huile. Cela suggère que certains composés bioactifs ont définitivement perturbé la régulation endocrinienne de la mue et de la métamorphose et agissent comme régulateur de croissance des insectes (IGR) ayant probablement des propriétés analogues aux hormones juvéniles (JH) (Kabir *et al.*, 2013).

4.10. Effet sur les réserves nutritionnelles

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). Il a été démontré que l'accumulation appropriée de ces nutriments au cours du développement

larvaire régule la synthèse des hormones juvéniles pour l'activation de la maturation reproductive (Devi & Bora, 2017). Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces vivantes connues (Mahler *et al.*, 1968) et durant les différentes phases de la vie des insectes, car ils sont caractérisés par des niveaux très élevés (Chen, 1966). Ces derniers entrent dans diverses réactions et peuvent assurer la catalyse biochimique, la régulation hormonale et s'intègrent dans la cellule en tant qu'éléments structuraux en même temps que les glucides et les lipides (Jacob *et al.*, 1961).

Le dosage des protéines est réalisé dans le corps entier des larves 4 de *C. longiareolata* et *C. pipiens*, après traitement à l'HE extraite du laurier. Les résultats révèlent une réduction du contenu en protéines chez les traités comparativement aux témoins. Nos résultats concordent avec ceux de Seghier *et al.* (2020) qui ont constaté une diminution du contenu en protéines dans le corps entier des larves et des pupes de *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* traitées par l'HE de *Petroselinum crispum*. Ce composé a été également réduit chez les mêmes espèces traitées à la lavande, la menthe et le basilic (Dris, 2018), chez *Cx. pipiens* traité à l'origan et au thym (Bouguerra, 2019) et chez *Cx. pipiens*, *Cs. longiareolata* et *A. caspius* traités à la Menthe pouliot et au Laurier (Guenez, 2020). De plus, les HEs de cardamome, de cannelle et de muscade ont réduit les protéines chez les larves de *Tribolium castaneum* et *Callosobruchus maculatus* (Tarigan & Harahap, 2016). 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 leur synthèse ou augmentation de leur 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). Sharma *et al.* (2011) et Ali *et al.* (2014) ont confirmé dans leurs études que cette déplétion pourrait être due à la dégradation des protéines à des fins métaboliques, à une incorporation altérée d'acides aminés dans les chaînes polypeptidiques, à l'inhibition de la synthèse des protéines ou à la décomposition de ces protéines en acides aminés utilisés dans le mécanisme compensatoire comme source d'énergie pour compenser le stress. Cependant, cette réduction peut être attribuée également à l'inhibition de la synthèse de l'ADN et de l'ARN (Chintalchere *et al.*, 2020 a).

Par contre, les travaux de Devi & Bora, (2017), montre que le taux de protéines a augmenté significativement chez les larves L4 d'*Ae. aegypti* après traitement avec les extraits phénoliques de *Ziziphus jujuba*. Cette augmentation peut être expliquée par une adaptation physiologique de l'insecte pour lutter contre le stress induit par les insecticides (Adeniyi *et al.*, 2010 ; Sak *et al.*, 2006), par la formation de lipoprotéines, qui peuvent être utilisées pour réparer les cellules et les organites endommagés (Shu *et al.*, 2018) ou par l'activation d'un mécanisme compensatoire, via la synthèse de polypeptides appelés protéines du choc thermique (hsp) (Downer, 1982 ; Zhao & Jones, 2012) (Fig. 34).

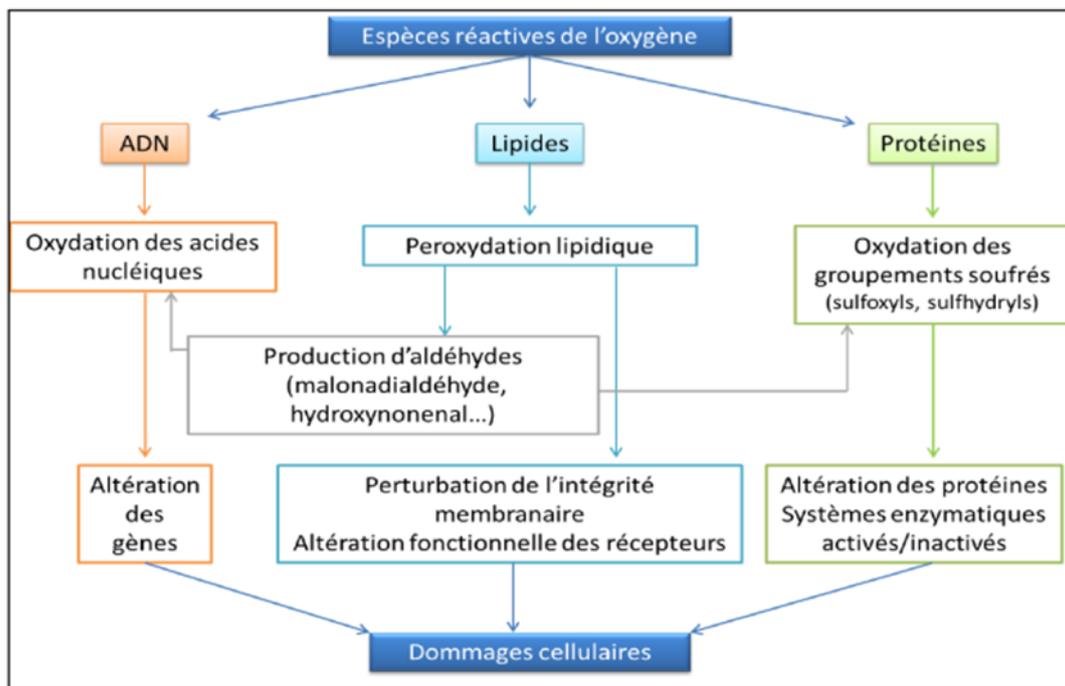


Figure 36. Différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène (Poisson, 2013).

Les glucides représentent une principale source d'énergie chez les insectes, ils se transforment en graisses et participent à la production des protéines (Chapman, 1998). Les glucides, tels que les sucres et le glycogène, sont le carburant pour le vol des moustiques et la distance parcourue par ces insectes dépend de la disponibilité des sucres (Clements, 1999). Le taux de glycogène et de tréhalose dans les tissus et l'hémolymphe sont profondément liés aux événements physiologiques comme la mue et la reproduction (Wiens & Gilbert, 1968). Ils augmentent pendant les périodes de repos, comme la métamorphose, et diminuent pendant les périodes de croissance, comme les stades de maturation des gonades chez les insectes (Bouaziz *et al.*, 2011). De plus, la production ou l'utilisation des principaux métabolites du corps, tels que les glucides, qui sont sous le contrôle de JH (hormone juvénile), a été suggérée

par plusieurs auteurs (Slama 1965 ; Slama & Hodkova 1975 ; Gäde, 2004 ; Sugumaran, 2010). Le tréhalose, un disaccharide non réducteur, est le principal sucre trouvé dans l'hémolymphe des insectes (Wyatt & Kale 1957). Il fournit de l'énergie et favorise la croissance, la métamorphose, la lutte contre le stress, la synthèse de la chitine et le vol des insectes (Katagiri *et al.*, 1998 ; Xia *et al.*, 2002 ; Wegener *et al.*, 2003 et 2010 ; Liebl *et al.*, 2010 ; Thorat *et al.*, 2012 ; Tatun *et al.*, 2014 a ; Shukla *et al.*, 2015 ; Tang *et al.*, 2017 ; Wolber *et al.*, 2017 ; Zhang *et al.*, 2017). L'hydrolyse du tréhalose est sous le contrôle de l'enzyme, tréhalase.

Dans le présent travail, le dosage des réserves énergétiques est réalisé dans le corps entier des larves 4 de *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* après traitement à l'HE de *L. nobilis*. Les résultats révèlent une réduction du contenu en glucides chez les traités comparativement aux témoins. Des résultats similaires ont été enregistrés chez les mêmes espèces suite à une exposition à l'huile de *Petroselinum crispum* (Seghier *et al.*, 2020), à l'huile de *Lavandula dentata*, *Ocimum basilicum* et *Mentha piperita* (Dris, 2018), chez *Cx. pipiens* traité au *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* (Bouguerra, 2019) et chez *Cx. pipiens*, *Cs. longiareolata* et *Ae. caspius* traités au *Laurus nobilis* et *Mentha pulegium* (Guenez, 2020). De plus, les travaux de Chintalchere *et al.* (2020 a), ont révélé une diminution des glucides, lipides et protéines après traitement des larves de *Musca domestica* à l'huile de *L. nobilis*. Une étude réalisée par Devi & Bora (2017) sur les larves L4 d'*Ae. aegypti* traitées à l'extrait phénolique de *Ziziphus jujuba*, a montré une diminution significative des glucides totaux. Ces derniers ont considérablement diminué chez *Tribolium castaneum* et *Callosobruchus maculatus* après traitement aux HEs de cardamome, de cannelle et de noix de muscade (Tarigan & Harahap, 2016). La diminution de ces réserves énergétiques perturbe la morphologie et le métabolisme des insectes traités (Senthilkumar *et al.*, 2009). Shu *et al.* (2018) ont rapporté dans leurs études une diminution de la teneur en glucides chez les larves de *Cx. pipiens* suite au traitement par les huiles et ils ont corrélé cette diminution aux propriétés anti-appétantes de ces composés. Dans cette situation, les sucres seraient métabolisés pour répondre aux dépenses énergétiques des larves affamées. Des travaux antérieurs ont montré les effets négatifs des HEs sur les réserves glucidiques (Sak *et al.*, 2006 ; Razak & Sivasubramanian, 2007). Par contre, une augmentation du taux de glucose a été signalée chez les larves L4 de *Cx. quinquefasciatus* après traitement à l'huile de *Baccharis dracunculifolia* (Alves *et al.*, 2018).

Les lipides sont également des composants importants formant des acides gras, des

phospholipides et des stérols qui font partie intégrante des parois cellulaires des insectes et contribuent également à d'autres fonctions (Chapman, 1998). Ils représentent la principale source d'énergie chez les insectes (Beenakers *et al.*, 1985). Ils sont transportés du corps gras, site de leurs synthèses et stockage vers les organes utilisateurs via l'hémolymphe surtout lors de la vitellogénèse (Downer, 1985 ; Keely, 1985 ; Van Hensden & Law, 1989).

Nos résultats montrent une réduction significative du contenu en lipides chez les larves traitées à l'HE de *L. nobilis*. Des résultats similaires ont été obtenus par Seghier *et al.* (2020) qui ont révélé une réduction significative du contenu en lipides totaux induite par l'application de l'HE de *Petroselinum crispum* sur les larves L3 et L4 et les pupes de deux espèces de moustiques, *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata*. Cette réduction a été également constatée chez les larves L4 de *Cx. pipiens* traitées au Thym et à l'Origan (Bouguerra 2019), chez les larves et les pupes de *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* traitées au basilic, à la lavande et à la menthe (Dris, 2018) et chez les larves L4 de trois espèces de moustiques, *Cx. pipiens*, *Cs. longiareolata* et *Ae. caspius* traitées au Laurier et à la Menthe pouliot (Guenez, 2020). Les lipides ont été diminués significativement chez les larves d'*Ae. aegypti* après traitement aux extraits phénoliques de *Ziziphus jujuba* (Devi & Bora, 2017). Hafiz *et al.* (2017) et Riaz *et al.* (2019) ont rapporté des résultats similaires chez *Trogoderma granarium* et *Glyphodes pyloalis* après traitement à l'extrait d'*Artemisia annua*. Les résultats de Tarigan & Harahap, (2016) ont également montré que les HEs de cardamome, de cannelle et de muscade ont entraîné une réduction de la teneur totale en lipides chez les larves de *Tribolium castaneum* et *Callosobruchus maculatus*. La réduction du contenu en lipides peut être attribuée à une perturbation de la biosynthèse, du métabolisme et de l'utilisation des lipides comme source d'énergie pour survivre pendant les conditions de stress (Shaurub & El-Aziz, 2015). Elle pourrait également être due à la conversion du métabolisme énergétique vers le catabolisme lipidique après épuisement des réserves de glucides (Devi & Bora, 2017).

Certains auteurs ont suggéré qu'une diminution de la teneur en lipides peut être le résultat de la transformation des lipides en protéines pour remplacer la réduction de la teneur en protéines ou produire de l'énergie supplémentaire pour lutter contre le stress chimique (Chintalchere *et al.*, 2020 a).

4.11. Effet sur l'épuisement des réserves nutritionnelles des moustiques

Les réserves énergétiques reflètent la quantité d'énergie disponible pour des activités particulières aux stades majeurs de la vie, plus ces réserves sont élevées, plus la quantité d'énergie indispensable pour la métamorphose (Timmermann & Briegel 1999), la

réorganisation des tissus des pupes (Chambers & Klowden, 1990), le vol des adultes (Clements, 1995, Kaufmann & Briegel, 2004) et le développement des œufs (Telang *et al.*, 2006) est grande. Il est bien connu que tout au long du développement larvaire, une biosynthèse excessive des réserves nutritionnelles telles que les protéines, les glucides et les lipides se produit chez les larves qui agissent comme des précurseurs pour la transformation des larves en pupes et en adultes (Timmermann & Briegel, 1999). En général, ces éléments sont transportés par l'hémolymphe de l'insecte après ingestion, et sont facilement absorbés par les cellules pour produire de l'énergie par glycolyse. Les lipides et les glucides chez les insectes accomplissent diverses activités métaboliques pour leur performance, le vol et la reproduction (Steele, 1981). Au cours du développement larvaire, ils ont besoin d'une certaine quantité de glucides, de lipides et de protéines afin d'atteindre une croissance optimale pour les fonctions normales du corps (Clements, 1992). Il est bien admis que les lipides et les glucides, tels que les sucres et le glycogène, sont les principaux déterminants de la survie des larves et du processus de synthèse des hormones juvéniles (Clements, 1999 ; Caroci *et al.*, 2004). Des études antérieures ont montré que les réserves énergétiques sont les principaux carburants, qui déclenchent diverses activités physiologiques chez l'adulte telles que le vol précoce des adultes nouvellement émergés et leur succès à l'accouplement et le processus de l'ovogenèse etc... (Foster, 1995 ; Ziegler & Ibrahim, 2001 ; Telang *et al.*, 2006). Ces réserves stockées au cours des stades larvaires sont le chef déterminant de la production d'œufs et de la régulation endocrinienne du développement des œufs chez les moustiques femelles (Telang *et al.*, 2006).

La défense des insectes contre les xénobiotiques comprend la détoxification enzymatique par les monooxygénases à cytochromes, par les estérases et plusieurs transférases, qui sont présentes dans l'intestin et le tissu adipeux des insectes, contribuant à la dégradation des contaminants (Zaworra & Nauen, 2019). Ce mécanisme de détoxification nécessite de l'énergie et des ressources utilisées dans les processus physiologiques, entraînant une baisse de la capacité de reproduction (Esther *et al.*, 2015, Gashout *et al.*, 2018).

La présente étude montre que les réserves nutritionnelles sont épuisées chez les individus traités à l'HE du Laurier. Plusieurs travaux réalisés ont montré une perturbation de ces réserves, suite à une exposition aux insecticides. Une réduction très marquée a été constatée chez *T. castaneum* après traitement à l'harmaline (Rharrabea *et al.*, 2020) et à l'huile d'*A. foeniculum* (Ebadollahi *et al.*, 2013). L'application des HEs de *Thymus vulgaris* et d'*Origanum vulgare* a provoqué un épuisement des réserves nutritionnelles chez les larves de

G. pyloalis (Yazdani *et al.*, 2014) et chez les larves L4 de *Cx. pipiens* (Bouguerra, 2019). Une perturbation des indices caloriques a été signalée chez les larves L3, L4 et les pupes de *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* traitées à l'huile de *Petroselinum crispum* (Seghier *et al.*, 2020). Une perturbation de ces réserves a été également observée chez les larves d'*An. stephensi* exposées à l'huile de neem (Preet & Sneha, 2018), suggérant que ce larvicide affecte la physiologie comportementale et les activités métaboliques de ce moustique (Preet & Sneha, 2011). Les mêmes effets ont été rapportés par Vinayagm *et al.* (2008) chez les larves d'*An. stephensi* lorsqu'elles sont traitées avec quelques plantes médicinales. Des résultats similaires avec une réduction des réserves énergétiques ont été observés dans des études antérieures portant sur différents types d'agents de stress : environnemental (Muturi *et al.*, 2011), nutritionnel (Vantaux *et al.*, 2016), chimique (Preet & Sneha, 2011 ; Rivero *et al.*, 2011), et végétal (Vinayagm *et al.*, 2008 ; Senthilkumar *et al.*, 2009). Les travaux de Sneha & Preet (2016) montrent que le traitement larvicide par le Neem a des effets néfastes sur les réserves énergétiques larvaires, et par conséquent sur le développement et le comportement larvaire d'*Ae. aegypti*. L'épuisement de ces réserves chez la même espèce traitée avec l'alun de potasse peut entraver la métamorphose et bloquer l'émergence des adultes (Preet & Sneha 2018).

Ces effets pourraient être dû à une mobilisation importante de ces réserves pour surmonter la situation de stress causée par l'effet toxique de ces traitements (Rharrabe *et al.*, 2007). Cela implique que l'épuisement de ces réserves aux stades larvaires peut affecter la survie, la capacité reproductive et la capacité vectorielle des moustiques adultes (Sneha & Preet, 2016).

4.12. Effet sur la structure histologique des larves

Le mode d'action des insecticides naturels est variable car certains d'entre eux agissent sur le système digestif en induisant des altérations au niveau des régions internes de l'intestin lors de leur passage à travers la membrane intestinale (Cabral *et al.*, 2000 et 2007). Les insectes n'ont que quelques cellules qui subissent une division, ce processus est trop affecté par l'exposition aux insecticides (Riat & Kocher, 2017). L'application des HEs (contenant des monoterpénoïdes) a montré des changements histopathologiques dans le tégument, l'intestin moyen et d'autres parties du corps des larves d'insectes.

L'intestin moyen des larves de *Cx. pipiens* possèdent quatre régions distinctes (intestin moyen antérieur et postérieur, cardia et caeca gastrique) (Mahmoud *et al.*, 2019). Dans ces régions, l'épithélium contient une seule couche de cellules digestives cuboïdes qui comprend

des microvillosités apicales. De nombreuses mitochondries sont présentes dans le cytoplasme. A la base des cellules digestives, des cellules régénératrices sont disséminées (Mahmoud *et al.*, 2019). Une barrière membranaire péritrophique cellulaire bien limitée tapisse l'épithélium de l'intestin moyen et le sépare des aliments digérés (Clements, 1996). Cette membrane agit également comme une barrière qui protège l'intestin moyen des agents pathogènes (Jordan *et al.*, 1998 ; Moser *et al.*, 2001). Actuellement, les altérations histologiques sont étudiées comme biomarqueurs utiles, car il est possible de déterminer les lésions engendrées au niveau des cellules cibles chez les différents organismes (Lavarías *et al.*, 2017).

L'étude histologique réalisées sur les larves L4 de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* traitées au laurier montre des modifications au niveau de la membrane de l'intestin moyen, les tubules de malpighi et le tissu musculaire.

Al-Mehmadi & Al-Khalaf, (2010) ont montré que l'application du *Melia azedarach* sur les larves de *Cx. pipiens*, induit des changements dans le mésentéron, et plus particulièrement les caecas gastriques et l'estomac postérieur. Ils ont signalé des signes caractéristiques tels que la distraction des microvillosités et la vacuolisation de l'intestin moyen, et parfois des cellules cylindriques qui faisaient saillie dans la lumière. Les changements observés au niveau des cellules du caeca gastrique et le mésogastre, s'expliquent selon Raccaud, (1980) par le fait que cette partie du tube digestif, responsable de la digestion chez les insectes, est en contact direct avec les éléments toxiques. Chez les moustiques, cette section représente le principal site d'absorption alimentaire et qui a été confirmé par Waterhouse & Day (1953) dans leur étude, car les larves affamées et qui sont nourries avec du fructose et du glucose ; après quelques heures, des dépôts massifs de glycogène apparaissent à l'intérieur des cellules de la partie postérieure de l'intestin moyen, indiquant qu'il s'agit du principal site d'absorption.

Selon Loach, (2017), les études morpho-histochimiques réalisées sur l'épithélium de l'intestin moyen, y compris la vacuolisation cellulaire, la rupture des parois épithéliales, les dommages au niveau des microvillosités et le passage du contenu des cellules épithéliales dans la lumière intestinale moyenne des larves de moustiques, sont d'un grand intérêt. L'extrait aqueux des feuilles d'*Eucalyptus globulus* testé sur les larves de *Cx. pipiens* par Zerroug & Berchi (2018) a induit différentes lésions au niveau du tissu intestinal des larves, provoquant un mélange du contenu des cellules intestinales avec l'hémolymphe où les cellules des caeca gastriques ont subi une hypertrophie cellulaire et éclatement et un rejet des débris cytoplasmiques dans la lumière intestinale. L'examen histopathologique des larves L3 et L4 de *Cx.*

quinquefasciatus traitées avec l'extrait de Fenugrec (*Trigonella foenum-graceum*) a montré que l'intestin moyen, l'intestin postérieur, les muscles et les ganglions nerveux sont les tissus les plus touchés. Ces tissus ont porté des changements majeurs, y compris la rupture et la désintégration de la couche épithéliale et la vacuolisation cellulaire (Fallatah, 2010). De plus, Abutaha *et al.* (2015) ont montré la destruction et le détachement des cellules épithéliales de l'intestin moyen des larves d'*Ae. caspius* et de *Cx. pipiens* traitées avec un extrait fongique de *Cochliobolus spicifer*. Farida *et al.* (2018) ont étudié l'effet de *Beauveria bassiana* sur les larves L4 de *Cx. pipiens* et ont signalé de nombreux changements histologiques et des malformations dans le corps et les tissus larvaires traités, en particulier dans les cellules adipeuses, la cuticule et l'intestin moyen. Par ailleurs, les larves d'*An. stephensi* exposées à l'HE d'*Eucalyptus globulus* et *Aloe vera* ont également présenté des diversifications dans le caeca gastrique, une désintégration de la couche épithéliale de l'intestin moyen, des lésions dans les microvillosités et la disparition ou la réduction du corps adipeux ainsi que de la couche épithéliale de l'intestin postérieur. De tels changements pathologiques réduisent la capacité des larves à remplir diverses fonctions, conduisant à leur mort (Riat & Kocher, 2017). Ces observations histopathologiques ont été également rapportées par Mahmoud *et al.* (2019) chez les larves de *Cx. pipiens*, les signes de désordre les plus caractéristiques visualisés dans la région intestinale moyenne des larves traitées étaient l'élongation et la vacuolisation des cellules épithéliales, la rupture de la membrane péritrophique, le détachement de la membrane basale, la désorganisation des microvillosités et, en outre, la dégénérescence de la couche musculaire après traitement avec les huiles de *Piper nigrum*, *Eucalyptus regnans* et *Azadirachta indica*. Bawin *et al.* (2016) ont montré des effets similaires en étudiant l'effet d'*Aspergillus clavatus* (Ascomycota: Trichocomaceae) sur les larves de *Cx. quinquefasciatus*, car ce traitement induit une altération au niveau des tissus larvaires, entraînant leur nécrose et la mort des larves. Ragavendran *et al.* (2017) ont signalé un gonflement des cellules de l'intestin moyen des larves L4 d'*Ae. aegypti* et *Cx. quinquefasciatus*, une réduction du contenu intercellulaire et une dégénérescence des noyaux, après traitement à l'extrait de *Fungus penicillium*. Selon Balasubramani *et al.* (2018), l'HE d'*Artemisia vulgaris* a montré des altérations histopathologiques chez les larves L3 et L4 d'*Ae. aegypti* avec un endommagement total de l'intestin moyen et le cortex). Les quatre HES d'*Artemisia judaica*, *Cupressus macrocarpa*, *Callistemon viminalis* et *Citrus aurantifolia* testées par El-Sabroun *et al.* (2020) sur *Cx. pipiens*, ont causé des malformations nymphales et adultes. Les travaux de Hazarika *et al.* (2018) ont montré que les larves d'*Ae. aegypti* traitées à l'huile de citronnelle ont présenté des changements remarquables dans l'épithélium de

l'intestin moyen : destruction de la bordure de brosse, dégénérescence des cellules digestives et de la membrane et des cellules basales et la lyse épithéliale. Les extraits bruts et les HES provenant de trois variétés d'*Ageratum conyzoides*, présentaient des altérations histopathologiques chez les femelles adultes d'*Ae. aegypti*, notamment une dégénérescence oculaire, des lésions musculaires avec infiltration cellulaire, une dégénérescence et une nécrose de l'épithélium intestinal et des noyaux pycnotiques dans l'épithélium malpighien (Pintong *et al.*, 2020). Le tissu musculaire est également très important pour les insectes et les dommages qu'il subit peuvent même entraîner la mort des insectes. Cependant peu d'études existent sur le muscle du moustique (Liu *et al.*, 2020). Une observation au microscope optique a montré que les larves de *Cx. pipiens pallens* exposées au *Curcuma longa* présentaient une altération de la myofibrille dans les cellules musculaires ventrales et une disparition du nucléole dans les cellules du tubule de Malpighi à 24 h après traitement (Liu *et al.*, 2020). Ces changements histopathologiques dans les cellules musculaires pourraient induire une incapacité fonctionnelle musculaire et des lésions musculaires qui a en outre entraîné la paralysie et la mort (Ma *et al.*, 2017). Dans les travaux d'Aouinty *et al.* (2018), les larves de *Cx. pipiens* exposées à l'extrait aqueux de *Ricinus communis* ont montré des changements histologiques significatifs. Après une heure d'exposition, les cellules de l'intestin moyen sont profondément affectées, les substances toxiques ingérées ont manifesté leur activité sur l'épithélium intestinal. L'hypertrophie et la lyse des cellules intestinales épithéliales sont les principaux changements observés. L'action toxique de l'extrait aqueux se manifeste également sur la musculature et les téguments externes des larves. Celles-ci due en raison de l'effet probable des constituants actifs du sur les phospholipides membranaires et d'autres composants cellulaires de ces tissus (Fallatah, 2010).

Conclusion et perspectives

V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

En raison des problèmes liés à l'utilisation des produits chimiques dans la lutte anti culicidienne et leur impact nocif sur la santé et l'environnement, il s'avère nécessaire d'avoir recours à des alternatives naturelles ayant le même rôle et présentant des avantages écologiques et économiques. Il s'agit notamment de l'utilisation des extraits de plantes.

Ce travail de recherche a permis d'apporter une contribution à l'étude de l'efficacité d'une huile essentielle à l'égard des moustiques et de fournir un ensemble d'éléments qui pourraient servir d'appui pour trouver des alternatives à la lutte par les insecticides chimiques contre ces vecteurs de maladies et agents de nuisance.

L'HE d'une plante appartenant à la famille des Lauraceae présente un rendement de 0,92 % de la matière sèche du *Laurus nobilis*. L'analyse chimique par CPG-SM de cette HE a permis de recenser 56 composés avec l'abondance des composés monoterpéniques (82,71%), dominés par la présence d'Eucalyptol (25,62%) et du Linalool (11,83%).

Cette HE a été testée sur *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*, les espèces de moustiques les plus abondantes dans la région de Tébessa. Ses actions ont été évaluées sur plusieurs aspects : toxicologique, développement, biomarqueurs, morphométriques, biochimiques et histopathologique.

Les essais toxicologiques ont permis de déterminer les concentrations létales (CL₂₅ et CL₅₀) de cette huile essentielle à l'égard des larves 4 et des pupes de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens*. Ils révèlent un effet insecticide avec une relation dose-réponse. De plus, le traitement induit une inhibition de l'éclosion des œufs plus importante chez *Cs. longiareolata* par rapport à *Cx. pipiens* avec une relation dose-réponse. Le sex ratio révèle une augmentation de la proportion des femelles par rapport aux mâles chez les deux espèces testées en fonction des concentrations létales.

L'évaluation d'un biomarqueur de neurotoxicité, indique que l'HE de *L. nobilis* provoque une inhibition de l'activité spécifique de l'AChE chez les 2 espèces testées, avec un effet marqué chez *Cx. pipiens* et qui dépasse les 50%. De plus, cette huile induit une réduction du taux du GSH et une augmentation de l'activité des GSTs chez les traités comparativement aux témoins avec un effet plus important chez *Cx. pipiens*. D'autre part, un biomarqueur de peroxydation lipidique, la MDA et la GPx ont été également affectés par l'application de cette huile en les augmentant chez les 2 espèces étudiées, suggérant une induction du processus de détoxification.

De plus, l'HE de cette plante affecte la croissance linéaire et pondérale des individus, en

réduisant le volume et le poids corporel des larves L4 de *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata*.

Enfin, les réserves énergétiques et les protéines des individus sont également perturbées sous l'effet de l'huile essentielle avec une augmentation du taux d'épuisement en fonction des concentrations appliquées.

Une étude histologique des larves de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* témoins et traitées révèle que l'HE agit comme un poison qui agit par ingestion sur le système digestif des larves de moustiques.

Cette étude basée sur l'utilisation des plantes aromatiques comme insecticide, ouvre de larges perspectives dans le domaine de 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 :

- L'application des extraits végétales dans la production des biocides.
- D'autres études doivent être envisagées afin de préciser la nature des composés responsables de l'effet toxique.
- Un essai « terrain » semble nécessaire pour étudier cette même efficacité dans les conditions naturelles.
- Etude de l'impact des différentes techniques d'extraction (distillation à vapeur saturée, hydrodiffusion) sur la quantité et la qualité des huiles et sur leur pouvoir insecticide.
- Etude de l'impact de l'HE sur la fécondité et la fertilité de ces espèces de moustiques.

Résumés

VI. RESUME

Cette présente étude a pour but de déterminer la composition chimique d'une huile essentielle extraite de *Laurus nobilis* (Laurier), et d'évaluer ses activités ovicide, larvicide, pupicide et adulticide à l'égard de deux espèces de moustiques les plus abondantes dans la région de Tébessa, *Culex pipiens* L. et *Culiseta longiareolata* A. (Diptera, Culicidae).

Les effets de cette huile ont été examinés sur la mortalité, la durée de développement et les biomarqueurs enzymatiques (AChE, GSTs, GPx) et non-enzymatiques (GSH et MDA). Les paramètres morphométriques, les réserves nutritionnelles et la structure histopathologique des larves ont été également déterminées.

Le rendement de l'HE de *L. nobilis* obtenue par hydrodistillation affiche une moyenne de 0,92% de la matière sèche. Sa composition chimique a été déterminée par CPG/SM. L'analyse chimique a montré que l'HE du laurier contient 56 composés, avec l'Eucalyptol (25,62%), le Linalool (11,83%), le Méthyl eugénol (11,07%) et le α -Terpinyl acétate (10,18%), comme constituants majoritaires.

Les tests toxicologiques effectués selon le protocole standard de l'OMS, ont révélé une activité ovicide, larvicide, pupicide et adulticide de cette HE. De plus, cette plante provoque un prolongement de la durée de développement larvaire et une augmentation de la proportion des femelles émergées par rapport aux mâles.

L'activité enzymatique déterminée chez les larves traitées à l'huile essentielle (CL_{25} et CL_{50}) 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 GPx, respectivement. En outre, une augmentation de la MDA et une diminution du GSH ont été enregistrées après traitement à l'HE. L'HE du laurier 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 l'HE provoque une diminution de la croissance linéaire et pondérale des larves. De plus, elle réduit significativement les réserves nutritionnelles et elle augmente le taux d'épuisement de ces réserves. Cela est probablement dû aux conditions de stress imposées par le traitement à ces moustiques qui ont besoin d'un apport supplémentaire d'énergie provenant du métabolisme glucidique et lipidique. L'étude histologique des larves traitées révèlent des modifications profondes au cours du temps.

Mots-clés : Moustiques, Huile essentielle, *Laurus nobilis*, Toxicité, Développement, Sex ratio, Biomarqueurs, Morphométrie, Réserves énergétiques, Structure histopathologique.

ABSTRACT

The present study was undertaken in order to determine the chemical composition of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* (Lauraceae) cultivated in Tebessa (Algeria) and to assess its ovicidal, larvicidal, pupicidal activities against two most abundant and investigated mosquito species, *Culex pipiens* L. and *Culiseta longiareolata* A. (Diptera, Culicidae).

The effects were examined on the mortality, the development duration, the enzymatic (AChE, GSTs, GPx) and non-enzymatic (GSH, MDA) biomarkers. The morphometric parameters, the energy reserves, and the histopathological structure of larvae were also determined.

The essential oil yield of *L. nobilis* obtained by hydrodistillation was 0.92% of the dry weight. Its chemical composition has been investigated by GC/MS. The chemical analysis showed that *L. nobilis* essential oil contained fifty six compounds, with Eucalyptol (25.62%), Linalool (11.83%), Methyl eugenol (11.07%) and α -Terpinyl acetate as major components.

Bioassay test done following the World Health Organization standard protocol revealed that this essential oil exhibited ovicidal, larvicidal, pupicidal and adulticidal activity. In addition, this plant causes a prolongation of the larval development duration and an increase in the proportion of emerged females compared to males.

The enzymatic measurements performed in treated larvae (LC₂₅ and LC₅₀) revealed a neurotoxic activity and a stimulation of the detoxification system as evidenced by an inhibition of AChE and an increase in GST and GPx activity, respectively. In addition, an increase in MDA and a decrease in GSH were recorded after treatment with EO.

Otherwise, the morphometric study shows that EO causes a decrease in the linear and weight growth of larvae. In addition, it significantly reduces protein content and energy reserves and increases the rate of depletion of these reserves. This is probably due to the stress induced by this EO in mosquitoes which require additional energy input from carbohydrate and lipid metabolism in particular. Histological study of the treated larvae reveals profound changes over time.

Key words: Mosquitoes, Essential oil, *Laurus nobilis*, Toxicity, Development, Sex ratio, Biomarkers, Morphometry, Energy reserves, Histopathological structure.

ملخص

تهدف هذه الدراسة الى تحديد التركيبة الكيميائية للزيوت الأساسية المستخلصة من نبات الرند وتحديد فعاليتها ضد البيوض اليرقات، العذراء، والكاملة عند نوعين من الباعوض الاكثر انتشارا في منطقة تبسة *Culiseta longiareolata* و *Culex pipiens*.

تم فحص تأثير هذا الزيت على معدل الوفيات ، مدة التطور ، والمؤشرات الحيوية الأنزيمية (AChE ، GSTs ، GPx) وغير الأنزيمية (GSH و MDA). كما تم تحديد المعايير القياسية والاحتياطيات الطاقوية والتركيبة النسيجية لليرقات.

تظهر مردودية الزيت الأساسي المستخلص من الرند قيم تتراوح بين $0,45 \pm 0,96\%$ من المادة الجافة و كشف التحليل الكيميائي عن طريق (CPG/SM) عن وجود 56 مركبا مع توفرها على: Eucalyptol (25,62%) ، Linalool ، α -Terpinyl acétate (10,83%) ، Methyl eugenol (11,07%) كمكونات رئيسية.

كشفت الاختبارات السمية التي أجريت وفقاً للبروتوكول القياسي لمنظمة الصحة العالمية عن نشاط مبيدي لهذا الزيت الاساسي ضد البيوض، اليرقات، والبالغات. بالإضافة إلى ذلك، يتسبب هذا النبات في إطالة مدة تطور اليرقات وزيادة نسبة الإناث مقارنة بالذكور.

كشفت الاختبارات السمية التي أجريت وفقاً للبروتوكول منظمة الصحة العالمية عن خصائص مبيدات الحشرية التي تمتلكها هاته الزيوت ضد البيوض اليرقات، العذراء والكاملة بالإضافة إلى ذلك، يتسبب هذا النبات في إطالة مدة تطور اليرقات وزيادة نسبة الإناث مقارنة بالذكور.

يكشف النشاط الإنزيمي عند اليرقات المعالجة بالزيوت الاساسية عن تثبيط النشاط النوعي ل AChE، و تحفيز نظام ازالة السموم بواسطة زيادة في GSTs و MDA و نقصان في GSH و GPx.

قد يكون الزيت الاساسي لنبات الغار فعالاً في المكافحة البيولوجية للبعوض هذا بسبب آثاره المثبطة على النشاط النوعي ل AChE، على الرغم من تحفيز نظام ازالة السموم.

بالإضافة إلى ذلك، أظهرت الدراسة القياسية أن الزيت الاساسي يسبب انخفاضاً في حجم ووزن اليرقات. بالإضافة إلى ذلك فهو يقلل بشكل كبير من محتوى البروتين والمخزون الطاقوي ويزيد من معدل استنفاد هذه المخزون. ربما يكون هذا بسبب الظروف المجهدة التي تفرضها معالجة البعوض والتي تتطلب إمداداً إضافياً بالطاقة من استقلاب للكربوهيدرات والدهون. الدراسة النسيجية لليرقات المعالجة تكشف عن تغيرات عميقة بمرور الوقت.

الكلمات المفتاحية: الباعوض، الزيوت الأساسية، *Laurus nobilis* ، السمية، التطور، Sex ratio، المؤشرات الحيوية، المعايير القياسية، المخزون الطاقوي ، التركيبة النسيجية.

Références bibliographiques

VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

- Abagli, A. Z., & Alavo, T. B. C. (2011).** Essential oil from *bush mint*, *Hyptis suaveolens*, is as effective as DEET for personal protection against mosquito bites. *The Open Entomology Journal*. **5(1)**.
- Abbott W.B. (1925).** A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. **18** : 265-267.
- Abdelgaleil, S. A., Badawy, M. E., Mahmoud, N. F., & Marei, A. E. S. M. (2019).** Acaricidal activity, biochemical effects and molecular docking of some monoterpenes against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). *Pesticide biochemistry and physiology*. **156** : 105-115.
- Abdelgaleil, S. A., Mohamed, M. I., Badawy, M. E., & El-arami, S. 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(5)** : 518-525.
- Abdelgaleil, S. A., Mohamed, M. I., Shawir, M. S., & Abou-Taleb, H. K. (2016).** Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of essential oils of different plant species from Northern Egypt on the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. *Journal of Pest Science*. **89(1)** : 219-229.
- Abdellaoui, K., Miladi, M., Boughattas, I., Acheuk, F., Chaira, N., & Halima-Kamel, M. B. (2017).** Chemical composition, toxicity and acetylcholinesterase inhibitory activity of *Salvia officinalis* essential oils against *Tribolium confusum*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. **5(4)**: 1761-1768.
- Abdullah, F., Subramanian, P., Ibrahim, H., Abdul Malek, S. N., Lee, G. S., & Hong, S. L. (2015).** Chemical composition, antifeedant, repellent, and toxicity activities of the rhizomes of galangal, *Alpinia galanga* against Asian subterranean termites, *Coptotermes gestroi* and *Coptotermes curvignathus* (Isoptera : Rhinotermitidae). *Journal of Insect Science*. **15(1)**.
- Abutaha, N., Mashaly, A. M., Al-Mekhlafi, F. A., Farooq, M., Al-shami, M., & Wadaan, M. A. (2015).** Larvicidal activity of endophytic fungal extract of *Cochliobolus spicifer* (Pleosporales : Pleosporaceae) on *Aedes caspius* and *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae). *Applied entomology and zoology*. **50(3)** : 405-414.
- Adams, J. C. (2001).** Thrombospondins: multifunctional regulators of cell interactions. *Annual review of cell and developmental biology*. **17(1)** : 25-51.
- Adeniyi, S. A., Orjiekwe, C. L., Ehiagbonare, J. E., & Arimah, B. D. (2010).** Preliminary phytochemical analysis and insecticidal activity of ethanolic extracts of four tropical plants (*Vernonia amygdalina*, *Sida acuta*, *Ocimum gratissimum* and *Telfaria occidentalis*) against beans weevil (*Acanthscelides obtectus*). *International Journal of Physical Sciences*. **5(6)** : 753-762.
- Adeyi, A. O., Akozi, G. O., Adeleke, M. A., Agbaogun, B. K. O., & Idowu, A. B. (2015).** Induction and activity of glutathione S-transferases extracted from *Zonocerus variegatus* (Orthoptera :

Pyrgomorphidae) exposed to insecticides. International Journal of Tropical Insect Science. **35(1)** : 27-33.

AFNOR. (1987). Huiles essentielles, recueil dans des normes française. 5 ème editions.1. Échantillonnage et méthodes d'analyses, 2. Spécifications, AFNOR, Paris.

Aguilera, L., Marquetti, M. D. C., Navarro, A., & Bisset, J. (1995). Effects of three organophosphorus insecticides in the reproductive potential of *Culex quinquefasciatus*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. **90(3)** : 411-413.

AbbiRami, R., Zuharah, W. F., Thiagaletchumi, M., Subramaniam, S., & Sundarasekar, J. (2014). Larvicidal efficacy of different plant parts of railway creeper, *Ipomoea cairica* extract against dengue vector mosquitoes, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Journal of Insect Science. **14(1)**.

Aissaoui, L. & Boudjelida, H. (2014). Larvicidal activity and influence of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac G), on longevity and fecundity of mosquito species. European Journal of Experimental Biology. **4(1)** : 104 – 109.

Aitken T.H.G., (1954). The culicidae of Sardinia and Corsica (Diptera). Bulletin of entomological research. **45(3)**: 437-494.

Aïzoun, N., Aikpon, R., Azondekon, R., Asidi, A., & Akogbéto, M. (2014). Comparative susceptibility to permethrin of two *Anopheles gambiae* sl populations from Southern Benin, regarding mosquito sex, physiological status, and mosquito age. Asian Pacific journal of tropical biomedicine. **4(4)** : 312-317.

Akhtar, T. A., Lees, H. A., Lampi, M. A., Enstone, D., Brain, R. A., & Greenberg, B. M. (2010). Photosynthetic redox imbalance influences flavonoid biosynthesis in *Lemna gibba*. Plant, cell and environment. **33(7)** : 1205-1219.

Ali, N. S., Ali, S. S., & Shakoori, A. R. (2014). Biochemical response of malathion-resistant and-susceptible adults of *Rhyzopertha dominica* to the sublethal doses of deltamethrin. Pakistan Journal of Zoology. **46(3)**.

Ali, S. I., Gopalakrishnan, B., & Venkatesalu, V. (2018). Evaluation of larvicidal activity of *Senecio laetus* Edgew against the malarial vector, *Anopheles stephensi*, dengue vector, *Aedes aegypti* and Bancroftian filariasis vector, *Culex quinquefasciatus*. South African Journal of Botany. **114** : 117-125.

Ålin, P., Danielson, U. H., & Mannervik, B. (1985). 4-Hydroxyalk-2-enals are substrates for glutathione transferase. Federation of European Biochemical Societies letters. **179(2)** : 267-270.

Allal-Benfekih, L., Bellatreche, M., Bounaceur, F., Tail, G., & Mostefaoui, H. (2011). First approach of using aqueous extracts of *Inula viscosa*, *Salvia officinalis* and *Urtica urens* for the control of *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae) an invasive pest of tomato in Algeria. In Les Cochenilles: ravageur principal ou secondaire. 9ème Conférence Internationale sur les Ravageurs en Agriculture, SupAgro, Montpellier, France. 681-689.

- Allali, H., Benmehdi, H., Dib, M. A., Tabti, B., Ghalem, S., & Benabadji, N. (2008). Phytotherapy of diabetes in west Algeria. *Asian journal of chemistry*. **20(4)** : 2701.
- Al-Mehmadi, R. M., & Al-Khalaf, A. A. (2010). Larvicidal and histological effects of *Melia azedarach* extract on *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). *Journal of King Saud University-Science*. **22(2)** : 77-85.
- Al-Mekhlafi, F. A. (2018). Larvicidal, ovicidal activities and histopathological alterations induced by *Carum copticum* (Apiaceae) extract against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Saudi journal of biological sciences*. **25(1)** : 52-56.
- Al-Mekhlafi, F. A., Abutaha, N., Al-Malki, A. M., & Al-Wadaan, M. (2020). Inhibition of the growth and development of mosquito larvae of *Culex pipiens* L.(Diptera: Culicidae) treated with extract from flower of *Matricaria chamomilla* (Asteraceae). *Entomological Research*. **50(3)** : 138-145.
- Al-Mekhlafi, F. A., Abutaha, N., Mashaly, A. M., Nasr, F. A., Ibrahim, K. E., & Wadaan, M. A. (2017). Biological activity of *Xanthium strumarium* seed extracts on different cancer cell lines and *Aedes caspius*, *Culex pipiens* (diptera: Culicidae). *Saudi Journal of Biological Sciences*. **24(4)** : 817-821.
- Alto, B. W., Muturi, E. J., & Lampman, R. L. (2012). Effects of nutrition and density in *Culex pipiens*. *Medical and veterinary entomology*. **26(4)** : 396-406.
- Alturkistani, H. A., Tashkandi, F. M., & Mohammedsaleh, Z. M. (2016). Histological stains: a literature review and case study. *Global journal of health science*. **8(3)** : 72.
- Alvarez Costa, A., Naspi, C. V., Lucia, A., & Masuh, H. M. (2017). Repellent and larvicidal activity of the essential oil from *Eucalyptus nitens* against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*. **54(3)** : 670-676.
- Alves, K. F., Caetano, F. H., Garcia, I. J. P., Santos, H. L., Silva, D. B., Siqueira, J. M., ... & Alves, S. N. (2018). *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) essential oil toxicity to *Culex quinquefasciatus* (Culicidae). *Environmental Science and Pollution Research*. **25(31)** : 31718-31726.
- Alves, L. F. A., Oliveira, D. G. P., Kasburg, C. R., & Nardelli, M. S. (2019). Acaricidal activity of inert powders against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Mesostigmata: Dermanyssidae). *Archives of Veterinary Science*. **24(2)**.
- Alzogaray, R. A., Lucia, A., Zerba, E. N., & Masuh, H. M. (2011). Insecticidal activity of essential oils from eleven *Eucalyptus* spp. and two hybrids: lethal and sublethal effects of their major components on *Blattella germanica*. *Journal of economic entomology*. **104(2)** : 595-600.
- Amara Korba, R., Alayat, M.S., Bouiba, L., Boudrissa, A., Bouslama, Z., Boukraa, S. et al (2016). Ecological differentiation of members of the *Culex pipiens* complex, potential vectors of West Nile virus and Rift Valley fever virus in Algeria. *Parasites and Vectors*. **9**: 455– 466.
- Amer, A., & Mehlhorn, H. (2006). Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. *Parasitology research*. **99(4)** : 478.

Andrade-Ochoa, S., Sánchez-Aldana, D., Chacón-Vargas, K. F., Rivera-Chavira, B. E., Sánchez-Torres, L. E., Camacho, A. D., ... & Nevárez-Moorillón, G. V. (2018). Oviposition deterrent and larvicidal and pupaecidal activity of seven essential oils and their major components against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae): synergism–antagonism effects. *Insects*. **9(1)** : 25.

Anonym. (1983). Informal consultation on insect growth regulators. WHO/VBC/83.

Anwar, F., Ali, M., Hussain, A. I., & Shahid, M. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Pakistan. *Flavour and Fragrance Journal*. **24(4)** : 170-176.

Aouati, A. (2015). Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). Thèse de doctorat, université des frères mentouri, constantine. 102p.

Aouinty, B., Chennaoui, M., Mahari, S., Rihane, A., & Mellouki, F. (2018). Larvicidal effects of aqueous extract from *Ricinus communis* L. leaves against mosquito *Culex pipiens*: Mortality and histopathology of treated larvae. *Journal of Materials and Environmental Sciences*. **9** : 619-623.

Aouinty, B., Oufara, S., Mellouki, F. & Mahari, S. (2006). Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés: *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*. **10(2)**: 67 – 71.

Arafa, W. M., Klafke, G. M., Tidwell, J. P., de León, A. A. P., & Esteve-Gassent, M. (2020). Detection of single nucleotide polymorphism in the para-sodium channel gene of *Rhipicephalus annulatus* populations from Egypt resistant to deltamethrin. *Ticks and Tick-borne Diseases*. **11** : 101488.

Araújo, I. F., Loureiro, H. A., Marinho, V. H., Neves, F. B., Sarquis, R. S., Faustino, S. M., ... & Ferreira, I. M. (2020). Larvicidal activity of the methanolic, hydroethanolic and hexanic extracts from *Acmella oleracea*, solubilized with silk fibroin, against *Aedes aegypti*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. **24** : 1-6.

Arruda, W., Oliveira, G. M. C., & Silva, I. G. D. (2003). Toxicidade do extrato etanólico de *Magonia pubescens* sobre larvas d'*Aedes aegypti*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. **36(1)** : 17-25.

Aslanturk, A., Kalender, S., Uzunhisarcikli, M., & Kalender, Y. (2011). Effects of methidathion on antioxidant enzyme activities and malondialdehyde level in midgut tissues of *Lymantria dispar* (Lepidoptera) larvae. *Journal of the Entomological Research Society*. **13(3)** : 27-38.

Aurelie, F. D. G., Ascension, N. M., Gabriel, T. H., Herman, A. A. P., Pauline, N. M., & Lebel, T. J. (2016). Chemical composition and ovicidal, larvicidal and pupicidal activity of *Ocimum basilicum* essential oil against *Anopheles gambiae*. (Diptera: Culicidae). *European Journal of Medicinal Plants*. 1-13.

Ayvaz, A., Sagdic, O., Karaborklu, S., & Ozturk, I. (2010). Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. *Journal of insect science*. **10(1)** : 21.

-B-

Badawy, M. E., Taktak, N. E., & El-Aswad, A. F. (2018). Chemical composition of the essential oils isolated from peel of three *citrus species* and their mosquitocidal activity against *Culex pipiens*. *Natural product research*. **32(23)** : 2829-2834.

Badilla, S. (1995). Regulation and research issues related to cholinesterase inhibition. *Toxicol.***102**: 105.

Bainy, A. C. D. (2000). Biochemical responses in penaeids caused by contaminants. *Aquaculture*. **191(1-3)** : 163-168.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*. **46(2)** : 446-475.

Balasubramani, S., Sabapathi, G., Moola, A. K., Solomon, R. V., Venuvanalingam, P., & Bollipo Diana, R. K. (2018). Evaluation of the Leaf Essential Oil from *Artemisia vulgaris* and Its Larvicidal and Repellent Activity against Dengue Fever Vector *Aedes aegypti*—An Experimental and Molecular Docking Investigation. *American Chemical Society omega*. **3(11)** : 15657-15665.

Bansal, S. K., Singh, K. V., & Sharma, H. (2015). Synergistic efficacy of *Solanum xanthocarpum* and *Withania somnifera* on larvae of mosquito vector species. *Journal of Environmental Biology*. **36(3)** : 633.

Bara, J. J., Montgomery, A., & Muturi, E. J. (2014). Sublethal effects of atrazine and glyphosate on life history traits of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology research*. **113(8)** : 2879-2886.

Baranitharan, M., Dhanasekaran, S., Kovendan, K., Murugan, K., Gokulakrishnan, J., & Benelli, G. (2017). *Coleus aromaticus* leaf extract fractions: A source of novel ovicides, larvicides and repellents against *Anopheles*, *Aedes* and *Culex* mosquito. *Process Safety and Environmental Protection*. **106** : 23-33.

Barla, A., Topçu, G., Öksüz, S., Tümen, G., & Kingston, D. G. (2007). Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis* L. *Food chemistry*. **104(4)** : 1478-1484.

Bawin, T., Seye, F., Boukraa, S., Zimmer, J. Y., Raharimalala, F. N., Ndiaye, M., ... & Francis, F. (2016). Histopathological effects of *Aspergillus clavatus* (Ascomycota: Trichocomaceae) on larvae of the southern house mosquito, *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Fungal biology*. **120(4)** : 489-499.

Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Dahl, C., Boase, C., Lane, J. et al (2010). Mosquitoes and their control. Springer-Verlag, Heidelberg, Allemagne.

Bedhomme, S., Agnew, P., Sidobre, C., & Michalakis, Y. (2003). Sex-specific reaction norms to

intraspecific larval competition in the mosquito *Aedes aegypti*. *Journal of Evolutionary Biology*. **16(4)** : 721-730.

Bedini, S., Flamini, G., Ascricchi, R., Venturi, F., Ferroni, G., Bader, A., ... & Conti, B. (2018). Essential oils sensory quality and their bioactivity against the mosquito *Aedes albopictus*. *Scientific reports*. **8(1)** :1-10.

Beenackers, A. M. T., Van der Horst, D. J., & Van Marrewijk, W. A. (1985). Insect lipids and lipoproteins, and their role in physiological processes. *Progress in Lipid Research*. **24(1)** : 19-67.

Ben Abdelkader, T. (2012). Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatiles des lavandes ailées, *Lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Thèse de Doctorat, Université Jean Monnet - Saint-Etienne, Ecole Normale Supérieure de Kouba (Alger).283p.

Benabdelkader, T. (2012). Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas sensu lato*, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Thèse de Doctorat. Université Jean Monnet - Saint-Etienne, Ecole Normale Supérieure de Kouba (Alger). 283p.

Benahmed-Djilali, A., Chemoul, T., Kal, S., Nabiev, M., & Besombes, C. (2017). Propriétés d'une pommade antibactérienne formulée à base de saponines extraites des feuilles de noyer. *Phytothérapie*, 1-9.

Bencheikh, S. E., Goudjil, M. B., Zighmi, S., & Ladjel, S. (2015). Effet du Séchage sur le Rendement des Huiles Essentielles de la Plante *TeucriumPolium* ssp. *Aurasianum Labiatae*. *Ḥawliyyāt al-'Ulūm wa-al-Tiknūlūjjiyā*. **281(5389)** : 1-5.

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.

Benelli, G. (2015). Plant-borne ovicides in the fight against mosquito vectors of medical and veterinary importance: a systematic review. *Parasitology research*. **114(9)** : 3201-3212.

Benhissen, S., Habbachi, W., Rebbas, K., & Masna, F. (2019). Bioactivité des extraits foliaires de ruta chalepensis l. (rutaceae) sur la mortalité des larves de *Culiseta longiareolata* (Diptera, Culicidae). *Lebanese Science Journal*. **20(1)** : 1.

Berchi, S., Aouati, A., & Louadi, K. (2012). Typologie des gîtes propices au développement larvaire de *Culex pipiens* L. 1758 (Diptera-Culicidae), source de nuisance à Constantine (Algérie). *Ecologia mediterranea*. **38(2)** : 5-16.

Bessette, S., Lindsa, A., Enan, E. (2013). Pesticidal compositions containing rosemary oil and wintergreen oil. United States Patent. US 20130142893 A1.

Bezerra da Silva, C., Pott, A., Elifio-Esposito, S., Dalarmi, L., Fialho do Nascimento, K., Moura Burci, L., ... & Dallarmi Miguel, M. (2016). Effect of donepezil, tacrine, galantamine and

rivastigmine on acetylcholinesterase inhibition in *Dugesia tigrina*. *Molecules*. **21(1)** : 53.

Biddinger, D., Hull, L., Huang, H., McPheron, B., & Loyer, M. (2006). Sublethal effects of chronic exposure to tebufenozide on the development, survival, and reproduction of the tufted apple bud moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of economic entomology*. **99(3)** : 834-842.

Biondi, A., Desneux, N., Siscaro, G., and Zappalà, L. (2012). Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere*. **87**: 803–812.

Bocquené, G. (1996). L'acétylcholinestérase, marqueur de neurotoxicité. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. Doctoral thesis, Ecole Pratique des Hautes, Montpellier. 250 p.

Bouabida, H., Tine-Djebbar, F., Tine, S. & Soltani, N. (2017). 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.

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., 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.

Bouguerra, N. (2019). Efficacité comparée des extraits de deux plantes, *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culex pipiens*: Composition chimique, Toxicité, Biochimie et Biomarqueurs. Thèse de Doctoral, Université de Tébessa-Larbi Tébessi. 143 p.

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.

Brahim, M., Manel, M., Imen, M., & Laid, O. M. (2019). Responses of the four larval stages (11 to 14) of the avian malaria vector *Culiseta longiareolata* exposed to spinosad (naturally derived insecticide). *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. **7(7)** : 599-603.

Brattsten LB. (1983). Cytochrome P-450 involvement in the interactions between plant terpenes and insect herbivores. *American Chemical Society*. 173–195.

Briegel, H. (1990). Metabolic relationship between female body size, reserves, and fecundity of *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology*. **36(3)** : 165-172.

Briegel, H., & Timmermann, S. E. (2001). *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): physiological aspects of development and reproduction. *Journal of medical entomology*. **38(4)** : 566-571.

Brogdon, W. G., & McAllister, J. C. (1998). Insecticide resistance and vector control. *Emerging*

infectious diseases. **4(4)** : 605.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2ème édition. Tec & Doc. Paris. 915p.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier 3ème édition, Paris.

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).

-C-

Cabral, M. M. O., Azambuja, P., Gottlieb, O. R., & Garcia, E. S. (2000). Effects of some lignans and neolignans on the development and excretion of *Rhodnius prolixus*. Fitoterapia. **71(1)** : 1-9.

Cabral, W. A., Chang, W., Barnes, A. M., Weis, M., Scott, M. A., Leikin, S., ... & Marini, J. C. (2007). Prolyl 3-hydroxylase 1 deficiency causes a recessive metabolic bone disorder resembling lethal/severe *osteogenesis imperfecta*. Nature genetics. **39(3)** : 359-365.

Caredda, A., Marongiu, B., Porcedda, S., & Soro, C. (2002). Supercritical carbon dioxide extraction and characterization of *Laurus nobilis* essential oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry. **50(6)** : 1492-1496.

Caroci, A. S., Li, Y., & Noriega, F. G. (2004). Reduced juvenile hormone synthesis in mosquitoes with low teneral reserves reduces ovarian previtellogenic development in *Aedes aegypti*. Journal of Experimental Biology. **207(15)** : 2685-2690.

Castillo-Morales, R. M., Otero, A. L. C., Mendez-Sanchez, S. C., Da Silva, M. A. N., Stashenko, E. E., & Duque, J. E. (2019). Mitochondrial affectation, DNA damage and AChE inhibition induced by *Salvia officinalis* essential oil on *Aedes aegypti* larvae. Comparative Biochemistry and Physiology Part C. Toxicology & Pharmacology. **221** : 29-37.

Celik, I., & Suzek, H. (2009). Effects of subacute exposure of dichlorvos at sublethal dosages on erythrocyte and tissue antioxidant defense systems and lipid peroxidation in rats. Ecotoxicology and environmental safety. **72(3)** : 905-908.

Chaaben, H., Motri, S., & Ben Selma, M. Z. (2015). Etude des Propriétés Physico-chimiques de l'Huile de Fruit de *Laurus nobilis* et Effet de la Macération par les Fruits et les Feuilles de *Laurus nobilis* sur les Propriétés Physico-Chimiques et la Stabilité Oxydative de l'Huile d'Olive. Journal of New Sciences. **8** : 873-880.

Chaithong, U., Choochote, W., Kamsuk, K., Jitpakdi, A., Tippawangkosol, P., Chaiyasit, D., ... & Pitasawat, B. (2006). Larvicidal effect of pepper plants on *Aedes aegypti* (L.)(Diptera: Culicidae). Journal of Vector Ecology. **31(1)** : 138-144.

Chambers, G. M., & Klowden, M. J. (1990). Correlation of nutritional reserves with a critical weight for pupation in larval *Aedes aegypti* mosquitoes. Journal of the American Mosquito Control

Association. **6(3)** : 394-399.

Chantawee, A., & Soonwera, M. (2018). Efficacies of four plant essential oils as larvicide, pupicide and oviposition deterrent agents against dengue fever mosquito, *Aedes aegypti* Linn. (Diptera: Culicidae). Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. **8(4)** : 217.

Chapman R. (1998). The insects : Structure and function. Cambridge University Press, Cambridge. 38-51p.

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(1)** : 76-81.

Chaubey, M. K. (2007). Toxicity of essential oils from *Cuminum cyminum* (Umbelliferae), *Piper nigrum* (Piperaceae) and *Foeniculum vulgare* (Umbelliferae) against storedproduct beetle *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry. **6** : 1719-1727.

Chaubey, M. K. (2012) a. Responses of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) against essential oils and pure compounds. Herba Polonica. **58(3)**.

Chaubey, M. K. (2012) b. Biological effects of essential oils against rice weevil *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Essential Oil Bearing Plants. **15(5)** : 809-815.

Chellappandian, M., Senthil-Nathan, S., Vasantha-Srinivasan, P., Karthi, S., Thanigaivel, A., Kalaivani, K., ... & Shyam-Sundar, N. (2019). Target and non-target botanical pesticides effect of *Trichodesma indicum* (Linn) R. Br. and their chemical derivatives against the dengue vector, *Aedes aegypti* L. Environmental science and pollution research. **26(16)** : 16303-16315.

Chellappandian, M., Vasantha-Srinivasan, P., Senthil-Nathan, S., Karthi, S., Thanigaivel, A., Ponsankar, A., ... & Hunter, W. B. (2018). Botanical essential oils and uses as mosquitocides and repellents against dengue. Environment international. **113** : 214-230.

Chen, P. S. (1966). Amino acid and protein metabolism in insect development. In Advances in insect physiology. Academic Press. **3** : 53-132.

Cheng, A. L., Kang, Y. K., Chen, Z., Tsao, C. J., Qin, S., Kim, J. S., ... & Guan, Z. (2009). Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. The lancet oncology. **10(1)** : 25-34.

Chenniappan, K., & Kadarkarai, M. (2008). Oviposition deterrent, ovicidal and gravid mortality effects of ethanolic extract of *Andrographis paniculata* Nees against the malarial vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). Entomological Research. **38(2)** : 119-125.

Cherrat, L. (2012). Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de 5 plantes aromatiques et médicinales du Maroc et évaluation de leurs effets combinés avec des méthodes de conservation alimentaire. These de doctorat. Université Abdelmalek Essaadi, Tanger. 167p.

- Cherrat, L., Espina, L., Bakkali, M., García-Gonzalo, D., Pagán, R., & Laglaoui, A. (2014).** Chemical composition and antioxidant properties of *Laurus nobilis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils from Morocco and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes for food preservation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **94(6)** : 1197-1204.
- Chiasson, H., & Beloin, N. (2007).** Les huiles essentielles, des biopesticides" Nouveau genre. *Bulletin de la Société d'Entomologie du Québec*. **14(1)** : 3-6.
- Chintalchere, J. M., Dar, M. A., & Pandit, R. S. (2020 a).** Biocontrol efficacy of bay essential oil against housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *The Journal of Basic and Applied Zoology*. **81(1)** : 6.
- Chintalchere, J. M., Dar, M. A., Shaha, C., & Pandit, R. S. (2020 b).** Impact of essential oils on *Musca domestica* larvae: oxidative stress and antioxidant responses. *International Journal of Tropical Insect Science*. 1-10.
- Chmit, M., Kanaan, H., Habib, J., Abbass, M., Mcheik, A., & Chokr, A. (2014).** Antibacterial and antibiofilm activities of polysaccharides, essential oil, and fatty oil extracted from *Laurus nobilis* growing in Lebanon. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. **7** : 546-552.
- Clements, A. N. (1995).** The sources of energy for flight in mosquitoes. *Journal of Experimental Biology*. **32(3)** : 547-554.
- Clements, A.N. (1999).** The biology of mosquitoes: development, nutrition and reproduction. CAB International Publishing, Eastbourne.
- Clements, A.N., (1992).** The biology of mosquitoes. In: Development, Nutrition and Reproduction. Vol 1. Chapman and Hall, London.
- Clements, J. D. (1996).** Transmitter timecourse in the synaptic cleft: its role in central synaptic function. *Trends in neurosciences*. **19(5)**. 163-171.
- Conti, B., Benelli, G., Flamini, G., Cioni, P. L., Profeti, R., Ceccarini, L., ... & Canale, A. (2012).** Larvicidal and repellent activity of *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) essential oil against the mosquito *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). *Parasitology research*, **110(5)** : 2013-2021.
- Corato, D. U., Trupo, M., Leone, G. P., Sanzo, D. G., Zingarelli, G., & Adami, M. (2007).** Antifungal activity of the leaf extracts of laurel (*Laurus nobilis* L.), orange (*Citrus sinensis* Osbeck) and olive (*Olea europaea* L.) obtained by means of supercritical carbon dioxide technique. *Journal of Plant Pathology*. **89(3)** : 83-91.
- Couic-Marinier, F., & Lobstein, A. (2013).** Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques*. **52(525)** : 22-25.
- Cseke, L. J., & Kaufman, P. B. (1999).** How and why these compound are synthesized by plants. *Natural products from plants*. 37-90.

- Daaboub, J., Cheikh, R. B., Lamari, A., Jha, I. B., Feriani, M., Boubaker, C., & Cheikh, H. B. (2008).** Resistance to pyrethroid insecticides in *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae) from Tunisia. *Acta tropica*. **107(1)** : 30-36.
- Dahak, K., Bouamama, H., Benkhalti, F., & Taourirte, M. (2014).** Drying methods and their implication on quality, quantity and antimicrobial activity of the essential oil of *Laurus nobilis* L. from Morocco. *OnLine Journal of Biological Sciences*. **14(2)** : 94-101.
- 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.
- Dambolena, J. S., Zunino, M. P., Herrera, J. M., Pizzolitto, R. P., Areco, V. A., & Zygadlo, J. A. (2016).** Terpenes: Natural products for controlling insects of importance to human health—A structure-activity relationship study. *Psyche*. 2016.
- Dammak, I., Hamdi, Z., El Euch, S. K., Zemni, H., Mliki, A., Hassouna, M., & Lasram, S. (2019).** Evaluation of antifungal and anti-ochratoxigenic activities of *Salvia officinalis*, *Lavandula dentata* and *Laurus nobilis* essential oils and a major monoterpene constituent 1, 8-cineole against *Aspergillus carbonarius*. *Industrial Crops and Products*. **128** : 85-93.
- Danga, S. P. Y., Nukenine, E. N., Batti, A. C. S., Younoussa, L., Keziah, E. A., & Esimone, C. O. (2018).** Mosquito oviposition-deterrent and ovicidal property of fractions and essential oils from *Plectranthus glandulosus* and *Callistemon rigidus* against *Aedes aegypti*, *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. **12(3)** : 1423-1436.
- David, J. P., Ismail, H. M., Chandor-Proust, A., & Paine, M. J. I. (2013).** Role of cytochrome P450s in insecticide resistance: impact on the control of mosquito-borne diseases and use of insecticides on Earth. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. **368(1612)** : 20120429.
- De Carvalho, N. R., Rodrigues, N. R., Macedo, G. E., Bristot, I. J., Boligon, A. A., de Campos, M. M., ... & Posser, T. (2017).** Eugenia uniflora leaf essential oil promotes mitochondrial dysfunction in *Drosophila melanogaster* through the inhibition of oxidative phosphorylation. *Toxicology research*. **6(4)** : 526-534.
- De Lima Santos, N. D., de Moura, K. S., Napoleão, T. H., Santos, G. K. N., Coelho, L. C. B. B., Navarro, D. M. D. A. F., & Paiva, P. M. G. (2012).** Oviposition-stimulant and ovicidal activities of *Moringa oleifera* lectin on *Aedes aegypti*. *Peer-reviewed open access scientific journal*. **7(9)** : 44840.
- Deb, M., & Kumar, D. (2020).** Bioactivity and efficacy of essential oils extracted from *Artemisia annua* against *Tribolium castaneum* (Herbst. 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae): An eco-friendly approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **189** : 109988.
- Deepa, M., Palanisamy, K., Krishnappa, K., & Elumalai, K. (2014).** Mosquitocidal activity of

Polygala arvensis Willd against *Aedes aegypti* (Linn.), *Anopheles stephensi* (Liston.) and *Culex quinquefasciatus* (Say.) (Diptera: Culicidae). International Journal of Mosquito Research. **1** : 30-34.

Deepalakshmi, S and Jeyabalan .D. (2017). Studies on Mosquitocidal and biological activity of endemic plants of *Nilgiris Hills* against filarial vector, *Culex quinquefasciatus* (Say) (Insecta: Diptera: Culicidae). International Journal of Advanced Research in Biological Sciences. **4(3)**: 137-151.

Del Rio, D., Stewart, A. J., & Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases. **15(4)** : 316-328.

Demarne FE (1985). Le géranium rosat. Parfums, Cosmétiques et Arômes, no 62.

Derwich, E., Benziane, Z., & Boukir, A. (2009). Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. **3(4)** : 3818-3824.

Deschepper, R. (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de doctorat. Université de Marseille, France. 149p.

Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J. M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annual Review of Entomology. **52** : 81-106.

Devi, U., & Bora, D. (2017). Growth inhibitory effect of phenolic extracts of *Ziziphus jujuba* Mill in dengue vector *Aedes aegypti* (L) in parent and F1 generation. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. **10(8)** : 787-791.

Di Leo Lira P., Retta D., Tkacik E., Ringuélet J., Coussio J.D., van Baren C. and Bandoni A.L. (2009). Essential oil and by-products of distillation of bay leaves (*Laurus nobilis* L.) from Argentina. Industrial Crops and Products. **30** : 259-264.

Dias, C. N., & Moraes, D. F. C. (2014). Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides. Parasitology research. **113(2)** : 565-592.

Dias, W. O., Wanner, E. F., & Cardoso, R. T. (2015). A multiobjective optimization approach for combating *Aedes aegypti* using chemical and biological alternated step-size control. Mathematical biosciences. **269** : 37-47.

Díaz-Maroto, M. C., Pérez-Coello, M. S., & Cabezudo, M. D. (2002). Effect of drying method on the volatiles in bay leaf (*Laurus nobilis* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. **50(16)** : 4520-4524.

Djoudad-kadji, H., Benslimane, S., Chevalier, C., Kadji, B., Exbrayat, J. M., & Iguer-ouada, M. (2011). Visualisation des coupes histologiques des follicules ovariens de barbus callensis variation de fixateurs et de colorants. Revue française d'histotechnologie. **24(1)** : 21-28.

Don-Pedro, K. N. (1989). Mode of action of fixed oils against eggs of *Callosobruchus maculatus* (F.). Pesticide Science. **26(2)** : 107-115.

Downer RG. (1982). Fat body and metabolism. In: Bell WJ, Adiyod KGi, editors. The American cockroach. New York: Chapman & Hall. 52-60.

Downer, R. G., & Chino, H. (1985). Turnover of protein and diacylglycerol components of lipophorin in insect haemolymph. *Insect biochemistry*. **15(5)** : 627-630.

Drapeau, J., Fröhler, C., Touraud, D., Kröckel, U., Geier, M., Rose, A., & Kunz, W. (2009). Repellent studies with *Aedes aegypti* mosquitoes and human olfactory tests on 19 essential oils from Corsica, France. *Flavour and Fragrance Journal*. **24(4)** : 160-169.

Draper, H. H., & Hadley, M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. **186**: 421–431.

Dris, D. (2018). Etude de l'activité larvicide des extraits de trois plantes *Mentha piperita*, *Lavandula dentata* et *Ocimum basilicum* sur les larves de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* (Linné) et *Culiseta longiareolata* (Aitken). Thèse de Doctorat en sciences, Université Badji Mokhtar, Annaba. 140 p.

Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*. **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.

-E-

Ebadollahi, A. (2011). Iranian plant essential oils as sources of natural insecticide agents. *International Journal of Biological Chemistry*. **5(5)** : 266-290.

Ebadollahi, A. (2013). Plant Essential Oils from Apiaceae Family as Alternatives to Conventional Insecticides. *Ecologia balkanica*. **5(1)**.

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 Research & Review in Biology*. 649-658.

El Zayyat, E.A., Elleboudy, N., Moustafa, A., & Ammar, A. (2018). Insecticidal, Oxidative, and Genotoxic Activities of *Syzygium aromaticum* and *Eucalyptus globulus* on *Culex pipiens* Adults and Larvae. *Türkiye Parazitolojii Dergisi*. **42(3)** : 213.

El Zayyat, E.A., M. I. Elleboudy, N. A. & Ofaa, S. E. (2015). *Musca domestica* laboratory susceptibility to three ethnobotanical culinary plants. *Environmental Science and Pollution Research Journal*. **22** : 15844-15852.

El-Aziz, A., Mona, 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 & Entomology. **2(2)** : 1-11.

El-Bakry, A. M., Abdel-Aziz, N. F., Sammour, E. A., & Abdelgaleil, S. A. M. (2016). Insecticidal activity of natural plant essential oils against some stored product insects and their side effects on wheat seed germination. Egyptian Journal of Biological Pest Control. **26(1)** : 83.

El-Bokl, M. M. (2016). Toxicity and bioefficacy of selected plant extracts against the mosquito vector *Culex pipiens* L.(Diptera: Culicidae). Journal of Entomology & Zoology Studies. **4(2)**: 483-488.

Elkiran, O., Akbaba, E., & Bagci, E. (2018). Constituents of essential oils from leaves and seeds of *Laurus nobilis* L.: a chemotaxonomic approach. Bangladesh Journal of Botany. **47(4)** : 893-901.

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-Sabrou, A. M., Zoghroban, A. A., & Abdelgaleil, S. A. (2020). Chemical composition and effects of four essential oils on mortality, development and physiology of the West Nile virus vector, *Culex pipiens*. International Journal of Tropical Insect Science. 1-11.

El-Wakeil, N. E. (2013). Botanical Pesticides and Their Mode of Action. Gesunde Pflanzen. **65(4)** : 125-149.

Enan, E. (2001). Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. **130(3)** : 325-337.

Enan, E. E. (2005). 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: Published in Collaboration with the Entomological Society of America. **59(3)** : 161-171.

Enayati, A. A., Ranson, H., & Hemingway, J. (2005). Insect glutathione transferases and insecticide resistance. Insect molecular biology. **14(1)** : 3-8.

Esther, E., Smit, S., Beukes, M., Apostolides, Z., Pirk, C. W., & Nicolson, S. W. (2015). Detoxification mechanisms of honey bees (*Apis mellifera*) resulting in tolerance of dietary nicotine. Scientific reports. **5(1)** : 1-11.

-F-

Fallatah, S. A. (2010). Histopathological effects of fenugreek (*Trigonella foenumgraceum*) extracts on the larvae of the mosquito *Culex quinquefasciatus*. Journal of the Arab Society for Medical Research. **5(2)** : 123-130.

Fang, Y. Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. Nutrition, **18(10)** : 872-879.

Farida, B. E. N. Z. I. N. A., Sonia, H. A. M. I. D., Hakima, M. K., Fatma, B. I. S. S. A. A. D., & Fatma, H. A. L. O. U. A. N. E. (2018). Histological changes in the larvae of the domestic mosquito

Culex pipiens treated with the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Scientific Research & Essays. **13(1)** : 1-10.

Farjana, T., & Tuno, N. (2012). Effect of body size on multiple blood feeding and egg retention of *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae). Medical Entomology and Zoology. **63(2)** : 123-131.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Actualité chimique. **(11/12)** : 108-117.

Feo, V. (2017). *Laurus nobilis*: Composition of essential oil and its biological activities. Molecules. **22(6)** : 930.

Ferdenache, M., Bezzar-Bendjazia, R., Marion-Poll, F., & Kilani-Morakchi, S. (2019). Transgenerational effects from single larval exposure to azadirachtin on life history and behavior traits of *Drosophila melanogaster*. Scientific reports. **9(1)** : 1-12.

Fernandez, C. M. M., da Rosa, M. F., Fernandez, A. C. A. M., Lorenzetti, F. B., Raimundo, K. F., Cortez, D. A. G., ... & Gazim, Z. C. (2018). Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Laurus nobilis* leaves obtained at different seasons. Journal of Essential Oil Research. **30(5)** : 379-387.

Fernandez-Andrade, C. M., da Rosa, M. I. F., Borges, F., Iwanaga, C. C., Gonçalves, J. E. E., Cortez, D. O. A., ... & Gazim, Z. C. (2016). Chemical composition and antifungal activity of essential oil and fractions extracted from the leaves of *Laurus nobilis* L. cultivated in southern Brazil. Journal of Medicinal Plants Research. **10(48)** : 865-871.

Ferrat, L., Romeo, M., Gnassia-Barelli, M., & Pergent-Martini, C. (2002). Effects of mercury on antioxidant mechanisms in the marine phanerogam *Posidonia oceanica*. Diseases of aquatic organisms. **50(2)** : 157-160.

Ferreira, A., Proença, C., Serralheiro, M. L. M., & Araujo, M. E. M. (2006). The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. Journal of ethnopharmacology. **108(1)** : 31-37.

Fidan, H., Stefanova, G., Kostova, I., Stankov, S., Damyanova, S., Stoyanova, A., & Zheljzkov, V. D. (2019). Chemical composition and antimicrobial activity of *Laurus nobilis* L. essential oils from Bulgaria. Molecules. **24(4)** : 804.

Flohe, L., & Günzler, W. A. (1984). Assays of glutathione peroxidase. Methods in enzymology. **105** : 114-120.

Foster, W. A. (1995). Mosquito sugar feeding and reproductive energetics. Annual review of entomology. **40(1)** : 443-474.

- Gäde, G. (2004).** Regulation of intermediary metabolism and water balance of insects by neuropeptides. *Annual Reviews in Entomology*. **49(1)** : 93-113.
- Galizi, R., Doyle, L. A., Menichelli, M., Bernardini, F., Deredec, A., Burt, A., ... & Crisanti, A. (2014).** A synthetic sex ratio distortion system for the control of the human malaria mosquito. *Nature communications*. **5** : 3977.
- Gallardo, A., Picollo, M. I., González-Audino, P., & Mougabure-Cueto, G. (2012).** Insecticidal activity of individual and mixed monoterpenoids of geranium essential oil against *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). *Journal of medical entomology*. **49(2)** : 332-335.
- Gandhi, P. R., Jayaseelan, C., Vimalkumar, E., & Mary, R. R. (2016).** Larvicidal and pediculicidal activity of synthesized TiO₂ nanoparticles using *Vitex negundo* leaf extract against blood feeding parasites. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. **19(4)** : 1089-1094.
- Gannagé-Yared, M. H., Khneisser, I., Salem, N., Gouyette, A., Loiselet, J., Halaby, G., & Massade, L. (1998).** Glutathion et glutathion S-transférase sanguins et leucocytaires: relation avec la cholestérolémie chez des volontaires sains. In *Annales de Biologie Clinique*. **56(3)** : 321-7.
- Gashout, H. A., Goodwin, P. H., & Guzman-Novoa, E. (2018).** Lethality of synthetic and natural acaricides to worker honey bees (*Apis mellifera*) and their impact on the expression of health and detoxification-related genes. *Environmental Science & Pollution Research*. **25(34)** : 34730-34739.
- Geret, F., Serafim, A., Barreira, L., & Bebianno, M. J. (2002).** Response of antioxidant systems to copper in the gills of the clam *Ruditapes decussatus*. *Marine Environmental Research*. **54(3-5)** : 413-417.
- Ghosh, A. K., Coppens, I., Gårdsvoll, H., Ploug, M., & Jacobs-Lorena, M. (2011).** Plasmodium ookinetes coopt mammalian plasminogen to invade the mosquito midgut. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **108(41)** : 17153-17158.
- Ghosh, A., Chowdhury, N., & Chandra, G. (2012).** Plant extracts as potential mosquito larvicides. *The Indian journal of medical research*. **135(5)** : 581.
- Gleiser, R. M., Bonino, M. A., & Zygadlo, J. A. (2011).** Repellence of essential oils of aromatic plants growing in Argentina against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitology research*. **108(1)** : 69-78.
- Gnankiné, O., & Bassolé, I. H. N. (2017).** Essential oils as an alternative to pyrethroids' resistance against *Anopheles* species complex giles (Diptera: Culicidae). *Molecules*. **22(10)** : 1321.
- Gokulakrishnan J, Elumalai Kuppusamy, Dhanasekaran Shanmugam, Anandan Appavu, Krishnappa Kaliyamoorthi. (2013).** Pupicidal and repellent activities of *Pogostemon cablin* essential oil chemical compound against medically important human vector mosquitoes. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. **3(1)**: 26-31.
- Goldsworthy, A.C., Mordue, W. & Guthkelch, J. (1972).** Studies on insect adipokinetic hormones. *General and Comparative Endocrinology*. **18**: 306-314.

- Gomes, F. M., Hixson, B. L., Tyner, M. D., Ramirez, J. L., Canepa, G. E., e Silva, T. L. A., ... & Barillas-Mury, C. (2017).** Effect of naturally occurring *Wolbachia* in *Anopheles gambiae* sl mosquitoes from Mali on Plasmodium falciparum malaria transmission. Proceedings of the National Academy of Sciences : **114(47)** : 12566-12571.
- Gonzalez-Audino, P., Picollo, M. I., Gallardo, A., Toloza, A., Vassena, C., & Mougabure-Cueto, G. (2011).** Comparative toxicity of oxygenated monoterpenoids in experimental hydroalcoholic lotions to permethrin-resistant adult head lice. Archives of dermatological research. **303(5)** : 361-366.
- Goudjil, M. B., Ladjel, S., Zighmi, S., Hammoya, F., Bensaci, M. B., Mehani, M., & Bencheikh, S. (2016).** Bioactivity of *Laurus nobilis* and *Mentha Piperita* essential oils on some phytopathogenic fungi (in vitro assay). Journal of Materials and Environmental Science. **7** : 4525-4533.
- Govindarajan, M., & Benelli, G. (2016).** Facile biosynthesis of silver nanoparticles using *Barleria cristata*: mosquitocidal potential and biotoxicity on three non-target aquatic organisms. Parasitology research. **115(3)** : 925-935.
- Govindarajan, M., & Rajeswary, M. (2015).** Ovicidal and adulticidal potential of leaf and seed extract of *Albizia lebbek* (L.) Benth. (Family: Fabaceae) against *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti*, and *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). Parasitology research. **114(5)** : 1949-1961.
- Govindarajan, M., & Sivakumar, R. (2014).** Larvicidal, ovicidal, and adulticidal efficacy of *Erythrina indica* (Lam.)(Family: Fabaceae) against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Parasitology research. **113(2)** : 777-791.
- Govindarajan, M., & Sivakumar, R. (2014).** Ovicidal, larvicidal and adulticidal properties of *Asparagus racemosus* (Willd.)(Family: Asparagaceae) root extracts against filariasis (*Culex quinquefasciatus*), dengue (*Aedes aegypti*) and malaria (*Anopheles stephensi*) vector mosquitoes (Diptera: Culicidae). Parasitology research. **113(4)** : 1435-1449.
- Govindarajan, M., Mathivanan, T., Elumalai, K., Krishnappa, K., & Anandan, A. (2011).** Mosquito larvicidal, ovicidal, and repellent properties of botanical extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Parasitology research. **109(2)** : 353-367.
- Govindarajan, M., Rajeswary, M., Muthukumaran, U., Hoti, S. L., Khater, H. F., & Benelli, G. (2016).** Single-step biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Zornia diphylla* leaves: A potent eco-friendly tool against malaria and arbovirus vectors. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. **161** : 482-489.
- Graham, D. H., Holmes, J. L., & Black IV, W. C. (2004).** Identification of quantitative trait loci affecting sex determination in the eastern treehole mosquito (*Ochlerotatus triseriatus*). Journal of Heredity. **95(1)** : 35-45.
- Granados-Echegoyen, C., Pérez-Pacheco, R., Alonso-Hernández, N., Vásquez-López, A., Lagunez-Rivera, L., & Rojas-Olivos, A. (2015).** Chemical characterization and mosquito larvicidal activity of essential oil from leaves of *Persea americana* Mill (Lauraceae) against *Culex quinquefasciatus* (Say). Asian Pacific Journal of Tropical Disease. **5(6)** : 463-467.

Granados-Echegoyen, C., Pérez-Pacheco, R., Soto-Hernández, M., Ruiz-Vega, J., Lagunez-Rivera, L., Alonso-Hernandez, N., & Gato-Armas, R. (2014). Inhibition of the growth and development of mosquito larvae of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) treated with extract from leaves of *Pseudocalymma alliaceum* (Bignoniaceae). *Asian Pacific journal of tropical medicine*. **7(8)** : 594-601.

Guedouari, R & Nabiev, M. (2015). Etude de l'influence de séchage sur l'extraction des huiles essentielles des feuilles du *laurus nobilis*. 5ème Séminaire Maghrébin sur les Sciences et les Technologies du Séchage, Ouargla.

Guedouari, R. (2012). Etude comparative de la pharmacognosie des différentes parties du *laurus nobilis* L.: essais de formulations thérapeutiques Mémoire de Magister en Génie des Procédés Chimiques et Pharmaceutiques Option : Industrie Pharmaceutique. Université M'hamed Bugara Boumerdes.

Guéguen, Y., Mouzat, K., Ferrari, L., Tissandie, E., Lobaccaro, J. M. A., Batt, A. M., ... & Souidi, M. (2006). Les cytochromes P450: métabolisme des xénobiotiques, régulation et rôle en clinique. *Annales de Biologie Clinique*. **64(6)** : 535-48.

Guenez, R. (2020). Contribution à l'étude de l'activité larvicide des extraits de certaines plantes sur les larves de trois espèces de moustiques *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas) et *Culiseta longiareolata* (Aitken). Thèse de Doctorat en sciences, Université Badji Mokhtar, Annaba. 150 p.

Guettal, S., Tine, S., Tine-Djebbar, F., & Soltani, N. (2020). Evaluation of *Citrus limonum* (Sapindales: Rutaceae) L. essential oil as protectant against the granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Allelopathy Journal*. **51** (1):79-92. <https://doi.org/10.26651/allelo.j/2020-51-1-1292>

Guettal, S., Tine, S., Tine-Djebbar, F., & Soltani, N. (2020). Effect of *Citrus limonum* essential oil against granary weevil, *Sitophilus granarius* and its chemical composition, biological activities and energy reserves. *International Journal of Tropical Insect Science*. <https://doi.org/10.1007/s42690-020-00353-y>.

Gumus, T., Demirci, A. S., Sagdic, O., & Arici, M. (2010). Inhibition of heat resistant molds: *Aspergillus fumigatus* and *Paecilomyces variotii* by some plant essential oils. *Food Science and Biotechnology*. **19(5)** : 1241-1244.

-H-

Habig, W.H., Pabst, M.J. & Jakoby, W.B. (1974). Glutathione S-Transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*. **249**: 7130– 7139.

Hafiz, A., Riaz, T., & Shakoori, F. R. (2017). Metabolic profile of a stored grain pest *Trogoderma granarium* exposed to deltamethrin. *Pakistan Journal Zoology*. **49(1)** : 183-188.

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 & Zoology Studies. **4(4)**: 1202–1207.

Haubruge, É., & Amichot, M. (1998). Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. **2** : 161-174.

Hazarika, H., Tyagi, V., Krishnatreyya, H., Kishor, S., Karmakar, S., Bhattacharyya, D. R., ... & Chattopadhyay, P. (2018). Toxicity of essential oils on *Aedes aegypti*: A vector of chikungunya and dengue fever. *International Journal of Mosquito Research*. **5(3)** : 51-57.

Hemingway, J., Hawkes, N. J., McCarroll, L., & Ranson, H. (2004). The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect biochemistry and molecular biology*. **34(7)** : 653-665.

Hikal, W. M., Baeshen, R. S., & Said-Al Ahl, H. A. (2017). Botanical insecticide as simple extractives for pest control. *Cogent Biology*. **3(1)** : 1404274.

Houghton, P. J., Ren, Y., & Howes, M. J. (2006). Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Natural Product Reports*. **23(2)** : 181-199.

Hould, R., & de Shawinigan, C. (1984). Techniques d'histopathologie et de cytopathologie. Centre collégial de développement de matériel didactique.

Howes, M. J. R., & Houghton, P. J. (2003). Plants used in Chinese and Indian traditional medicine for improvement of memory and cognitive function. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. **75(3)** : 513-527.

Huang, Y., Lin, M., Jia, M., Hu, J., & Zhu, L. (2020). Chemical composition and larvicidal activity against *Aedes* mosquitoes of essential oils from *Arisaema fargesii*. *Pest Management Science*. **76(2)** : 534-542.

Hussein, M. A., Zyaan, O. H., Abdel Monsef, A. H., Rizk, S. A., Farag, S. M., & Khaled, A. S. (2018). Synthesis, molecular docking and insecticidal activity evaluation of chromones of date *palm pits* extract against *Culex Pipiens* (Diptera: Culicidae). *International Journal of Mosquito Research*. **5** : 22-32

-I-

Ileke, K. D., Adesina, J. M., & Okunola, O. G. (2017). Larvicidal and Pupicidal Potential of *Aframomum melegueta* K. Schum Extracts Against Mosquito, *Anopheles* Species. *Journal of the Entomological Research Society*. **19(1)** : 121-127.

İnan, Ö., Özcan, M. M., & Al Juhaimi, F. Y. (2012). Antioxidant effect of mint, laurel and myrtle leaves essential oils on pomegranate kernel, poppy, grape and linseed oils. *Journal of Cleaner Production*. **27** : 151-154.

Intirach, J., Junkum, A., Lumjuan, N., Chaithong, U., Somboon, P., Jitpakdi, A., ... & Pitasawat, B. (2019). Biochemical effects of *Petroselinum crispum* (Umbellifereae) essential oil on the pyrethroid resistant strains of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Insects*. **10(1)** : 1.

Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop protection*, **19(8-10)** : 603-608.

Isman, M. B., & Seffrin, R. (2018). Essential oils as green pesticides for plant protection in horticulture. In: Mandal D, Shukla AC, Siddiqui MW (eds) *Innovations in horticultural science: Sustainable horticulture 2: Food, health, and nutrition*. Apple Academic Press.217–260.

Ivanović, J., Mišić, D., Ristić, M., Pešić, O., & Žižović, I. (2010). Supercritical CO₂ extract and essential oil of bay (*Laurus nobilis* L.): Chemical composition and antibacterial activity. *Journal of the Serbian Chemical Society*. **75(3)** : 395-404.

-J-

Jacob, F., & Monod, J. (1961). Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *Journal of molecular biology*. **3(3)** : 318-356.

Jayakumar, M., Arivoli, S., Raveen, R., & Tennyson, S. (2016). Larvicidal and pupicidal efficacy of plant oils against *Culex quinquefasciatus* Say 1823 (Diptera: Culicidae). *Journal of Entomology & Zoology Studies*. **4(5)** : 449-456.

Jbilou, R., Amri, H., Bouayad, N., Ghailani, N., Ennabili, A., & Sayah, F. (2008). Insecticidal effects of extracts of seven plant species on larval development, α -amylase activity and offspring production of *Tribolium castaneum* (Herbst)(Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae). *Bioresource technology*. **99(5)** : 959-964.

Jemâa, J. M. B., Tersim, N., Toudert, K. T., & Khouja, M. L. (2012). Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *Journal of Stored Products Research*. **48** : 97-104.

Jordan, T. V., Shike, H., Boulo, V., Cedeno, V., Fang, Q., Davis, B. S., ... & Burns, J. C. (1998). Pantropic retroviral vectors mediate somatic cell transformation and expression of foreign genes in dipteran insects. *Insect Molecular Biology*. **7(3)** : 215-222.

-K-

Kabir, K. E., Choudhary, M. I., Ahmed, S., & Tariq, R. M. (2013). Growth-disrupting, larvicidal and neurobehavioral toxicity effects of seed extract of *Seseli diffusum* against *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Ecotoxicology & environmental Safety*. **90** : 52-60.

Kamalakaran, S., Murugan, K., & Chandramohan, B. (2015). Insect growth regulatory activity of *Acalypha alnifolia* (Euphorbiaceae) and *Vitex negundo* (Verbenaceae) leaf extracts against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *International Journal of Mosquito Research*. **2(1)** : 47-52.

Kamaraj, C., & Rahuman, A. A. (2010). Larvicidal and adulticidal potential of medicinal plant extracts from south India against vectors. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. **3(12)** : 948-953.

Karthi, S., Vinothkumar, M., Karthic, U., Manigandan, V., Saravanan, R., Vasantha-Srinivasan, P., ... & Krutmuang, P. (2020). Biological effects of *Avicennia marina* (Forssk.) vierh Extracts on

physiological, biochemical, and antimicrobial activities against three challenging mosquito vectors and microbial pathogens. *Environmental Science and Pollution Research*. 1-14.

Katagiri, N., Ando, O., & Yamashita, O. (1998). Reduction of glycogen in eggs of the silkworm, *Bombyx mori*, by use of a trehalase inhibitor, trehalozin, and diapause induction in glycogen-reduced eggs. *Journal of insect physiology*. **44(12)** : 1205-1212.

Kaufmann, C., & Briegel, H. (2004). Flight performance of the malaria vectors *Anopheles gambiae* and *Anopheles atroparvus*. *Journal of vector ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*. **29(1)** : 140-153.

Keeley, L. L. (1985). Physiology and biochemistry of the fat body. *Comprehensive insect physiology. Biochemistry & pharmacology*. **3** : 211-248.

Kemassi, A., (2014). Toxicité comparée des extraits d'*Euphorbia guyoniana* (Stapf.) (Euphorbiaceae), *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) et de *Capparis spinosa* L. (Capparidaceae) récoltés de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional) sur les larves du cinquième stade et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera- Cyrtacanthacridinae). Thèse de doctorat en Écologie Saharienne et Environnement. Université de Kasdi Merbah, Ouargla. 230 p.

Khanikor, B., Parida, P., Yadav, R. N. S., & Bora, D. (2013). Comparative mode of action of some terpene compounds against octopamine receptor and acetyl cholinesterase of mosquito and human system by the help of homology modeling and docking studies. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. **3(2)** : 6.

Kharoubi, R., Rehim, N., & Soltani, N. (2020). Essential oil from *Mentha rotundifolia* harvested in Northeast Algeria: Chemical Composition, Larvicidal and Enzymatic Activities on *Culex pipiens* larvae. *Transylvanian Review*. **(28)** : 47

Khater, H. F. (2003). Biocontrol of some insects. Parasitology. Egypt: Benha University.

Khater, H. F., & Shalaby, A. A. S. (2008). Potential of biologically active plant oils to control mosquito larvae (*Culex pipiens*, Diptera: Culicidae) from an Egyptian locality. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. **50(2)** : 107-112.

Kheyar, N., Meridja, D., & Belhamel, K. (2014). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. *Algerian Journal of Natural Products*. **2** : 1-18.

Khosravi, R., Sendi, J. J., Ghadamyari, M., & Yezdani, E. (2011). Effect of sweet wormwood *Artemisia annua* crude leaf extracts on some biological and physiological characteristics of the lesser mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis*. *Journal of Insect Science*. **11(1)**.

Kierszenbaum, A.L. (2006). Histologie et biologie cellulaire - Une introduction à l'anatomie pathologie. Bruxelles: De Boeck. 638p.

Kim, Y. H., Issa, M. S., Cooper, A. M., & Zhu, K. Y. (2015). RNA interference: applications and advances in insect toxicology and insect pest management. *Pesticide Biochemistry & Physiology*.

120 : 109-117.

Kiran, S., & Prakash, B. (2015). Toxicity and biochemical efficacy of chemically characterized *Rosmarinus officinalis* essential oil against *Sitophilus oryzae* and *Oryzaephilus surinamensis*. *Industrial Crops & Products*. **74** : 817-823.

Kivrak, Ş. Göktürk, T., & Kivrak, İ. (2017). Assessment of volatile oil composition, phenolics and antioxidant activity of Bay (*Laurus nobilis*) leaf and usage in cosmetic applications. *International Journal of Secondary Metabolite*. **4(2)** : 148-161.

Klocke, J. A., Darlington, M. V., & Balandrin, M. F. (1987). 1, 8-Cineole (Eucalyptol), a mosquito feeding and ovipositional repellent from volatile oil of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae). *Journal of Chemical Ecology*. **13(12)** : 2131-2141.

Klowden, M. J., & Lea, A. O. (1978). Blood meal size as a factor affecting continued host-seeking by *Aedes aegypti* (L.). *The American journal of tropical medicine & hygiene*. **27(4)** : 827-831.

Klowden, M.J. (2007). *Physiological systems in insects*, Amsterdam: Elsevier. Academic Press. pp. 688.

Klys, M. (2012). An influence of herbs on the sex structure in populations of insect pests of stored products. *Journal of Plant Protection Research*. **52(4)**.

Koliopoulos, G., Pitarokili, D., Kioulos, E., Michaelakis, A., & Tzakou, O. (2010). Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. *Parasitology research*. **107(2)** : 327-335.

Kondjoyan, N. & Berdagué, J.L. (1996). A Compilation of Relative Retention Indices for **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: formerly Pesticide Science*. **58(11)** : 1101-1106.

Kumar, D., Al Hassan, M., Naranjo, M. A., Agrawal, V., Boscaiu, M., & Vicente, O. (2017). Effects of salinity and drought on growth, ionic relations, compatible solutes and activation of antioxidant systems in oleander (*Nerium oleander* L.). *Peer-reviewed open access scientific journal*. **12(9)** : 0185017.

Kumrungsee, N., Pluempanupat, W., Koul, O., & Bullangpoti, V. (2014). Toxicity of essential oil compounds against diamondback moth, *Plutella xylostella*, and their impact on detoxification enzyme activities. *Journal of pest science*. **87(4)** : 721-729.

-ℒ-

Lackner, R. (1998). "Oxidative stress" in fish by environmental pollutants. In *Fish ecotoxicology*. Birkhauser Verlag, Basel. 203–224.

Lalouette, L., Williams, C. M., Hervant, F., Sinclair, B. J., & Renault, D. (2011). Metabolic rate and oxidative stress in insects exposed to low temperature thermal fluctuations. *Comparative*

Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. **158(2)** : 229-234.

Larose, C., Canuel, R., Lucotte, M., & Di Giulio, R. T. (2008). Toxicological effects of methylmercury on walleye (*Sander vitreus*) and perch (*Perca flavescens*) from lakes of the boreal forest. Comparative Biochemistry and Physiology Part C. Toxicology & Pharmacology. **147(2)** : 139-149.

Lavariás, S., Arrighetti, F., & Siri, A. (2017). Histopathological effects of cypermethrin and *Bacillus thuringiensis* var. israelensis on midgut of *Chironomus calligraphus* larvae (Diptera: Chironomidae). Pesticide Biochemistry & Physiology. **139** : 9-16.

Lee, C. Y. (2000). Sublethal effects of insecticides on longevity, fecundity and behaviour of insect pests: a review. Journal of Bioscience. **11(1)** : 107-112.

Lee, D. C., & Ahn, Y. J. (2013). Laboratory and simulated field bioassays to evaluate larvicidal activity of *Pinus densiflora* hydrodistillate, its constituents and structurally related compounds against *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens* in relation to their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. Insects. **4(2)** : 217-229.

Leelaja, B. C., & Rajini, P. S. (2012). Impact of phosphine exposure on development in *Caenorhabditis elegans*: Involvement of oxidative stress and the role of glutathione. Pesticide biochemistry & physiology. **104(1)** : 38-43.

Lei, A. P., Wong, Y. S., & Tam, N. F. Y. (2003). Pyrene-induced changes of glutathione-S-transferase activities in different microalgal species. Chemosphere. **50(3)** : 293-301.

Li, S. G., Li, M. Y., Huang, Y. Z., Hua, R. M., Lin, H. F., He, Y. J., ... & Liu, Z. Q. (2013). Fumigant activity of *Illicium verum* fruit extracts and their effects on the acetylcholinesterase and glutathione S-transferase activities in adult *Sitophilus zeamais*. Journal of pest science. **86(4)** : 677-683.

Li, X., Schuler, M.A., Berenbaum, M.R. (2007). Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. Annual review of Entomology. **52** : 231–253.

Liebl, M., Nelius, V., Kamp, G., Ando, O., & Wegener, G. (2010). Fate and effects of the trehalase inhibitor trehalozin in the migratory locust (*Locusta migratoria*). Journal of insect physiology. **56(6)** : 567-574.

Lija-Escaline, J., Senthil-Nathan, S., Thanigaivel, A., Pradeepa, V., Vasantha-Srinivasan, P., Ponsankar, A., ... & Abdel-Megeed, A. (2015). Physiological and biochemical effects of botanical extract from *Piper nigrum* Linn (Piperaceae) against the dengue vector *Aedes aegypti* Liston (Diptera: Culicidae). Parasitology research. **114(11)** : 4239-4249.

Linné, C. (1758). Systema naturae per regna tria naturae. Edition 10. Vol. 1. Holmiae: 824p.

Liu, J., Fernandez, D., Gao, Y., Silvie, P., Gao, Y., & Dai, G. (2020). Enzymology, histological and ultrastructural effects of ar-turmerone on *Culex pipiens pallens* larvae. Insects. **11(6)** : 336.

Liu, Y., Wang, G., Li, C., Zhou, Q., Wang, M., & Yang, L. (2014). A novel acetylcholinesterase

biosensor based on carboxylic graphene coated with silver nanoparticles for pesticide detection. *Materials Science & Engineering: C*, **35** : 253-258.

Loach, N. (2018). Study on the relative toxicity of certain encapsulated nanoparticles of plant origin against selected mosquito larvae. Thesis of Doctora. Faculty of Science, Dayalbagh Educational Institute .Deemed University.

Lounaci, Z., Doumandji, S., Doumandji-Mitiche, B., & Taguemout, M. (2016). Bioecology of Culicidae (Diptera; Nematocera) of Taksebt dam of Tizi-Ouzou (Algeria). *Advances in Environmental Biology*. **10(9)** : 20-30.

Lounibos, L. P., & Escher, R. L. (2008). Sex ratios of mosquitoes from long-term censuses of Florida tree holes. *Journal of the American Mosquito Control Association*. **24(1)** : 11.

Lu, H. Y., Liu, X. C., Liu, Q. Z., & Liu, Z. L. (2017). Chemical composition of *Dipsacus asper* Wallich ex Candolle (Dipsacaceae) essential oil and its activity against mosquito larvae of *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. **16(1)** : 179-184.

Luz, T.R.S.A., Leite, J.A.C., de Mesquita, L.S.S., Bezerra, S.A., Silveira, D.P.B., de Mesquita, J.W.C., Ribeiro, E.G.C., Vilanova, C.M., Ribeiro, M.N.S., Amaral, F.M.M., Coutinho, D.F.(2020). Seasonal variation in the chemical composition and biological activity of the essential oil of *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze. *Industrial Crops & Products*. **153** : 112600.

-M-

Ma, S., Liu, L., Ma, Z., & Zhang, X. (2017). Microstructural and ultrastructural changes in the muscle cells of the oriental armyworm *Mythimna separata* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) on treatment with wilforine. *Pesticide Biochemistry & Physiology*. **139** : 60-67.

Maffei, M., & Sacco, T. (1987). Chemical and morphometrical comparison between two peppermint notomorphs. *Planta medica*. **53(02)** : 214-216.

Maggi, F., & Benelli, G. (2018). Essential oils from aromatic and medicinal plants as effective weapons against mosquito vectors of public health importance. In *Mosquito-borne Diseases* Springer, Cham. 69-129.

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 & Zoology Studies*. **5(3)** : 803-809.

Mahanta, S., Khanikor, B., & Sarma, R. (2020). Allium sativum (Liliales: Asparagales) essential oil-based combinations—a potential larvicide for *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *International Journal Of Tropical Insect Science*. **40**: 837–844.

Maharajan, K., Muthulakshmi, S., Nataraj, B., Ramesh, M., & Kadirvelu, K. (2018). Toxicity assessment of pyriproxyfen in vertebrate model zebrafish embryos (*Danio rerio*): a multi biomarker study. *Aquatic Toxicology*. **196** : 132-145.

- Mahler, H. R., & Brown, B. J. (1968).** Protein synthesis by cerebral cortex polysomes: characterization of the system. *Archives of biochemistry & biophysics*. **125(2)** : 387-400.
- Mahmoud, D. M., Abd El-Bar, M. M., Salem, D. A., & Rady, M. H. (2019).** Larvicidal potential and ultra-structural changes induced after treatment of *Culex pipiens* L.(Diptera: Culicidae) larvae with some botanical extracted oils. *Synthesis*. **12** : 15-18.
- Mahyoub, J. A., Aldahri, M., Al-Saidi, H. M., Aljameeli, M. M. E., Assagaf, A. I., Al-Ghamdi, K. M., & Al-Solami, H. M. (2016).** Biological Effects of *Salicornia fruticosa* Aqueous Extract and its Synthesized Silver Nanoparticles against *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. **26(4)**.
- Makarem, H. A., Kholy, S. E., Abdel-Latif, A., & Seif, A. I. (2015).** Physiological and biochemical effects of some essential oils on the granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.)(Coleoptera: Curculionidae). *The Egyptian journal of Experimental Biology* .**11** : 117-123.
- Mann, R.S., & Kaufman, P.E. (2012).** Natural product pesticides: their development, delivery and use against insect vectors. *Mini-reviews in organic chemistry*. **9(2)** : 185-202.
- Marotti, M., Piccaglia, R., Giovanelli, E., Deans, S. G., & Eaglesham, E. (1994).** Effects of variety and ontogenic stage on the essential oil composition and biological activity of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Journal of Essential Oil Research*. **6(1)** : 57-62.
- Martello, R. H., Gallon, C., Souza, M. A., Calisto, J. F. F., Aguiar, G. P. S., Albeny-Simões, D., ... & Dal Magro, J. (2019).** Micronization of thymol by RESS and its larvicidal activity against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Industrial Crops & Products*. **139** : 111495.
- Mathew, M., Tay, E., & Cusi, K. (2010).** Elevated plasma free fatty acids increase cardiovascular risk by inducing plasma biomarkers of endothelial activation, myeloperoxidase and PAI-1 in healthy subjects. *Cardiovascular diabetology*. **9(1)** : 9.
- 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.
- Melusova, M., Slamenova, D., Kozics, K., Jantova, S., & Horvathova, E. (2014).** Carvacrol and rosemary essential oil manifest cytotoxic, DNA-protective and pro-apoptotic effect having no effect on DNA repair. *Neoplasma*. **61(6)** : 690-699.
- Merghni, A., Marzouki, H., Hentati, H., Aouni, M., & Mastouri, M. (2016).** Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. *Current Research in Translational Medicine*. **64(1)** : 29-34.
- Merzendorfer, H., & Zimoch, L. (2003).** Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. *Journal of Experimental Biology*. **206(24)** : 4393-4412.
- Michaelakis, A., Vidali, V. P., Papachristos, D. P., Pitsinos, E. N., Koliopoulos, G., Couladouros, E. A., ... & Kimbaris, A. C. (2014).** Bioefficacy of acyclic monoterpenes and their saturated derivatives against the West Nile vector *Culex pipiens*. *Chemosphere*. **96** : 74-80.

- Milos, M., Radonic, A., Bezic, N., & Dunkic, V. (2001).** Localities and seasonal variations in the chemical composition of essential oils of *Satureja montana* L. and *Satureja cuneifolia* Ten. Flavour & fragrance journal. **16(3)** : 157-160.
- Moghtader, M., & Salari, H. (2012).** Comparative survey on the essential oil composition from the leaves and flowers of *Laurus nobilis* L. from Kerman province. Journal of Ecology and the Natural Environment. **4(6)** : 150-153.
- Mohankumar, T. K., Shivanna, K. S., & Achuttan, V. V. (2016).** Screening of methanolic plant extracts against larvae of *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi* in Mysore. Journal of arthropod-borne diseases. **10(3)** : 303.
- 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)**.
- Möller, K. (2008).** La distillation à l'alambic: un art à la portée de tous. Editorial Unico. 152p.
- Moser, B. A., Becnel, J. J., White, S. E., Afonso, C., Kutish, G., Shanker, S., & Almira, E. (2001).** Morphological and molecular evidence that *Culex nigripalpus* baculovirus is an unusual member of the family Baculoviridae The GenBank accession numbers of the sequences reported in this paper are AF274283, AF274285, AF274288, AF274289, AF274291 and AF274292. Journal of general virology. **82(2)** : 283-297.
- Mouden, M., Boujnah, M., Barki, M., Rakib, E. M., Badoc, A., & Douira, A. (2012).** Effet de deux méthodes d'extraction et de la période de récolte sur le rendement en huile des graines de figue de Barbarie. Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux. **151** : 7-14.
- Mourad, A. K., Saad, A. S., Esawy, M. M., & Hassan, S. M. (2004).** Influence of the nonsteroidal ecdysone agonist, tebufenozide, on certain biological and physiological parameters of the cotton leaf-worm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.)(Noctuidae: Lepidoptera) in Egypt. Communications in Agricultural & Applied Biological Sciences. **69(3)** : 119-139.
- Mukherjee, P. K., Kumar, V., & Houghton, P. J. (2007).** Screening of Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives. **21(12)** : 1142-1145.
- Mulla, M. S. (1991).** Insect growth regulators for the control of mosquito pests and disease vectors. Chinese journal of entomology. **6** : 81-91.
- Murugan, K., Aarthi, N., Kovendan, K., Panneerselvam, C., Chandramohan, B., Kumar, P. M., ... & Benelli, G. (2015).** Mosquitocidal and antiplasmodial activity of *Senna occidentalis* (Cassiae) and *Ocimum basilicum* (Lamiaceae) from Maruthamalai hills against *Anopheles stephensi* and *Plasmodium falciparum*. Parasitology research. **114(10)** : 3657-3664.
- Murugan, K., Babu, R., Jeyabalan, D., Kumar, N. S., & Sivaramakrishnan, S. (1996).** Antipupational effect of neem oil and neem seed kernel extract against mosquito larvae of *Anopheles stephensi* (Liston). Journal of Entomological Research. **20(2)** : 137-139.

Muturi, E. J., Kim, C. H., Alto, B. W., Berenbaum, M. R., & Schuler, M. A. (2011). Larval environmental stress alters *Aedes aegypti* competence for Sindbis virus. *Tropical Medicine & International Health*. **16(8)** : 955-964.

Muturi, E. J., Ramirez, J. L., Zilkowski, B., Flor-Weiler, L. B., & Rooney, A. P. (2018). Ovicidal and larvicidal effects of garlic and asafoetida essential oils against West Nile virus vectors. *Journal of insect science*. **18(2)** : 43.

-N-

Nabti, I., & Bounechada, M. (2019). Larvicidal Activities of Essential Oils Extracted from Five Algerian Medicinal Plants against *Culiseta longiareolata* Macquart. Larvae (Diptera: Culicidae). *European Journal of Biology*. **78(2)**.

Nasci, R. S. (1986). The size of emerging and host-seeking *Aedes aegypti* and the relation of size to blood-feeding success in the field. *Journal of American Mosquitoes Control Assoc.* **2(1)** : 61-2.

Nasci, R. S. (1990). Relationship of wing length to adult dry weight in several mosquito species (Diptera: Culicidae). *Journal of medical entomology*. **27(4)** : 716-719.

Nasir S, Batool M, Hussain SN, Nasir I, Hafeez F and Debboun M (2015). Bioactivity of oils from medicinal plants against immature stages of dengue mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *International Journal of Agriculture & Biology*. **17**: 843-847.

Nath, B.S., Suresh, A., Varma, B.M. & Kumar, R.P.S. (1997). Changes in protein metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) in response to organophosphorus insecticides toxicity. *Ecotoxicology & Environmental Safety*. **36 (2)**: 169 – 173.

Nathan, S. S., Choi, M. Y., Seo, H. Y., Paik, C. H., Kalaivani, K., & Kim, J. D. (2008). Effect of azadirachtin on acetylcholinesterase (AChE) activity and histology of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål). *Ecotoxicology & Environmental Safety*. **70(2)** : 244-250.

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. (2006). Chemical composition and insecticidal activity of *Artemisia scoparia* essential oil against three coleopteran stored-product insects. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. **9(4)** : 381-388.

Newton, M. E., Wood, R. J., & Southern, D. I. (1976). A cytogenetic analysis of meiotic drive in the mosquito, *Aedes aegypti* (L.). *Genetica*. **46(3)** : 297-318.

Nyamador, S. (2009). Influence des traitements à base d'huiles essentielles sur les capacités de reproduction de *Callosobruchus subinnotatus* Pic. et de *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae): mécanisme d'action de l'huile essentielle de *Cymbopogon giganteus* Chiov. Thèse de Doctorat, Université de Lomé. 177 p.

-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. *Phytoparasitica*. **45(4)** : 501-508.

Ogeturk, M., Kus, I., Colakoglu, N., Zararsiz, I., Ilhan, N., & Sarsilmaz, M. (2005). Caffeic acid phenethyl ester protects kidneys against carbon tetrachloride toxicity in rats. *Journal of ethnopharmacology*. **97(2)** : 273-280.

Olmedo, R. H., 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.

Olmstead, A. W., & LeBlanc, G. A. (2000). Effects of endocrine-active chemicals on the development of sex characteristics of *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry: International Journal*. **19(8)** : 2107-2113.

Organisation mondiale de la Santé. (2013). Guide pratique pour la prise en charge du paludisme grave-. Genève: OMS, 83.

Organisation mondiale de la Santé. (2018) . Neglected tropical diseases. Mosquito-borne diseases.

Osman, K., AL-Emam, A., & Moustafa, M. (2020). Secondary plant products against *Culex pipiens* (Linn.), with reference to some changes detected by scanning electron microscope. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. **30** : 1-7.

Osuala, F. I., Abiodun, O. A., Igwo-Ezikpe, M. N., Kemabonta, K. A., & Otitoloju, A. A. (2017). Relative toxicity of cigarette butts leachate and usefulness of antioxidant biomarker activity in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Trewavas, 1983). *Ethiopian Journal of Environmental Studies & Management*. **10(1)** : 75-88.

Ouafi, N., Moghrani, H., Benaouda, N., Yassaa, N., & Maachi, R. (2017). Evaluation qualitative et quantitative de la qualité des feuilles de *Laurier noble* Algérien séchées dans un séchoir solaire convectif. *Revue des Energies Renouvelables*. **20(1)** :161-168.

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 pages.

Ouibrahim, A., Kaki, Y. T. A., Bennadja, S., Mansouri, R., Kaki, S. A., Khbizi, S., & Djebbar, M. R. (2015). Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. provenant de la région d'El Kala (Nord-Est Algérien). *Algerian Journal Of Natural Products*. **3(3)** : 209-216.

Owokotomo, I. A., Ekundayo, O., Abayomi, T. G., & Chukwuka, A. V. (2015). In-vitro anti-cholinesterase activity of essential oil from four tropical medicinal plants. *Toxicology reports*. **2** : 850-857.

-P-

Packer, M. J., & Corbet, P. S. (1989). Size variation and reproductive success of female *Aedes punctor* (Diptera: Culicidae). *Ecological Entomology*. **14(3)** : 297-309.

Palanikumar, M., Pravin, Y., Navaneethan, M., Mahendren, S., Mohanraj, R. S., & Dhanakkodi, B. (2017). *Callistemon citrinus* (Myrtaceae) methanolic leaf extract: a potent mosquitocidal agent for controlling dengue vector mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Entomology & Zoology Studies*. **5(3)** : 1051-1059.

Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2010). Markers of oxidative stress in erythrocytes and plasma during aging in humans. *Oxidative medicine and cellular longevity*. **3(1)** : 2-12.

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(8)** : 12547-12558.

Parthiban, E., Arokiyaraj, C., & Ramanibai, R. (2020). *Annona muricata*: An alternate mosquito control agent with special reference to inhibition of detoxifying enzymes in *Aedes aegypti*. *Ecotoxicology & Environmental Safety*. **189** : 110050.

Pascual-Villalobos, M. J., & Ballesta-Acosta, M. C. (2003). Chemical variation in an *Ocimum basilicum* germplasm collection and activity of the essential oils on *Callosobruchus maculatus*. *Biochemical Systematics & Ecology*. **31(7)** : 673-679.

Paulino, M. G., Souza, N. E. S., & Fernandes, M. N. (2012). Subchronic exposure to *Atrazine* induces biochemical and histopathological changes in the gills of a Neotropical freshwater fish, *Prochilodus lineatus*. *Ecotoxicology & environmental safety*. **80** : 6-13.

Pavela, R. (2008). Larvicidal effects of various Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). *Parasitology research*. **102(3)** : 555.

Pavela, R. (2009). Effectiveness of some botanical insecticides against *Spodoptera littoralis* Boisduvala (Lepidoptera: Noctuidae), *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae) and *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Plant Protection Science*. **45(4)** :161-167.

Pavela, R. (2015). Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. *Industrial crops & products*. **76** : 174-187.

Pavela, R., & Benelli, G. (2016). Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends in plant science*. **21(12)** : 1000-1007.

- Pavela, R., Maggi, F., Cianfaglione, K., Bruno, M., & Benelli, G. (2018).** Larvicidal activity of essential oils of five apiaceae taxa and some of their main constituents against *Culex quinquefasciatus*. *Chemistry & Biodiversity*. **15(1)** : e1700382.
- 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(6)** : 1420-1423.
- Pharmacopée européenne.(2008).**Méthodes de pharmacotechnie. Pharmacopée Européenne, 281-296.
- Phasomkusolsil, S., Lerdtusnee, K., Khuntirat, B., Kongtak, W., Pantuwatana, K., & Murphy, J. R. (2011).** Effect of temperature on laboratory reared *Anopheles dirus* Peyton and Harrison and *Anopheles sawadwongporni* Rattanarithikul and Green. *Southeast Asian journal of tropical medicine & public health*. **42(1)** : 63.
- Piccolo, M. I., Toloza, A. C., Cueto, G. M., Zygadlo, J., & Zerba, E. (2008).** Anticholinesterase and pediculicidal activities of monoterpenoids. *Fitoterapia*. **79(4)** : 271-278.
- Pinho, A. I., Wallau, G. L., Nunes, M. E. M., Leite, N. F., Tintino, S. R., da Cruz, L. C., ... & Franco, J. L. (2014 a).** 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.
- Pinho, F.V.S. de A., Silva, G.F. da, Echeverria Macedo, G., Raquel Muller, K., Kemmerich Martins, I., Lausmann Ternes, A.P., ... & Posser, T., (2014 b).** Phytochemical constituents and toxicity of *Duguetia furfuracea* hydroalcoholic extract in *Drosophila melanogaster*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1–11.
- Pintong, A. R., Ampawong, S., Komalamisra, N., Sriwichai, P., Popruk, S., & Ruangsittichai, J. (2020).** Insecticidal and Histopathological Effects of *Ageratum conyzoides* Weed Extracts against Dengue Vector, *Aedes aegypti*. *Insects*. **11(4)** : 224.
- Poisson-Moreau de Lizorieux, C. (2013).** Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse de Doctoral, Université Paris -Sud11.391 p.
- Polson, K. A., Brogdon, W. G., Rawlins, S. C., & Chadee, D. D. (2011).** Characterization of insecticide resistance in Trinidadian strains of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Acta tropica*, **117(1)** : 31-38.
- Pradeepa, V., Senthil-Nathan, S., Sathish-Narayanan, S., Selin-Rani, S., Vasantha-Srinivasan, P., Thanigaivel, A., ... & Murugan, K. (2016).** Potential mode of action of a novel plumbagin as a mosquito repellent against the malarial vector *Anopheles stephensi*, (Culicidae: Diptera). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **134** : 84-93.
- 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.

Pratti, D. L., Ramos, A. C., Scherer, R., Cruz, Z. M., & Silva, A. G. (2015). Mechanistic basis for morphological damage induced by essential oil from Brazilian pepper tree, *Schinus terebinthifolia*, on larvae of *Stegomyia aegypti*, the dengue vector. *Parasites & vectors*. **8(1)** : 136.

Preet, S., & Sneha, A. (2011). Biochemical evidence of efficacy of potash alum for the control of dengue vector *Aedes aegypti* (Linnaeus). *Parasitology research*. **108(6)** : 1533-1539.

Preet, S., & Sneha, A. (2018). Fitness cost of malaria vector *Anopheles stephensi* induced with larvicidal and nutritional stress. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. **21(1)** : 97-105.

Priestley, C. M., Burgess, I. F., & Williamson, E. M. (2006). Lethality of essential oil constituents towards the human louse, *Pediculus humanus*, and its eggs. *Fitoterapia*. **77(4)** : 303-309.

Priyalakshmi, B. L., Rajashree, B. H., Ghosh, C., & Shetty, N. J. (1999). Effect of fenitrothion, deltamethrin and cypermethrin on reproductive potential and longevity of life cycle in *Anopheles stephensi* Liston, a malaria mosquito. *Journal of Parasitic Diseases*. **23** : 125-128.

-Q-

Qin, G., Jia, M., Liu, T., Xuan, T., Yan Zhu, K., Guo, Y., ... & Zhang, J. (2011). Identification and characterisation of ten glutathione S-transferase genes from oriental migratory locust, *Locusta migratoria manilensis* (Meyen). *Pest management science*. **67(6)** : 697-704.

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(3)** : 132-139.

Quézel, P., & Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.

Quezel, P., & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No. 581.965 Q8).

-R-

Raccaud-Schoeller, J. (1980). Le tube digestif: son organisation fonctionnelle in *Les Insectes: physiologie, développement*. : Edition Masson. 146-166p.

Ragavendran, C., Mariappan, T., & Natarajan, D. (2017). Larvicidal, histopathological efficacy of *Penicillium daleae* against larvae of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* plus biotoxicity on *Artemia nauplii* a non-target aquatic organism. *Frontiers in pharmacology*. **8** : 773.

Rageau J. et Delaveau P. (1980).effets toxiques d'extraits de végétaux sur les larves de moustiques. *Bulletin de la société de pathologie exotique*. **(72)**: 168-171.

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

- Rakotondravelo, M. L., Anderson, T. D., Charlton, R. E., & Zhu, K. Y. (2006).** Sublethal effects of three pesticides on larval survivorship, growth, and macromolecule production in the aquatic midge, *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Archives of environmental contamination & toxicology*. **51(3)**. 352-359.
- Ramar, M., Ignacimuthu, S., & Paulraj, M. G. (2014).** Mosquito knock-down and adulticidal activities of essential oils by vaporizer, impregnated filter paper and aerosol methods. *International Journal of Mosquito Research*. **3(1)** : 26-32.
- Ramkumar, G., Karthi, S., Shivakumar, M. S., & Kweka, E. J. (2019).** *Culex quinquefasciatus* Egg Membrane Alteration and Ovicidal Activity of *Cipadessa baccifera* (Roth) Plant Extracts Compared to Synthetic Insect Growth Regulators. *Research & Reports in Tropical Medicine*. **10** : 145.
- Ramsey, J. S., Rider, D. S., Walsh, T. K., De Vos, M., Gordon, K. H. J., Ponnala, L., & Jander, G. (2010).** Comparative analysis of detoxification enzymes in *Acyrtosiphon pisum* and *Myzus persicae*. *Insect Molecular Biology*. **19** : 155-164.
- Rattan, R. S. (2010).** Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop protection*. **29(9)** : 913-920.
- Raveen, R., Ahmed, F., Pandeewari, M., Reegan, D., Tennyson, S., Arivoli, S., & Jayakumar, M. (2017).** Laboratory evaluation of a few plant extracts for their ovicidal, larvicidal and pupicidal activity against medically important human dengue, chikungunya and zika virus vector, *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 (Diptera: Culicidae). *International Journal of Mosquito Research*. **4(4)** : 17-28.
- Ravindranath, V., & Reed, D. J. (1990).** Glutathione depletion and formation of glutathione-protein mixed disulfide following exposure of brain mitochondria to oxidative stress. *Biochemical and biophysical research communications*. **169(3)** : 1075-1079.
- Razak, T. A., & Sivasubramanian, P. (2007).** Effect of three botanical oils on carbohydrate content in *Cheilomenes sexmaculata* Fabricius and *Chrysoperla carnea* Stephens. *Asian Journal of Biochemistry*. **2(2)** : 124-129.
- 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.
- Regoli, F. (1998).** Trace metals and antioxidant enzymes in gills and digestive gland of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Archives of Environmental Contamination & Toxicology*. **34(1)** : 48-63.
- Rehimi, N., & Soltani, N. (1999).** Laboratory evaluation of Alsystin, a chitin synthesis inhibitor, against *Culex pipiens pipiens* L. (Dip., Culicidae): effects on development and cuticle secretion. *Journal of Applied Entomology*. **123(7)** : 437-441.
- Reusken, C., De Vries, A., Ceelen, E., Beeuwkes, J., & Scholte, E. J. (2011).** A study of the circulation of West Nile virus, Sindbis virus, Batai virus and Usutu virus in mosquitoes in a potential high-risk area for arbovirus circulation in the Netherlands, "De Oostvaardersplassen". *European Mosquito Bulletin*. **29** : 66-81.

Rharrabe, K., Bakrim, A., Ghailani, N., & Sayah, F. (2007). Bioinsecticidal effect of harmaline on *Plodia interpunctella* development (Lepidoptera: Pyralidae). *Pesticide Biochemistry & Physiology*. **89(2)** : 137-145.

Rharrabe, K., Jbilou, R., Bouayad, N., Ajaha, A., & Aarab, A. (2020). Harmaline ingestion effect on development, metabolites and midgut of the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. **23(1)**. 29-35.

Riat, A. K., & Kocher, D. K. (2017). Study of histoarchitectural changes in *Anopheles stephensi* larvae following exposure to *Eucalyptus globulus* and *Aloe vera* oils. *Turkish Journal of Zoology*. **41(5)** : 763-773.

Riaz, T., Shakoori, F. R., Mansoor, H., Khan, S., & Saleem, M. A. (2019). Efficacy of Mixture of Pesticides on the Mortality and Energy Reserves of a Stored Grain Pest *Trogoderma granarium* Evert. *Pakistan Journal of Zoology*. **51(6)** : 2297.

Ribeiro, J. M., Charlab, R., & Valenzuela, J. G. (2001). The salivary adenosine deaminase activity of the mosquitoes *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*. *Journal of Experimental Biology*. **204(11)**.

Rivero, A., Magaud, A., Nicot, A., & Vézilier, J. (2011). Energetic cost of insecticide resistance in *Culex pipiens* mosquitoes. *Journal of medical entomology*. **48(3)** : 694-700.

Rizwan-ul-Haq, M., Hu, M. Y., Afzal, M., Bashir, M. H., Gong, L., & Luo, J. (2010). Impact of two medicinal plant extracts on glutathione S-transferase activity in the body tissues of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pakistan Journal of Botany*. **42(6)** : 3971-3979.

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 communications*. **10(4)** : 677-682.

Rojas-Olivos, A., Solano-Gómez, R., Granados-Echegoyen, C., Santiago-Santiago, L. A., García-Dávila, J., Pérez-Pacheco, R., & Lagunez-Rivera, L. (2018). Larvicidal effect of *Clinopodium macrostemum* essential oil extracted by microwave-assisted hydrodistillation against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. **51(3)** : 291-296.

Ryan, M. F., & Byrne, O. (1988). Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of chemical ecology*. **14(10)** : 1965-1975.

-S-

Safi, N. H. Z., Ahmadi, A. A., Nahzat, S., Ziapour, S. P., Nikookar, S. H., Fazeli-Dinan, M., ... & Hemingway, J. (2017). Evidence of metabolic mechanisms playing a role in multiple insecticides resistance in *Anopheles stephensi* populations from Afghanistan. *Malaria journal*. **16(1)** : 100.

- Said, C. M., & Hussein, K. (2014).** Determination of the chemical and genetic differences of *Laurus* collected from three different geographic and climatic areas in Lebanon. *European Scientific Journal*. **2** : 412–419.
- Saint-Denis, M., Narbonne, J. F., Arnaud, C., Thybaud, E., & Ribera, D. (1999).** Biochemical responses of the earthworm *Eisenia fetida andrei* exposed to contaminated artificial soil: effects of benzo (a) pyrene. *Soil Biology and Biochemistry*. **31(13)** : 1837-1846.
- Sak, O., Uckan, F. and Eegin, E. (2006).** Effects of cypermethrin on total body weight, glycogen, protein, and lipid contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Belgium Journal of zoology*. **136(1)**: 53-58.
- Sakthivadivel, M., & Daniel, T. (2008).** Evaluation of certain insecticidal plants for the control of vector mosquitoes viz. *Culex quinquefasciatus*, *Anopheles stephensi* and *Aedes aegypti*. *Applied Entomology & Zoology*. **43(1)** : 57-63.
- Sâmia, R. R., de Oliveira, R. L., Moscardini, V. F., & Carvalho, G. A. (2016).** Effects of aqueous extracts of *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae) on the growth and reproduction of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae). *Neotropical entomology*. **45(5)** : 580-587.
- Sánchez Chopa, C., & Descamps, L. R. (2012).** Composition and biological activity of essential oils against *Metopolophium dirhodum* (Hemiptera: Aphididae) cereal crop pest. *Pest management science*. **68(11)** : 1492-1500.
- Sangun, M. K., Aydin, E., Timur, M., Karadeniz, H., Caliskan, M., & Ozkan, A. (2007).** Comparison of chemical composition of the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves and fruits from different regions of Hatay, Turkey. *Journal of Environmental Biology*. **28(4)** : 731-733.
- Saraiva, A. S., Sarmiento, R. A., Rodrigues, A. C., Campos, D., Fedorova, G., Žlábek, V., ... & Soares, A. M. (2017).** Assessment of thiamethoxam toxicity to *Chironomus riparius*. *Ecotoxicology & environmental safety*. **137** : 240-246.
- Saranya, M. (2013).** Larvicidal, pupicidal activities and morphological deformities of *Spathodea campanulata* aqueous leaf extract against the dengue vector *Aedes aegypti*. *European Journal of Experimental Biology*. **3(2)** : 205-213.
- Sarma, R., Adhikari, K., Mahanta, S., & Khanikor, B. (2019).** Insecticidal activities of *Citrus aurantifolia* essential oil against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Toxicology Reports*. **6** : 1091-1096.
- Sarma, R., Khanikor, B., & Mahanta, S. (2017b).** Essential oil from *Citrus grandis* (Sapindales: Rutaceae) as insecticide against *Aedes aegypti* (L) (Diptera: Culicidae). *International Journal of Mosquito Research*. **4(3)** : 88-92.
- Sarma, R., Mahanta, S., & Khanikor, B. (2017) a.** Insecticidal activities of the essential oil of *Aegle marmelos* (Linnaeus, 1800) against *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) and *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823). *Universal Journal of Agricultural Research*. **5(5)** : 304-311.
- Sarquis, I. R., Sarquis, R. S., Marinho, V. H., Neves, F. B., Araújo, I. F., Damasceno, L. F., ... &**

- Ferreira, I. M. (2020).** *Carapa guianensis* Aubl. (Meliaceae) oil associated with silk fibroin, as alternative to traditional surfactants, and active against larvae of the vector *Aedes aegypti*. *Industrial Crops & Products*. **157** : 112931.
- Savage, H.M. & Miller, B. (1995).** House Mosquitoes of the U.S.A., *Culex pipiens* Complex. *Wing Beats*. **6**: 8 – 9.
- 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.
- Schliekelman, P., Ellner, S., & Gould, F. (2005).** Pest control by genetic manipulation of sex ratio. *Journal of Economic Entomology*. **98(1)** : 18-34.
- Schrader, M., & Fahimi, H. D. (2006).** Peroxisomes and oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. **1763(12)** : 1755-1766.
- Scott, T. W., Amerasinghe, P. H., Morrison, A. C., Lorenz, L. H., Clark, G. G., Strickman, D., ... & Edman, J. D. (2000).** Longitudinal studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand and Puerto Rico: blood feeding frequency. *Journal of medical entomology*. **37(1)** : 89-101.
- Seghier, H., Tine- Djebbar, f., Loucif-Ayad, W., & Soltani, N. (2020).** Lavicidal and pupicidal activities of *Petroselinum crispum* seed essential oil on *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata* mosquitoes. *Transylvanian Review*. **27** :47.
- Seghier, H., Tine-Djebbar, F., Loucif, W., & Soltani, N. (2020).** Insecticidal activity of *Petroselinum crispum* essential oil on mosquitoes. *Journal of Entomological Research*. **44 (4)**: 613-620. DOI : 10.5958/0974-4576.2020.00102.4
- Sellami, I. H., Wannas, W. A., Bettaieb, I., Berrima, S., Chahed, T., Marzouk, B., & Limam, F. (2011).** Qualitative and quantitative changes in the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves as affected by different drying methods. *Food chemistry*. **126(2)** : 691-697.
- Selles, C. (2012).** Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen: *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5 M. Thèse de Doctorat en sciences, Université abou bekr belkaid, Tlemcen. 219 p.
- Sendi, J. J., & Ebadollahi, A. S. G. A. R. (2014).** Biological activities of essential oils on insects. *Recent Progress in Medicinal Plants (RPMP): Essential Oils II*. **37** : 129-150.
- Senfi, F., Safaralizadeh, M. H., Safavi, S. A., & Aramideh, S. (2014).** Fumigant toxicity of *Laurus nobilis* and *Myrtus communis* essential oils on larvae and adults of the Red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst (Col.: Tenebrionidae). *Archives of phytopathology & plant protection*. **47(4)** : 472-476.
- Senthilkumar, N., Varma, P., & Gurusubramanian, G. (2009).** Larvicidal and adulticidal activities of some medicinal plants against the malarial vector, *Anopheles stephensi* (Liston). *Parasitology research*. **104(2)** : 237-244.

- Seo, S. M., Jung, C. S., Kang, J., Lee, H. R., Kim, S. W., Hyun, J., & Park, I. K. (2015).** Larvicidal and acetylcholinesterase inhibitory activities of Apiaceae plant essential oils and their constituents against *Aedes albopictus* and formulation development. *Journal of agricultural & food chemistry*. **63(45)** : 9977-9986.
- 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 & Products*. **31(1)** : 107-112.
- Shaalan, E. A. S., Canyon, D. V., Younes, M. W. F., Abdel-Wahab, H., & Mansour, A. H. (2005).** Effects of sub lethal concentrations of synthetic insecticides and *Callitris glauscophylla* extracts on the development of *Aedes aegypti*. *Journal of Vector Ecology*. **30** : 295-298.
- Sharaby, A., & EL-Dosary, M. (2016).** Possibility using camphene as biorational insecticide against the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae). *International Journal of Science Research*. **5** : 222-225.
- Sharma, P., Mohan, L., Dua, K.K. & Srivastava, C.N. (2011).** Status of carbohydrate, protein and lipid profile in the mosquito larvae treated with certain phytoextracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 301–304.
- Shaurub, E. S. H., & El-Aziz, N. M. A. (2015).** Biochemical effects of lambda-cyhalothrin and lufenuron on *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *International Journal of Mosquito Research*. **2** : 122-126.
- Shazad, M., Gupta, K. K., Kayesth, S., & Kumar, S. (2018).** Sublethal effects of ethanol extract of *Ocimum sanctum* on laboratory-bred population of dengue mosquito *Aedes aegypti* L. Diptera: Culicidae. *Journal Of Biologic*. **3** : 1-7.
- 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.
- Shojaei, A., Talebi, K., Sharifian, I., & Ahsaei, 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.
- Shoukat, R. F., Freed, S., & Ahmad, K. W. (2016).** Evaluation of binary mixtures of entomogenous fungi and botanicals on biological parameters of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) under laboratory and field conditions. *International Journal of Mosquito Research*. **3** : 17-24.
- Shu, Z., Shahan, M., Hegazi, M. A. M., Al-Sharkaw, I. M., & Seif, A. I. (2018).** Physiological response of *Culex pipiens* larvae to sublethal concentrations of sodium and calcium hypochlorite. *Journal of Environmental Biology*. **39(3)** : 314-323.
- Shukla, E., Thorat, L. J., Nath, B. B., & Gaikwad, S. M. (2015).** Insect trehalase: physiological significance and potential applications. *Glycobiology*. **25(4)** : 357-367.

- Shukla, G. S., Chiu, J. F., & Hart, B. A. (2000).** Cadmium-induced elevations in the gene expression of the regulatory subunit of γ -glutamylcysteine synthetase in rat lung and alveolar epithelial cells. *Toxicology*. **151(1-3)** : 45-54.
- Silva, H. H. G. D., & Silva, I. G. D. (1999).** Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. **32(4)** : 349-355.
- Simon-Oke, I. A., Afolabi, O. J., & Ajayi, O. T. (2015).** Larvicidal activity of a perennial herb, *Solanum xanthocarpum* against the larvae of Culicine species. *Futa Journal of Research in Sciences*. **1** : 152-156.
- Singh, K., Singh, A., & Singh, D. K. (1996).** Molluscicidal activity of neem (*Azadirachta indica* A. Juss). *Journal of ethnopharmacology*. **52(1)** : 35-40.
- Singh, S., Sharma, D.K., Bhatia, S. & Singh, A. (2017).** Effect of various plant powders on rice weevil (Linn.) in stored wheat. *Journal of Environmental Biology*. **38(3)**: 501-508.
- Siramon, P., Ohtani, Y., & Ichiura, H. (2009).** Biological performance of *Eucalyptus camaldulensis* leaf oils from Thailand against the subterranean termite *Coptotermes formosanus* Shiraki. *Journal of wood science*. **55(1)** : 41-46.
- Siriken, B., Yavuz, C., & Güler, A. (2018).** Antibacterial Activity of *Laurus nobilis*: A review of literature. *Medical Science and Discovery*. **5(11)** : 374-379.
- Sivagnaname, N., & Kalyanasundaram, M. (2004).** Laboratory evaluation of methanolic extract of *Atlantia monophylla* (Family: Rutaceae) against immature stages of mosquitoes and non-target organisms. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. **99(1)** : 115-118.
- Sláma, K. (1965).** Effect of hormones on growth and respiratory metabolism in the larvae of *Pyrrhocoris apterus* L. (Hemiptera). *Journal of insect physiology*. **11(2)** : 113-122.
- Sláma, K., & Hodková, M. (1975).** Insect hormones and bioanalogues: their effect on respiratory metabolism in *Dermestes vulpinus* L. (Coleoptera). *The Biological Bulletin*. **148(2)** : 320-332.
- Smallfield, B. (2001).** Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research*. **45**: 4.
- 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** : 39-46.
- Snoussi, M., Dehmani, A., Noumi, E., Flamini, G., & Papetti, A. (2016).** Chemical composition and antibiofilm activity of *Petroselinum crispum* and *Ocimum basilicum* essential oils against *Vibrio* spp. strains. *Microbial pathogenesis*. **90** : 13-21.
- Soltani, N. (2015).** Les moustiques: risques sanitaires, bioessais et stratégies de contrôle. In 1er séminaire national sur l'entomologie médicale et la lutte biologique; Conférence introductive, Tébéssa,

Algérie .19-20

Soonwera, M. (2015). Efficacy of essential oils from Citrus plants against mosquito vectors *Aedes aegypti* (Linn.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Journal of Agricultural Technology*. **11(3)** : 669-681.

Soonwera, M., & Phasomkusolsil, S. (2016). Effect of *Cymbopogon citratus* (lemongrass) and *Syzygium aromaticum* (clove) oils on the morphology and mortality of *Aedes aegypti* and *Anopheles dirus* larvae. *Parasitology research*. **115(4)** : 1691-1703.

Soreq, H. & Zakut, H. (1993). Human Cholinesterase and Anticholinesterase. Academic Press. New York. 328 p.

Soudani, N., Sefi, M., Amara, I. B., Boudawara, T., & Zeghal, N. (2010). Protective effects of selenium (Se) on chromium (VI) induced nephrotoxicity in adult rats. *Ecotoxicology and environmental safety*. **73(4)** : 671-678.

Stamopoulos, D. C., Damos, P., & Karagianidou, G. (2007). Bioactivity of five monoterpenoid vapours to *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*. **43(4)** : 571-577.

Steele, J. E. (1981). The role of carbohydrate metabolism in physiological function. In *Energy metabolism in insects*. Edition. R. G.H. Downer. 101–128.

Su, T., & Mulla, M. S. (1998). Ovicidal activity of neem products (azadirachtin) against *Culex tarsalis* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of the American Mosquito Control Association*. **14(2)** : 204-209.

Su, T., & Mulla, M. S. (1999). Microbial agents *Bacillus thuringiensis* ssp. *Israelensis* and *Bacillus sphaericus* suppress eutrophication, enhance water quality, and control mosquitoes in microcosms. *Environmental Entomology*. **28(4)** : 761-767.

Subashini, K., Sivakami, R., & Jeyasankar, A. (2017). Phytochemical screening and ovicidal activity of *Scutellaria violacea* (Lamiaceae) leaf extract against vector mosquitoes (Diptera: Culicidae). *International Journal of Advance Research in Biological Sciences*. **4(3)**: 152-158.

Sugumaran, M. (2010). Chemistry of cuticular sclerotization. In *Advances in insect Physiology*, Academic Press. **39** : 151-209.

Suh, C. P. C., Orr, D. B., & Van Duyn, J. W. (2000). Effect of insecticides on *Trichogramma exiguum* (Trichogrammatidae: Hymenoptera) preimaginal development and adult survival. *Journal of Economic Entomology*. **93(3)** : 577-583.

Sundararajan, B., Moola, A. K., Vivek, K., & Kumari, B. R. (2018). Formulation of nanoemulsion from leaves essential oil of *Ocimum basilicum* L. and its antibacterial, antioxidant and larvicidal activities (*Culex quinquefasciatus*). *Microbial pathogenesis*. **125** : 475-485.

Sutiningsih, D., Rahayu, A., & Puspitasari, D. (2017). The Level of Egg Sterility and Mosquitoes

Age After The Release of Sterile Insect Technique (SIT) in Ngaliyan Semarang. *Journal of Tropical Life Science*. **7(2)** : 133-137.

Sutour, S. (2010). Study of the chemical composition of essential oils and extracts of mints from Corsica and Kumquants. Doctoral thesis in organic and analytical chemistry. University of Corsica. 221 p.

Svoboda, K. P., & Hampson, J. B. (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW. **16** : 1-7.

Swargiary, A., Daimari, M., Roy, M., Haloi, D., & Ramchiary, B. (2019). Evaluation of phytochemical properties and larvicidal activities of *Cynodon dactylon*, *Clerodendrum viscosum*, *Spilanthes acmella* and *Terminalia chebula* against *Aedes aegypti*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. **12(5)** : 224.

-T-

Tabari, M. A., Youssefi, M. R., Esfandiari, A., & Benelli, G. (2017). Toxicity of β -citronellol, geraniol and linalool from *Pelargonium roseum* essential oil against the West Nile and filariasis vector *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Research in veterinary science*. **114** : 36-40.

Taleb-Toudert, K. (2015). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien): évaluation de leurs effets sur la bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) .Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mameri, Tizi Ouzou. 160 p.

Talukder, F. A. (2006). Plant products as potential stored-product insect stored management agents-A mini review. *Emirates Journal of Food & Agriculture*. 17-32.

Tang, Q., Zheng, G., Feng, Z., Chen, Y., Lou, Y., Wang, C., ... & Liu, H. (2017). Trehalose ameliorates oxidative stress-mediated mitochondrial dysfunction and ER stress via selective autophagy stimulation and autophagic flux restoration in osteoarthritis development. *Cell death & disease*. **8(10)** : 3081-3081.

Tarigan, S. I., & Harahap, I. S. (2016). Toxicological and physiological effects of essential oils against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Biopesticides*. **9(2)** : 135.

Tatarazako, N., Oda, S., Watanabe, H., Morita, M., & Iguchi, T. (2003). Juvenile hormone agonists affect the occurrence of male *Daphnia*. *Chemosphere*. **53(8)** : 827-833.

Tatun, N., Vajarasathira, B., Tungjitwitayakul, J., & Sakurai, S. (2014 a). Inhibitory effects of plant latex on trehalase activity and trehalase gene expression in the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *European Journal of Entomology*. **111(1)** : 11.

Tatun, N., Vajarasathira, B., TUNGJITWITYAKUL, J., & Sakurai, S. (2014 b). Inhibitory effects of plant extracts on growth, development and α -amylase activity in the red flour beetle *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *European Journal of Entomology*. **111(2)**.

Telang, A., Li, Y., Noriega, F. G., & Brown, M. R. (2006). Effects of larval nutrition on the endocrinology of mosquito egg development. *Journal of Experimental Biology*. **209(4)** : 645-655.

Tennyson, S., Ravindran, J., Eapen, A., & William, J. (2015). Ovicidal activity of *Ageratum houstonianum* Mill. (Asteraceae) leaf extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. **5(3)** : 199-203.

Thanigaivel, A., Chanthini, K. M. P., Karthi, S., Vasantha-Srinivasan, P., Ponsankar, A., Sivanesh, H., ... & Senthil-Nathan, S. (2019). Toxic effect of essential oil and its compounds isolated from *Sphaeranthus amaranthoides* Burm. f. against dengue mosquito vector *Aedes aegypti* Linn. *Pesticide biochemistry & physiology*. **160** : 163-170.

Thorat, L. J., Gaikwad, S. M., & Nath, B. B. (2012). Trehalose as an indicator of desiccation stress in *Drosophila melanogaster* larvae: a potential marker of anhydrobiosis. *Biochemical & biophysical research communications*. **419(4)** : 638-642.

Timmermann, S. E., & Briegel, H. (1999). Larval growth and biosynthesis of reserves in mosquitoes. *Journal of Insect Physiology*. **45(5)** : 461-470.

Tine-Djebbar, F., Bouabida, H. & Soltani, N. (2016). Répartition spatio-temporelle des Culicidés dans la région de Tébessa. Editions Universitaires Européennes.

Toloza, A. C. (2010). Bioactividad y toxicidad de componentes de aceites esenciales vegetales, en *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae) resistentes a insecticidas piretroides. Thèse de Doctorat, Université de Buenos Aires. 184 p.

Tong, F. (2010). Investigation of mechanisms of action of monoterpenoid insecticides on insect gamma-aminobutyric acid receptors and nicotinic acetylcholine receptors. Thesis of Doctorat, Iowa State University Capstones. 108 p.

-V-

Urbanski, J. M., Benoit, J. B., Michaud, M. R., Denlinger, D. L., & Armbruster, P. (2010). The molecular physiology of increased egg desiccation resistance during diapause in the invasive mosquito, *Aedes albopictus*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. **277(1694)** : 2683-2692.

Uribe-Hernández, C. J., Hurtado-Ramos, J. B., Olmedo-Arcega, E. R., & Martinez-Sosa, M. A. (1992). The essential oil of *Lippia graveolens* HBK from Jalisco, Mexico. *Journal of Essential Oil Research*. **4(6)** : 647-649.

-V-

- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., & Scoullou, M. (2006).** Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology & environmental safety*. **64(2)** : 178-189.
- Valenzuela, A., Aspillaga, M., Vial, S., & Guerra, R. (1989).** Selectivity of silymarin on the increase of the glutathione content in different tissues of the rat. *Planta medica*. **55(05)** : 420-422.
- Valizadeh, B., Jalali Sendi, J., Zibaee, 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.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*. **39(1)** : 44-84.
- 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.
- 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.
- Vantaux, A., Lefèvre, T., Cohuet, A., Dabiré, K. R., Roche, B., & Roux, O. (2016).** Larval nutritional stress affects vector life history traits and human malaria transmission. *Scientific reports*. **6(1)** : 1-10.
- Vasanth-Srinivasan, P., Senthil-Nathan, S., Ponsankar, A., Thanigaivel, A., Edwin, E. S., Selin-Rani, S., ... & Al-Dhabi, N. A. (2017).** Comparative analysis of mosquito (Diptera: Culicidae: *Aedes aegypti* Liston) responses to the insecticide Temephos and plant derived essential oil derived from *Piper betle* L. *Ecotoxicology & environmental safety*. **139** : 439-446.
- Vatandoost, H., & Hanafi Bojd, A. A. (2008).** Laboratory evaluation of 3 repellents against *Anopheles stephensi* in the Islamic Republic of Iran. *Eastern Mediterranean Health Journal*. **14 (2)** : 260-267.
- Vatandoost, H., Dehkordi, A. S., Sadeghi, S. M. T., Davari, B., Karimian, F., Abai, M. R., & Sedaghat, M. M. (2012).** Identification of chemical constituents and larvicidal activity of *Kelussia odoratissima* Mozaffarian essential oil against two mosquito vectors *Anopheles stephensi* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Experimental parasitology*. **132(4)** : 470-474.
- Veni, T., Pushpanathan, T., & Mohanraj, J. (2016).** Ovicidal and larvicidal efficacy of *Crataeva magna* (Lour.) DC. (Family: Capparidaceae) against the *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *International Journal of Pure & Applied Zoology*. **4(2)** : 149-154.
- Veni, T., Pushpanathan, T., & Mohanraj, J. (2017).** Larvicidal and ovicidal activity of *Terminalia chebula* Retz. (Family: Combretaceae) medicinal plant extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Journal of Parasitic Diseases*. **41(3)** : 693-702.

Verdian-Rizi, M. (2009). Variation in the essential oil composition of *Laurus nobilis* L. of different growth stages cultivated in Iran. *Journal of Basic & Applied Sciences*. **5(1)** : 33-36.

Verdian-rizi, M., & Hadjiakhoondi, A. (2008). Essential oil composition of *Laurus nobilis* L. of different growth stages growing in Iran. *Zeitschrift für Naturforschung*. **63(11-12)** : 785-788.

Vetvicka, V., & Matousova, V. (1991). Arbres et Arbustes: 256 illustrations en couleurs. Edition GRÜND, 112p.

Vijayaraghavan, C., Sivakumar, C., Zadda Kavitha, M. & Sivasub ramanian, P. (2010). Effect of plant extracts on biochemical components of cabbage leaf webber, *Crocidolomia binotalis* Zeller. *Journal of Biopesticides*. **3 (1)**: 275–277.

Vinayagam, A., Senthilkumar, N., & Umamaheswari, A. (2008). Larvicidal activity of some medicinal plant extracts against malaria vector *Anopheles stephensi*. *Research Journal of Parasitology*. **3(2)** : 50-58.

Vincent, S., Kovendan, K., Chandramohan, B., Kamalakannan, S., Kumar, P. M., Vasugi, C., ... & Benelli, G. (2017). Swift fabrication of silver nanoparticles using *Bougainvillea glabra*: potential against the Japanese encephalitis vector, *Culex tritaeniorhynchus* Giles (Diptera: Culicidae). *Journal of Cluster Science*. **28(1)** : 37-58.

Vinogradova, E. B. (2011). The sex structure of the larval populations of the urban mosquito *Culex pipiens pipiens* f. *molestus* Forskal (Diptera, Culicidae) in Saint Petersburg. *Entomological review*. **91(6)** : 729.

Vokou, D., Kokkini, S., & Bessiere, J. M. (1993). Geographic variation of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) essential oils. *Biochemical Systematics & Ecology*. **21(2)** : 287-295.

Vontas, J., Kioulos, E., Pavlidi, N., Morou, E., Della Torre, A., & Ranson, H. (2012). Insecticide resistance in the major dengue vectors *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. *Pesticide Biochemistry & Physiology*. **104(2)** : 126-131.

-W-

Wahba, M. N., & Gaballa, H. S. (2019). Antioxidant activity and biological studies of two medicinal plant extracts on *Spodoptera littoralis* (Boisd). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, F. Toxicology & Pest Control*. **11(1)** : 51-64.

Waliwitiya, R., Belton, P., Nicholson, R. A., & Lowenberger, C. A. (2010). Effects of the essential oil constituent thymol and other neuroactive chemicals on flight motor activity and wing beat frequency in the blowfly *Phaenicia sericata*. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*. **66(3)** : 277-289.

Waliwitiya, R., Nicholson, R. A., Kennedy, C. J., & Lowenberger, C. A. (2012). The synergistic effects of insecticidal essential oils and piperonyl butoxide on biotransformational enzyme activities in

Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). Journal of medical entomology. **49(3)** : 614-623.

Wang, L. (2018). Résistance aux insecticides: importance dans la transmission du virus chikungunya par les moustiques *Aedes aegypti*. Thèse de Doctoral, Université de Guyane. 141p.

Wang, X., Yang, H., Liu, G., & Wang, Q. (2011). Enzyme responses and lipid peroxidation in gills and hepatopancreas of clam *Macra vereformis*, following cadmium exposure. Chinese Journal of Oceanology & Limnology. **29(5)** : 981.

Wangrawa, D. W., Badolo, A., Guelbéogo, W. M., Kiendrébeogo, M., Nébié, R. C. H., Sagnon, N., & Sanon, A. (2015). Biological activities of four essential oils against *Anopheles gambiae* in Burkina Faso and their in vitro inhibition of acetylcholinesterase. International Journal of Biological & Chemical Sciences. **9(2)** : 793-802.

War, A. R., Paulraj, M. G., Hussain, B., Ahmad, T., War, M. Y., & Ignacimuthu, S. (2014). Efficacy of a combined treatment of neem oil formulation and endosulfan against *Helicoverpa armigera* (Hub.) (Lepidoptera: Noctuidae). International Journal of Insect Science. **6**: 1–7.

Warikoo, R., & Kumar, S. (2013). Impact of *Argemone mexicana* extracts on the cidal, morphological, and behavioral response of dengue vector, *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). Parasitology research. **112(10)** : 3477-3484.

Warikoo, R., & Kumar, S. (2014). Impact of the *Argemone mexicana* stem extracts on the reproductive fitness and behavior of adult dengue vector, *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). International Journal of Insect Science. **6**: 71-78.

Warikoo, R., & Kumar, S. (2015). Investigation on the oviposition-deterrence and ovicidal potential of the leaf extracts of *Argemone mexicana* against an Indian strain of dengue vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Applied Research Journal. **1(4)** : 208-215.

Waterhouse, D. F., & Day, M. F. (1953). Function of the gut in absorption, excretion and intermediary metabolism. Insect physiology. 331-349.

Weckberker, G. & Cory, J.G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. Cancer Letters. **40**: 257 – 264.

Wegener, G., Macho, C., Schlöder, P., Kamp, G., & Ando, O. (2010). Long-term effects of the trehalase inhibitor trehazolin on trehalase activity in locust flight muscle. Journal of Experimental Biology. **213(22)** : 3852-3857.

Wegener, G., Tschiedel, V., Schlöder, P., & Ando, O. (2003). The toxic and lethal effects of the trehalase inhibitor trehazolin in locusts are caused by hypoglycaemia. Journal of experimental biology. **206(7)** : 1233-1240.

Wiens, A. W., & Gilbert, L. I. (1967). Regulation of carbohydrate mobilization and utilization in *Leucophaea maderae*. Journal of insect physiology. **13(5)** : 779-794.

Windbichler, N., Papathanos, P. A., & Crisanti, A. (2008). Targeting the X chromosome during spermatogenesis induces Y chromosome transmission ratio distortion and early dominant embryo

lethality in *Anopheles gambiae*. peer-reviewed open access scientific journal of Genetics. **4(12)** : 1000291.

Windbichler, N., Papathanos, P. A., Catteruccia, F., Ranson, H., Burt, A., & Crisanti, A. (2007). Homing endonuclease mediated gene targeting in *Anopheles gambiae* cells and embryos. Nucleic acids research. **35(17)** : 5922-5933.

Wiwattanawanichakun, P., Ratwatthananon, A., Poonsri, W., Yooboon, T., Pluempanupat, W., Piyasaengthong, N., ... & Bullangpoti, V. (2018). The possibility of using isolated alkaloid compounds and crude extracts of *Piper retrofractum* (Piperaceae) as larvicidal control agents for *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) larvae. Journal of medical entomology. **55(5)** : 1231-1236.

Wolber, J. M., Urbanek, B. L., Meints, L. M., Piligian, B. F., Lopez-Casillas, I. C., Zochowski, K. M., ... & Swarts, B. M. (2017). The trehalose-specific transporter LpqY-SugABC is required for antimicrobial and anti-biofilm activity of trehalose analogues in *Mycobacterium smegmatis*. Carbohydrate research. **450** : 60-66.

World Health Organization. (2017). Global diffusion of eHealth: making universal health coverage achievable: report of the third global survey on eHealth. World Health Organization. 154p.

Wu, M. C., & Lu, K. H. (2008). Juvenile hormone induction of glutathione S-transferase activity in the larval fat body of the *Common cutworm, Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America. **68(4)** : 232-240.

Wu, Y., Zhang, W. J., Huang, D. Y., Wang, Y., Wei, J. Y., Li, Z. H., ... & Du, S. S. (2015). Chemical compositions and insecticidal activities of *Alpinia kwangsiensis* essential oil against *Lasioderma serricorne*. Molecules. **20(12)** : 21939-21945.

Wyatt, G. R., & Kalf, G. F. (1957). The chemistry of insect hemolymph II. Trehalose and other carbohydrates. Journal of General Physiology. **40(6)** : 833-847.

-X-

Xia, Y., Clarkson, J. M., & Charnley, A. K. (2002). Trehalose-hydrolysing enzymes of *Metarhizium anisopliae* and their role in pathogenesis of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. Journal of invertebrate pathology. **80(3)** : 139-147.

Xue, R. D., Ali, A., & Barnard, D. R. (2005). Effects of forced egg-retention in *Aedes albopictus* on adult survival and reproduction following application of DEET as an oviposition deterrent. Journal of Vector Ecology. **30** : 45-48.

Xue, R. D., Barnard, D. R., & Schreck, C. E. (1995). Influence of body size and age of *Aedes albopictus* on human host attack rates and the repellency of deet. Journal of the American Mosquito Control Association. **11(1)** : 50.

-γ-

- Yadwad, V. B., & Kallapur, V. L. (1988).** Induction of glutathione S-transferase in the castor semilooper, *Achaea janata* (Lepidoptera, Noctuidae) following fenitrothion treatment. *Journal of Biosciences*. **13(2)** : 139-146.
- Yang, J., Tezel, G., Patil, R. V., Romano, C., & Wax, M. B. (2001).** Serum autoantibody against glutathione S-transferase in patients with glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*. **42(6)** : 1273-1276.
- Yang, Y. C., Lee, S. H., Clark, J. M., & Ahn, Y. J. (2009).** Ovicidal and adulticidal activities of *Origanum majorana* essential oil constituents against insecticide-susceptible and pyrethroid/malathion-resistant *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *Journal of agricultural & food chemistry*. **57(6)** : 2282-2287.
- Yang, Y. C., Lee, S. H., Lee, W. J., Choi, D. H., & Ahn, Y. J. (2003).** Ovicidal and adulticidal effects of *Eugenia caryophyllata* bud and leaf oil compounds on *Pediculus capitis*. *Journal of agricultural & food chemistry*. **51(17)** : 4884-4888.
- Yazdani, E., Jalal Jalali, S. & 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.
- Yazdani, E., Sendi, J. J., Aliakbar, A., & Senthil-Nathan, S. (2013).** 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(2)** : 250-257.
- Yin, Y., Jia, H., Sun, Y., Yu, H., Wang, X., Wu, J., & Xue, Y. (2007).** Bioaccumulation and ROS generation in liver of *Carassius auratus*, exposed to phenanthrene. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. **145(2)** : 288-293.
- Younoussa, L., Nukenine, E. N., & Esimone, C. O. (2016).** Toxicity of *Boswellia dalzielii* (Burseraceae) leaf fractions against immature stages of *Anopheles gambiae* (Giles) and *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera: Culicidae). *International journal of insect science*. **8**: 23–31.
- Yu, K. X., Wong, C. L., Ahmad, R., & Jantan, I. (2015).** Larvicidal activity, inhibition effect on development, histopathological alteration and morphological aberration induced by seaweed extracts in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific journal of tropical medicine*. **8(12)** : 1006-1012.
- Yu, Q. Y., Fang, S. M., Zuo, W. D., Dai, F. Y., Zhang, Z., & Lu, C. (2011).** Effect of organophosphate phoxim exposure on certain oxidative stress biomarkers in the silkworm. *Journal of economic entomology*. **104(1)** : 101-106.
- Yurtlu, Y. B., Yesiloglu, E., & Arslanoglu, F. (2010).** Physical properties of bay laurel seeds. *International Agrophysics*. **24** : 325-328.

-Z-

- Zahran, H. E. D. M., & Abdelgaleil, S. A. (2011).** Insecticidal and developmental inhibitory properties of monoterpenes on *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*. **14(1)** : 46-51.
- Zahran, H. E. D. M., Abou-Taleb, H. K., & Abdelgaleil, S. A. (2017).** Adulticidal, larvicidal and biochemical properties of essential oils against *Culex pipiens* L. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. **20(1)** : 133-139.
- Zarrad, K., Hamouda, A. B., Chaieb, I., Laarif, A., & Jemâa, J. M. B. (2015).** Chemical composition, fumigant and anti-acetylcholinesterase activity of the Tunisian *Citrus aurantium* L. essential oils. *Industrial crops & products*. **76** : 121-127.
- Zaworra, M., & Nauen, R. (2019).** New approaches to old problems: Removal of phospholipase A2 results in highly active microsomal membranes from the honey bee, *Apis mellifera*. *Pesticide biochemistry & physiology*. **161** : 68-76.
- Zeghib, F., Tine-Djebbar, F., Zeghib, A., Bachari, K., Sifi, K., & Soltani, N. (2020).** Chemical composition and larvicidal activity of *Rosmarinus officinalis* essential oil against West Nile vector mosquito *Culex pipiens* (L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 23:6, 1463-1474, DOI: 10.1080/0972060X.2020.1860138
- Zerargui, F. (2018).** Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives. These de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1. 169 p.
- Zerroug, S., & Berchi, S. (2018).** Etude biométrique et histologique sur des larves de *Culex pipiens* Linnée, 1758 (Diptera, Culicidae) Exposées aux extraits aqueux de plantes. Thèse de Doctorat. université les frères mentouri, Constantine.109 p.
- Zhang, L., Qiu, L. Y., Yang, H. L., Wang, H. J., Zhou, M., Wang, S. G., & Tang, B. (2017).** Study on the effect of wing bud chitin metabolism and its developmental network genes in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, by knockdown of TRE gene. *Frontiers in physiology*. **8** : 750.
- Zhao L & Jones WA. (2012).** Expression of heat shock protein genes in insect stress responses. *Invertebrate Survival Journal*. **9(1)**: 102-109.
- Zhou, B. G., Wang, S., Dou, T. T., Liu, S., Li, M. Y., Hua, R. M., ... & Lin, H. F. (2016).** Aphicidal activity of *Illicium verum* fruit extracts and their effects on the acetylcholinesterase and glutathione S-transferases activities in *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Insect Science*. **16(1)** : 11.
- Ziegler, R., & Ibrahim, M. M. (2001).** Formation of lipid reserves in fat body and eggs of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Journal of insect physiology*. **47(6)** : 623-627.
- Zoubiri, S., Baaliouamer, A., Seba, N., & Chamouni, N. (2014).** Chemical composition and larvicidal activity of Algerian *Foeniculum vulgare* seed essential oil. *Arabian Journal of Chemistry*. **7(4)** : 480-485.

Annexe

VII. ANNEXE

PRODUCTION SCIENTIFIQUES

Article publié

1. **BOUZIDI O, TINE S, HAMAIDIA K, TINE-DJEBBAR F & SOLTANI N.** (2020). Chemical Composition and Bioefficacy of Essential Oil from Bay Laurel Shrub (Laurales: Lauraceae) against *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera: Culicidae) Larvae. *Journal of Entomological Science. Journal of Entomological Science.* 55 (2) : 262-272.
<https://doi.org/10.17758/EARES5.EAP0319114>

Communications scientifiques

2. **BOUZIDI O, TINE-DJEBBAR F & SOLTANI N.** (2017). Chemical composition and activity of *Laurus nobilis* essential oil on *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae) larvae « 16ème congrès international de Biotechnologie (IDB2017). El Hamamet-Tunisie.
3. **BOUZIDI O, TINE-DJEBBAR F & SOLTANI N.** (2019). Propriétés larvicides, pupicide, ovicide et sex ratio des huiles essentielles extraites de *Laurus nobilis* (Famille : Lauracea) contre les moustiques de *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae). 1^{er} séminaire National : L'apport des biotechnologies sur la protection de l'environnement. M'sila.
4. **BOUZIDI O, TINE-DJEBBAR F & SOLTANI N.** (2019). Chemical composition and activity of *Laurus nobilis* essential oil on *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) larvae: toxicological, biometrical and biomarkers aspects. First International colloque on Biological and Integrated Control in Algeria. Batna,
5. **BOUZIDI O, TINE-DJEBBAR F, SAMIR TINE & SOLTANI N.** (2019). Composition chimique et Activité larvicide de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* à l'égard de *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae). 13th PARIS International Conference on Agricultural, Chemical, Biological and Environmental Sciences à Paris.
6. **BOUZIDI O, TINE-DJEBBAR F & SOLTANI N.** (2019). Comparative efficacy of a medicinal plant, *Laurus nobilis* against two mosquito species, *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* larvae. Le 1er Séminaire National Sur : Etat de la biodiversité dans les parcours steppiques : inventaire et valorisation. Tébessa.

Chapter Book

1. **BOUZIDI O., TINE S., HAMAIDIA K., TINE-DJEBBAR F., SOLTANI N.** (2019). Composition and insecticidal activity of *Laurus nobilis* essential oil on *Culiseta longiareolata* (Diptera: Culicidae) larvae. 13th Conference on Agricultural, Chemical, Biological & Environmental Sciences (PACBES-19), Paris (France).
<https://doi.org/10.17758/EARES5.EAP03191>

Projet de recherche

Membre dans un projet de recherche PRFU, intitulé : « **Etude des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales algériennes : composition chimique et activité biologique** ».

Code : " D01N01UN120120180004"

Sous la direction du Pr. TINE-DJEBAAR Fouzia.



Articles

Chemical Composition and Bioefficacy of Essential Oil from Bay Laurel Shrub (Laurales: Lauraceae) against *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera: Culicidae) Larvae¹

Oulfa Bouzidi^{2,3}, Samir Tine^{2,3}, Kaouther Hamaidia^{3,4,5}, Fouzia Tine-Djebbar^{2,3}, and Nouredine Soltani³

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

J. Entomol. Sci. 55(2): 262–272 (April 2020)

Abstract An essential oil extracted from bay laurel, *Laurus nobilis* (L.), was chemically characterized and tested against fourth-instar *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera: Culicidae). Percentage composition of the oil in *L. nobilis* was 0.96, and gas chromatography–mass spectrometry analysis identified 56 components with eucalyptol (25.62%), linalool (11.83%), methyl eugenol (10.07%), and camphene (10.18%) as the major constituents. Laboratory bioassays demonstrated significant larvicidal activity of the oil extract with cumulative median lethal concentrations (i.e., LC₅₀) of 203.7 parts per million (ppm) at Day 1, 171.9 ppm at Day 3, and 85.1 ppm at Day 7 after exposure. The essential oil also affected egg hatch and sex ratio of the progeny. These results suggest that the essential oil extracted from *L. nobilis* has potential for development as a management tactic directed against *Cs. longiareolata*.

Key Words *Culiseta longiareolata*, *Laurus nobilis*, essential oil

Essential oils extracted from plants have been evaluated and used as substitutes for synthetic insecticides (Liu 2015) and as repellents (Lee 2018; Mihajilov-Krstev et al. 2014) in mosquito vector management programs. Ovicidal and larvicidal activities of plant extracts that mimic insect growth regulators or disruptors have been the subject of a number of studies with mosquitoes (Djeghader et al. 2018; Dris et al. 2017a,b; Hamaidia et al. 2018; Hamaidia and Soltani 2014). Furthermore, the traditional use of local plants as insect repellents has been investigated in several ethno-botanical studies (Tisgratog et al. 2016). Recently, botanical products such as essential oils and aqueous extracts of plants have been suggested as viable management products (Al-Mekhlafi 2018; Aouinty et al. 2018; Dris et al. 2017a,b). There are no reported impacts on nontarget organisms (Ilahi et al. 2019; Ponsankar et al. 2016) and no development of resistance has been reported (Yuan et al. 2019). Moreover, essential oils have limited persistence under field conditions because of their volatility and biodegradability (Echeverría and Albuquerque 2019).

¹Received 30 April 2019; accepted for publication 20 June 2019.

²Laboratory of Water and Environment, Larbi Tebessi University, Tebessa, Algeria.

³Laboratory of Applied Animal Biology, Department of Biology, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria.

⁴Department of Biology, Mohamed Cherif Messaadia University, 41000-Souk-Ahras, Algeria.

⁵Corresponding author (email: kaoutherhamaidia@gmail.com).

Essential oils from *Ocimum basilicum* (L.) (Dris 2017a) and *Thymus vulgaris* (L.) (Bouguerra et al. 2017) have been chemically identified and show larvicidal activity against *Culex pipiens* (L.) larvae. Likewise, an essential oil extracted from *Lavandula dentata* (L.) possesses larvicidal activity against *Culiseta longiareolata* (Macquart) and *Cx. pipiens* (Dris 2017b). Yet the laurel bay, *Laurus nobilis* (L.), is well known for its various culinary and chemical properties. It is an evergreen shrub native to the Mediterranean region (Said and Hussein 2014) and has many applications in the culinary and food industry due to its antioxidant (Casamassima et al. 2017), antimicrobial (Fiçıcılar et al. 2018; Vilela et al. 2016), and antifungal (Peixoto et al. 2017) properties as well as for contributing to the photo-oxidative stability of olive oil (Taoudiat et al. 2018). Bay leaf oil has shown insecticidal activity against selected stored-product pests such as *Tribolium castaneum* (Herbst) (Chahal et al. 2016), *Rhyzopertha dominica* (F.) (Mediouini-Ben Jemâa et al. 2012), and *Trogoderma granarium* (Everts) (Tayoub et al. 2012), as well as against the mosquitoes *Aedes aegypti* (L.) (Tabanca et al. 2013), *Anopheles stephensi* (Liston), and *Cx. pipiens* (Verdian-Rizi 2009).

Our objectives in the present study were to chemically characterize the essential oil extracted from *L. nobilis* growing in Algeria and assay its larvicidal and ovicidal activity as well as the delayed effects (progeny sex ratio) on *Cs. longiareolata*, which is the most abundant mosquito species in the Tebessa region of Northeast Algeria (Bouabida et al. 2012). The results are directed to the continued development of efficacious mosquito vector management in that region.

Materials and Methods

Essential oil source and extraction. Naturally occurring *L. nobilis* plants were collected in March, April, May, June, and July of 2016 in Tebessa (Northeast Algeria). Plants were transported to the laboratory, washed in tap water, and then rinsed with distilled water. The shade-dried leaves were cut into small pieces. According to the methods of Dris et al. (2017a) and Bouguerra et al. (2018), the essential oil was extracted from leaves by hydrodistillation in a Clevenger-type apparatus for 3 h using 100 g of the plant part and 750 ml distilled water. The resulting decoction was dried over anhydrous sodium sulfate to remove residual water. The extract was placed in amber bottles and stored under refrigeration until used in analyses and bioassays.

Gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS). This analysis was performed according to the procedure of Dris et al. (2017a). Briefly, 0.2 µl of essential oil was injected as the GC oven temperature was maintained at 60°C for 8 min and then gradually increased to 250°C for 10 min at a rate of 2°C/min. The injector temperature was set at 250°C. An HP-5MS (5% phenyl; 95% dimethylpolysiloxane) column (30 m × 0.25 mm, 0.25-µm film thickness) was used with helium as the carrier gas. 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.

Mosquitoes. *Culiseta longiareolata* eggs and larvae were collected in 2016 from areas in Tebessa (Northeast Algeria) and reared as described by the World Health Organization (WHO 1996) in the laboratory (Faculty of Science, University of

Tebessa). Twenty larvae were maintained in 150 ml of water in a Pyrex container, at 25–27°C, with a photoperiod of 14:10 h (L:D). They were fed with a mixture of biscuit-dried yeast (75:25 by weight) as recommended by Rehim and Soltani (1999). Water was replaced in each container every 3 d.

Bioassays. Whole oil rather than its main components was tested according to Khater (2013). Concentration–mortality response of *Cs. longiareolata* larvae to the essential oil was determined as per the standard procedures recommended by the WHO (1996). The plant extract was initially mixed in 1 ml of ethanol and then diluted in 150 ml of filtered water to final concentrations of 25, 50, 100, 150, and 200 parts per million (ppm). Twenty, fourth-instar *Cs. longiareolata* larvae (<8 h after molting) were placed in each container of solution, and each concentration was replicated six times. The positive control consisted of 1 ml of ethanol in 150 ml of water. After the 24 h of exposure, all larvae within each container were removed, rinsed with untreated water, and placed in clean water. Mortality was recorded after 24, 48, and 72 h.

Once the lethal concentration (LC) levels were established in the larval bioassays, the LC₅₀ and the LC₂₅ concentrations of the essential oil were used in assessing ovicidal activity according to the method of Su and Mulla (1998). Egg rafts obtained from the laboratory colony were placed in 100 ml of each solution and maintained at laboratory conditions in plastic containers. The number and percentage of eggs hatching from the egg rafts was recorded after 24 h. Control egg mortality was corrected according to Abbott (1925).

Sex ratio determination. As in the bioassays, fourth-instar larvae were placed in 150 ml of an appropriate concentration of the essential oil (25, 50, 100, and 150 ppm) and maintained under bioassay conditions until adult emergence, when the sex ratio was determined (Tabadkani et al. 2013). Each treatment was replicated three times with 20 larvae per replicate.

Statistical analyses. In each of the bioassays, control mortality was corrected by Abbott (1925). Concentration–mortality responses were determined using probit analysis (Finney 1971). The significance between different series was tested using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by a post hoc Tukey's honestly significant difference test. All statistical analyses were performed using GraphPad Prism, version 6.01 (GraphPadSoftware, San Diego, CA, USA).

Results and Discussion

Essential oil yield and composition. Based on the total dry matter weight of the *L. nobilis* plant material, the hydrodistillation extraction demonstrated that the oil composition of the plants from Tebessa (Northeast Algeria) was $0.96 \pm 0.45\%$. This yield was higher than the yield extracted from *L. nobilis* in Montecorice, Italy (0.57%) (Caputo 2017) and from Tunisia (0.58%), other areas of Algeria (0.46%), and Morocco (0.65%) (Mediouni-Ben Jemâa et al. 2012).

GC–MS analysis of the oil identified 56 compounds as homologous series of monoterpene hydrocarbons, oxygenated monoterpenes, sesquiterpene hydrocarbons, and oxygenated sesquiterpenes (Table 1). The major components were eucalyptol (25.62%) and linalool (11.83%). Mediouni-Ben Jemâa et al. (2012) identified 51, 55, and 40 compounds in the essential oils extracted from *L. nobilis* from Tunisia, Algeria, and Morocco, respectively. The main compounds identified

Table 1. Chemical composition of essential oil extracted from *L. nobilis*.

No.	RT (min)*	Constituents	Concentration (%)
Monoterpene			
Hydrocarbon monoterpene			
1	7.603	α -Thujene	0.54
2	7.988	α -Pinene	3.87
3	8.697	Camphene	0.31
4	10.283	Sabinene	7.34
5	10.393	2- β .Pinene	1.93
6	11.271	β -Myrcene	0.46
7	12.027	α -Phelandrene	0.53
8	12.374	Δ . 3 Carene	0.85
9	14.148	α -Terpinene	0.29
10	16.355	γ .Terpinene	0.61
11	17.647	α .Terpinolene	0.26
12	16.355	Trans-sabinene hydrate	0.32
13	33.546	Pseudolimonene	0.71
Oxygenated monoterpene			
14	15.685	Eucalyptol	25.62
15	17.647	Trans-Sabinene	0.32
16	19.358	Linalool	11.83
17	23.276	Borneol L	0.2
18	24.124	4-Carvomenthenol	1.43
19	27.796	Nerol	0.24
20	29.556	Linalylacetate	0.22
21	36.009	α -Terpinenylacetate	10.18
Sesquiterpenes			
Hydrocarbon sesquiterpene			
22	38.346	β .Elemene	0.73
23	39.248	α -Gurjunene	0.09
24	42.043	α -Humulene	0.11
25	43.759	Germacrene-D	0.24
26	44.038	β .-Selinene	0.12

Table 1. Continued.

No.	RT (min)*	Constituents	Concentration (%)
27	44.689	γ -Cadinene	0.41
28	44.906	α -Bergamotene	0.12
29	45.778	α -Amorphene	0.19
30	45.951	Δ -Cadinene	0.22
31	38.346	β -Elemene	0.73
32	45.778	α -Amorphene	0.19
33	46.838	γ -Murolene	0.18
34	55.933	Shyobunol	1.45
35	55.055	Calamenene	0.31
36	53.291	γ -Cadinene	0.43
37	54.01	Murolol	1
38	49.633	(+)Spathulenol	0.73
Oxygenated sesquiterpene			
39	46.376	Naphthalene	0.41
40	49.633	(+)Spathulenol	0.73
41	49.744	(-)-Caryophylleneoxide	0.32
42	50.371	Veridiflorol	0.56
43	50.94	(+)-Ledol	0.38
44	51.711	Torreyol	0.27
45	45.19	NaphthaleneTrans $-\gamma$ Bisabolene	0.26
46	53.701	β -Eudesmol	0.16
47	55.055	calamenene	0.31
Secondary alcohol			
48	47.474	α -compaen-11-ol	0.16
Phenylpropenes			
49	48.78	Elemicin	0.76
50	36.626	Eugenol	1.88
54	39.922	Methyleugenol	11.07
Others			
52	52.593	Isobutylcinnamate	0.61
53	53.065	3-chlorohomoadamantane	0.17

Table 1. Continued.

No.	RT (min)*	Constituents	Concentration (%)
54	47.176	(-)-Dehydroaromadendrane	0.23
55	40.38	Veratrolemethyl	2.73
56	22.302	Isobutylcaproate	0.09

* RT = retention time (min).

were 1,8-cineole, linalool, and isovaler aldehyde, although in variable proportions from each locale. The major component in the oil of Iranian *L. nobilis* was 1,8-cineole together with α -terpinyl acetate, terpinene-4-ol, α -pinene, p-pinene, p-cymene, linalool, and terpinene-4-yl-acetate (Mohammadreza 2010). Such variations in chemical composition of oils from *L. nobilis* from different locales may be due to geographic origin, genetic variability, growing conditions, plant part from which the oil was extracted, or any combination of these factors (Da Silveira et al. 2014; Fidan et al. 2019; Mediouni-Ben Jemâa et al. 2012). Da Silveira et al. (2014) also found that the relative composition of 1,8-cineole in the oils varied with whether the plant material was microwave-dried (58.80%), air-dried (35.62%), or from fresh leaves (42.90%). They also found (E)- β -cymene, β -longipinene, cadinene, α -terpinyl acetate, α -bulnesene, terpinene-4-ol (4.25%), and sabinene in the oils and reported that 1,8-cineol was the main component of oils extracted from *L. nobilis* from Iran, India, Lebanon, Turkey, and Italy (Da Silveira et al. 2014).

Larval bioassays. Our results demonstrate that the essential oil from *L. nobilis* has insecticidal activity against fourth-instar *Cs. longiareolata* larvae. The median lethal concentration (LC₅₀) decreased over time from the initial exposure with 203.7 ppm after 1 d, 171.0 ppm after 3 d, 85.1 ppm after 5 d, and 23.45 ppm after 7 d (Table 2). The larvicidal activity was not unexpected in that the essential oil from the Iranian *L. nobilis* has been identified as a natural larvicide against *An. stephensi* and *Cx. pipiens* (Mohammadreza 2010), and essential oils from plants of the genus *Laurus* have been defined as insecticides and acaricides (Kotan et al. 2008; Rozman et al. 2007). Tayoub et al. (2012) suggested that the mode of action may reside in the nervous system, but Sharifi-Rad et al. (2017) noted that there is likely a diversity of modes of action due to the different molecular targets of the various chemicals identified in the oils.

Ovicidal activity. Exposure of *Cs. longiareolata* egg rafts to the LC₅₀ of the *L. nobilis* essential oil resulted in a mean of 75.9% of the eggs not hatching. This ovicidal activity was significantly higher ($F = 9.48$; $df = 1, 18$; $P = 0.006$) than that observed following exposure to the LC₂₅ and the untreated control (Fig. 1). Essential oils from a variety of plants have exhibited oviposition deterrence and ovicidal activities against *Ae. aegypti*, *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison), *Anopheles coluzzii* (L.), *Culex quinquefasciatus*, *Culex restuans*, and *Cx. pipiens* (Al-Mekhlafi 2018; FokoDadji et al. 2018; Mirza and Zehra 2018; Muturi et al. 2018; Rajasekar et al. 2016; Ramar et al. 2014; Siriporn and Mayura 2012).

Table 2. Concentration–mortality response of fourth-instar *Culiseta longiareolata* larvae to essential oil from *Laurus nobilis* essential oil against fourth-instar larvae of (LC = lethal concentration; ppm = parts per million; FL = fiducial limit).

Time (days)	Slope	R ²	LC ₂₅ (ppm) (95% FL)*	LC ₅₀ (ppm) (95% FL)*
1	0.34	0.98	132.80 (105.6–167.1)	203.70 (168.10–246.90)
3	0.38	0.92	81.96 (38.30–175.4)	171.90 (86.93–339.90)
5	0.23	0.94	31.25 (11.07–88.19)	85.10 (45.42–159.40)
7	0.24	0.93	8.21 (1.33–50.44)	23.45 (9.58–57.38)

* 95% fiducial limits.

Sex ratio effects. According to the ANOVA, the observed sex ratio of *Cs. longiareolata* adults that emerged from larvae treated with the *L. nobilis* essential oil was biased toward females (males versus females: $P < 0.0001$) in all concentrations of the essential oil tested (Table 3). We are not certain that these effects are the result of exposure to the essential oil alone because various other factors (e.g., differential mortality between sexes) may affect sex ratios in natural populations of insects (Tabadkani et al. 2013).

Conclusion. Our results demonstrate that essential oils from *L. nobilis* have potential for development as plant-derived insecticides to control *Cs. longiareolata* populations when directed to the larval stage. Additional research must be conducted on the mode of action of the oils, methods of application or exposure,

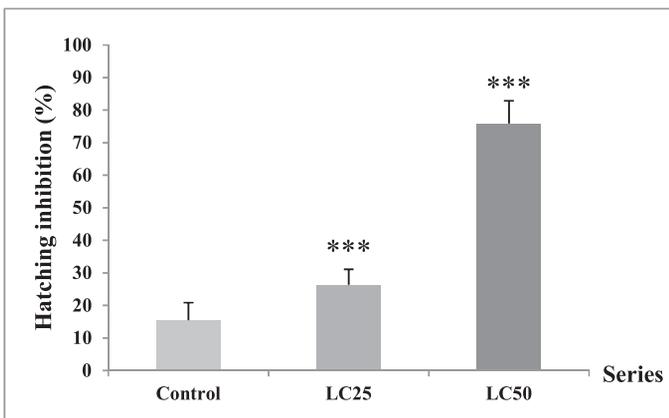


Fig. 1. Inhibition of egg hatch of *Culiseta longiareolata* following exposure to essential oil of *Laurus nobilis* (indicates significant difference from untreated control; $n = 10$ egg rafts).**

Table 3. Mean (\pm standard deviation [SD]) proportions of female and male sex ratio of *Culiseta longiareolata* following exposure of fourth-instar larvae to essential oil from *Laurus nobilis* essential oil ($n = 10$ rafts). For each concentration (parts per million [ppm]), mean values followed by the different lowercase letters are significantly different at $P < 0.0001$.

Concentration	Sex	Proportion (%)*
25 ppm	Female	63.36 \pm 7.45a
	Male	36.64 \pm 7.45b
50 ppm	Female	66.51 \pm 7.17a
	Male	33.48 \pm 7.17b
100 ppm	Female	72.97 \pm 8.69a
	Male	27.02 \pm 8.69b
150 ppm	Female	73.27 \pm 11.56a
	Male	26.72 \pm 11.56b

* Means (\pm SD) followed by the same lowercase letter are not significantly ($P < 0.0001$) different ($n = 10$ egg rafts).

efficacy and residual activity in natural environments, and impact on nontarget organisms including micro- and macroinvertebrates.

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 (PRFU ProjectD01N01UN120120130005) to Pr. F. Tine-Djebbar.

References Cited

- Abbott, W.S. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265–267.
- Al-Mekhlafi, F.A. 2018.** Larvicidal, ovicidal activities and histopathological alterations induced by *Carum copticum* (Apiaceae) extract against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Saudi J. Biol. Sci.* 25: 52–56.
- Aouinty, B., M. Chennaoui, S. Mahari, A. Rihane and F. Mellouki. 2018.** Larvicidal effects of aqueous extract from *Ricinus communis* L. leaves against mosquito *Culex pipiens*: Mortality and histopathology of treated larvae. *J. Mater. Env. Sci.* 9: 619–623.
- Bouabida, H., F. Djebbar and N. Soltani. 2012.** Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). *Faun. Entomol.* 65: 99–103.
- Bouguerra, N., F. Tine Djebbar and N. Soltani. 2017.** Algerian *Thymus vulgaris* essential oil: Chemical composition and larvicidal activity against the mosquito *Culex pipiens*. *Int. J. Mosq. Res.* 4: 37–42.

- Bouguerra, N., F. Tine Djebbar and N. Soltani. 2018.** Effect of *Thymus vulgaris* L. (Lamiales: Lamiaceae) essential oil on energy reserves and biomarkers in *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) from Tebessa (Algeria). *J. Essent. Oil Bear. Pla.* 21: 1082–1095.
- Caputo, L. 2017.** Chemical and biological study of natural substances active on the central nervous system. Ph.D. Diss. Univ. Salerno, Italy.
- Casamassima, D., F. Chiosi, F. Vizzarri, M. Palazzo and C. Costagliola. 2017.** The effect of *Laurus nobilis* on the blood and lenses antioxidant activity in rabbit under fat-enriched diet. *Physiol. Res.* 66: 325–333.
- Chahal, K.K., R. Bansal and R. Kaur. 2016.** Chemistry and insecticidal potential of bay leaf essential oil against stored grain pest of wheat. *J. Appl. Nat. Sci.* 8: 2049–2054.
- Da Silveira, S.M., L.F. Bittencourt, N. Fronza, A. Cunha Jr., G. Neudí Scheuermann and C.R. Werneck Vieira. 2014.** Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards food borne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7°C. *J. Food Sci. Technol.* 59: 86–93.
- Djehader, N.E., L. Aïssaoui, K. Amira and H. Boudjelida. 2018.** Toxicity evaluation and effects on the development of a plant extract, the Saponin, on the domestic mosquito, *Culex pipiens*. *Inter. J. Mosq. Res.* 5: 1–5.
- Dris, D., F. Tine-Djebbar, H. Bouabida and N. Soltani. 2017a.** Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: Toxicological, biometrical and biochemical aspects. *South Afr. J. Botany* 113: 362–369.
- Dris, D., F. Tine-Djebbar and N. Soltani. 2017b.** *Lavandula dentata* essential oils: Chemical composition and larvicidal activity against *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Afr. Entomol.* 25: 387–395.
- Echeverría, J. and R.D.D.G. Albuquerque. 2019.** Nanoemulsions of essential oils: New tool for control of vector-borne diseases and in vitro effects on some parasitic agents. *Medicines* 6: 42. doi: 10.3390/medicines6020042.
- Fiçıcılar, B.B., H. Gençlepe and T. Özen. 2018.** Effects of bay leaf (*Laurus nobilis*) and green tea (*Camellia sinensis*) extracts on the physicochemical properties of the marinated anchovies with vacuum packaging. *CyTAJ Food.* 16: 848–858.
- Fidan, H., G. Stefanova, I. Kostova, S. Stankov, S. Damyanova, A. Stoyanova and V.D. Zheljzakov. 2019.** Chemical composition and antimicrobial activity of *Laurus nobilis* L. essential oils from Bulgaria. *Molecules* 24: 804.
- Finney, D.J. 1971.** *Probit Analysis*. 3d ed. Cambridge Univ. Press, London and New York.
- Foko Dadji, G.A., M.P. Bobo Ngowe, M.A. Nyegue and J.L. Tamesse. 2018.** Chemical composition and biocide properties of *Clauseana anisata* (Rutaceae) essential oil against developmental stages of the malaria vector *Anopheles coluzzii*. *Am. J. Essent. Oil Nat. Prod.* 6: 9–15.
- Hamaidia, K. and N. Soltani. 2014.** Laboratory evaluation of a biorational insecticide, kinoprene, against *Culex pipiens* larvae: Effects on growth and development. *Annu. Rev. Res. Biol.* 4: 2263–2273.
- Hamaidia, K., F. Tine-Djebbar and N. Soltani. 2018.** Activity of a selective insecticide (methoxyfenozide) against two mosquito species (*Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*): Toxicological, biometrical and biochemical study. *Physiol. Entomol.* 43: 315–323.
- Ilahi, I., A.M. Yousafzai, T.U. Haq, H. Ali, A. Rahim, M.A. Sajad, A.N. Khan, A. Ahmad, S. Ullah, S. Zaman, A. Bibi, S. Hussain, M.U. Rahman, M.S. Saqib, B. Ahmad and M. Attaulla. 2019.** Oviposition deterrence and adult emergence inhibition activities of *Cymbopogon nardus* against *Culex quinquefasciatus* with study on non-target organisms. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 17: 4915–4931.
- Khater, H.F. 2013.** Bioactivity of essential oils as green biopesticides: Recent global scenario, Pg. 153–220. *In* Govil, J.N. and S. Bhattacharya (eds.). *Recent Progress in Medicinal Plants. Essentials Oils II*. Studium Press LLC, USA, New Delhi.
- Kotan, R., S. Kordali, A. Cakir, M. Kesdek, Y. Kaya and H. Kilic. 2008.** Antimicrobial and insecticidal activities of essential oil isolated from Turkish *Salvia hydrangea* DC. ex Benth. *Biochem. Syst. Eco.* 36: 360–368.

- Lee, M.Y. 2018. Essential oils as repellents against arthropods. *BioMed. Res. Inter.* ID6860271: 9.
- Liu, N. 2015. Insecticide resistance in mosquitoes: Impact, mechanisms, and research directions. *Annu. Rev. Entomol.* 60: 537–559.
- Mediouni-Ben Jemâa, J., N. Tersim, K. Taleb-Toudert and M. Larbi Khouja. 2012. Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *J. Stored Prod. Res.* 48: 97–104.
- Mihajilov-Krstev, T., B. Jovanović, J. Jović, B. Ilić, D. Miladinović, J. Matejić, J. Rajković, L. Dorđević, V. Cvetković and B. Zlatković. 2014. Antimicrobial, antioxidative, and insect repellent effects of *Artemisia absinthium* essential oil. *Planta Med.* 80: 1698–1705.
- Mirza, A. and A. Zehra. 2018. Bioefficacy of plant essential oils for the ovicidal, larvicidal and pupicidal activities against the dengue vector *Ae. aegypti*. *J. Entomol. Zool. Stud.* 6: 1819–1823.
- Mohammadreza, V. 2010. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oil of Iranian *Laurus nobilis* L.J. *Appl. Hortic.* 12: 155–157.
- Muturi, E.J., J.L. Ramirez, B. Zilkowski, L.B. Flor-Weiler and A.P. Rooney. 2018. Ovicidal and larvicidal effects of garlic and asafoetida essential oils against West Nile virus vectors. *J. Insect Sci.* 18: doi: 10.1093/jisesa/iey036.
- Peixoto, L.R., P.L. Rosalen, G.L. Ferreira, I.A. Freires, F.G. de Carvalho, L.R. Castellano and R.D. de Castro. 2017. Antifungal activity, mode of action and anti-biofilm effects of *Laurus nobilis* Linnaeus essential oil against *Candida* spp. *Arch. Oral. Biol.* 73: 179–185.
- Ponsankar, A., P. Vasantha-Srinivasan, S. Senthil-Nathan, A. Thanigaivel, E.S. Edwin, S. Selin-Rani, K. Kalaivani, W.B. Hunter, R.T. Alessandro, A. Abdel-Megeed, C.H. Paik, V. Duraipandiyar and N.A. Al-Dhabi. 2016. Target and non-target toxicity of botanical insecticide derived from *Couroupita guianensis* L. flower against generalist herbivore, *Spodoptera litura* Fab. and an earthworm, *Eisenia foetida* Savigny. *Ecotox. Environ. Safe.* 133: 260–270.
- Rajasekar, P., A. Jebanesan, M. Shamsudin, I.A.J. Jerold, M. Meeramaideen, M. Salahudeen and R. Thirupathi. 2016. Ovicidal response effects of selected plant essential oils against *Aedes aegypti*. *Adv. Appl. Sci. Res.* 1: 1–3.
- Ramar, M., S. Ignacimuthu and M.G. Paulraj. 2014. Ovicidal and oviposition response activities of plant volatile oils against *Culex quinquefasciatus* say. *J. Entomol. Zool. Stud.* 2: 82–86.
- Rehimi, N. and N. Soltani. 1999. Laboratory evaluation of Alsystin, a chitin synthesis inhibitor, against *Culex pipiens pipiens* (Dip: Culicidae): Effects on development and cuticle secretion. *J. Appl. Entomol.* 123: 437–441.
- Rozman, V., I. Kalinovic and Z. Korunic. 2007. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *J. Stored Prod. Res.* 43: 349–355.
- Said, C.M. and K. Hussein. 2014. Determination of the chemical and genetic differences of *Laurus* collected from three different geographic and climatic areas in Lebanon. *Eur. Sci. J.* 2: 412–419.
- Sharifi-Rad, J., A. Sureda, G.C. Tenore, M. Daglia, M. Sharifi-Rad, M. Valussi, R. Tundis, M. Sharifi-Rad, M.R. Loizzo, A.O. Ademiluyi, R. Sharifi-Rad, S.A. Ayatollahi and M. Iriti. 2017. Biological activities of essential oils: From plant chemoecology to traditional healing systems. *Molecules* 22. doi: 10.3390/molecules22010070.
- Siriporn, P. and S. Mayura. 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). *Trop. Biomed.* 29: 138–150.
- Su, T. and M.S. Mulla. 1998. Ovicidal activity of neem products (azadirachtin) against *Culex tarsalis* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* 14: 204–209.

- Tabadkani, S.M., A. Ashouri, V. Rahimi-Alangi and M. Fathi-Moghaddam. 2013.** When to estimate sex ratio in natural populations of insects? A study on sex ratio variations of gall midges within a generation. *Entomol. Sci.* 16: 54–59.
- Tabanca, N., C. Avonto, M. Wang, J.F. Parcher, A. Ali, B. Demirci, V. Raman and I.A. Khan. 2013.** Comparative investigation of *Umbellularia californica* and *Laurus nobilis* leaf essential oils and identification of constituents active against *Aedes aegypti*. *J. Agric. Food Chem.* 61: 12283–12291.
- Taoudiat, A., D. Djenane, Z. Ferhat and G. Spigno. 2018.** The effect of *Laurus nobilis* L. essential oil and different packaging systems on the photo-oxidative stability of Chemlal extra-virgin olive oil. *J. Food Sci. Tech.* 55: 4212–4222.
- Tayoub, G., A. Odeh and I. Ghanem. 2012.** Chemical composition and fumigation toxicity of *Laurus nobilis* L. and *Salvia officinalis* L. essential oils on larvae of khapra beetle (*Trogoderma granarium* Everts). *Herba Polonica* 58: 26–37.
- Tisgratog, R., U. Sanguanpong, J.P. Grieco, R. Ngoen-Kluan and T. Chareonviriyaphap. 2016.** Plants traditionally used as mosquito repellents and the implication for their use in vector control. *Acta Tropica* 157: 136–144.
- Verdian-Rizi, M. 2009.** Chemical composition and larvicidal activity of the essential oil of *Laurus nobilis* L. from Iran. *Iranian J. Pharm. Sci.* 5: 47–50.
- Vilela, J., D. Martins, F. Monteiro-Silva, G. González-Aguilar, M.M.M. de Almeida José and C. Saraiva. 2016.** Antimicrobial effect of essential oils of *Laurus nobilis* L. and *Rosmarinus officinalis* L. on shelf-life of minced “Maronesa” beef stored under different packaging conditions. *Food Pack. Shelf. Life* 8: 71–80.
- WHO (World Health Organization). 1996.** Report of the WHO informal consultation on the evaluation and testing of insecticides. CTD/WHOPES/IC/96.1:69.
- Yuan, L., X. Yang, X. Yu, Y. Wu and D. Jiang. 2019.** Resistance to insecticides and synergistic and antagonistic effects of essential oils on dimethrin toxicity in a field population of *Culex quinquefasciatus* Say. *Ecotox. Environ. Safe.* 169: 928–936.