



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



THESE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT LMD

Spécialité : BIOLOGIE ANIMALE

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

### Thème

**Effacité 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**

#### Présentée par:

Mme. BOUGUERRA NADIA

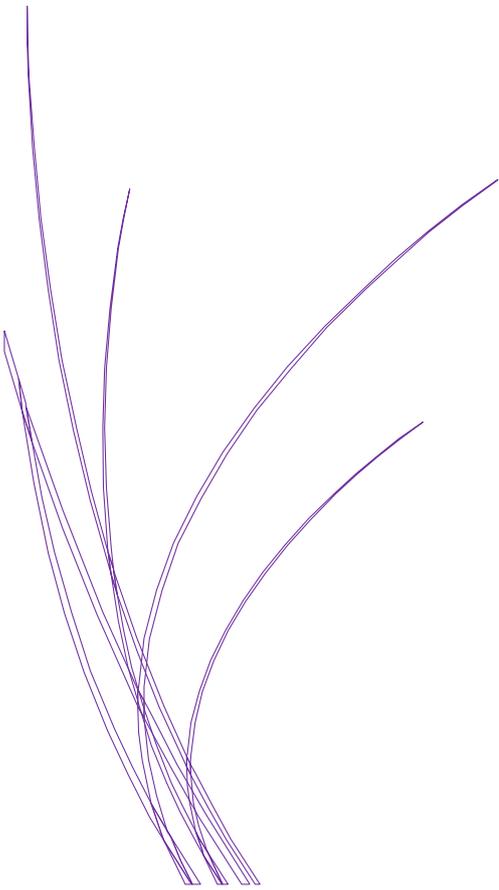
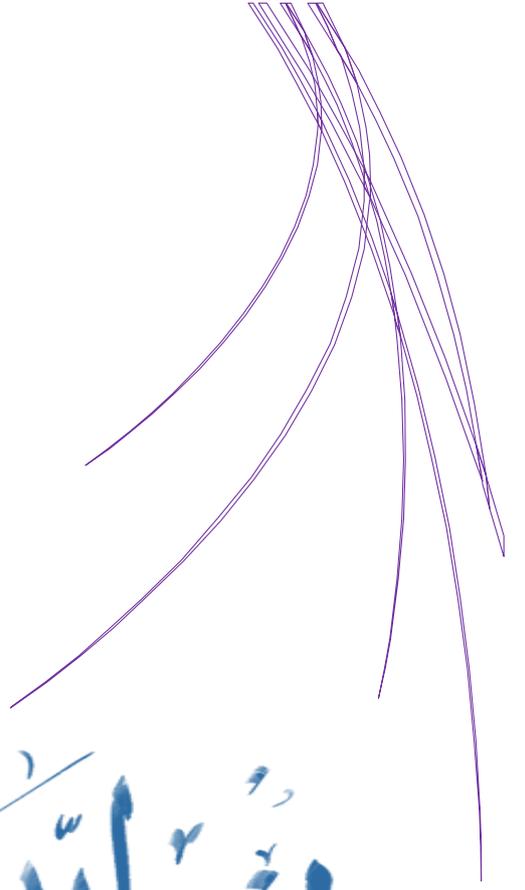
Directeur de thèse : Pr. TINE-DJEBBAR F., Université Larbi Tébessi, Tébessa

#### Membres de Jury :

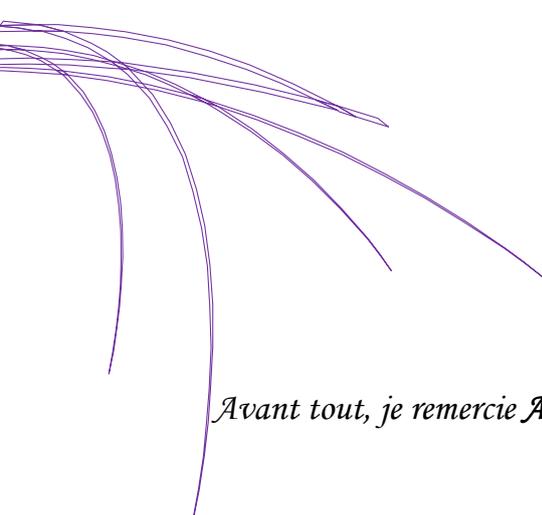
Dr. TALEB Salima	Université de Tébessa	Présidente
Pr. TINE-DJEBBAR Fouzia	Université de Tébessa	Promotrice
Dr. TINE Samir	Université de Tébessa	Examineur
Pr. SOLTANI Noureddine	Université d'Annaba	Examineur
Pr. LOUCIF Wahida	Université d'Annaba	Examinatrice

**Année universitaire : 11/4/2019**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ







## *Remerciements*

*Avant tout, je remercie **ALLAH** de m'avoir donné le courage et la force de mener à bien ce travail*

*Je tiens à remercier Mme **Salima TALEB** (Maître de conférences au Département de Biologie appliquée, Université de Tébessa) de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être Présidente du Jury lors de la soutenance de ma thèse.*

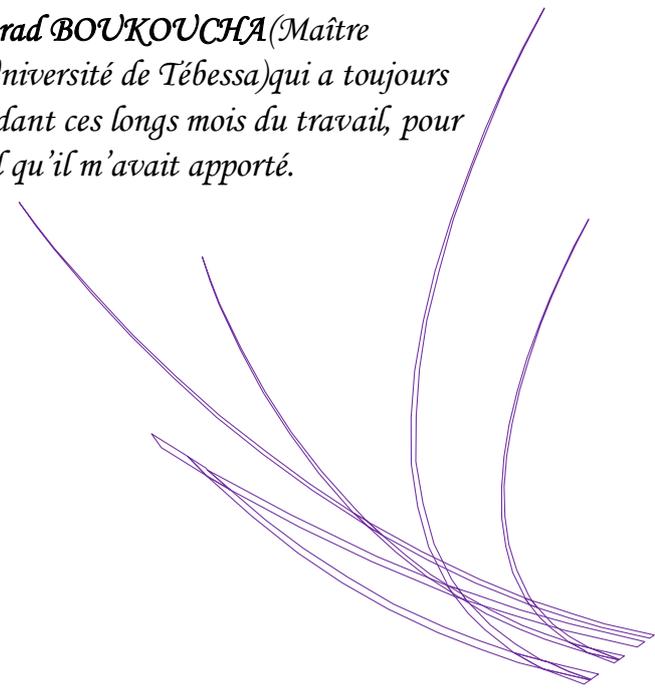
*J'adresse également mes remerciements à ma directrice de thèse, Mme **Fouzia TINE** (Professeur au Département de Biologie des êtres vivants, Université de Tébessa). Je lui suis également reconnaissante pour le temps qu'elle m'a accordé, ses qualités pédagogiques et scientifiques, sa franchise et sa sympathie. J'ai beaucoup appris à ses côtés et je lui adresse ma gratitude pour tout cela.*

*J'adresse aussi tous mes remerciements à M. **Nouredine SOLTANI** (Professeur au Département de Biologie et Directeur du Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, Université d'Annaba) pour avoir accepté de participer à ce jury de thèse et de me faire l'honneur de juger ce travail. Je lui adresse mes sincères remerciements ainsi que ma profonde gratitude.*

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

*Toute ma considération à M. **Samir TINE** (Maître de conférences au Département de Biologie des êtres vivants, Université de Tébessa) qui m'a fait l'honneur de juger le présent travail.*

*J'adresse mes remerciements à mon mari, M. **Mourad BOUKOUCHA** (Maître de conférences au Département de Biologie appliquée, Université de Tébessa) qui a toujours été présent à mes côtés pour m'orienter, m'encourager pendant ces longs mois de travail, pour ses multiples conseils et pour le soutien moral qu'il m'avait apporté.*





*Dédicace*

*À mon mari*



# TABLE DES MATIERES



## SOMMAIRE

	<b>Pages</b>
<b>1. INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>1</b>
<b>2. MATERIEL ET METHODES</b>	
2.1. Présentation de la région de Tébessa.....	<b>6</b>
2.2. Présentation de la famille des culicidés.....	<b>7</b>
2.2.1. Cycle de vie des culicidés.....	<b>7</b>
2.2.1.1. Œuf.....	<b>7</b>
2.2.1.2. Larve.....	<b>7</b>
2.2.1.3. Nymphes.....	<b>8</b>
2.2.1.4. Adultes (ou l'imago).....	<b>8</b>
2.3. Présentation de <i>Culex pipiens</i> (Linné, 1758).....	<b>9</b>
2.4. Techniques d'élevage.....	<b>11</b>
2.5. Présentation des plantes étudiées.....	<b>12</b>
2.5.1. <i>Thymus vulgaris</i> (Linné, 1753).....	<b>12</b>
2.5.2. <i>Origanum vulgare</i> (Linné, 1753).....	<b>15</b>
2.6. Présentation des huiles essentielles.....	<b>17</b>
2.6.1. Composition chimique.....	<b>18</b>
2.6.1.1. Les terpènes.....	<b>18</b>
2.6.1.2. Les composés aromatiques dérivés de phénylpropane.....	<b>19</b>
2.6.2. Méthodes d'extraction.....	<b>19</b>
2.6.2.1. Hydrodistillation.....	<b>20</b>
2.6.2.2. Entraînement à la vapeur.....	<b>20</b>
2.6.2.3. Percolation.....	<b>20</b>
2.6.2.4. Enfleurage.....	<b>20</b>
2.6.2.5. Extraction par micro-onde.....	<b>20</b>
2.6.3. Activités biologiques des huiles essentielles.....	<b>21</b>
2.6.3.1. Activité antibactérienne.....	<b>21</b>
2.6.3.2. Activité antifongique.....	<b>22</b>
2.6.3.3. Activité anti-oxydante.....	<b>22</b>

2.6.3.4. Activité insecticide.....	22
2.7. Extraction des huiles essentielles.....	23
2.8. Analyse chimique des huiles essentielles.....	24
2.9. Traitement et essai toxicologique.....	26
2.10. Dosages des biomarqueurs.....	27
2.10.1. Dosage de l'acétylcholinestérase.....	27
2.10.2. Dosage des glutathion S-transférases.....	28
2.10.3. Dosage du glutathion.....	29
2.11. Extraction et dosage des métabolites.....	31
2.11.1. Dosage de protéines totales Dosage de protéines totales.....	31
2.11.2. Dosage des glucides totaux.....	31
2.11.3. Dosage des lipides totaux.....	32
2.12. Détermination de l'indice d'épuisement des réserves nutritives.....	34
2.13. Extraction et dosage des acides nucléiques.....	34
2.13.1. Dosage de l'ADN.....	34
2.13.2. Dosage de l'ARN.....	35
2.14. Analyses statistiques.....	37
<b>CHAPITRE I : Composition chimique et activité larvicide des huiles essentielles</b>	
<b>1. Introduction.....</b>	<b>39</b>
<b>2. Résultats.....</b>	<b>41</b>
2.1. Rendement et caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles extraites de <i>T. vulgaris</i> et <i>O. vulgare</i> .....	41
2.2. Composition chimique des HEs extraites de <i>T. vulgaris</i> et <i>O. vulgare</i> .....	41
2.2.1. <i>Thymus vulgaris</i> (Linné 1753).....	41
2.2.2. <i>Origanum vulgare</i> (Linné 1753).....	43
2.3. Efficacité larvicide des HEs à l'égard de <i>Cx. pipiens</i> .....	45
2.3.1. Toxicité de l'HE de <i>T. vulgaris</i> .....	46
2.3.2. Toxicité de l'HE d' <i>O. vulgare</i> .....	47
2.3.3. Efficacité comparée des HEs à l'égard de <i>Cx. pipiens</i> .....	48
<b>3. Discussion.....</b>	<b>49</b>

3.1.Rendement des huiles essentielles extraites de <i>T. vulgaris</i> et <i>O. vulgare</i> .....	49
3.2.Composition chimique des HEs.....	50
3.3.Toxicité des HEs.....	54
<b>CHAPITRE II : Effet des huiles essentielles sur les biomarqueurs</b>	
<b>1. Introduction</b> .....	<b>59</b>
<b>2. Résultats</b> .....	<b>61</b>
2.1. Effet des HEs sur les biomarqueurs.....	61
2.1.1. Effet sur l'activité spécifique de l'ACHé.....	61
2.1.2. Effet sur l'activité spécifique des GSTs.....	63
2.1.3. Effet sur le taux de la GSH.....	65
<b>3. Discussion</b> .....	<b>67</b>
3.1. Effet des HEs sur les biomarqueurs.....	67
3.1.1. Effet des HEs de <i>T. vulgaris</i> et <i>O. vulgare</i> sur l'activité spécifique de l'ACHé.....	67
3.1.2. Effet des HEs sur l'activité spécifique des GSTs.....	68
3.1.3. Effet des HEs sur le taux de la GSH.....	70
<b>CHAPITRE III : Effet des huiles essentielles sur la biochimie des moustiques</b>	
<b>1. Introduction</b> .....	<b>73</b>
<b>2. Résultats</b> .....	<b>75</b>
2.1.Effet des HEs sur la croissance pondérale de moustique.....	75
2.2.Effets des HEs sur la composition biochimique de <i>Cx. pipiens</i> .....	76
2.2.1. Effet sur le contenu en protéines.....	77
2.2.2. Effet sur le contenu en glucides.....	78
2.2.3. Effet sur le contenu en lipides.....	80
2.3.Effet des HEs sur le taux d'épuisement des réserves énergétiques de <i>Cx. pipiens</i> .....	82
2.4.Effet des HEs sur les acides nucléiques chez les moustiques.....	83
2.4.1. Effet sur le taux d'ADN.....	83
2.4.2. Effet sur le taux d'ARN.....	85
<b>3. Discussion</b> .....	<b>87</b>
3.1.Effet des HEs sur la croissance.....	87

3.2.Effet des HEs sur les réserves énergétiques des moustiques.....	88
3.2.1. Effet sur le contenu en protéines.....	88
3.2.2. Effet sur le contenu en glucides .....	89
3.2.3. Effet sur le contenu en lipides .....	90
3.3.Effet des huiles essentielles sur les acides nucléiques des moustiques.....	91
<b>3. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>95</b>
<b>4. RESUMES.....</b>	<b>98</b>
<b>5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>106</b>
<b>6. ANNEXES.....</b>	<b>142</b>
• <b>Production scientifique</b>	



# LISTE DES TABLEAUX



## LISTE DES TABLEAUX

N° Tab	Titres	Pages
1	Les conditions d'analyse par CPG-SM.	25
2	Dosage des protéines totales chez les larves de moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	31
3	Dosage des glucides totaux chez les larves de moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	32
4	Dosage des lipides totaux chez les larves de moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	32
5	Dosage de l'ADN : réalisation de la gamme d'étalonnage.	34
6	Dosage de l'ARN : réalisation de la gamme d'étalonnage.	35
7	Rendement et caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles extraites de <i>T. vulgaris</i> et <i>O. vulgare</i> .	41
8	Composition chimique de l'huile essentielle extraite de <i>T. vulgaris</i> analysée par CPG-SM.	43
9	Composition chimique de l'huile essentielle extraite d' <i>O. vulgare</i> analysée par CPG-SM.	45
10	Effet de l'HE extraite de <i>T. vulgaris</i> (ppm) appliquée sur des larves du quatrième stade de <i>Cx. pipiens</i> , sur le taux de mortalité corrigée à 24, 48, et 72 heures ( $m \pm SEM$ , $n=3$ répétitions comportant chacune 20 individus). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.	46
11	Efficacité de l'HE extraite de <i>T. vulgaris</i> (ppm) appliquée sur des larves du quatrième stade de <i>Cx. pipiens</i> à 24, 48 et 72 heures après traitement : analyse des probits.	47
12	Effet de l'HE d' <i>O. vulgare</i> (ppm) appliquée sur des larves du quatrième stade de <i>Cx. pipiens</i> , sur le taux de mortalité corrigée à 24, 48 et 72 heures ( $m \pm SEM$ , $n=3$ répétitions comportant chacune 20 individus). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.	47
13	Efficacité des HEs extraites d' <i>O. vulgare</i> (ppm) appliquées sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de <i>Cx. pipiens</i> à 24, 48 et 72 heures après traitement : analyse des probits.	48
14	Efficacité comparée des HEs extraites de <i>T. vulgaris</i> et d' <i>O. vulgare</i> à l'égard des larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> .	48
15	Constituants majoritaires des HEs de <i>T. vulgaris</i> collecté dans différents pays.	52
16	Constituants majoritaires des HEs de l' <i>O. vulgare</i> collecté dans différents pays.	53
17	Effet larvicides des différentes espèces de plantes à l'égard de différentes espèces de moustiques.	57
18	Classement par ordre décroissant de l'activité spécifique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement par les HEs des deux plantes (CL <sub>25</sub> ): test HSD de Tukey.	62
19	Classement par ordre décroissant de l'activité spécifique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement par les HEs des deux plantes (CL <sub>50</sub> ): test HSD de Tukey.	62
20	Classement par ordre croissant de l'activité spécifique des GSTs (nM/min/mg de protéine) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement par les HEs des deux plantes (CL <sub>25</sub> ): test HSD de Tukey.	64

21	Classement par ordre croissant de l'activité spécifique des GSTs (nM/min/mg de protéine) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement par les HEs des deux plantes (CL <sub>50</sub> ): test HSD de Tukey.	<b>64</b>
22	Classement par ordre décroissant sur le taux du glutathion (nM/mg de protéines) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement par les HEs des deux plantes (CL <sub>25</sub> ): test HSD de Tukey.	<b>66</b>
23	Classement par ordre décroissant sur le taux du glutathion (nM/mg de protéines) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement par les HEs des deux plantes (CL <sub>50</sub> ): test HSD de Tukey.	<b>66</b>
24	Classement par ordre décroissant du poids corporel (mg) des larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement aux HEs (CL <sub>25</sub> ) des deux plantes : test HSD de Tukey.	<b>76</b>
25	Classement par ordre décroissant du poids corporel (mg) des larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL <sub>50</sub> ): test HSD de Tukey.	<b>76</b>
26	Classement par ordre décroissant du contenu en protéines totales (µg/individu) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement par les HEs des deux plantes (CL <sub>25</sub> ): test HSD de Tukey.	<b>78</b>
27	Classement par ordre décroissant du contenu en protéines totales (µg/individu) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement par les HEs des deux plantes (CL <sub>50</sub> ): test HSD de Tukey.	<b>78</b>
28	Classement par ordre décroissant du contenu en glucides totaux (µg/individu) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL <sub>25</sub> ): test HSD de Tukey.	<b>79</b>
29	Classement par ordre décroissant du contenu en glucides totaux (µg/individu) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL <sub>50</sub> ): test HSD de Tukey.	<b>80</b>
30	Classement par ordre décroissant du contenu en lipides totaux (µg/individu) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL <sub>25</sub> ): test HSD de Tukey.	<b>81</b>
31	Classement par ordre décroissant du contenu en lipides totaux (µg/individu) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL <sub>50</sub> ): test HSD de Tukey.	<b>82</b>
32	Classement par ordre décroissant du taux d'ADN (µg/mg de tissu) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL <sub>25</sub> ): test HSD de Tukey.	<b>84</b>
33	Classement par ordre décroissant du taux d'ADN (µg/mg de tissu) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL <sub>50</sub> ): test HSD de Tukey.	<b>85</b>
34	Classement par ordre décroissant du taux d'ARN (µg/mg de tissu) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL <sub>25</sub> ): test HSD de Tukey.	<b>86</b>
35	Classement par ordre décroissant du taux d'ARN (µg/mg de tissu) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL <sub>50</sub> ): test HSD de Tukey.	<b>86</b>

# LISTE DES FIGURES



## LISTE DES FIGURES

Figures	Titres	Pages
1	Présentation de la région de Tébessa.	<b>6</b>
2	Cycle de développement des moustiques.	<b>9</b>
3	Mentum de <i>Cx. pipiens</i> .	<b>10</b>
4	Ecailles du 8 <sup>ème</sup> segment abdominal de <i>Cx. pipiens</i> .	<b>10</b>
5	Antenne de <i>Cx. pipiens</i> .	<b>10</b>
6	Dent distale du peigne siphonal de <i>Cx. pipiens</i> .	<b>10</b>
7	Sites de prélèvement et technique d'élevage des moustiques.	<b>12</b>
8	<i>Thymus vulgaris</i> .	<b>13</b>
9	Présentation de la région de Blida.	<b>15</b>
10	<i>Origanum vulgare</i> .	<b>16</b>
11	Présentation de la région de Sétif	<b>17</b>
12	Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger.	<b>24</b>
13	Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM).	<b>25</b>
14	Protocole de l'analyse chimique d'une huile essentielle.	<b>26</b>
15	Essais toxicologiques.	<b>27</b>
16	Extraction des glucides, protéines et lipides totaux.	<b>33</b>
17	Extraction des acides nucléiques ADN, ARN.	<b>36</b>
18	Chromatogramme CPG-SM de l'huile essentielle extraite de <i>T. vulgaris</i> (abondance en fonction du temps de rétention en minutes).	<b>42</b>
19	Répartition (%) des familles de molécules présentes dans l'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i> .	<b>42</b>
20	Chromatogramme CPG-SM de l'huile essentielle extraite d' <i>O. vulgare</i> (abondance en fonction du temps de rétention en minutes).	<b>44</b>
21	Répartition (%) des familles de molécules présentes dans la plante <i>O. vulgare</i>	<b>44</b>
22	Effets de l'HE de <i>T. vulgaris</i> , appliquée sur les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> : Courbe dose réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.	<b>46</b>
23	Effets de l'HE d' <i>O. vulgare</i> , appliquée sur les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> : Courbe dose réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.	<b>48</b>
24	Effet des HEs (CL <sub>25</sub> et CL <sub>50</sub> ) extraites de <i>T. vulgaris</i> (A) et d' <i>O. vulgare</i> (A) sur l'activité spécifique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours de différentes périodes (m ± SEM, n=3). (NS : Différence non significative (p>0,05)).	<b>61</b>
25	Effet des HEs (CL <sub>25</sub> et CL <sub>50</sub> ) extraites de <i>T. vulgaris</i> (A) et d' <i>O. vulgare</i> (B), sur l'activité spécifique des GSTs (nM/min/mg de protéine) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> à différentes périodes (m ± sem, n=3). (NS : Différence non significative ; *: Différence significative (p≤0,05) ; **: Différence hautement significative (p≤0,01) ; *** : Différence très hautement significative (p≤0,001)).	<b>63</b>

26	Effet des HEs (CL <sub>25</sub> et CL <sub>50</sub> ) extraites de <i>T. vulgaris</i> (A) et d' <i>O. vulgare</i> (B) sur le taux de GSH (nM/mg de protéines) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> à différentes périodes (m ± SEM, n= 3). (NS différence non significative ; *Différence significative (p<0,05) ; **: Différence hautement significative (p≤0,01) ; *** : Différence très hautement significative (p≤0,001)).	<b>65</b>
27	Effet des HEs (CL <sub>25</sub> et CL <sub>50</sub> ) extraites de <i>T. vulgaris</i> (A) et <i>O. vulgare</i> (B) sur le poids corporel (mg) des larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> à différentes périodes (m ± SEM, n=3). (NS : Différence non significative ; *Différence significative (p<0,05)), significative; *Différence significative (p≤0,05); **Différence hautement significative (p≤0,01)).	<b>75</b>
28	Effets des HEs (CL <sub>25</sub> et CL <sub>50</sub> ) extraites de <i>T. vulgaris</i> (A) et <i>O. vulgare</i> (B) sur le contenu en protéines totales chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> à différentes périodes (m ± SEM, n=3). (NS : Différence non significative ; *Différence significative (p<0,05), **Différence hautement significative (p<0,01)).	<b>77</b>
29	Effets des HEs (CL <sub>25</sub> et CL <sub>50</sub> ) extraites de <i>T. vulgaris</i> (A) et <i>O. vulgare</i> (B) sur le contenu en glucides totaux chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> à différentes périodes (m ± SEM, n=3). (NS: Différence non significative ; *Différence significative (p<0,05), **Différence hautement significative (p<0,01)).	<b>79</b>
30	Effets des HEs (CL <sub>25</sub> et CL <sub>50</sub> ) extraites de <i>T. vulgaris</i> (A) et <i>O. vulgare</i> (B) sur le contenu en lipides totales chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> à différentes périodes (m ± SEM, n=3). (NS: Différence non significative; *Différence significative (p<0,05), **Différence hautement significative (p<0,01), *** Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).	<b>81</b>
31	Effet des HEs (CL <sub>25</sub> et CL <sub>50</sub> ) extraites de <i>T. vulgaris</i> (A) et <i>O. vulgare</i> (B) sur le taux d'épuisement des réserves énergétiques chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> à différentes périodes (m ± SEM, n=3) (NS : Différence non significative ; *Différence significative (p<0,05)).	<b>83</b>
32	Effet des HEs (CL <sub>25</sub> et CL <sub>50</sub> ) extraites de <i>T. vulgaris</i> (A) et <i>O. vulgare</i> (B) sur le taux d'ADN (µg/mg de tissu) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> à différentes périodes (m ± SEM, n=3). (NS : Différence non significative ; *Différence significative (p<0,05), **Différence hautement significative (p<0,01), *** Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).	<b>84</b>
33	Effet des HEs (CL <sub>25</sub> et CL <sub>50</sub> ) extraites de <i>T. vulgaris</i> (A) et <i>O. vulgare</i> (B) sur le taux d'ARN (µg/mg de tissu) chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> à différentes périodes (m ± SEM, n=3). (NS : Différence non significative ; *Différence significative (p≤0,05), **Différence hautement significative (p≤0,01)).	<b>85</b>



# INTRODUCTION GENERALE

## 1. INTRODUCTION GENERALE

Les insectes sont les premiers arthropodes à avoir peuplé la terre (Lecointre&Le Guyader, 2001), ils constituent le groupe d'êtres vivants numériquement le plus important, avec environ trois quarts des espèces animales décrites à ce jour (Gourmelon&Ahtiainen, 2007). Ils sont indispensables à l'équilibre et au fonctionnement de tous les écosystèmes, la plupart sont inoffensifs, certains ont un intérêt économique, par contre d'autres tels que les diptères hématophages ont un impact sur la santé humaine et animale (Maquardt, 2005). La famille des Culicidae est la plus importante de l'ordre des diptères, elle comprend 2 sous familles, 11 tribus, 111 genres et 3556 espèces (Banafshiet al., 2013). Les moustiques appartiennent à cette famille et forment un large groupe d'insectes hématophages (Poupardin, 2011), qui jouent un rôle important en tant que vecteur de microorganismes pathogènes et agents de nuisance (Merabeti&Ouakid, 2011).

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a annoncé que le moustique est «l'ennemi public numéro un», car il est responsable de la transmission de diverses maladies (WHO, 1996) telles que le paludisme humain transmis par le genre *Anopheles*, qui reste un problème de santé mondial crucial touchant des centaines de millions de personnes chaque année (WHO, 2017), et les arbovirus transmises par les moustiques du genre *Culex* et *Aedes* (Turellet al., 2001 ; Farajollahiet al., 2011). L'avancée la plus importante en matière de formulation de stratégies de lutte a été constatée chez *Aedes aegypti*, une espèce connue pour son potentiel de transmission de plusieurs arbovirus émergents et ré-émergents ayant une grande importance pour la santé publique, notamment le virus de la dengue (DENV), le virus du chikungunya (CHIKV), le virus de la fièvre jaune (YFV) et le virus Zika (ZIKV) (Tabachnick, 1991). D'autres espèces de moustiques, en particulier les espèces du complexe *Culex* (Zittraet al., 2016), sont également des cibles importantes pour la lutte anti vectorielle et la prévention des arbovirus, notamment le virus de la fièvre de la vallée du Rift (RVFV) et le virus du Nil occidental (WNV) (Solomon&Vaughn, 2002 ; Farajollahiet al., 2011).

*Culex pipiens* est l'une des plus importantes espèces en terme de distribution géographique et capacité de transmettre des agents pathogènes (Vinogradova, 2000). *Cx. pipiens* est l'espèce de moustique la plus répandue en Algérie (Rehimi&Soltani 2002 ; Amara Korba et al., 2015) et plus particulièrement dans la région de Tébessa (Aissaoui & Boudjelida, 2014 ; Tine-Djebbare et al., 2016). Elle existe sous deux formes ou biotypes qui présentent des différences à

la fois comportementales et physiologiques mais morphologiquement sont identiques (Huang *et al.*, 2008). Il s'agit de *Cx. pipiens* forme *molestus* et de *Cx. pipiens* forme *pipiens* (Farajollahi *et al.*, 2011; Zित्रा *et al.*, 2016). Plusieurs études suggèrent que les deux formes ont des préférences trophiques différentes, la forme *pipiens* principalement les oiseaux et la forme *molestus* se nourrit de mammifères, y compris les humains, alors que les hybrides peuvent, se nourrir des deux hôtes (Fonseca *et al.*, 2004). En Algérie, l'identification moléculaire effectuée par Amara Korba *et al.* (2016) a démontré la présence de *Cx. pipiens* forme *molestus* avec une forte proportion (48,3%) par rapport aux hybrides (*molestus/pipiens*) (36,8%) et *Cx. pipiens* forme *pipiens* avec un taux de 14,9%.

Bien que des progrès scientifiques ont été réalisés dans le développement de thérapies et de vaccins pour les pathogènes transmises par les moustiques au cours des dernières décennies, des stratégies efficaces de lutte anti-vectorielle restent la principale méthode de lutte et de prévention de ces maladies (Huang *et al.*, 2017). Plusieurs méthodes de lutte envisagées et adoptées, sont appuyées dans les premiers temps sur les insecticides chimiques (carbamates, organophosphorés, etc...). L'utilisation de ces derniers a été accompagnée par plusieurs inconvénients, la perte massive de la biodiversité (Bianchi *et al.*, 2006), la pollution des eaux, contamination du sol et de l'air (Gueye *et al.*, 2011), effet sur les organismes non visés (Khanavi *et al.*, 2011) dont la neurotoxicité chez les vertébrés (Mathew & Thanuja, 2008), et le phénomène de résistance signalé chez les moustiques (Konan *et al.*, 2011).

Suite à ces conséquences néfastes et dans une vision de lutte intégrée, les moyens de lutte anti-vectorielle se répartissent aujourd'hui selon plusieurs axes : la gestion environnementale et la lutte physique (OMS, 1982), la lutte génétique par une altération ou un remplacement du matériel héréditaire des moustiques (Alphey *et al.*, 2002; Wilke *et al.*, 2009; Becker *et al.*, 2010; Resnik, 2012), et la lutte biologique qui peut être obtenue par l'utilisation de compétiteurs, prédateurs, parasites, pathogènes ou de toxines dérivées de ceux-ci (Woodring & Davidson, 1996). De plus, l'utilisation des pesticides d'origine végétale constitue une alternative de la lutte chimique (Tapondjouet *et al.*, 2005 ; Pavela, 2015a) et elle a montré une efficacité contre les insectes y compris les moustiques (Pavela *et al.*, 2009a ; El Akhla *et al.*, 2015; 2016 ; Benelli *et al.*, 2016 ; Driset *et al.*, 2017 a,b ; Guenezet *et al.*, 2018).

Environ 2000 espèces de plantes ont été répertoriées pour produire des métabolites secondaires utilisés dans les programmes de lutte biologique, dont 344 espèces végétales ont

montré une activité insecticide contre les moustiques (Sukumaret *al.*, 1991). C'est ainsi des recherches récentes ont porté sur les extraits aqueux et les huiles essentielles des plantes, comme sources de composés ovicides, larvicides, adulticides et répulsifs contre les arthropodes (Dineshet *al.*, 2015; Madhiyazhaganet *al.*, 2015; Muruganet *al.*, 2015a, b, c; Pavela, 2015b; Suresh *et al.*, 2015; Jaganathanet *al.*, 2016; Bouguerraet *al.*, 2017, 2018 ; Driset *al.*, 2017 a, b ; Genezet *al.*, 2018).

Un grand nombre d'huiles essentielles extraites de plantes, peuvent constituer des sources larvicides potentielles de moustiques, en raison de leurs mélanges complexes en monoterpénoïdes et en phénols apparentés (Lahlou *et al.*, 2001 ; Bandeira *et al.*, 2013). Il a été rapporté que de nombreuses huiles essentielles de plantes possèdent des propriétés insecticides contre *Cx pipiens*(El Akhalet *al.*,2014, 2015, 2016 ; Driset *al.*, 2017b; Bouguerraet *al.*, 2017, 2018). Cependant, le mécanisme d'action de ces produits n'est pas encore connu.Plusieurs chercheurs ont signalé des perturbations de divers constituants biochimiques des insectes lors de l'exposition à divers biocides d'origine végétale, en particulier les métabolites secondaires des plantes tels que l'*Azadirachtaindica* et *Artemisiaannua*(Tine *et al.*, 2011).

Les huiles essentielles exercent des effets physiques (Isman,1999) ou physiologiques (Regnault-Roger &Hamraoui, 1995), ces derniers sollicitent simultanément plusieurs voies par opposition à des pesticides chimiques n'ayant qu'une seule cible moléculaire (Thomas & Ralf, 2014)ce qui peut retarder l'apparition de populations résistantes d'insectes (Feng &Isman, 1995). Ces huiles peuvent agir par plusieurs voies :antiappétants(Sadek, 2003;Pavela, 2004a), perturbations de la croissance des insectes (Pavela, 2004b ; 2005), blocage de l'oviposition(Dimock&Renwick, 1991; Zhao *et al.*, 1998), diminution de la fécondité et de la fertilité (Pavelaet *al.*, 2005) etla toxicité(Pavela, 2006).

Notre étude constitue une contribution dans le domaine de la lutte biologique, avec une investigation comparée à plusieurs échelles des huiles essentielles de deux plantes *Thymus vulgaris* et *Origanumvulgare* appartenant à la famille des Lamiaceae, largement étudiées pour leur action toxique contre plusieurs espèces de moustiques (Benelli, 2015b ; Pavela, 2015a ; El Akhelet *al.*, 2014; 2015; 2016).

Le genre *Origanum* riche en huiles essentielles et en substances amères (Baytop, 1999). Il comprend environ 38 espèces répandues dans la région méditerranéenne, euro-sibérienne et

irano-sibérienne (Kokkini, 1996). De son côté, *Thymus vulgaris* appartenant au genre *Thymus* comprend environ 215 espèces, en particulier dans la région méditerranéenne, et environ 11 espèces en Algérie (Morales, 2002). Ces deux espèces sont caractérisées par leur potentiels antioxydant, antiparasitaire, antifongique, antibactérien et antiviral (Stahl-Biskup & Sáez, 2002 ; El Akhelet *al.*, 2014, 2015, 2016).

Dans ce contexte, notre étude a été consacrée dans un premier chapitre à l'extraction des huiles essentielles de *T. vulgaris* et *O. vulgare* ainsi qu'à la détermination de leur composition chimique par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). De plus, l'effet larvicide de ces huiles sur une espèce de moustique, *Culex pipiens*, la plus abondante dans la région de Tébessa (Tine-Djebbare *al.*, 2016) et la détermination des paramètres de létalité (CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub>) ont été étudiés.

Le deuxième chapitre traite l'impact de ces HEs sur la morphométrie (poids corporel), les réserves énergétiques (glucides, lipides et protéines) et les acides nucléiques (ADN et ARN) chez les larves du quatrième stade de *Culex pipiens* à différentes périodes 24, 48, et 72 heures.

Le troisième chapitre a été consacré à l'étude de la réponse des moustiques, par la détermination d'un biomarqueur de neurotoxicité (acétylcholinestérase), des biomarqueurs de la détoxification, les glutathion S-transférases (GSTs) et son cofacteur, le glutathion (GSH), chez les larves témoins et traitées aux huiles essentielles à différentes périodes.

# MATERIEL ET METHODES



## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1. Présentation de la région de Tébessa

La wilaya de Tébessa se situe à l'Est de l'Algérie; s'étendant entre 34,75° et 36° de latitude Nord, 8,5° et 7,25° de longitude Est, et présentant une superficie de l'ordre de 13878km<sup>2</sup> et une altitude de 960 m au-dessus du niveau de la mer. La wilaya de Tébessa est limitée au Nord par la wilaya de Souk Ahras, au Sud par la wilaya d'El Oued, à l'Ouest par la wilaya d'Oum El Bouaghi et Khenchela, et à l'Est par la frontière Algéro-Tunisienne (Fig.1). La wilaya de Tébessa, située dans les hauts plateaux telliens, a un climat semi-aride avec un hiver assez froid et faiblement neigeux.



**Figure 1.** Présentation de la région de Tébessa (MapInfo-Pro, 2019)

## 2.2. Présentation de la famille des culicidés

La famille des Culicidae constitue un grand groupe de diptères (Wood & Borkent, 1989; Wiegmann *et al.*, 2011), communément appelés «Moustiques», appellation issue d'un mot espagnol «musketas». Les Américains d'origine hispanique les appelaient «zancudos», ce terme encore utilisé en Amérique du Sud et en Amérique centrale, qui signifie «aux longues jambes». La monophylie des Culicidae est rapportée par plusieurs travaux antérieurs (Wood & Borkent, 1989; Harbach & Kitching, 1998; Wiegmann *et al.*, 2011; Borkent, 2012). Cette famille renferme approximativement 3500 espèces et 41 genres décrits à travers le monde. Elle est actuellement divisée en deux sous-familles: Anophelinae, avec environ 480 espèces et Culicinae, avec environ 3 100 espèces distribuées dans 11 tribus, Aedini, avec environ 260 espèces, est la plus importante tribu (WRBU, 2016).

### 2.2.1. Cycle de vie des culicidés

Les moustiques possèdent un cycle de vie complexe impliquant un basculement ontogénique entre une phase immature aquatique et une phase adulte terrestre (Wilbur, 1980). L'accouplement des moustiques a lieu en vol ou dans la végétation, dont les femelles gardent la semence du mâle dans leur spermathèque, une petite poche située dans l'abdomen. Une fois fécondées, elles partent en quête d'un repas de sang (Rageau *et al.*, 1970). Le moustique passe par quatre stades de développement (Fig. 2).

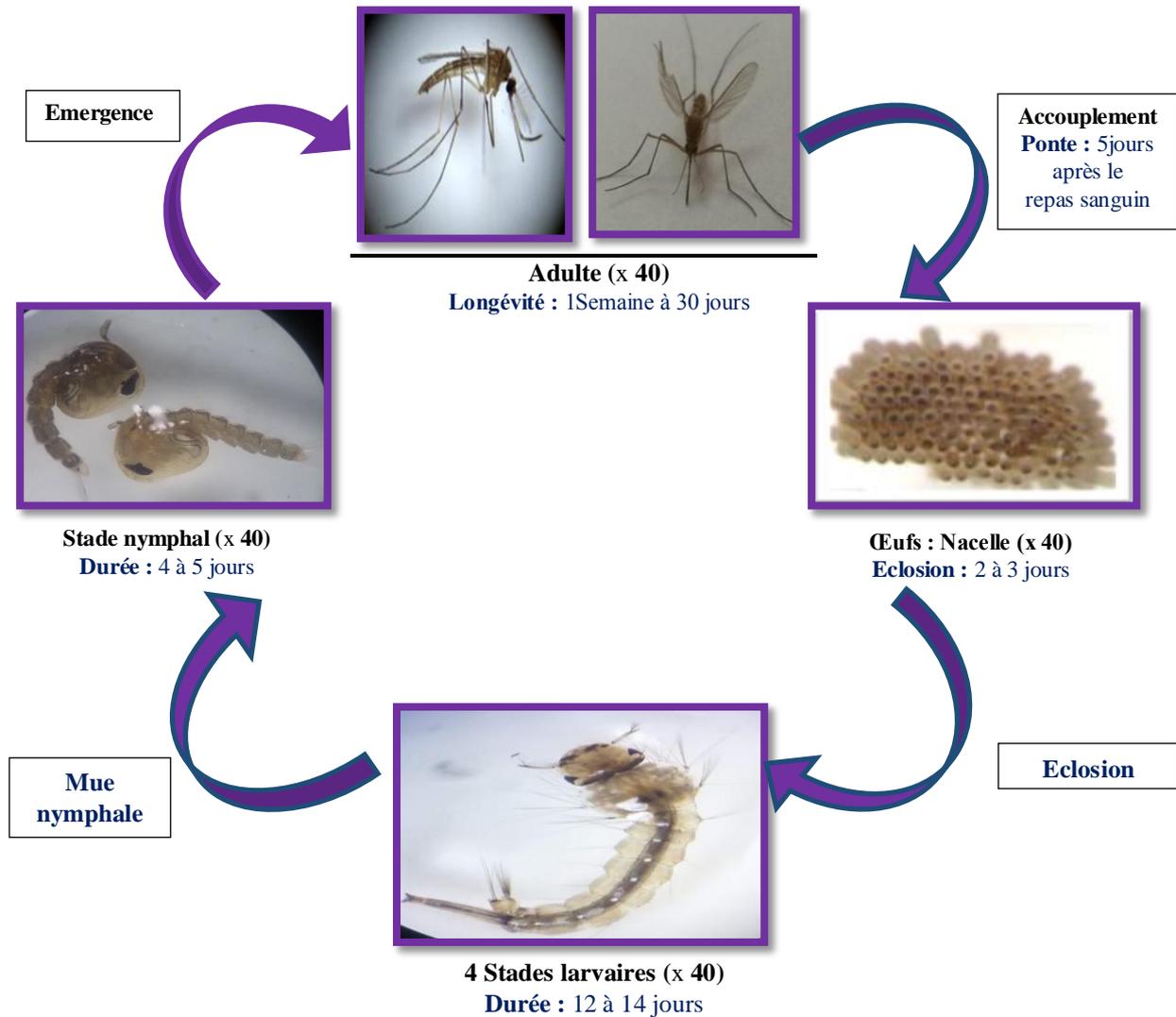
**2.2.1.1. Œuf :** les femelles pondent les œufs sur la surface de différents gîtes (bassins, puits abandonnés, trous des rochers, mers, étangs, canaux, citernes, eau de pluie ...), dont l'état de l'eau est toujours stagnant et riche en matières organiques. Ces gîtes sont permanents ou temporaires, ombragés ou ensoleillés, remplis d'eau douce ou saumâtre, propre ou polluée (Paul, 2009). Les œufs sont fusiformes, ils ont une taille de 0,5 à 1 mm. Au moment de la ponte, ils sont blanchâtres et prennent rapidement, par oxydation de certains composants chimiques de la coque; une couleur noire (Peterson, 1980).

**2.2.1.2. Larve :** Le développement des larves à ce stade est exclusivement aquatique, leur déplacement est assuré par des mouvements frétilants caractéristiques, et leur évolution comporte quatre stades, de taille variant de 2 mm à 12 mm (Boulkenafet, 2006). Les larves sont clairement constituées de trois parties: une tête très dure (chitinisée), pourvue d'une paire d'antennes, un thorax plus large que la tête et un abdomen pourvu au niveau du huitième segment d'un siphon respiratoire (Harbach & Peyton, 2000). Les larves de moustique sont caractérisées par des soies courtes, un tégument lisse formé d'un certain nombre de strates et

une taille courte, elles vivent environ 10 jours. La rapidité du développement des larves dépend de la quantité de nourriture contenue dans l'eau du gîte car elles se nourrissent de microorganismes et de phytoplanctons (Peterson, 1980).

**2.2.1.3. Nymphes :** La nymphe ou pupa est en forme de virgule, mobile, présente un céphalothorax fortement renflé avec deux trompettes respiratoires. L'extrémité abdominale est aplatie porte deux nageoires sur le VIII<sup>ème</sup> segment (Boulkenafet, 2006). Au niveau du céphalothorax se distinguent les ébauches de divers organes : yeux, proboscis, pattes, ailes. La nymphe, également aquatique, éphémère (de 1 à 5 jours), ne se nourrit pas. Il s'agit d'un stade de transition au métabolisme extrêmement actif, au cours duquel l'insecte subit de profondes transformations morphologiques et physiologiques préparant le stade adulte (Peterson, 1980).

**2.2.1.4. Adultes (ou l'imago) :** La nymphe commence sa mutation en s'immobilisant à la surface de l'eau. Une déchirure ouvre sa face dorsale et l'adulte se dégage lentement. L'adulte qui vient d'émerger est plutôt mou; en général, avant de s'envoler, il reste à la surface jusqu'à ce que ses ailes et son corps sèchent et durcissent. Les mâles émergent souvent avant les femelles, car il leur faut davantage de temps pour développer leurs glandes sexuelles. L'adulte pourra enfin voler de ses propres ailes, et son corps est rigide grâce à la membrane chitineuse mince. Il est composé de trois parties la tête, le thorax et l'abdomen bien différencié (Boulkenafet, 2006).



**Figure 2.** Cycle de développement des moustiques (Photo personnelle, 2019)

### 2.3. Présentation de *Culex pipiens* (Linné, 1758)

*Culex pipiens* est le moustique le plus fréquent dans le monde (Faraj *et al.*, 2006). C'est un moustique ubiquiste capable de s'adapter à différents biotopes; il se développe aussi bien dans les milieux urbains que ruraux, dans les eaux polluées que propres (Resseguier, 2011). Dans plusieurs régions, il est actif pendant toute l'année et atteint son maximum de développement pendant les saisons chaudes (Faraj *et al.*, 2006). Ses préférences trophiques sont très variables car il est plutôt ornithophile, mais il s'attaque volontiers aux humains et aux mammifères lorsqu'ils cohabitent (Savage & Miller, 1995). *Cx. pipiens* est connu comme étant vecteur de plusieurs maladies notamment des arboviroses. On le considère comme l'un des principaux vecteurs du virus de l'encéphalite de Saint-Louis et du virus West Nile (Farajollahiet *al.*, 2011).

Cette espèce se caractérise chez la larve, par un Mentum qui contient 8 dents ou plus de part et d'autre de la dent médiane (Fig. 3), les écailles du 8<sup>ème</sup> segment sont toutes sans épine médiane (Fig. 4), l'antenne (Fig. 5) et la dent distale du peigne siphonale est formée de 3 à 5 denticules basaux (Fig. 6) (Brunheset *al.*, 1999).



**Figure 3.** Mentum de *Cx. pipiens* (Gr : X 40) (Photo personnelle, 2019).



**Figure 4.** Ecailles du 8<sup>ème</sup> segment abdominal de *Cx. pipiens* (Gr : X 40) (Photo personnelle, 2019).

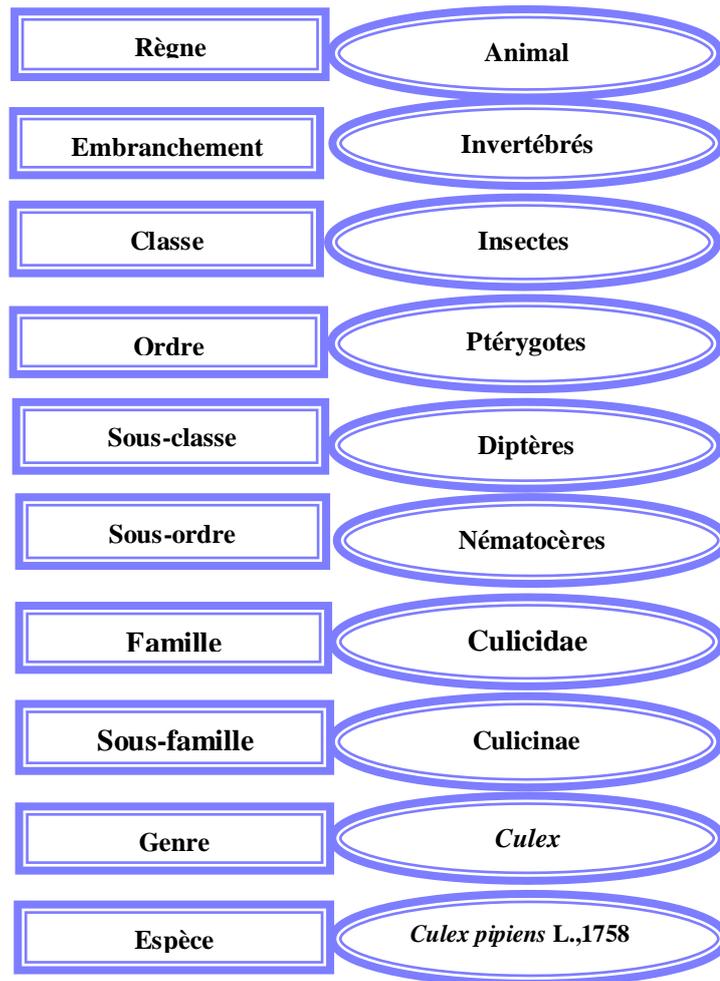


**Figure 5.** Antenne de *Cx. pipiens* (Gr : X 40) (Photo personnelle, 2019).



**Figure 6.** Dent distale du peigne siphonal de *Cx. pipiens* (Gr : X100) (Photo personnelle, 2009).

La position systématique de *Cx. pipiens* Linée, (1758) est la suivante :



#### 2.4. Technique d'élevage

Les œufs et les larves de moustiques sont récoltés dans des bassins et des fosses d'accumulation des eaux usées localisés dans plusieurs cités de la ville de Tébessa (Fig. 7). Les larves sont élevées au laboratoire dans des récipients en plastique contenant 150 ml d'eau déchlorurée et nourries avec du mélange biscuit (75%), levure (25%) (Rehimi & Soltani, 1999). L'eau est renouvelée chaque deux jours. Lorsque les larves atteignent le stade nymphal, elles sont placées dans des récipients et déposées dans des cages où elles se transformeront en adulte. Les critères pris en compte dans le choix des gîtes larvaires sont: la présence de larves de Culicidés dans un lot de gîte, l'accessibilité, la pérennité et le non traitement par les insecticides.



**Figure 7.** Sites de prélèvement et technique d'élevage des moustiques (Photos personnelles, 2019)

## 2.5. Présentation des plantes étudiées

### 2.5.1. *Thymus vulgaris* (Linné, 1753)

Le genre *Thymus* est l'un des 220 genres, le plus diversifié de la famille des Labiées, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen (Morales, 2002). En Algérie, les différentes espèces qui existent sont réparties le long du territoire national, du Nord Algérois à l'Atlas saharien, et du Constantinois à l'Oranais (Kabouche *et al.*, 2005a). Comme beaucoup de Labiées, *Thymus* est connu pour ses huiles essentielles aromatiques et l'espèce la plus connue est sans doute, *Thymus vulgaris* L., localement connu sous le nom de Zaïtra.

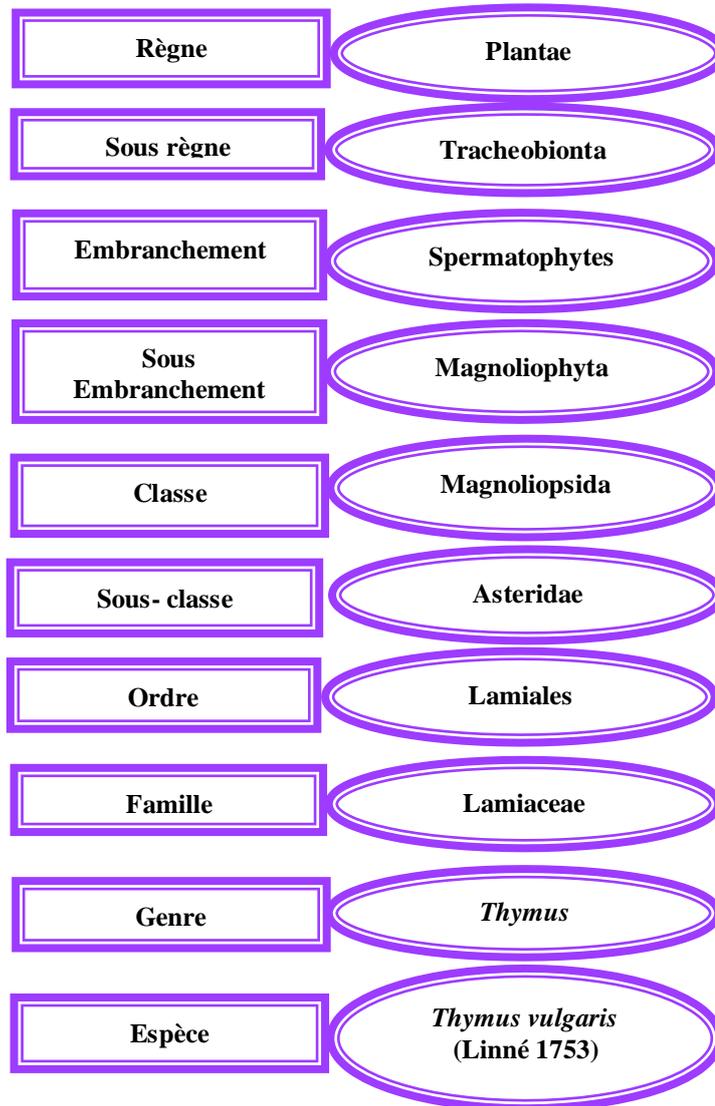
Le nom *Thymus* dérive du mot grec « Thymos » qui signifie (parfumer) à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Pariente, 2001). *T. vulgaris* se présente toujours dans un état sauvage en plaines et collines, comme la lavande, le romarin, la sauge et beaucoup d'autres

plantes sauvages (Kaloustian *et al.*, 2003). Cette plante spontanée pousse abondamment dans les lieux arides, caillouteux et ensoleillés des bords de la mer à la montagne (Poletti, 1988). *T. vulgaris* est très répandu en Algérie (Richard, 1992). C'est une espèce herbacée de 10-30 cm, d'un vert blanchâtre ou grisâtre, très aromatique; tiges ligneuses, dressées ou ascendantes, non radicantes, tortueuses, formant un petit buisson très serré; rameaux tomenteux-blanchâtres tout autour; feuilles petites, lancéolées-rhomboidales ou linéaires, obtuses, enroulées par les bords, non ciliées à la base, couvertes en dessous d'un tomentum dense et court; fleurs rosées ou blanchâtres, en têtes globuleuses ou en épis à verticilles inférieurs écartés; calice velu, à tube un peu bossu en avant à la base (Stahl-Biskup & Sáez, 2002).

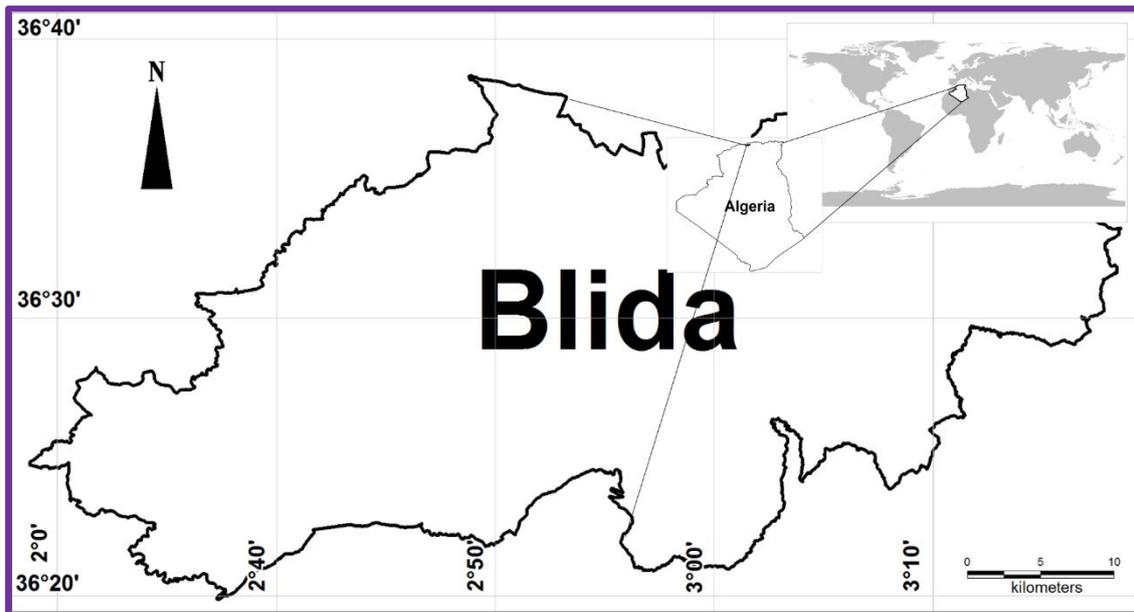


**Figure 8.** *Thymus vulgaris* (Photos personnelles, 2019).

La classification botanique de *Thymus vulgaris* L., 1753 est la suivante :



La plante utilisée est originaire de la région de Blida qui est située à environ 26 km au Sud-Ouest d'Alger sur une vaste plaine du sahel Algérois en légère déclivité et qui débouche sur des plages de sable fin (Fig. 9).



**Figure 9.**Présentation de la région de Blida(MapInfo-Pro, 2019)

### 2.5.2. *Origanum vulgare* (Linné, 1753)

Le genre *Origanum*, appartenant à la famille des Lamiacées, riche en huiles essentielles et substances amères (Baytop, 1999), il comporte 38 espèces qui sont largement répandues dans la région Euro-sibériennes et Irano-sibérienne (Kokkini, 1996). Cependant, la plupart des espèces, environ 75%, sont concentrées dans le pourtour méditerranéen, en particulier dans les régions de l'Est (Ietswaart, 1980).

Le Zaatar ayant le nom scientifique *Origanum vulgare*, est très répandu en Algérie (Ruberto *et al.*, 2002). C'est une espèce herbacée vivace et elle pousse de façon naturelle sur des terrains rocaillieux secs, plutôt calcaires, entre des altitudes allant de 200 à 1000 m. Elle se développe entre les arbres et les arbustes atteignant une taille allant jusqu'à 80 cm, les tiges rouges à section carrée sont velues avec des feuilles arrondies, vertes, légèrement dentées, les fleurs sont roses ou violets et sont regroupées en petits panicules (Figueredo *et al.*, 2006). Cette espèce contient six sous-espèces; *O. vulgare* L. subsp. glandulosum, *O. vulgare* L. subsp. hirtum, *O. vulgare* L. subsp. gracile, *O. vulgare* L. subsp. virens, *O. vulgare* L. subsp. vulgare L. et *O. vulgare* L. subsp. viride (Ietswaart, 1980).

Toutes les espèces d'Origan renferment en quantité variable une huile essentielle fortement aromatique (Garland, 1980), les composants principaux des huiles essentielles d'*O. vulgare* sont les composés phénoliques : Carvacrol et Thymol (Ruberto *et al.*, 2002).



**Figure 10.** *Origanum vulgare* (Photospersonnelles, 2019).

La classification botanique de *Origanum vulgare* L., 1753 est la suivante :

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophytes
Sous Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous- classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanum vulgare</i> (Linné 1753)

La plante utilisée provient de la région de Sétif qui est située à 300 km à l'est d'[Alger](#), à 65 km de [Bordj Bou Arreridj](#) et à 123 km de [Constantine](#). Elle est située à 1100 m d'altitude dans les plateaux du sud de la région (Fig. 11).



**Figure 11.** Présentation de la région de Sétif (MapInfo-Pro, 2019)

## 2.6. Présentation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des extraits volatils obtenus à partir de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau (Kalemba & Kunieka, 2003 ; Burt, 2004). Ce sont des composés liquides qui se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. Au point de vue chimique, il s'agit de mélanges extrêmement complexes. Environ 1% des espèces élaborent des essences. Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles renferment et en particulier les *Labiées* (Thym, Menthe, Lavande, Origan, Sauge, etc...), les *Ombellifères* (Anis, Fenouil, Angélique, Cumin, Coriandre, Persil, etc.), les *Myrtacées* (Myrthe, Eucalyptus), les *Lauracées* (Camphrier, Laurier-sauce, Cannelle) (Werker, 1993). Les huiles essentielles peuvent être localisées dans tous les organes végétaux: les feuilles (*Torilis arvensis*) (Saad *et al.*, 1995), les racines (*Heracleum persicum*) (Mojab & Nickavar, 2003), le bois (*Santalum album*) (Howes *et al.*, 2004), les rhizomes (*Zingiber officinale*) (Geiger, 2005), les écorces (*Cinnamomum verum*) (Jham *et al.*, 2005), les fruits (*Daucus carota*) (Glisic *et al.*, 2007b), les graines

(*Daucus carota*) (Özcan & Chalchat, 2007) ou les fleurs(*Ferulago angulata*) (Akhlaghi, 2008).

Elles sont constituées de plusieurs dizaines, voire plusieurs centaines de composés, esters, cétones, phénols mais principalement terpéniques (Kurkin, 2003). Elles ne sont que très peu solubles ou pas dans l'eau. Par contre, elles sont solubles dans les solvants des lipides (acétone, sulfure de carbone, chloroforme, etc.) et dans l'alcool(Werker *et al.*, 1993).

### 2.6.1. Composition chimique

La composition chimique de nombreuses huiles essentielles a été décrite dans plusieurs études. Elle varie en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte (Delaquis *et al.*, 2002 ; Gonny *et al.*, 2004 ; Burt, 2004 ; Boti *et al.*, 2006, Oussou, 2009). Les méthodes d'analyses des huiles essentielles ont beaucoup évolué et il est maintenant possible d'isoler et d'identifier des composés auparavant inconnus ; ceci permet le développement de nouveaux mélanges pouvant avoir un effet additif ou synergique (Marriott *et al.*, 2000 ; 2001). Dans le domaine des huiles essentielles la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) est aujourd'hui, la technique de référence pour la séparation et la caractérisation des différents composés(Salzer, 1977 ; Longevialle, 1981 ; Constantin, 1996).

Les huiles essentielles contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes, appartiennent à deux groupes : terpènes et terpénoïdes (isopréniques, monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes et triterpènes) (Clarke, 2008 ; Baser & Buchbauer, 2010) d'une part, et le groupe de composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part. Elles peuvent également contenir des hydrocarbures (terpènes et sesquiterpènes) et des composés oxygénés (alcools, esters, éthers, aldéhydes, cétones, phénols et éthers de phénol)(Bruneton, 2009).

#### 2.6.1.1. Terpènes

Les composés de type terpénique sont largement rencontrés dans les HEs, ils sont formés d'un multiple pair ou impair d'unités de 2-méthylbuta-1,3-diène ou appelé encore isoprène (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>). On distingue ainsi selon le nombre d'entités isoprènes le groupe des monoterpènes (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>), les sesquiterpènes (C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>), les diterpènes (C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>), les tétraterpènes de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes et les polyterpènes (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub> ou n peut-être de 9 à 30

(Hernandez-Ochoa, 2005). Aussi, parce que les terpènes proviennent de l'isoprène, ils sont également nommés isoprénoïdes ou terpénoïdes.

#### a. Monoterpènes

Les monoterpènes sont les molécules les plus représentatives, constituant 90% des HEs et permettent une grande variété de structure, ils sont formés par le couplage de deux unités isopréniques ( $C_{10}H_{16}$ ). Ces composés peuvent être: monoterpènes acycliques (myrcène, ocimène), monoterpènes monocycliques ( $\alpha$ - et  $\gamma$ -terpinène, *p*-cymène) ou monoterpènes bicycliques (pinènes, camphène, sabinène)(de Padua *et al.*, 1999 ; El Haib, 2011).

#### b. Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont formés par l'assemblage de trois unités isopréniques ( $C_{15}H_{24}$ ), l'extension de la chaîne augmente le nombre de cyclisation qui permet une grande variété de structures : acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques (El Haib, 2011). Les plantes contenant ces composants sont: Angélique, Bergamote, Cumin des prés, Céleri, Citronnelle, Coriandre, Eucalyptus, Géranium, Genièvre, Lavande, Citron, Mandarine, Menthe, Pastille de menthe, Petit grain, Pin, Romarin et Thym (Bakkali *et al.*, 2008). Ils contiennent plus de 3000 molécules comme par exemple :  $\beta$ -caryophyllène,  $\alpha$ -humulène,  $\alpha$ -bisabolol, farnesol (Brunton, 1999; Hernandez-Ochoa, 2005).

#### 2.6.1.2. Composés aromatiques dérivés de phénylpropane

Les composés aromatiques sont des dérivés de phénylpropane ( $C_6-C_3$ ) et leur production est moins fréquente que les terpènes. Généralement, il s'agit d'allyle de propénylphénols et parfois des aldéhydes caractéristiques de certaines huiles essentielles, telle celle de girofle (Eugénol) (Ghestem *et al.*, 2001). On peut également rencontrer dans les HEs des composés en  $C_6-C_1$ , plus rares, comme le safrole, la vanilline (assez fréquente) et l'antranilate de méthyle (Belaiche, 1979; Bruneton, 1999). Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles de la cannelle, du basilic, de l'estragon, etc (Bruneton, 1993).

#### 2.6.2. Méthodes d'extraction

Les huiles essentielles sont obtenues par divers procédés (Burt, 2004). De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute

pression (Santoyo *et al.*, 2005) ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (Kimbaris *et al.*, 2006). Les procédés d'extraction les plus courants sont :

**2.6.2.1. Hydrodistillation :** Le matériel végétal est mélangé dans un ballon avec de l'eau et porté à ébullition. La vapeur d'eau chargée de substances volatiles s'échappe et se condense à l'intérieur d'un réfrigérant. L'huile est recueillie avec l'eau dans un bécher avant d'être isolée et séchée avec le sodium anhydre. L'hydrodistillation reste la technique d'extraction la plus utilisée et la plus rapide pour l'obtention des meilleurs rendements, sans altération des huiles essentielles fragiles.

**2.6.2.2. Entraînement à la vapeur :** Sur un ballon contenant de l'eau mise en chauffage, on monte un alambic dans lequel on place la biomasse pesée. La vapeur d'eau traverse le matériel végétal entraînant les produits volatils vers la colonne de condensation. La vapeur condensée est le mélange d'eau et de l'huile essentielle. Celle-ci est recueillie dans une burette contenant de l'eau distillée. L'huile est séparée de l'eau par décantation. Ce procédé a l'avantage d'améliorer la qualité de l'extrait en minimisant les altérations.

**2.6.2.3. Percolation :** Dans cette technique, la vapeur d'eau générée est envoyée de haut en bas dans l'extracteur. Elle présente l'avantage d'être très rapide mais le distillat est chargé de substances non volatiles donnant ainsi des "essences de percolation".

**2.6.2.4. Enfleurage** est appliqué aux fleurs. Celles-ci sont mises en contact avec de la graisse absorbante qui se sature en essences au bout de quelques jours. La graisse enrichie en essences peut être utilisée en cosmétique. Les essences contenues dans la graisse sont également extraites avec de l'alcool. L'extrait alcoolique avec les essences de fleurs est ensuite concentré par évaporation.

**2.6.2.5. Extraction par micro-onde :** Elle utilise une source de rayonnement micro-onde. Le matériel végétal est immergé dans un solvant perméable aux micro-ondes. Celles-ci provoquent un réchauffement de l'eau contenue dans le matériel végétal et par distension fait éclater les poches à essences. Les produits libérés sont dissous dans le solvant. Ce procédé est plus rapide que les systèmes classiques d'extraction et les huiles obtenues sont de bonne qualité.

### 2.6.3. Activités biologiques des huiles essentielles

L'activité biologique d'une huile essentielle dépend de sa composition chimique, des groupes fonctionnels des composés majoritaires et de leurs effets synergiques (Dorman & Deans, 2000; Ultee *et al.*, 2002). Les composés chimiques de plus grande efficacité sont les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools ( $\alpha$ -terpinéol, terpinène-4-ol et linalool), les aldéhydes, les cétones et plus rarement les terpènes (Cosentino *et al.*, 1999; Dorman & Deans, 2000). En effet, les alcools agissent généralement en dénaturant les protéines, comme solvants ou comme agents de déshydratation. Les aldéhydes peuvent induire des réactions de transferts d'électrons et réagir avec des composés nitrés vitaux pour la bactérie tels que protéines et acides nucléiques (Dorman & Deans, 2000).

#### 2.6.3.1. Activité antibactérienne

Les mécanismes par lesquels les HEs exercent leur activité antibactérienne sont mal connus. Du fait de la complexité de leur composition chimique, il est difficile de donner une idée précise sur le mode d'action des HEs. Il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Dorman & Deans, 2000).

Les terpènes ainsi que les flavonoïdes agissent sur les cellules bactériennes en induisant une rupture de la paroi et de la membrane microbienne et par conséquent la libération du contenu cellulaire à l'extérieur en provoquant la mort cellulaire (Tsuchiya *et al.*, 1996). Les HEs peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides (Johansen *et al.*, 1997). Certains auteurs suggèrent que ces produits naturels pénètrent à l'intérieur de la cellule microbienne et sont susceptibles d'interférer avec son métabolisme cellulaire (Marino *et al.*, 2001).

Plusieurs études ont expliqué que l'effet synergique entre deux ou plusieurs constituants chimiques pourraient avoir un rôle principal dans l'activité biologique des HEs (Elshafie & Camele, 2016), ce qui permet la réduction de développement de la résistance de tout microorganisme pathogène. Par conséquent, certains composants tels que le carvacrol, terpinène et p-cymène sont plus efficaces quand ils sont combinés (Adebayo *et al.*, 2012). Cette action synergique est due au p-cymène qui joue le rôle de médiateur pour le transport du carvacrol, à travers les composants de la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique.

### 2.6.3.2. Activité antifongique

L'activité antifongique est estimée à la grande complexité de la composition des HEs, les phénols sont plus antifongiques que les aldéhydes et elle décroît selon le type de la fonction chimique (Rasooli & Abyaneh, 2004; Teixeira Duarte *et al.*, 2005). En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des cellules (Giordani & Kaloustian, 2006). Ils ont constaté également que les alcools et les lactones sesquiterpéniques avaient une activité antifongique. D'autre part, Viollon & Chaumont (1994) ont décrit l'effet antifongique du thymol et du carvacrol sur *Cryptococcus neoformans*, champignon opportuniste rencontré au cours du SIDA. De plus, Arras & Usai (2001) ont rapporté la même activité du carvacrol, composé majoritaire de *Thymus capitatus* sur le champignon *Penicillium digitatum*. Cependant, l'effet des composés quantitativement minoritaires n'est pas forcément négligeable (Tantaoui-Elaraki *et al.*, 1993).

### 2.6.3.3. Activité anti-oxydante

Le stress oxydatif, qui survient lors de déséquilibre entre la production des radicaux libres et d'enzymes anti-oxydantes, est en relation avec l'apparition des maladies telle que l'alzheimer (Butterfield & Lauderback, 2002). Les HEs de cannelle, muscade, clou de girofle, basilic, persil, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants (Edris, 2007). Le thymol et le carvacrol sont encore une fois les composés les plus actifs. Leur activité est en relation avec leur structure phénolique car les composés de ce type ont des propriétés oxydo-réductrices et jouent ainsi un rôle important en neutralisant les radicaux libres et en décomposant les peroxydes (Braga *et al.*, 2006). L'activité anti-oxydante des huiles essentielles est également attribuable à certains alcools, éthers, cétones, aldéhydes monoterpéniques (tinalool, 1,8-cinéol, géraniol/nérol, citronellal, isomenthone, menthone) et quelques monoterpènes:  $\alpha$ -terpinène,  $\gamma$ -terpinène et  $\alpha$ -terpinolène (Edris, 2007). La tendance des HEs à inhiber l'oxydation d'acide linoléique est due principalement à la présence ou l'absence des composés phénoliques et ce résultat a été approuvé par plusieurs travaux (Mighri *et al.*, 2010; Aidi Wannas *et al.*, 2010).

### 2.6.3.4. Activité insecticide

Les huiles essentielles de plantes ont démontré un potentiel insecticide contre plusieurs espèces d'insectes. Elles sont des mélanges complexes de différentes molécules. Leurs effets

biologiques pourraient résulter soit d'une synergie de toutes les molécules, soit refléter uniquement celles de la molécule principale (Zoubiri & Baalionamer, 2011). C'est ainsi des recherches récentes ont porté sur les extraits aqueux et les huiles essentielles des plantes, comme sources possibles de composés ovicides, larvicides, adulticides et répulsifs des arthropodes (Govindarajan *et al.*, 2011; Pavela *et al.*, 2014; Dinesh *et al.*, 2015; Madhiyazhagan *et al.*, 2015; Murugan *et al.*, 2015a, b, c; Pavela, 2015a; Suresh *et al.*, 2015; Benelli *et al.*, 2016b; Jaganathan *et al.*, 2016). L'activité insecticide des huiles essentielles sur les larves de moustiques a suscité un vif intérêt dans la littérature scientifique (Shaalan *et al.*, 2005; do Nascimento *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2015; Pavela, 2015a; Dris *et al.*, 2017a, b; Guenez *et al.*, 2018).

## 2.7. Extraction des huiles essentielles

Le matériel végétal destiné à l'hydrodistillation pour l'obtention des huiles essentielles a été prélevé entre mars et mai 2016. Les plantes fraîchement collectées, ont été séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré. L'extraction des huiles essentielles a été réalisée au niveau du laboratoire de physiologie animale (Université de Tébessa). Une biomasse de 50g de matériel végétal et 500 ml d'eau distillée est soumise à une hydrodistillation en utilisant un montage d'hydrodistillation Clevenger durant 3 heures (Fig.12). L'huile essentielle recueillie par décantation à la fin de la distillation, est ensuite conservée à 4°C dans des petits flacons bien fermés, en verre ombré.

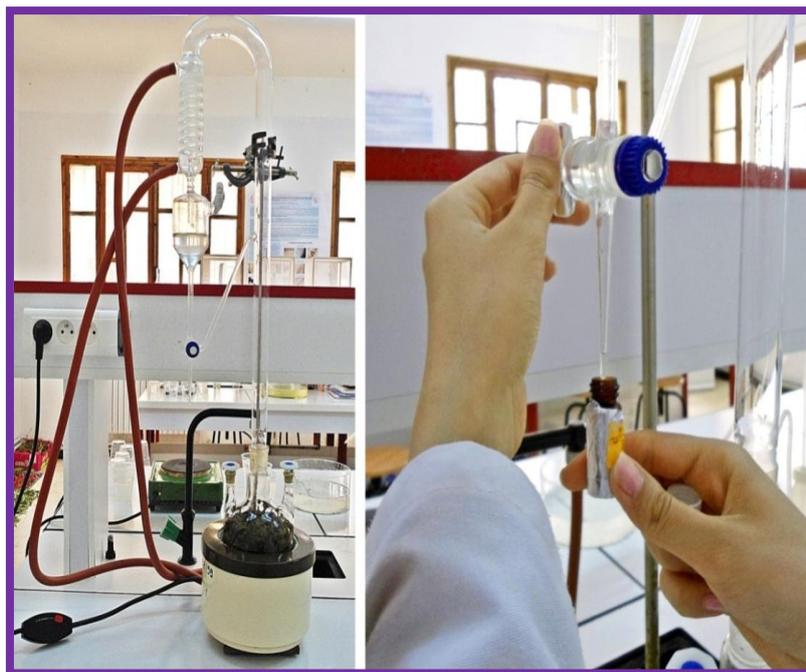
Le rendement en huile essentielle est calculé en fonction du rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante selon la formule suivante :

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

**R**: Rendement en huile (%).

**P<sub>A</sub>** : Poids de la matière sèche de la plante en g.

**P<sub>B</sub>** : Poids de l'huile en g.



**Figure 12.** Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger (photo personnelle, 2019).

## 2.8. Analyse chimique des huiles essentielles

L'analyse chimique des HEs a été réalisée par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). Cette technique a été faite au centre de recherche scientifique et technique en analyses physicochimique (CRAPC) à Bou Smail (Tipaza, Algérie) (Fig. 13 et 14).

L'analyse (CPG-SM) a été effectuée avec un chromatographe HP Agilent 2890 plus (CPG) équipé d'une colonne HP-5MS (longueur de 30 m x diamètre interne de 0,25 mm et épaisseur de film 0,25 mm). La température du four à colonne a été réglée à 60°C pendant 8 minutes, puis augmentée à 250°C à une vitesse de 2°C/ min. Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été maintenues respectivement à 250 et 270°C. Le gaz porteur était de l'hélium, l'écoulement à travers la colonne était de 1 ml /min et le rapport de division a été réglé à 50:1 avec injection de 0,2µl d'échantillon d'huile (Tableau1). L'analyse CPG-Spectrométrie de masse (SM) a été effectuée avec un spectromètre de masse "Quadrupolaire" qui fonctionnait à 70V. L'identification des constituants est basée sur la comparaison des temps de rétention avec ceux des normes de référence correspondantes et en utilisant la bibliothèque NISTE02 et WILEY7n (Jennings & Shibamoto, 1980) et ainsi par la comparaison de leurs indices de rétention (IR) calculés par rapport à une série d'alcane (C8-C28) avec interpolation linéaire

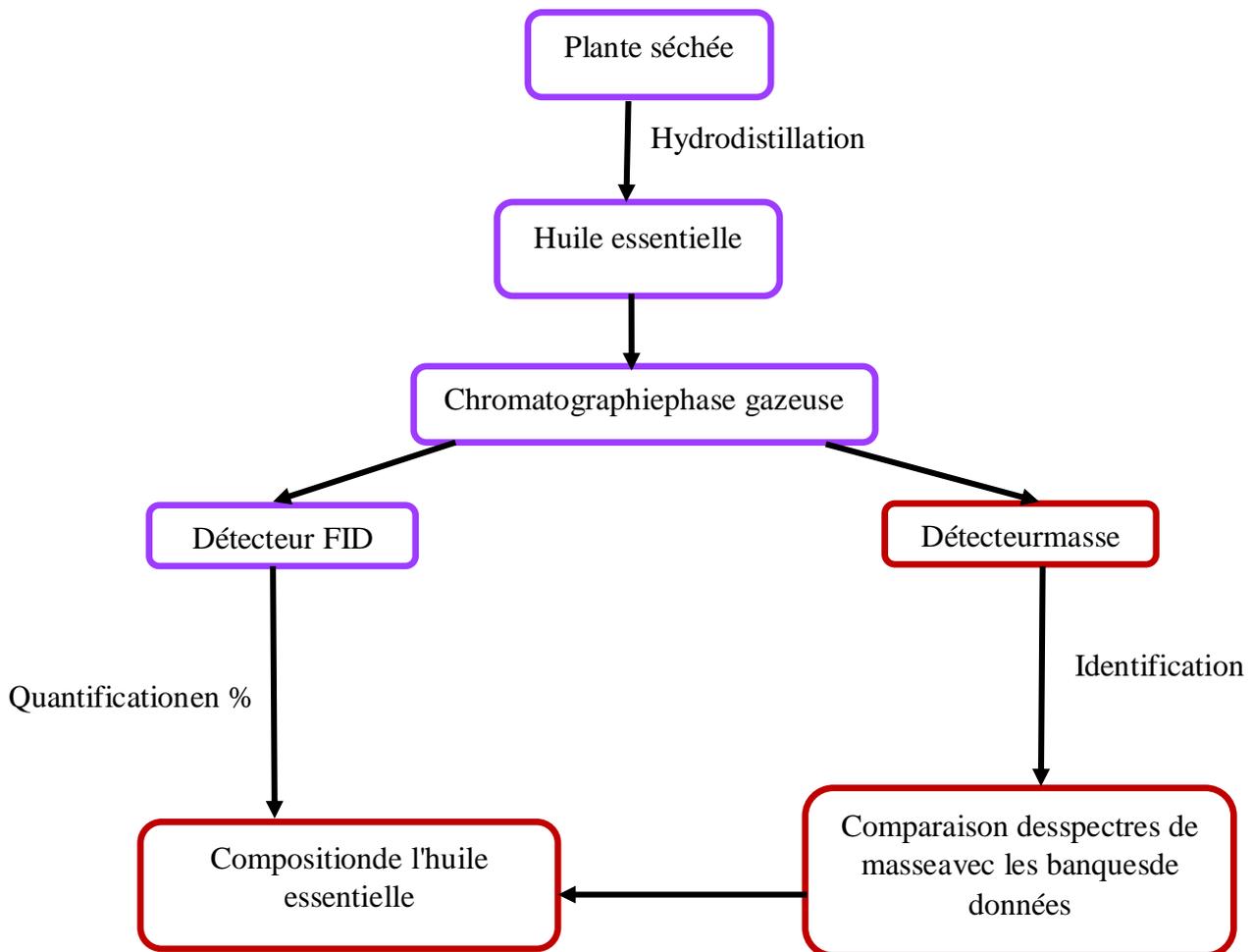
sur les deux colonnes, avec ceux des composés de référence contenus dans la table de ADAMS(Adams, 2007). Le pourcentage des composés a été calculé en fonction de la surface des pics chromatographiques.

**Tableau 1.** Les conditions d'analyse par CPG-SM.

Type de colonne	HP-5MS (5% Phényl 95% diméthylpolysiloxane) 30m*0,25mm* 0,25µm
Volume d'injection	0,2µl
Température d'injection	250°C
Température d'interface	270°C
Mode d'injection	Split
Gaz vecteur	Hélium



**Figure 13.** Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (a :prélèvement de l'HE ; b : préparation de l'injection ; c : injection de l'HE) (photo personnelle, 2019).



**Figure 14.** Protocole de l'analyse chimique d'une huile essentielle.

## 2.9. Traitement et essai toxicologique

Un essai toxicologique a été mené chez *Cx. pipiens*, afin de mettre en évidence l'efficacité des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et d'*Origanum vulgare* et de définir les concentrations sous létales et létales (CL<sub>10</sub>, CL<sub>25</sub>, CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub>). Après un Screening test, l'essai est conduit en utilisant différentes concentrations à partir des solutions mères : 25, 50, 100, 150 et 200 ppm pour *T. vulgaris* et 6,25 ; 12,5 ; 25 et 50 ppm pour l'*O. vulgare* dans des récipients contenant 150 ml d'eau (Fig. 15). Cinq répétitions ont été réalisées pour chaque concentration, comportant chacune 20 larves du quatrième stade nouvellement exuviées.

Par ailleurs, une série témoin négatif (les individus ne subissent aucun traitement) et une série témoin positif (les larves reçoivent 1 ml d'éthanol) est conduite en parallèle. Après 24 h de traitement, selon les recommandations de l'organisation mondiale de

la santé (WHO, 2005), les larves sont rincées puis placées dans de nouveaux récipients contenant de l'eau propre et de la nourriture. Le suivi de mortalité des individus témoins et traités a été effectué au cours de différentes périodes : 24, 48 et 72h après traitement. Les mortalités observées sont corrigées par la formule d'Abbott, (1925), qui permet d'éliminer la mortalité naturelle et de connaître la toxicité réelle du biopesticide. La détermination des concentrations sous-létales et létales a été faite grâce à un logiciel Graph Pad Prism 6.

Une fois les concentrations sous létales et létales sont déterminées, la  $CL_{25}$  et la  $CL_{50}$  ont été appliquées sur les larves 4 nouvellement exuviées de *Cx. pipiens* pour tester leurs impacts sur certains paramètres.



**Figure 15.** Essais toxicologiques (Photos personnelles, 2019).

## 2.10. Dosages des biomarqueurs

L'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) et des glutathion S-transférases (GSTs) et le taux du glutathion (GSH) ont été déterminés chez les larves du quatrième stade de *Cx. pipiens* témoins et traitées à la  $CL_{25}$  et la  $CL_{50}$  avec les deux plantes, *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* à différentes périodes après traitement : 24, 48 et 72 heures. Par ailleurs, les protéines totales des différents échantillons ont été dosées selon la méthode de Bradford, afin de pouvoir calculer l'activité spécifique des enzymes et le taux du glutathion.

### 2.10.1. Dosage de l'acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase une enzyme clés du système nerveux des insectes, catalyse la réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine en choline et acide éthanoïque (acétique). Cette enzyme est indispensable au bon fonctionnement des synapses cholinergiques (Haubruge & Amichot, 1998).

Les larves du quatrième stade de *Cx. pipienstémoins* et traitées (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) sont pesées, ensuite homogénéisées dans 1ml de la solution détergente D [38,03 mg EGTA (acide éthylène glycol-bis, β-aminoéthyl éther NNN'N' tétra-acétique), 1ml Triton X 100%, 5,845 g NaCl (chlorure de sodium), 80 ml tampon tris (10mM, pH 7)] qui solubilise les membranes. 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 selon la méthode d'Ellman *et al.* (1961) sur une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 100 µl de DTNB préparé extemporanément [39,6 mg DTNB, 15 mg CO<sub>3</sub>HNa (bicarbonate de sodium), 1 ml tampon tris (0,1 M, pH 7)] et 1 ml de tampon tris (0,1 M, pH 7). Après 3 à 5 minutes, 100 µl de substrat acétylthiocholine 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 µl de la solution détergente remplace les 100 µl 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 (µM/min/mg de protéines).

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

**1,36 x 10<sup>4</sup>** : coefficient d'extinction molaire du DTNB (M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>).

**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

Les glutathion S-transférases (GST) sont un groupe de protéines multifonctionnelles jouant plusieurs rôles dans la détoxification des xénobiotiques. Elles sont des enzymes principalement cytosoliques qui catalysent la conjugaison des molécules électrophiles avec le glutathion réduit (GSH) (Habig *et al.*, 1974). Ces substances potentiellement toxiques deviennent plus solubles dans l'eau et moins toxiques (Grant & Matsumura, 1989). Les

GSTs jouent un rôle important dans la résistance aux insecticides et interviennent dans le métabolisme des organophosphorés et des organochlorés (Zibae *et al.*, 2009b).

Les larves du quatrième stade de *Cx. pipiens* témoins et traitées à la CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub>, sont prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures), pesées puis broyées dans 1 ml de tampon phosphate de sodium (0,1 M, pH 6). L'homogénat ainsi obtenu est centrifugé (14000 trs/min à 4°C pendant 30 min), le surnageant récupéré servira au dosage de l'activité des GSTs. La détermination de l'activité des glutathion S-transférases (GSTs) est réalisée selon la méthode de Habig *et al.* (1974). Cette méthode 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) qui est mesurée à une longueur d'onde de 340 nm dans un spectrophotomètre visible/UV. Le dosage consiste à faire réagir 200 µl du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1mM)/GSH (5mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0,1 M, pH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée toutes les minutes pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus avec une série témoin.

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 (mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>).

**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

Le glutathion (GSH) est un composé thiol constitué d'une succession de trois acides aminés : l'acide glutamique, la cystéine et la glycine. Il joue un rôle antioxydant. Dans les conditions normales, le glutathion se trouve, soit sous forme réduite et libre (GSH) soit sous forme oxydée (GSSG) ou bien lié à des protéines (GSS-prot) ou à des résidus appropriés comme le coenzyme A. La fonction thiol lui confère ses principales propriétés

biochimiques. Le taux du glutathion (GSH) est quantifié selon la méthode de [Weckberker & Cory \(1988\)](#), dont le principe repose sur la mesure colorimétrique de l'acide 2-nitro 5-mercapturique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion mesuré à une longueur d'onde de 412 nm. Le dosage s'effectue après homogénéisation des échantillons dans 1 ml d'une solution d'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) à 0,02 M [7,448 g 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 % [0,25 g 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 1000 trs/mn pendant 5 mn. Une fraction aliquote de 500 µl de l'homogénat récupérée 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]. 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. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus avec une série témoin.

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

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

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

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

**13,1** : coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH) (mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>).

**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.

## 2.11. Extraction et dosage des métabolites

L'extraction des différents métabolites a été réalisée selon le procédé de [Shibkoet al. \(1966\)](#). Un pool de larves témoins et traitées à la CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub>, est placé après la pesée dans un tube eppendorf contenant 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20% et broyé à l'aide d'un homogénéiseur à ultrason. Après une première centrifugation (5000 trs / min à 4°C, 10 mn), 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 (0,1 N), servira au dosage des protéines selon [Bradford \(1976\)](#). L'essai est conduit avec 3 répétitions, chacune comprend 20 larves du quatrième stade. Les différentes étapes sont résumées dans la figure 16.

### 2.11.1. Dosage de 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 comassie (BBC) G250 (Merck) (On homogénéise 100 mg de BBC, dans 50 ml d'éthanol 95°, on y ajoute ensuite 100 ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 1000 ml avec de l'eau distillée). La durée de la conservation du réactif est de 2 à 3 semaines à 4 °C. Celui-ci révèle la présence des protéines par une coloration bleue. 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 (Sigma) (BSA) titrant 1 mg/ml (Tableau 2).

**Tableau 2.** Dosage des protéines totales chez les larves de moustiques: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution standard d'albumine (µl)	0	20	40	60	80	<b>100</b>
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	<b>0</b>
Réactif BBC (ml)	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

### 2.11.2. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon [Duchateau&Florkin \(1959\)](#). Cette méthode consiste à additionner 100 µl du surnageant contenu dans un tube à essai, 4 ml du réactif d'anthrone (peser 150 mg d'anthrone, ajouter 75 ml d'acide sulfurique concentré et 25 ml d'eau distillée) et de chauffer le mélange à 80°C pendant 10min, 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 3).

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

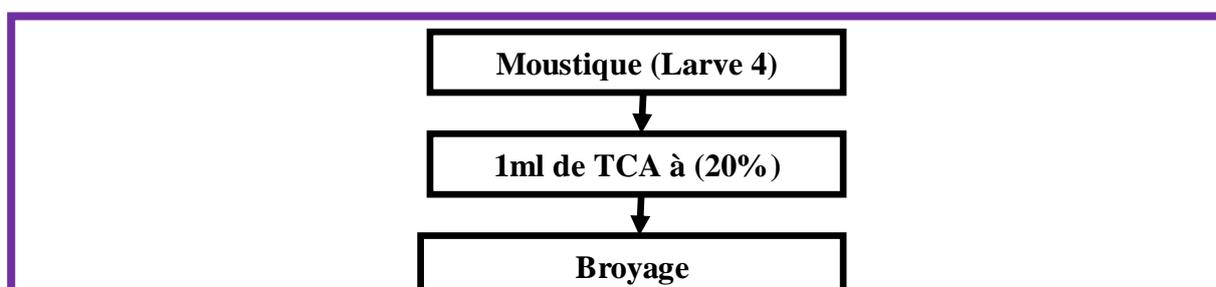
Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de glucose ( $\mu$ l)	0	20	40	60	80	<b>100</b>
Eau distillée ( $\mu$ l)	100	80	60	40	20	<b>0</b>
Réactif d'anthrone (ml)	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

### 2.11.3. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de *Goldsworthy et al. (1972)*, en utilisant le réactif sulfophosphovanillinique (dissoudre 0,38 g de vanilline dans 55 ml d'eau distillée et ajouter 195 ml d'acide orthophosphorique à 85%). Ce réactif se conserve pendant 3 semaines à 4°C et à l'obscurité. La solution mère de lipides est préparée comme suit : on prend 2,5 mg d'huile de table (tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf et on ajoute 1 ml d'éther chloroforme (1V/1V). Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100  $\mu$ l 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  $\mu$ l de ce mélange auquel on ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphovanillinique. Après 30 mn à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm (Tableau 4). Les lipides forment à chaud avec l'acide sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide orthophosphorique, des complexes roses.

**Tableau 4.** Dosage des lipides totaux chez les larves de moustiques: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides ( $\mu$ l)	0	20	40	60	80	<b>100</b>
Solvant (éther /chloroforme) (1V/1V)	100	80	60	40	20	<b>0</b>
Quantité de lipides ( $\mu$ g)	<b>0</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>150</b>	<b>200</b>	<b>250</b>



### **2.12. Détermination de l'indice d'épuisement des réserves nutritives**

Les valeurs du contenu en glucides, lipides et protéines ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) sont converties en joules (Clements, 1992) et l'indice d'épuisement des réserves nutritives est calculé selon la formule suivante :

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

**NDI (Nutrition Depletion Index):** Indice d'épuisements des réserves nutritives

**C :** réserves nutritives totales chez les témoins.

**T :** réserves nutritives totales chez les traités.

### 2.13. Extraction et dosage des acides nucléiques

L'extraction des acides nucléiques a été réalisée selon la méthode de [Shibkoet al., \(1966\)](#), les larves 4 sont déposées dans des tubes eppendorf contenant 500 µl d'eau distillée additionnés de 2 µl de phénylméthylsilfonylfluoride (PMSF) (45mg/1ml éthanol), puis stockées au congélateurs à -20°C jusqu'au jour du dosage (Fig. 17).

#### 2.13.1. Dosage de l'ADN

L'ADN a été quantifié selon la méthode de [Schneider \(1957\)](#) qui utilise le diphénylamine comme réactif (1g de diphénylamine ; 100 ml d'acide acétique glacial ; 2,75 ml d'acide sulfurique) et une solution mère de thymus de veau comme standard (Sigma) (1mg/ml) (Tableau 5).

**Tableau 5.** Dosage de l'ADN : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5
ADN standard (µl)	0	20	40	60	80
Eau distillée (µl)	500	480	460	440	420
Diphénylamine (ml)	1	1	1	1	1

Après chauffage au bain marie pendant 20 minutes à 90°C, il se développe alors une coloration rosâtre. Le dosage de l'ADN a été effectué sur des fractions aliquotes (100 µl) des extraits biologiques à laquelle est additionné 1ml de réactif de diphénylamine. Les absorbances sont lues dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 602 nm contre un blanc de gamme.

#### 2.13.2. Dosage de l'ARN

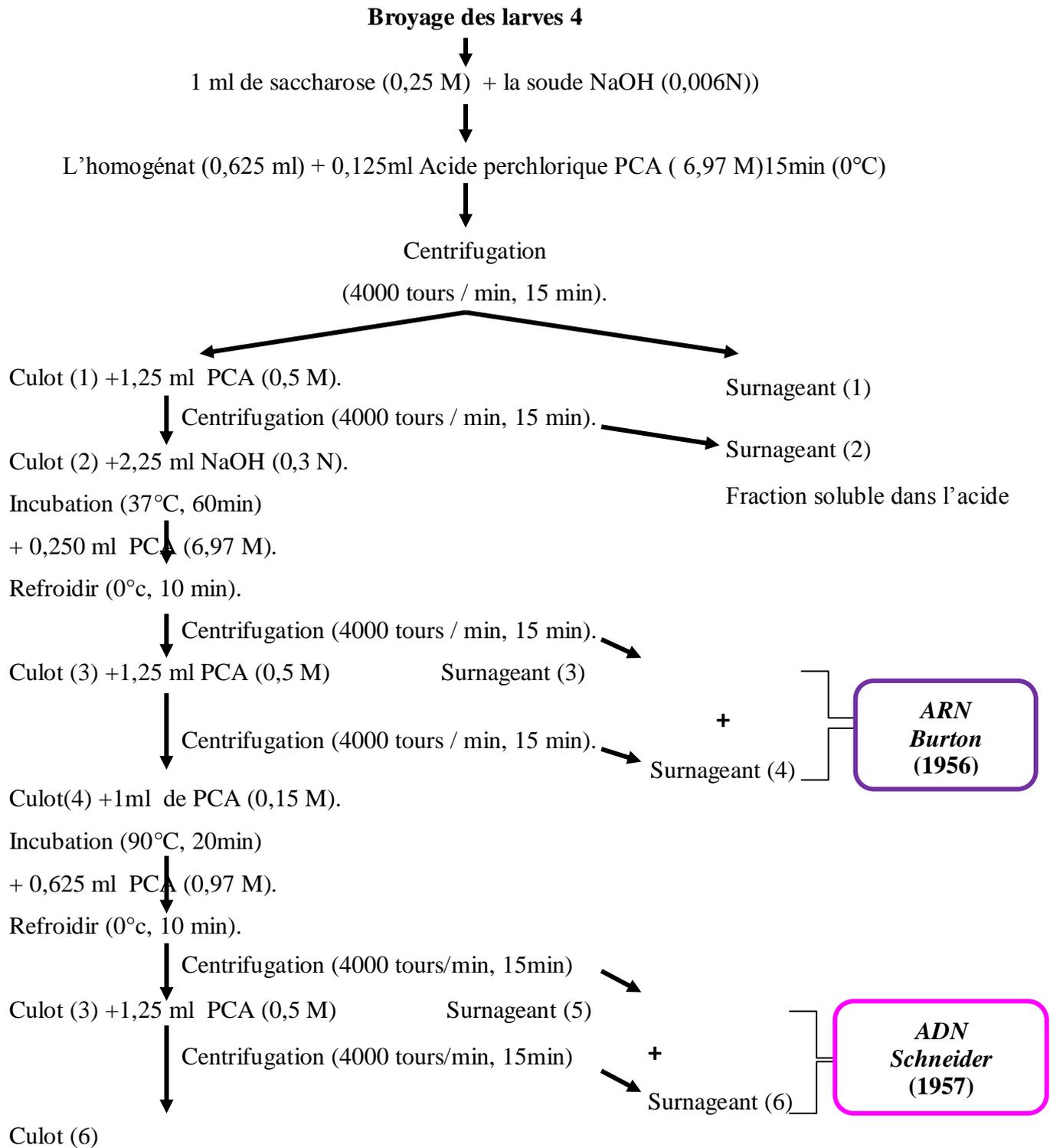
L'ARN a été quantifié selon la méthode de [Burton \(1956\)](#), qui utilise l'orcinol comme réactif (0,5g de FeCl<sub>3</sub>; 1g d'orcinol et 100 ml d'HCl 96%) et une solution mère (1 mg/ml) de levure de boulanger comme standard (Sigma) (Tableau 6).

**Tableau 6.** Dosage de l'ARN : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Les tubes après agitation, sont chauffés au bain marie à 90°C pendant 10 min. Il se forme une coloration bleue claire. Le dosage de l'ARN a été effectué sur des fractions aliquotes (100 µl) des extraits biologiques auxquels sont additionnés 1,5 ml de réactif d'orcinol. Les

Tubes	1	2	3	4	5
ARN standard (µl)	0	20	40	60	80
Eau distillée (ml)	1,5	1,48	1,46	1,44	1,42
Orcinol (ml)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5

absorbances sont lues dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 660 nm contre un blanc de gamme.



**Figure 17.** Extraction des acides nucléiques :ADN, ARNselon *Shibko et al.*(1966).

#### **2.14. Analyses statistiques**

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne  $\pm$  l'écart-type. Les quantités des métabolites (protéines, glucides et lipides) sont déterminées à partir des courbes d'étalonnage dont l'équation de la droite de régression exprime l'absorbance en fonction de la quantité du standard utilisé (albumine, glucose et l'huile de tournesol). Le test (*t*) de Student et l'analyse de la variance à un critère de classification, ont été appliqués. Le test HSD a permis de classer les moyennes en groupes selon leurs effets. Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le GraphPad Prism 6 et le logiciel MINITAB (version 17, USA).



# CHAPITRE I

## 1. Introduction

Les plantes représentent une source immense de molécules chimiques complexes exploitées par l'homme dans l'industrie agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. La plupart des végétaux renferment des huiles essentielles ; ils sont alors appelés « plantes aromatiques ». Ces huiles essentielles se trouvent dans de nombreuses parties de la plante : le bois, les feuilles, les fruits, les écorces, les graines et les racines (Özcan & Chalchat, 2007). Ce sont des mélanges complexes constitués de plusieurs dizaines, voire plus d'une centaine de composés, principalement des terpènes et des composés aromatiques (Saad *et al.*, 1995 ; Mojab & Nickavar, 2003 ; Howes *et al.*, 2004 ; Geiger, 2005 ; Jham *et al.*, 2005 ; Glisic *et al.*, 2007b ; Özcan & Chalchat, 2007 ; Akhlaghi, 2008).

L'Algérie, avec son climat très varié et sa situation géographique particulière bénéficie d'une flore très riche et diversifiée répartie sur tout le territoire algérien. En effet, le Nord algérien présente une large gamme d'espèces endémiques adaptées au climat de la zone et appartiennent aux différentes familles : Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, etc. (Quézel & Santa, 1962 ; 1963). Ces plantes endémiques constituent un important réservoir de substances actives ce qui peut conduire à la découverte de nouvelles molécules d'intérêts scientifiques (Zenasni, 2014).

L'utilisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) dans différents domaines est due à leurs propriétés thérapeutiques et organoleptiques (Paolini, 2005). Ainsi, ces plantes renferment un nombre très élevé de composés chimiques de propriétés physico-chimiques très variées et qui ont des activités biologiques différentes : antimicrobienne (Basli *et al.*, 2012 ; Rodrigues *et al.*, 2017) ; antifongique (Belhattab *et al.*, 2004), antioxydante (Kouri *et al.*, 2007 ; Mechergui *et al.*, 2010), et insecticide (Khalifi *et al.*, 2008).

Environ 2000 espèces de plantes ont été répertoriées pour produire des métabolites secondaires utilisés dans le programme de lutte biologique, seulement 344 espèces végétales ont montré une activité insecticide contre les moustiques (Sukumar *et al.*, 1991). C'est ainsi des recherches récentes ont porté sur les extraits aqueux et les huiles essentielles des plantes, comme sources de composés ovicides, larvicides, adulticides et répulsifs des arthropodes (Govindarajan *et al.*, 2011 ; Dinesh *et al.*, 2015 ; Madhiyazhagan *et al.*, 2015 ; Murugan *et al.*, 2015a, b, c ; Pavela, 2015b ; Suresh *et al.*, 2015 ; Benelli *et al.*, 2016b ; Jaganathan *et al.*, 2016).

Les huiles essentielles exercent des effets physiques (Isman, 1999) ou physiologiques (Regnault-Roger & Hamraoui, 1995), et sollicitent simultanément plusieurs voies par opposition à des pesticides chimiques n'ayant qu'une seule cible moléculaire (Thomas & Ralf, 2014), ce qui peut retarder le phénomène de résistance chez les insectes (Feng & Isman, 1995). Ces huiles exercent de nombreux effets sur les arthropodes selon leur pouvoir antiappétant (Sadek, 2003; Pavela, 2004a), en tant que régulateurs de croissance des insectes (Pavela, 2004b ; 2005), inhibiteur de l'oviposition (Dimock & Renwick 1991; Zhao *et al.*, 1998), de la fécondité et de la fertilité (Pavela *et al.*, 2005) et leur activité toxique (Pavela, 2006). Le pouvoir larvicide de ces produits a été largement étudié (Rageau & Delaveau, 1980), par l'utilisation d'un test d'évaluation de la sensibilité des larves aux insecticides standardisée par l'organisation mondiale de la santé (OMS).

Dans ce chapitre, notre étude vise à déterminer la composition chimique des huiles essentielles de deux plantes, *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* appartenant à la famille des Lamiaceae, largement étudiées pour leurs actions toxiques contre plusieurs espèces d'insectes (Khalfi *et al.*, 2008 ; Moharramipour *et al.*, 2008 ; Popović *et al.*, 2013 ; Benelli, 2015b ; Pavela, 2015a), ainsi qu'à la détermination de leur activités toxiques vis-à-vis des larves du quatrième stade de *Cx. pipiens*, l'espèce de moustique la plus abondante en Algérie et particulièrement dans la région de Tébessa (Tine-Djebbar *et al.*, 2016).

## 2. Résultats

### 2.1. Rendement et caractéristiques organoleptiques des HEs

L'extraction par hydrodistillation de la matière sèche de la partie aérienne des deux plantes étudiées, *T. vulgaris* et *O. vulgare* a fourni des huiles essentielles ayant des colorations variables, de fortes et persistantes odeurs et avec un rendement de 1,58 % et 1,71 % respectivement (Tableau 7).

**Tableau 7.** Rendement et caractéristiques organoleptiques des HEs extraites de *T. vulgaris* et *O. vulgare*.

Plante	Rendement	Couleur	Odeur	Saveur	Solubilité
<i>Thymus vulgaris</i>	1,58%	liquide clair, incolore	odeur agréable	amère et chaude	liposoluble
<i>Origanum vulgare</i>	1,71%	jaune rougeâtre	odeur agréable	piquante	liposoluble

### 2.2. Composition chimique des HEs extraites de *T. vulgaris* et *O. vulgare*

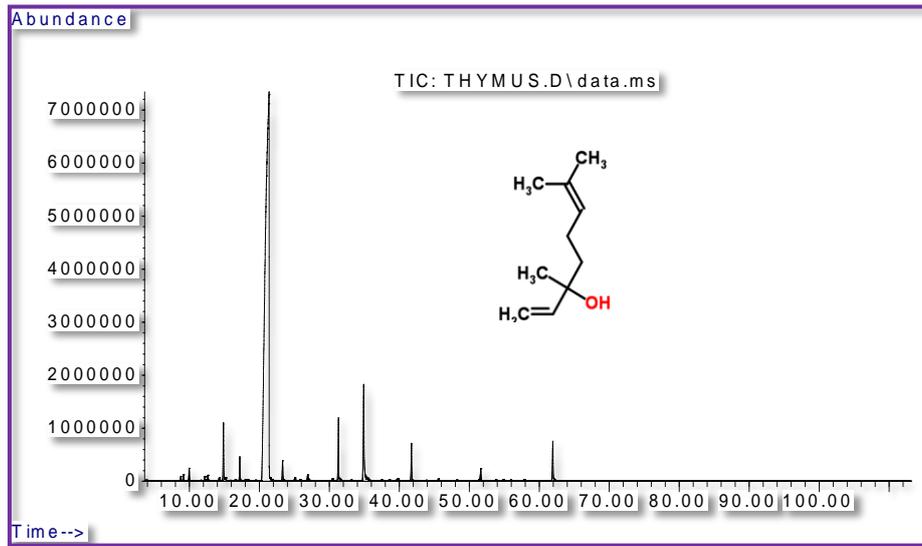
#### 2.2.1. *Thymus vulgaris*

L'identification des différents constituants de l'huile 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 8 et Fig. 18). Celle-ci a révélé que l'huile essentielle de *T. vulgaris* est constituée de dix-huit composés représentant 99,99% de la totalité des constituants détectés et appartenant à trois familles (Fig. 19).

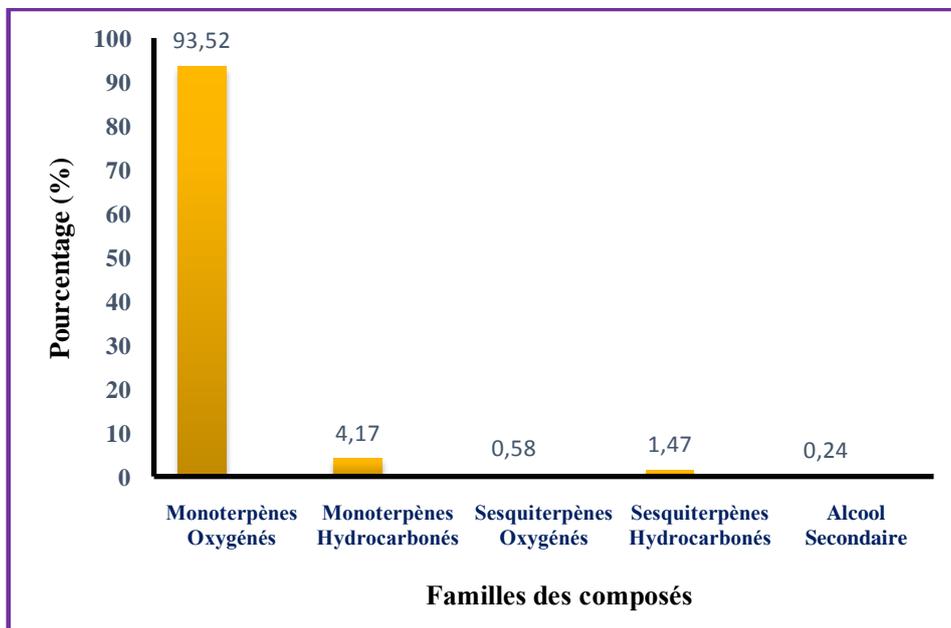
La fraction monoterpénique prédomine avec un taux de 97,70 % et elle est constituée majoritairement de monoterpènes oxygénés (93,52%) représentés par le thymol (4,923%), l'acétate de linalyle (2,434%), l'ascabine (1,741%) comme composés majoritaires et une minorité de monoterpènes hydrocarbonés (4,17%).

Quant aux sesquiterpènes qui représentent un taux de 2,05%, ils contiennent deux familles, les oxygénés avec un taux de 0,58% et les hydrocarbonés représentés par un pourcentage de

1,47%. La fraction non terpénique de cette huile est représentée essentiellement par des alcools secondaires avec un taux de 0,24% de la totalité de l'huile.



**Figure 18.** Chromatogramme CPG-SM de l'huile essentielle extraite de *T. vulgaris* (abondance en fonction du temps de rétention en minutes).



**Figure 19.** Répartition (%) des familles de constituants présentes dans l'huile essentielle de *T. vulgaris*.

**Tableau 8.** Composition chimique de l'huile essentielle extraite de *T. vulgaris* analysée par CPG-SM.

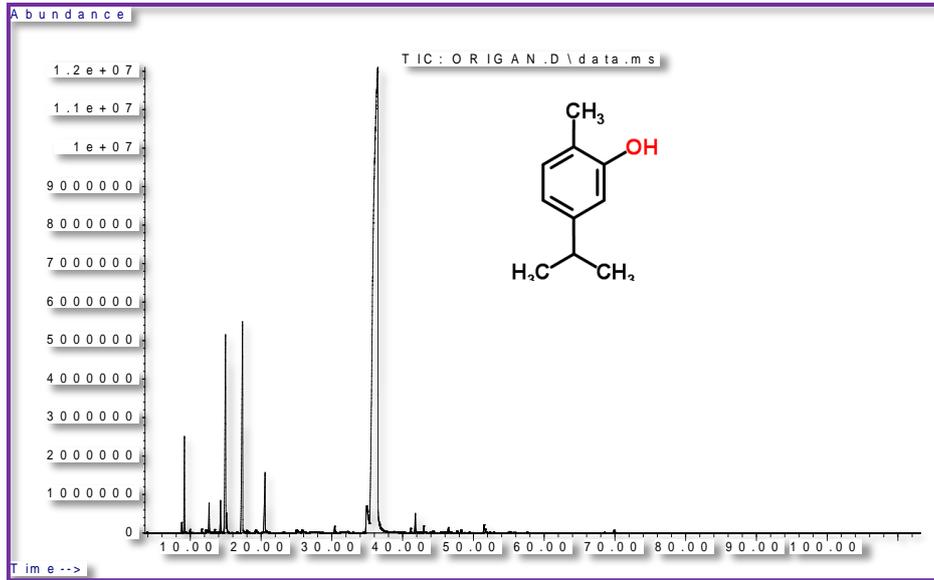
N°.	Composés chimiques	Temps de rétention	Indice de rétention	Pourcentages (%)
<b>Monoterpènes</b>				<b>97,70</b>
<b>Monoterpènes Oxygénés</b>				<b>93,52</b>
<b>1</b>	<b>Linalool</b>	21,363	<b>1100</b>	<b>82,88</b>
<b>2</b>	Camphre	23,315	1145	0,80
<b>3</b>	Bornéol	25,060	1169	0,17
<b>4</b>	$\alpha$ -terpinéol	26,901	1190	0,34
<b>5</b>	Linalyl acétate	31,301	1259	2,43
<b>6</b>	Thymol	34,906	1290	4,92
<b>7</b>	Ascabin	61,938	1764	1,74
<b>8</b>	Eucalyptol	15,170	1029	0,21
<b>Monoterpènes Hydrocarbonés</b>				<b>4,17</b>
<b>9</b>	$\alpha$ -thujène	8,780	924	0,15
<b>10</b>	$\alpha$ -pinène	9,136	927	0,21
<b>11</b>	Camphène	9,965	943	0,43
<b>12</b>	$\beta$ -myrcène	12,640	991	0,23
<b>13</b>	$\alpha$ -terpinène	14,259	1016	0,13
<b>14</b>	Cymène	14,871	1025	2,08
<b>15</b>	$\gamma$ -terpinène	17,209	1059	0,92
<b>Sesquiterpènes</b>				<b>2,05</b>
<b>Sesquiterpènes Oxygénés</b>				<b>0,58</b>
<b>16</b>	Caryophyllène oxide	51,629	1581	0,58
<b>Sesquiterpènes Hydrocarbonés</b>				<b>1,47</b>
<b>17</b>	Caryophyllène	41,740	1417	1,47
<b>Alcool Secondaire</b>				<b>0,24</b>
<b>18</b>	locten-3ol	12,182	980	0,24
<b>Total</b>				<b>99,99</b>

### 2.2.2. *Origanum vulgare*

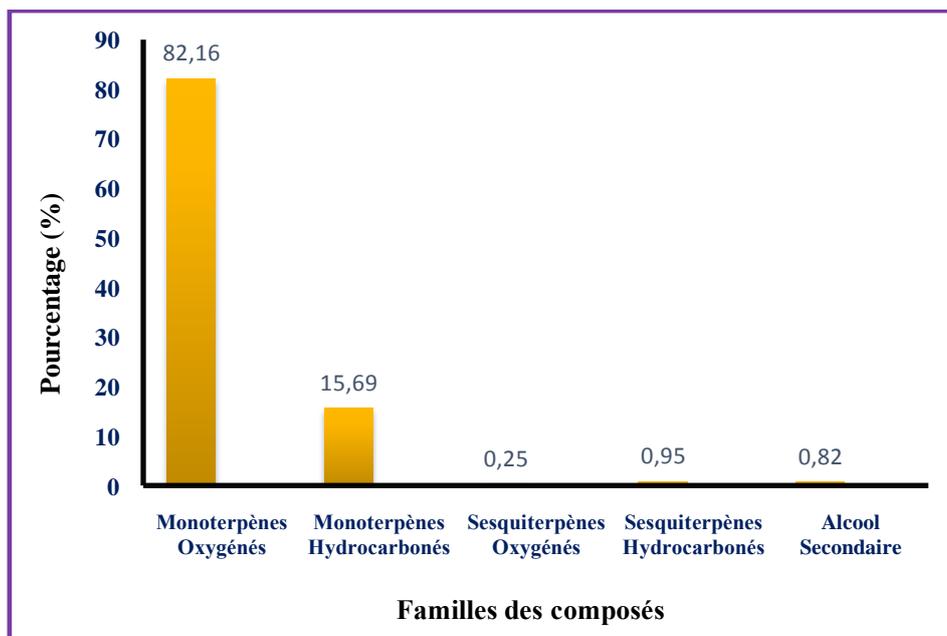
L'analyse de l'huile essentielle extraite de *O. vulgare* par CPG-SM a permis l'identification de vingt-cinq (25) composés représentant 99,87% de totalité des constituants détectés (Tableau 9 et Fig. 20). Le pourcentage, le temps de rétention et l'indice de rétention ont été mentionnés dans le Tableau 9. La figure 21 montre la présence de trois familles différentes des constituants.

Les monoterpènes représentent la famille la plus abondante avec un pourcentage de 97,85%, et elle est constituée de 82,16% de la forme oxygénée, avec le Carvacrol comme

élément majoritaire (77,63%) et la formehydrocarbonnée avec un taux de 15,69%. La deuxième famille représentée par les sesquiterpènes avec un pourcentage de 1,20%, est constituée des sesquiterpènes oxygénés (0,25%) et des sesquiterpènes hydrocarbonés (0,95%). La troisième famille de l'alcool secondaire qui est minoritaire, révèle un taux de 0,82%.



**Figure 20.** Chromatogramme CPG-SM de l'huile essentielle extraite d'*O. vulgare* (abondance en fonction du temps de rétention en minutes).



**Figure 21.** Répartition (%) des familles de molécules présentes dans l'huile essentielle d'*O. vulgare*.

**Tableau 9.** Composition chimique de l'huile essentielle extraite d'*O. vulgare* analysée par CPG-SM.

N°.	Composés chimiques	Temps de rétention	Indice de rétention	Pourcentages (%)
<b>Monoterpènes</b>				<b>97,85</b>
<b>Monoterpènes Oxygénés</b>				<b>82,16</b>
1	Trans-sabinène hydrate	17,950	1094	0,05
2	Linalool L	20,552	1100	1,94
3	Bornéol	25,001	1168	0,18
4	Terpène-4-ol	25,757	1177	0,16
5	Carvacrol Méthyl Ether	30,403	1245	0,16
6	Thymol	34,929	1285	2,04
7	<b>Carvacrol</b>	36,495	<b>1300</b>	<b>77,63</b>
<b>Monoterpènes Hydrocarbonés</b>				<b>15,69</b>
8	$\alpha$ -thujène	8,778	920	0,20
9	$\alpha$ -pinène	9,164	927	1,87
10	Camphène	9,954	943	0,06
11	$\beta$ -myrcène	12,653	993	0,63
12	$\beta$ -pinène	11,612	970	0,08
13	$\alpha$ -phellandrène	13,434	1005	0,08
14	p-Cymène	14,966	1023	5,41
15	$\gamma$ -terpinène	17,371	1058	6,79
16	$\alpha$ -terpinolène	19,227	1088	0,13
17	(+)- Sylvestrène	15,121	1028	0,44
<b>Sesquiterpènes</b>				<b>1,20</b>
<b>sesquiterpènes Oxygénés</b>				<b>0,25</b>
18	Spathuléol	51,512	1579	0,25
<b>sesquiterpènes Hydrocarbonés</b>				<b>0,95</b>
19	$\alpha$ -Gurjunène	41,126	1407	0,10
20	(+)-Aromadendrène	42,987	1437	0,17
21	Viridiflorène	46,462	1493	0,14
22	$\Delta$ -Cadinène	48,216	1523	0,07
23	Trans-Caryophyllène	41,801	1418	0,47
<b>Alcool secondaire</b>				<b>0,82</b>
24	$\alpha$ -terpinène	14,272	1017	0,75
25	1-Octen 3 ol	12,166	977	0,07
<b>Total</b>				<b>99,87%</b>

### 2.3.Efficacité larvicide des HEs à l'égard de *Cx. pipiens*

Les essais toxicologiques ont permis de déterminer l'efficacité des huiles essentielles extraites de *T. vulgaris* et *O. vulgare*, évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus traités après différentes périodes 24, 48 et 72 heures.

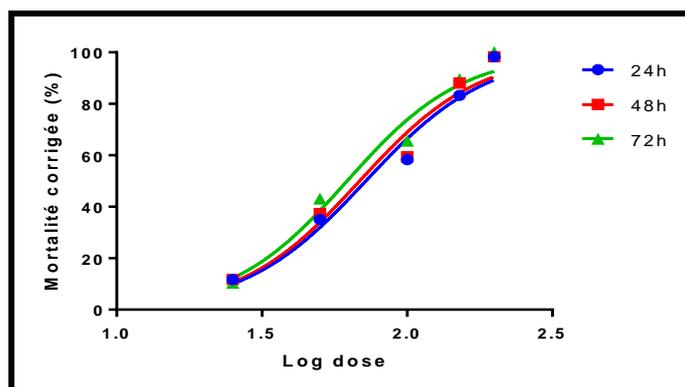
### 2.3.1. Toxicité de l'HE de *T. vulgaris*

Différentes concentrations : 25, 50, 100, 150, 200 ppm ont été appliquées sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviées. 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 mentionnées dans le Tableau 10 marquent une augmentation significative en fonction des concentrations appliquées et des périodes testées. Elles enregistrent des taux variant de 11,67% (25ppm) à plus de 90% (200 ppm) à 24 h, de 11,75% (25ppm) à plus de 90% (200ppm) à 48h, et de 10,26% pour la dose la plus faible (25ppm) jusqu'à 100% pour la dose la plus élevée (200ppm) à 72heures.

Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 4 groupes à 24, 48 et 72 heures (Tableau 10). La courbe dose-réponse exprimant le taux de mortalité corrigée en fonction du logarithme des concentrations appliquées (Fig. 22) a permis l'estimation des valeurs des différentes concentrations sous létales ( $CL_{10}$  et  $CL_{25}$ ) et létales ( $CL_{50}$  et  $CL_{90}$ ) ainsi que leurs intervalles de confiance et le Hill Slope (Tableau 11).

**Tableau 10.** Effet de l'HE extraite de *T. vulgaris* (ppm) appliquée sur des larves du quatrième stade de *Cx. pipiens*, sur le taux de mortalité corrigée à 24, 48, et 72 heures ( $m \pm SEM$ ,  $n=3$  répétitions comportant chacune 20 individus). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.

Temps (heures)	25ppm	50ppm	100ppm	150ppm	200ppm
24	11,67 $\pm$ 2,22 <b>a</b>	35,00 $\pm$ 10,00 <b>b</b>	58,33 $\pm$ 2,22 <b>c</b>	83,33 $\pm$ 2,22 <b>d</b>	98,33 $\pm$ 2,22 <b>d</b>
48	11,75 $\pm$ 4,33 <b>a</b>	37,37 $\pm$ 4,91 <b>b</b>	59,39 $\pm$ 2,92 <b>c</b>	88,07 $\pm$ 2,57 <b>d</b>	98,33 $\pm$ 2,22 <b>d</b>
72	10,26 $\pm$ 3,33 <b>a</b>	43,07 $\pm$ 4,15 <b>b</b>	65,53 $\pm$ 1,93 <b>c</b>	89,56 $\pm$ 3,63 <b>d</b>	100,00 $\pm$ 0,00 <b>d</b>



**Figure 22.** Effets de l'HE de *T. vulgaris*, appliquée sur les larves 4 de *Cx. pipiens*: Courbe dose réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses

**Tableau 11.** Efficacité de l'HE extraite de *T. vulgaris* (ppm) appliquée sur des larves du quatrième stade de *Cx. pipiens* à 24, 48 et 72 heures après traitement: analyse des probits.

Périodes (heures)	R <sup>2</sup>	Hill Slope	Concentrations sous létales (ppm)		Concentrations létales (ppm)	
			CL <sub>10</sub> (95% IC)	CL <sub>25</sub> (95% IC)	CL <sub>50</sub> (95% IC)	CL <sub>90</sub> (95% IC)
24	0,96	2,08	<b>25,06</b> (12,16 - 51,52)	<b>42,46</b> (26,54 - 64,92)	<b>72,04</b> (52,82 - 98,25)	207,01 <b>(112,71 - 380,18)</b>
48	0,96	2,11	<b>24,32</b> (11,45 - 51,52)	<b>40,83</b> (24,94 - 66,83)	<b>68,61</b> (49,40 - 95,30)	190,54 <b>(102,32 - 366,43)</b>
72	0,97	2,17	<b>22,59</b> (11,45 - 44,56)	<b>37,49</b> (23,98 - 58,47)	<b>62,12</b> (45,92 - 84,05)	<b>169,82</b> <b>(94,84 - 306,90)</b>

### 2.3.2. Toxicité de l'HE d'*O. vulgare*

L'huile essentielle a été testée sur les larves 4 de *Cx. pipiens* à des doses variant de 6,25 à 50ppm. Les mortalités enregistrées au cours des tests de toxicités varient de 18,33% à la dose la plus faible (6,25ppm) à 100% à la dose la plus forte (50ppm) à 24h, de 20,26% (6,25ppm) jusqu'à 100% (50ppm) à 48h et de 25% (6,25ppm) jusqu'à 100% (50ppm) à 72 heures (Tableau 12). La mortalité naturelle enregistrée chez les séries témoins positifs et négatifs est nulle. Le traitement révèle un effet larvicide avec une relation dose-réponse.

Le classement des doses par le test HSD de Tukey met en évidence 4 groupes chacun est représenté par une dose et cela à 24, 48 et 72 heures (Tableau 12). La courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalités corrigées en fonction du logarithme de la dose

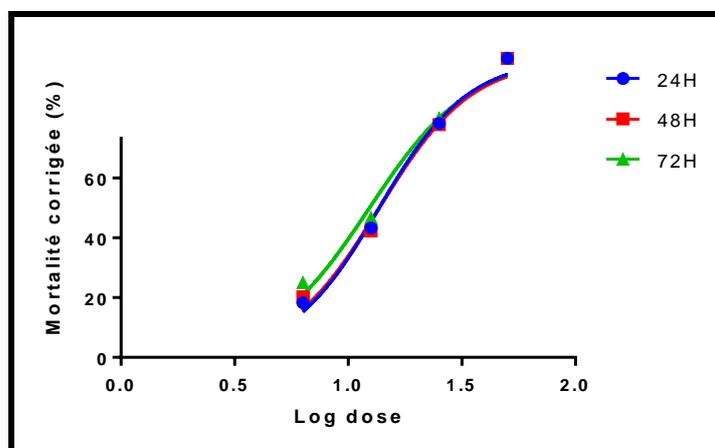
appliquée (Fig. 23) a permis la détermination des valeurs des différentes concentrations sous létales et létales ainsi que leurs intervalles de confiance et le HillSlope (Tableau 13).

De plus, on note que l'origan est la plante la plus efficace à l'égard des larves de *Cx. pipiens* comparativement au thymus.

**Tableau 12.** Effet de l'HE d'*O. vulgare* (ppm) appliquée sur des larves du quatrième stade de *Cx. pipiens*, sur le taux de mortalité corrigée à 24, 48 et 72 heures ( $m \pm SEM$ ,  $n=3$  répétitions

Temps (heures)	6,25 ppm	12,5 ppm	25 ppm	50 ppm
24	18,33 $\pm$ 7,77 <b>a</b>	43,33 $\pm$ 4,44 <b>b</b>	78,33 $\pm$ 11,11 <b>c</b>	100,00 $\pm$ 0,00 <b>d</b>
48	20,26 $\pm$ 6,49 <b>a</b>	42,28 $\pm$ 5,14 <b>b</b>	77,89 $\pm$ 11,40 <b>c</b>	100,00 $\pm$ 0,00 <b>d</b>
72	25,00 $\pm$ 3,33 <b>a</b>	46,66 $\pm$ 4,44 <b>b</b>	80,00 $\pm$ 13,33 <b>c</b>	100,00 $\pm$ 0,00 <b>d</b>

comportant chacune 20 individus). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.



**Figure 23.** Effets de l'HE d'*O. vulgare*, appliquée sur les larves 4 de *Cx. pipiens*: Courbe dose réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.

**Tableau 13.** Efficacité des HEs extraites d'*O. vulgare* (ppm) appliquées sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cx. pipiens* à 24, 48 et 72 heures après traitement : analyse des probits.

Temps	R <sup>2</sup>	HillSlope	Concentrations sous létales	Concentrations létales (ppm)
-------	----------------	-----------	-----------------------------	------------------------------

(heures)			(ppm)			
			CL <sub>10</sub> (95% IC)	CL <sub>25</sub> (95% IC)	CL <sub>50</sub> (95% IC)	CL <sub>90</sub> (95% IC)
24	0,98	2,20	<b>5,06</b> (2,66- 9,62)	<b>8,32</b> (5,56 - 12,47)	<b>13,69</b> (10,39 -18,04)	<b>36,98</b> (19,76 -69,34)
48	0,98	2,13	<b>4,88</b> (2,19 - 10,88)	<b>8,18</b> (4,95 - 13,52)	<b>13,70</b> (9,74 -19,26)	<b>38,37</b> (17,66 -83,56)
72	0,97	1,96	<b>4,06</b> (1,61 - 10,23)	<b>7,09</b> (3,99 - 12,61)	<b>12,41</b> (8,52 -18,06)	<b>37,93</b> (15,92 -90,36)

### 2.3.3. Efficacité comparée des HEs à l'égard de *Cx. pipiens*

Le tableau 14 représente les concentrations sous létales et létales (CL<sub>10</sub>, CL<sub>25</sub>, CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub>) des HEs obtenues chez les larves 4 de *Cx. pipiens*. Ces résultats montrent que l'HE d'*O. vulgare* est plus efficace et plus toxique par rapport à l'HE de *T. vulgaris* à l'égard de cette espèce.

**Tableau 14.** Efficacité comparée des HEs extraites de *T. vulgaris* et d'*O. vulgare* à l'égard des larves 4 de *Cx. pipiens*.

Plantes	Concentrations sous létales (ppm)		Concentrations létales (ppm)	
	CL <sub>10</sub>	CL <sub>25</sub>	CL <sub>50</sub>	CL <sub>90</sub>
<b>T. vulgaris</b>	25,06	42,46	72,04	207,01
<i>O. vulgare</i>	5,06	8,32	13,69	36,98

## 3. Discussion

### 3.3. Rendement des huiles essentielles

Plusieurs facteurs déterminent le rendement des plantes en huiles essentielles à savoir l'espèce de plante utilisée, l'aire de sa répartition géographique, la période de récolte, les pratiques culturales, la technique d'extraction, la température, la durée de séchage et l'état physiopathologique de la plante (Tchoumbounganget *al.*, 2005 ; 2006). Le résultat de cette étape est interprété par le calcul du rendement (Bruneton, 1993).

Le rendement en huile essentielle obtenu par hydrodistillation de la partie aérienne de *T. vulgaris* enregistré une valeur de 1,58 % au cours de notre étude. Ce même rendement

(1,57%) a été rapporté par Ozcan & Chalchat, (2004) chez la même espèce. Par ailleurs, des valeurs plus faibles ont été signalées chez *T. vulgaris* cultivé au Maroc (1%) (Imelouane *et al.*, 2009 ; El Akhal *et al.*, 2014), au Brésil (0,25%) (Atti-Santos *et al.*, 2004) et en Roumanie (1,25%) (Borugă *et al.*, 2014) et chez d'autres espèces de *Thymus* cultivées en Algérie ou dans d'autres pays du monde tels que *T. algeriensis* collecté dans le parc national de Chrea (0,4 – 0,7%) et à El Asnam (0,5%) (Hazzit *et al.*, 2009), et *T. leucospermus* et *T. teucrioides* subsp. *Candilicus* collectés en Grèce avec un rendement de 0,84% et 1,23% respectivement (Pitarokili *et al.*, 2011). Par contre, de plus forts rendements ont été enregistrés chez *T. pallescens* cultivé de différentes régions de l'Algérie Sidi-Aissa, Boussaada, Oued Rhiou, Kadiria et El Asnam, avec des taux variant de 2,7 à 6,2% (Hazzit *et al.*, 2009).

Quant à la seconde plante, *O. vulgare*, l'extraction révèle un rendement de 1,71%. Par ailleurs, de fortes valeurs ont été signalées chez la sous-espèce *O. vulgare* ssp. *glandulosum* cultivée dans la région de Médéa (de 1,5 à 3,0%) (Houmani *et al.*, 2014) et la région de Azzaba (2,50%) (Boughendjioua & Seridi, 2017). Les mêmes observations ont été faites chez *O. glandulosum* récolté dans différentes stations de la région de Sétif, où le rendement enregistre des valeurs de 2,3 jusqu'à 5% (Ruberto *et al.*, 2002 ; Belhattab *et al.*, 2005). Par contre, des études réalisées sur d'autres espèces d'Origan ont montré de faibles rendements chez *O. majorana* cultivé au Maroc (0,8%) (El-Akhal *et al.*, 2014) et au Nord-est de la Tunisie avec des taux variant de 0,04% jusqu'à 0,09% (Sellami *et al.*, 2009).

De plus, les rendements signalés dans d'autres pays du monde, révèlent une supériorité des valeurs chez *O. vulgare* collecté en Inde (13.6 ml/ kg de poids frais) (Govindarajan *et al.*, 2016), au Pakistan (22.0 g/kg) (Hussain *et al.*, 2011), en Turquie (2,8%) (Özer *et al.*, 2018) et dans les régions eurasiennes (7,4%) (Pavela, 2008).

D'après la littérature, Cette variabilité témoigne de l'impact des différents facteurs : intrinsèques liés au bagage génétique de la plante et extrinsèques liés aux conditions de la croissance et du développement de la plante (Bruneton, 1993), la période de récolte, l'origine géographique, la période de séchage, la localisation, la température et la technique d'extraction, etc. (Svoboda & Hampson, 1999; Smallfield, 2001).

### 3.2. Composition chimique des huiles essentielles

L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (Salzer, 1977). Les huiles essentielles sont des mélanges complexes constitués de plusieurs dizaines, voire plusieurs centaines de composés, principalement terpéniques (Paolini, 2005). Elles sont constituées

également de monoterpènes et des sesquiterpènes (possédant respectivement 10 et 15 atomes de carbone) et plus rarement des diterpènes (20 atomes de carbone) ainsi que des composés linéaires non terpéniques et des phénylpropanoïdes (Chiasson & Beloin, 2007).

La composition chimique de l'huile essentielle peut être différente au sein d'une même espèce, on parle alors de races chimiques ou de chémotypes. Il s'agit d'un polymorphisme chimique où une espèce peut être homogène au niveau de son caryotype et produire des huiles essentielles de compositions différentes. Les huiles de *T. vulgaris* se caractérisent soit par un constituant majoritaire (géraniol, linalool, et  $\alpha$ -terpinéol) soit par un groupe de constituants biogénétiquement liés (trans-thuyanol-4 et terpinéol-4;  $\delta$ -terpinène, p-cymène et thymol; p-cymène et carvacrol) (Granger & Passet, 1973). La teneur élevée en un composé définit le chémotype de l'espèce (Lukas *et al.*, 2015). Dans le cas de *Thymus vulgaris*, sept (7) chémotypes ont été individualisés, deux sont phénoliques dont le composé majeur est le thymol ou le carvacrol et cinq chémotypes non phénoliques représentés par la prédominance de géraniol,  $\alpha$ -terpinéol, thujène-4-ol, linalool et 1,8-cinéole (Kulevanova *et al.*, 1996 ; Guillén & Manzanos, 1998 ; Thompson *et al.*, 2003 ; Torras *et al.*, 2007). On peut aussi citer le cas de l'*Ocimum gratissimum* L., qui peut présenter 5 chémotypes : eugénol, méthyl-eugénol, linalool,  $\beta$ -caryophyllène, et géraniol (Charles & Simon, 1992).

La notion de diversité de la composition chimique des HEs a été signalée par Charchari & Boutekedjret (1994) qui a démontré que la teneur en principaux constituants de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba assa* récoltée en Algérie diffère selon le lieu de végétation de la plante. Il a observé 2 chémotypes suivant la région de récolte : le type à  $\alpha$ -thuyone caractérisant l'huile essentielle de la plante provenant de Ghardaïa et celui à  $\alpha$ -thuyone-camphre et chrysanthénone caractérisant celle de la plante récoltée à Biskra, à Bordj Bou Arreridj et à Laghouat.

L'analyse chromatographique de l'HE extraite de *T. vulgaris* montre que cette espèce présente un taux élevé de linalool qui est un monoterpène non phénolique avec 82,88% et le second pic correspond au thymol avec 4,92%. Ces résultats concordent relativement avec ceux rapportés par Houmaniet *al.*, (2002) concernant l'huile de *T. algeriensis* cultivé dans la région de Blida, dont l'un était riche en linalool (78,80%) et l'autre en thymol (62,7%). Les résultats obtenus par Dobet *al.* (2006) montrent que l'huile de *T. fontanesii* cultivé dans la région de Djelfa (Sud-Algérien), est constituée de thymol (29,3%), de  $\gamma$ -terpinène (21,7%) et de p-cymène (15,9%) en tant que composés majoritaires, tandis que le linalool (4,8%) et le  $\beta$ -caryophyllène (2,9%) représentent la fraction minoritaire. Ainsi, les travaux de Benayache *et*

*al.* (2014) ont révélé la présence de thymol (54,1%), suivi de p-cymène (15,3%) et de linalool (5,4%) au niveau de l'huile de *T. numidicus*. La caractérisation chimique de l'huile essentielle de *T. vulgaris*, cultivée au Maroc, a révélé la prédominance de la fraction monoterpénique (97,35%) avec 46,5% sous forme hydrocarbonée et 50,85% sous forme de composés oxygénés, par contre les sesquiterpènes hydrocarbonés ne représentent qu'un faible pourcentage (1,7%) (El Akhalet *al.*, 2015). Msaada *et al.* (2012) ont enregistré la prédominance de linalool avec 47,30%, de l'acétate de linalyle (28,65%), de bicyclogermacrène (3,40%) et du camphre (2,32%). Par ailleurs, la composition chimique de l'huile de *T. vulgaris* collecté au Brésil a révélé une prédominance du carvacrol (45,5%), de l' $\alpha$ -terpinéol (22,9%) et de l'endo-Bornéol (14,3%) (Fachini-Queiroz *et al.*, 2012).

**Tableau 15.** Constituants majoritaires des HEs de *T. vulgaris* collecté dans différents pays.

Constituants majoritaires	Pays	Références
thymol (47,79%), p-cymène (24,13%), $\gamma$ -terpinène (8,19%)	Maroc	Habbadiet <i>al.</i> (2017)
carvacrol (57,3%), linalool (11,8 %), thymol (10,67 %)	Iran	Abedini <i>et al.</i> (2014)
durénol (56,2%), thymol (15,04%), p-cymène (8,69 %), $\delta$ -terpinène (5,24%), $\alpha$ -pinène (2,65%)	Oman	Mohammed <i>et al.</i> (2016)
thymol (43,8%), p-cymène (15,2%) germacrène-D (11,7%), terpinolène (3,4 %), carvacrol (3,2%)	Iran	Shafaghat & Shafaghatlonba (2011)
thymol (75,6%), $\beta$ -caryophyllène (4,3%)	Grèce	Giatropoulos <i>et al.</i> (2018)
thymol (77,7%), linalool (69%), $\beta$ -cyclocitral (38,26%), géraniol (97,1%)	France	Pavela <i>et al.</i> (2009a)
thymol (33,2%), p-cymène (24,3 %), carvacrol (8,6%), 1,8-cinéole (5,8%), linalool (5,7%)	Italie	Catauro <i>et al.</i> (2017)
carvacrol (81,2%), p-cymène (3,8%), $\gamma$ -terpinène (2,7%), $\alpha$ -humulène (2,0%), $\alpha$ -terpinène (0,7%)	Maroc	Zantar <i>et al.</i> (2014)
carvacrol (70,6), thymol (10,1), p-cymène (4,2), carvacrol méthyl éther (2,8), trans-anéthol (2,4)	Liban	Knio <i>et al.</i> (2008)
thymol (40,1 %), p-cymène (23,4%), c-terpinène (15,1%), bornéol (4,5%), carvacrol (2,4%)	Cameroune	Tchoumboungang <i>et al.</i> (2009)
thymol (32,5%), bornéol (30,3%), carvacrol (10,6%), bornylacétate (5,3%), $\alpha$ -terpinène (3,5%)	République tchèque	Pavela (2009b)

Contrairement aux HEs extraites de *T. vulgaris* analysées au cours de notre étude et qui ont montré une prédominance d'un monoterpène non phénolique (linalool 82,88%), les analyses des HEs extraites d'*O. vulgare* ont permis l'identification d'un monoterpène phénolique, le

carvacrol (77,63%) comme élément majeur. Ce résultat renforce la notion de la richesse des HES d'*O. vulgare* en monoterpènes phénoliques particulièrement le carvacrol et occasionnellement le thymol (D'antuono *et al.*, 2000). Cette teneur élevée en carvacrol a été prouvée dans d'autres études menées sur l'Origanum collecté dans plusieurs régions d'Algérie et dans d'autres pays du monde. C'est ainsi l'étude effectuée sur les HES d'*O. glandulosum* de la région de Sétif qui a mis en évidence 29 composés avec une forte teneur en carvacrol (47%), suivie de  $\gamma$ -terpinène (13,4 %), de p-cymène (11,2%) et de thymol (6,6%) (Belhatteb *et al.*, 2005). Des résultats similaires ont été trouvés lors de l'analyse de l'huile d'*O. acutidens* qui révèle la dominance du carvacrol (66-72%) et du p-cymène (7,5-14,0%) (Baser *et al.*, 1997; Sokmen *et al.*, 2004; Figueredo *et al.*, 2006). Les travaux de Govindarajan *et al.* (2016) ont montré que le carvacrol (38,30%) et le terpinène-4-ol (28,70%) représentent les principaux constituants de l'*O. vulgare* cultivé en Inde. Selon Stojković *et al.* (2013), le constituant majeur d'*O. vulgare* est le carvacrol (64,50%), tandis que le p-cymène et le  $\gamma$ -terpinène marquent de faible taux (10,90% et 10,80% respectivement).

Par ailleurs, les analyses chromatographiques effectuées par Ruberto *et al.* (2002) sur les huiles d'*O. glandulosum* récolté dans quatre stations différentes dans la région de Sétif (Algérie), signalent la présence de deux chémotypes : un chémotype à thymol et un chémotype à carvacrol. Houmaniet *et al.* (2014) rapportent que les principaux composés d'*O. floribundum* cultivé à Blida sont le p-cymène (31%), le thymol (9,9%) et le carvacrol (35,0%) tandis que, les composés d'*O. vulgare* sp. *Glandulosum* de Médéa sont le  $\gamma$ -terpinène (13,6%), le thymol-méthyl-éther (16,3%), le carvacrol-méthyl-éther (11,4%) et le thymol (26,1%). Daferera *et al.* (2003), ont analysé la composition des HES d'*O. vulgare* en Grèce, où ils ont révélé la prédominance de thymol (63,7%), du p-cymène (13,0%) et du carvacrol (8,6%).

**Tableau 16.** Constituants majoritaires des HES de l'*O. vulgare* collecté dans différents pays.

Constituants majoritaires	Pays	Références
carvacrol (34,0 %), $\gamma$ -terpinène (21,6 %), p-cymène (9,4 %)	Maroc	Fouad <i>et al.</i> (2015)
linalool (0,3-20,6%), $\beta$ -caryophyllène (1,3-45,0%), germacrène D (0,7-21,0%), caryophyllène oxide (1,5-31,3%), spathulénol (0,9-10,1%)	Estonie	Ivask <i>et al.</i> (2005)
carvacrol (49,2-64,7 %), $\gamma$ -terpinène (6,0-14,6 %), p-cymène (6,8-14,0 %)	Turquie	Özer <i>et al.</i> (2018)
thymol (20,97-21,6%), 4-terpinéol (16,27-15,85%), $\gamma$ -terpinène (7,62-5,46 %), trans-sabinène hydrate (6,11-7,91%), p-cymène	Iran	Mehdizadeh <i>et al.</i> (2018)

(4,27-5,69 %)		
thymol (32,58%), $\gamma$ -terpinène (18,76%), durénol (17,92 %), durène (11,40 %), 2-carène (2,79%), $\beta$ -thujène (1,94 %), caryophyllène (1,80%), $\beta$ -sesquiphellandrène (1,43%), linalool (1,22 %).	Algérie	Mahfouf <i>et al.</i> (2017)
carvacrol (46,5 % - 60,6 %), $\gamma$ -terpinène (13,91 % -16,64 %), $\rho$ -cymène (13,54 % -7,21 %)	Iran	Moradi <i>et al.</i> (2015)
spathuléol (20,7%), $\beta$ -caryophyllène (9,9%), caryophyllène oxide (5,7%)	Bulgarie	Kula <i>et al.</i> (2007)
1,8-cinéole (15%), $\alpha$ -terpinéol (10,7%) et terpinène-4-ol (9,3%)	Bulgarie	Kula <i>et al.</i> (2007)
sabinène (14,2 - 18,8%) $\beta$ -ocimène (6,9 - 17%), $\beta$ -caryophyllène (14,2 - 18,8%) et germacrène D (9,6 - 15,5%)	Lituanie	Mockute <i>et al.</i> (2003)
thymol (29,9 %), $\gamma$ -terpinène (13,0 %), $\beta$ -pinène (11,3 %), 3-octanone (9,2 %), carvacrol (5,2 %), sabinène (5,0 %), $\alpha$ -pinène (4,5 %)	Iran	Andi <i>et al.</i> (2013)

La composition chimique de ces huiles varie en fonction de différents facteurs externes et internes à la plante, incluant le stade de développement des plantes, la période et la zone géographique de récolte (Delaquis *et al.*, 2002 ; Gonny *et al.*, 2004 ; Burt, 2004 ; Boti *et al.*, 2006, Oussou, 2009), le mode d'extraction, la variation saisonnière, l'organe végétal et l'âge du cycle végétatif (Abu Lafi *et al.*, 2008 ; Zein *et al.*, 2011) et les particularités génétiques (Masotti *et al.*, 2003; Hashemabadi *et al.*, 2010; Ben Marzoug *et al.*, 2011; Mileski *et al.* 2014). La nature du sol et les rayons solaires exercent une influence directe sur l'activation ou l'inactivation de certains groupes enzymatiques, conduisant à la prédominance d'une voie particulière de la biosynthèse (Belaiche, 1979).

De plus, la qualité de l'HE varie selon le régime des vents, notamment chez les espèces qui possèdent des structures histologiques de stockage superficielle (ex : poils sécréteurs des Lamiaceae) (Bruneton, 1999; Gyorgyi *et al.*, 2006). Selon l'étude de Nissinen *et al.* (2005), la composition des huiles essentielles peut être influencée par certains ravageurs nuisibles, tel que le psylle de la carotte (*Trioza apicalis*) qui induit une augmentation de sabinène,  $\beta$ -pinène et de limonène dans l'huile extraite des feuilles de carottes.

Notre étude a montré une diversité de la composition chimique enregistrée chez les deux plantes testées, *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare*. Deux chémotypes différents ont été identifiés. *T. vulgaris*, chémotype linalool et *O. vulgare* chémotype carvacrol. L'impact de la phylogénie (genre et espèces) et la répartition géographique différente des deux plantes

constituent un argument qui justifie la variabilité de la composition chimique des HEs des deux plantes.

### 3.3. Toxicité des huiles essentielles

Au cours des dernières décennies, les recherches sur les interactions entre plantes et insectes ont conduit à l'utilisation potentielle des extraits de plantes dans le domaine de la lutte (Kamaraj *et al.*, 2009). De nombreux métabolites secondaires sont connus pour leur pouvoir insecticide (Pavela, 2009b), car ils agissent comme fumigants (Choi *et al.*, 2006), comme insecticides de contact (Tang *et al.*, 2007), comme répulsifs (Islam *et al.*, 2009) et comme anti-appétant (Gonzalez-Coloma *et al.*, 2006) et peuvent affecter certains paramètres biologiques tels que le taux de croissance (Nathan *et al.*, 2008), le développement et la reproduction (Isikber *et al.*, 2006). L'activité larvicide des huiles essentielles contre les moustiques a suscité un vif intérêt dans la littérature scientifique récente (Shaalán *et al.*, 2005; do Nascimento *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2015; Pavela, 2015a). En général, ces HEs agissent comme insecticides de contact à mode d'action neurotoxique ciblant le GABA, les synapses octopaminiques et l'acétylcholinestérase (Regnault Roger *et al.*, 2012).

La toxicité des huiles essentielles extraites de *T. vulgaris* et *O. vulgare* a été étudiée chez les larves du quatrième stade de *Cx. pipiens*, par la détermination des taux de mortalités enregistrées après chaque traitement. Les résultats obtenus révèlent une activité larvicide de ces huiles avec une relation dose réponse. De plus, l'huile d'*O. vulgare* montre un pouvoir toxique plus élevé que celle de *Thymus*.

Divers travaux ont montré l'activité larvicide des huiles extraites de plusieurs plantes contre les larves de moustiques telle que *Tagetes patula* contre *Ae. aegypti*, *An. Stephensi* et *Cx. quinquefasciatus* (Dharmagadda *et al.*, 2005); *Ipomoea cairica* contre *Cx. tritaeniorhynchus*, *Ae. aegypti*, *An. stephensi* et *Cx. quinquefasciatus* (Thomas *et al.*, 2004) et treize (13) huiles essentielles provenant de 41 plantes contre les mêmes espèces (Amer & Mehlhorn, 2006c).

Des expériences antérieures ont montré que l'extrait aqueux de *T. vulgaris* (Tchoumboungang *et al.*, 2009), possède un pouvoir larvicide plus élevé que celui de *Ricinus communis* et *Daphne gnidium* (Dahchar *et al.*, 2016) à l'égard de *Cx. pipiens*. De plus, les extraits aqueux de *Ricinus communis* et de *Tetraclinis articulata* appliqués sur les larves de quatre espèces de moustiques, montrent une sensibilité marquée des larves 2 de *Cx. pipiens* et de *Cs. longiareolata* (Aouinty *et al.*, 2006). Les résultats signalés par Koua (1994) révèlent une activité toxique de l'extrait aqueux de *Persea americana* appliqué sur différents stades larvaires d'*An. gambiae* avec une relation dose réponse.

Au cours de notre étude, l'application de l'huile d'*O. vulgare* sur les larves 4 de *Cx. pipiens* présente une forte activité larvicide qui se traduit par de faibles concentrations sous létales et létales. Plusieurs études ont été réalisées sur différentes espèces du genre *Origanum* où on a signalé la toxicité de l'*O. majorana*, *O. compactum* et *O. syriacum* contre *Cx. pipiens* (Soliman & El-Sherif, 1995 ; Lahlou *et al.*, 2001 ; Traboulsi *et al.*, 2002).

La variation du pouvoir larvicide des huiles essentielles est dû à l'action des composés de ces dernières (Imelouane *et al.*, 2009). Les résultats de l'analyse de la composition chimique des huiles essentielles obtenues dans notre étude, révèlent la prédominance du carvacrol pour l'Origan. Ce composé est connu pour ses activités antioxydante, antimicrobienne, antitumorale, antimutagène, analgésique, antispasmodique, anti-inflammatoire, antiparasitaire, inhibiteur de l'ACHÉ et insecticide (Baser, 2008). Selon les travaux d'Ahn *et al.*, (1998), le carvacrol possède une activité insecticide et acaricide très intense. Szczepanik *et al.* (2012) ont enregistré que le carvacrol provoque une mortalité de 85 à 97% des larves d'*Alphitobius diaperinus*, cette mortalité est liée aux effets engendrés par cet élément à l'égard de divers insectes; neurotoxique, perturbateur de croissance, anti-appétant et répulsif. Le mécanisme d'action des monoterpénoïdes tels que le carvacrol a été largement étudié chez l'insecte (Tong & Coats, 2010). Mohammedi, (2017) a montré que le carvacrol et deux autres monoterpénoïdes (pulegone et thymol) sont des modulateurs positifs des récepteurs GABA de l'insecte et ils peuvent causer des effets inhibiteurs sur le système nerveux de l'insecte, et le carvacrol est l'insecticide le plus puissant par rapport aux autres monoterpénoïdes. Les travaux de Govindarajan *et al.* (2016) ont montré une faible activité larvicide de l'huile d'*O. vulgare* à l'égard d'*An. Stephensi*, *An. Subpictus*, *Cx. quinquefasciatus* et de *Cx. tritaeniorhynchus* comparativement à nos résultats, avec des CL<sub>50</sub> de 67, 74,14, 80,35 et 84,93 ppm, respectivement.

D'autres recherches menées par Traboulsi *et al.* (2002) ont montré l'activité insecticide des huiles extraites de quatre plantes médicinales récoltées au Liban, y compris le genre *Origanum* (*O. syriacum*) contre les larves de *Cx. pipiens*, dont la CL<sub>50</sub> est de 36 ppm. Par ailleurs, l'activité insecticide des huiles de deux espèces d'*Origanum* testée contre les larves 3 et 4 de *Cx. pipiens*, a marqué des CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> respectivement de l'ordre de 24,8 et 61,3 ppm pour *O. onites* et de 73,8 et 118,9 ppm pour *O. minutiflorum* (Cetin & Yanikoglu, 2006).

Dans cette étude, on peut expliquer l'activité larvicide des HEs à l'égard de *Cx. pipiens*, par l'action de leurs composants majoritaires : *T. vulgaris* avec Linalool et *O. vulgare* avec Carvacrol. Plusieurs travaux ont montré que la toxicité des HEs de ces deux plantes est

influencée par leur composition chimique. Ceci dépend généralement de l'origine, des conditions climatiques, de la méthode et la période d'extraction et de la partie de la plante (Manal *et al.*, 2013).

**Tableau 17.** Effet larvicide de certaines espèces de plantes à l'égard de différentes espèces de moustiques.

Plantes	Espèces de moustique	Concentrations (ppm)	Références
<i>Ocimum basilicum</i>	<b>Cx. pipiens</b>	CL <sub>50</sub> : 73,45 CL <sub>90</sub> : 101,20	Dris (2018)
	<b>Cs. longiareolata</b>	CL <sub>50</sub> : 122,70 CL <sub>90</sub> : 151,80	
<i>Lavandula dentata</i>	<b>Cx. pipiens</b>	CL <sub>50</sub> : 113,38 CL <sub>90</sub> : 150,38	
	<b>Cs. longiareolata</b>	CL <sub>50</sub> : 77,09 CL <sub>90</sub> : 104,45	
<i>Mentha piperita</i>	<b>Cx. pipiens</b>	CL <sub>50</sub> : 47,58 CL <sub>90</sub> : 150,38	
	<b>Cs. longiareolata</b>	CL <sub>50</sub> : 41,63 CL <sub>90</sub> : 69,72	
<i>Mentha pulegium</i>	<b>Cx. pipiens</b>	CL <sub>50</sub> : 38,75 CL <sub>90</sub> : 85,91	Guenez <i>et al.</i> (2018)
	<b>Ae. caspius</b>	CL <sub>50</sub> : 28,16 CL <sub>90</sub> : 53,75	
<i>Ocimum basilicum</i>	<b>An. Stephensi</b>	CL <sub>50</sub> : 8,29 CL <sub>90</sub> : 87,68	Maurya <i>et al.</i> (2009)
	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	CL <sub>50</sub> : 4,57 CL <sub>90</sub> : 47,25	
<i>Kelussia odoratissima Mozaffarian</i>	<i>Cx. pipiens</i>	CL <sub>50</sub> : 2,69 CL <sub>90</sub> : 7,90	Vatandoost <i>et al.</i> (2012)
	<b>An. Stephensi</b>	CL <sub>50</sub> : 4,88 CL <sub>90</sub> : 9,60	
<i>Ocimum gratissimum</i>	<b>Ae. aegypti</b>	CL <sub>90</sub> : 300	Sosan <i>et al.</i> (2001)
<b>Cymbopogon citratus</b>		CL <sub>90</sub> : 200	
<i>Ageratum conyzoides</i>		CL <sub>90</sub> : 120	
<b>Citrus sinensis</b>	<b>An. Stephensi</b>	CL <sub>50</sub> : 272,19	Murugan <i>et al.</i> (2012)
	<i>Ae. aegypti</i>	CL <sub>50</sub> : 289,62	
	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	CL <sub>50</sub> : 320,38	
<b>Myrtus communis</b>	<b>Cx. pipiens molestus</b>	CL <sub>50</sub> : 16	Traboulsi <i>et al.</i> (2002)
<i>Lavandula stoechas</i>		CL <sub>50</sub> : 89	
<i>Mentha microphylla</i>		CL <sub>50</sub> : 39	
<i>Pistacia lentiscus</i>		CL <sub>50</sub> : 70	

<i>Mentha suaveolens</i>	<b>Cx. pipiens</b>	CL <sub>50</sub> : 47,88 CL <sub>90</sub> : 64,35	Koliopoulos <i>et al.</i> (2010)
--------------------------	--------------------	--	----------------------------------



## CHAPITRE II

## 1. Introduction

Les biomarqueurs ont été largement utilisés en écotoxicologie comme indicateurs précoces d'exposition à des substances toxiques (Alessio *et al.*, 2016). Ils peuvent être définis comme des changements observables ou mesurables au niveaux moléculaires, biochimiques, cellulaires, physiologiques ou comportementaux indiquant l'exposition actuelle ou passée d'un organisme aux xénobiotiques (Lagadic *et al.*, 1997 ; Timbrell, 1998; Badiou, 2007). Une évaluation efficace des impacts écotoxicologiques des xénobiotiques nécessite une approche basée sur la combinaison de plusieurs biomarqueurs (Roméo *et al.*, 2003a), car elle permettra un diagnostic plus précis de l'exposition aux facteurs de stress environnementaux via différentes réponses biologiques.

Diverses enzymes sont couramment utilisées comme biomarqueurs chez de nombreuses espèces (Barata *et al.*, 2007; Heylen *et al.*, 2011), telles que l'Acétylcholinestérase, enzyme impliquée dans le contrôle de la transmission nerveuse dans les synapses cholinergiques, en hydrolysant le neurotransmetteur acétylcholine (Badiou *et al.*, 2007); la Catalase, enzyme qui catalyse la conversion de peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau, fournissant un système de défense efficace contre la toxicité des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Aebi, 1983) ; et la glutathion-S-transférase, est une enzyme de détoxification de phase II qui catalyse la conjugaison du glutathion réduit (GSH) à un grand nombre de xénobiotiques, et de convertir des composés lipophiles en molécules hydrophiles facilement excrétables (Maxwell, 1992).

Plusieurs travaux sur les métabolites secondaires extraites à partir de plusieurs plantes, ont signalé une inhibition ou une induction de l'activité de différentes enzymes impliquées dans le processus de detoxication (Tel *et al.*, 2010 ; Orhan *et al.*, 2013 ; Valizadeh *et al.*, 2013; Seo *et al.*, 2014; Tarigan *et al.*, 2016; Mahanta *et al.*, 2017), notamment les estérases (EST), la glutathion S-transférase (GST) et les phosphatases (Zibae, 2011). Plusieurs monoterpènes contenus dans les HEs sont neurotoxiques, agissant sur différentes cibles en fonction de leur nature chimique. Le terpinène-4-ol et le 1,8-cinéole contenus dans les HEs extraites des feuilles de thé provoquent une inhibition de l'acétylcholinestérase (Mills *et al.*, 2004). Selon Huignard *et al.* (2008b), les récepteurs GABA sont des sites cibles pour ces composés. Le thymol perturbe le fonctionnement des synapses inhibitrices où le neurotransmetteur est l'acide gamma aminobutyrique (GABA), il se fixe sur les récepteurs GABA associés aux canaux chlorures et perturbe ainsi l'activité régulatrice de ses cellules (Priestley *et al.*, 2003). Selon Enan, (2005a) l'eugénol a un effet spécifique sur les récepteurs de l'octopamine qui est un neuromodulateur

du système octopaminergique (Enan, 2005a). Ces études confirment que l'activité insecticide des monoterpènes contenant dans les HEs est due à plusieurs mécanismes qui affectent plusieurs cibles, perturbant ainsi l'activité cellulaire et certains processus physiologiques chez les insectes.

Dans ce sens et pour contribuer à une compréhension de ces mécanismes, nous avons évalué l'effet des HEs extraites à partir des deux plantes *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* sur l'activité d'un biomarqueur de neurotoxicité, l'AChE et sur des biomarqueurs du stress oxydatif, glutathion S-transférases et son cofacteur, le glutathion chez une espèce de moustique *Cx. pipiens*.

## 2. Résultats

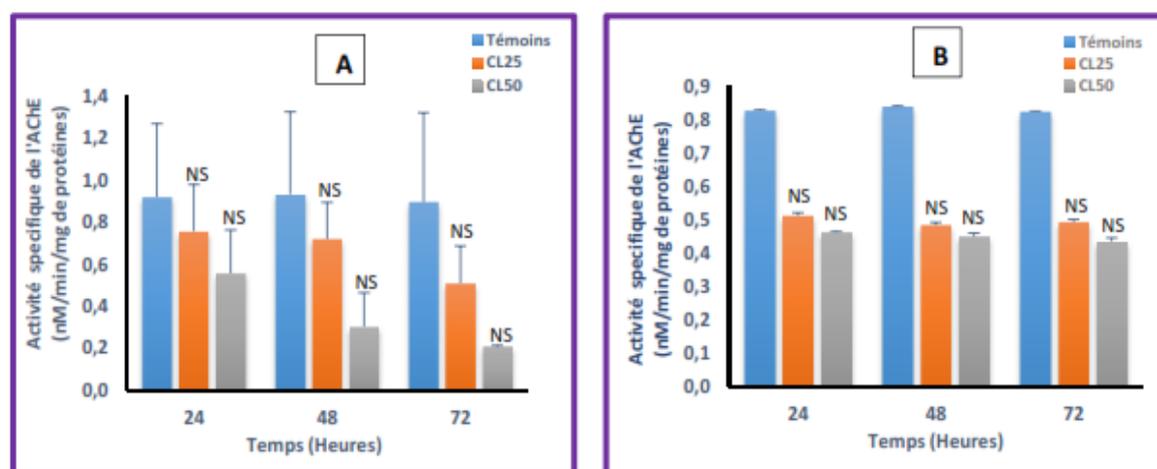
### 2.1. Effet des HEs sur les biomarqueurs

Les huiles essentielles extraites à partir de deux plantes, *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* ont été appliquées sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cx. pipiens* à deux concentrations (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>). L'impact de ces huiles a été déterminé sur un biomarqueur de neurotoxicité, l'acétylcholinestérase (AChE) et un biomarqueur de détoxification, les glutathion S-transférases (GSTs) et son cofacteur, le glutathion (GSH) à différentes périodes.

#### 2.1.1. 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 24 A et B.

La comparaison des valeurs moyennes par le test « *t* » de Student montre que les HEs de *T. vulgaris* et *O. vulgare* provoquent une diminution non significative ( $p > 0,05$ ) de l'activité spécifique de l'AChE au cours de différentes périodes testées (24, 48 et 72 heures). A partir de ces données, on peut conclure que ces huiles ne sont pas neurotoxiques.



**Figure 24.** Effet des HEs (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) extraites de *T. vulgaris* (A) et d'*O. vulgare* (B) sur l'activité spécifique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes ( $m \pm SEM$ ,  $n=3$ ). (NS: Différence non significative ( $p > 0,05$ )).

Le classement des valeurs moyennes de l'activité spécifique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) est résumé dans le tableau 18. Les résultats mettent en évidence l'existence d'un seul groupe pour la CL<sub>25</sub> et cela à 24, 48 et 72 heures; représenté par les témoins, les traités au *T. vulgaris* et *O. vulgare*.

**Tableau 18.** Classement par ordre décroissant de l'activité spécifique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement par les HES des deux plantes (CL<sub>25</sub>): test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	0,874	a
	<i>T. vulgaris</i>	0,759	a
	<i>O. vulgare</i>	0,513	a
48	Témoins	0,887	a
	<i>T. vulgaris</i>	0,721	a
	<i>O. vulgare</i>	0,484	a
72	Témoins	0,861	a
	<i>T. vulgaris</i>	0,511	a
	<i>O. vulgare</i>	0,493	a

Pour la CL<sub>50</sub>, le classement relatif à l'activité spécifique de l'AChE (Tableau 19), a permis de mettre en évidence un seule groupe à 24 heures renfermant toutes les séries témoins et traitées. Deux groupes distincts ont été signalés à 48 et 72 heures, le premier représenté par les témoins, le second est un groupe composé des traités à l'*O. vulgare* et au *T. vulgaris*.

**Tableau 19.** Classement par ordre décroissant de l'activité spécifique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement par les HES des deux plantes (CL<sub>50</sub>) : test HSD de Tukey.

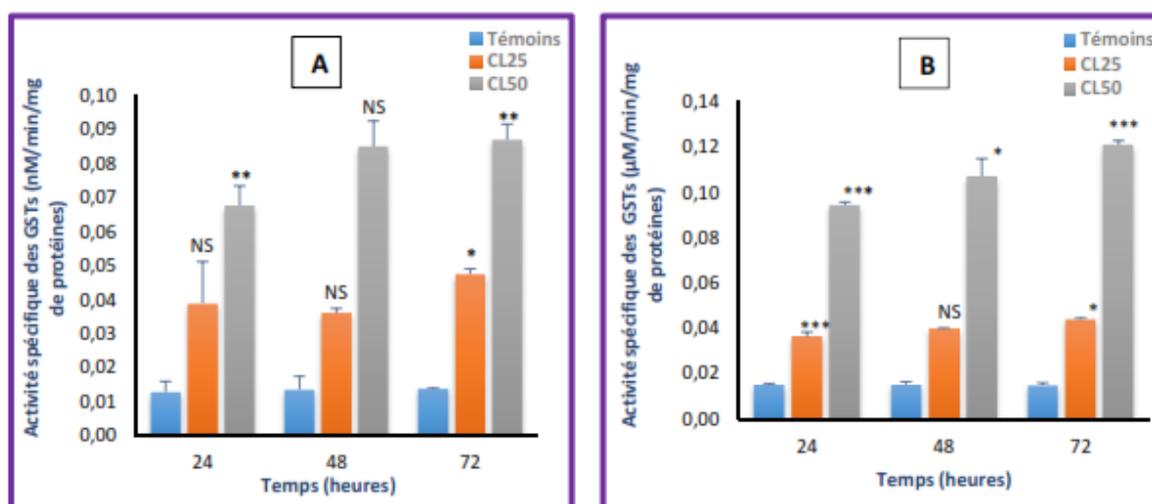
Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	0,874	a
	<i>T. vulgaris</i>	0,558	a
	<i>O. vulgare</i>	0,463	a
48	Témoins	0,887	a
	<i>O. vulgare</i>	0,450	b
	<i>T. vulgaris</i>	0,306	b
72	Témoins	0,861	a
	<i>O. vulgare</i>	0,435	b
	<i>T. vulgaris</i>	0,208	b

### 2.1.2. Effet sur l'activité spécifique des GSTs

L'activité spécifique des glutathion-S-transférases a été estimée chez les séries témoins et traitées par application de la formule de Habig *et al.* (1974). Les résultats sont exprimés en nanomoles par minutes et par milligramme de protéines (nM/min/mg de protéines). Ils sont mentionnés dans la figure 25 A et B.

La comparaison des valeurs moyennes entre les séries témoins et traitées par le test *t* de Student, révèle une augmentation significative de l'activité spécifique des GSTs chez les séries traitées au *T. vulgaris* avec la plus forte dose (CL<sub>50</sub>) à 24 ( $p = 0,010$ ) et avec les deux doses (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) à 72 h ( $p = 0,024$  et  $p = 0,004$  respectivement).

Quant à l'huile de l'Origan, le traitement induit une augmentation significative de l'activité spécifique des GSTs avec les deux doses appliquées (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) à 24 ( $p = 0,001$  et  $p < 0,001$  respectivement) et à 72h ( $p = 0,038$  et  $p = 0,001$  respectivement) et avec la plus forte dose (CL<sub>50</sub>) à 48h ( $p = 0,043$ ). De plus, on note que l'huile de l'Origan affecte le plus l'activité spécifique des GSTs chez *Cx. pipiens* comparativement au Thymus.



**Figure 25.** Effet des HEs (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) extraites de *T. vulgaris* (A) et d'*O. vulgare* (B), sur l'activité spécifique des GSTs (nM/min/mg de protéine) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* à différentes périodes ( $m \pm \text{sem}$ ,  $n=3$ ). (NS : Différence non significative ; \* : Différence significative ( $p \leq 0,05$ ) ; \*\* : Différence hautement significative ( $p \leq 0,01$ ) ; \*\*\* : Différence très hautement significative ( $p \leq 0,001$ )).

Un classement par ordre croissant des moyennes relatives à l'activité spécifique des GSTs est résumé dans le tableau 20. Les résultats mettent en évidence l'existence d'un seul groupe pour la CL<sub>25</sub> à 24 et 48 heures ; représenté par les témoins et les deux traitements. Ce qui explique que les deux plantes n'affectent pas l'activité spécifique des GSTs à ces deux temps.

Par contre, deux groupes ont été enregistrés à 72 heures ; le premier représenté par les témoins et le second groupe composé par les traités au *T. vulgaris* et *O. vulgare*.

**Tableau 20.** Classement par ordre croissant de l'activité spécifique des GSTs (nM/min/mg de protéine) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement par les HEs des deux plantes (CL<sub>25</sub>): test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	0,013	a
	<i>O. vulgare</i>	0,036	a
	<i>T. vulgaris</i>	0,038	a
48	Témoins	0,030	a
	<i>T. vulgaris</i>	0,036	a
	<i>O. vulgare</i>	0,040	a
72	Témoins	0,018	a
	<i>O. vulgare</i>	0,044	b
	<i>T. vulgaris</i>	0,047	b

Pour la CL<sub>50</sub>, le classement des moyennes (Tableau 21), montre trois groupes à 24 et 72 heures ; le premier groupe englobe les témoins, le second est représenté par *T. vulgaris* et le dernier groupe englobe l'*O. vulgare*. A 48 heures, deux groupes ont été signalés le premier renferme les témoins et le deuxième groupe est composé par *T. vulgaris* et *O. vulgare*.

**Tableau 21.** Classement par ordre croissant de l'activité spécifique des GSTs (nM/min/mg de protéine) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement par les HEs des deux plantes (CL<sub>50</sub>): test HSD de Tukey.

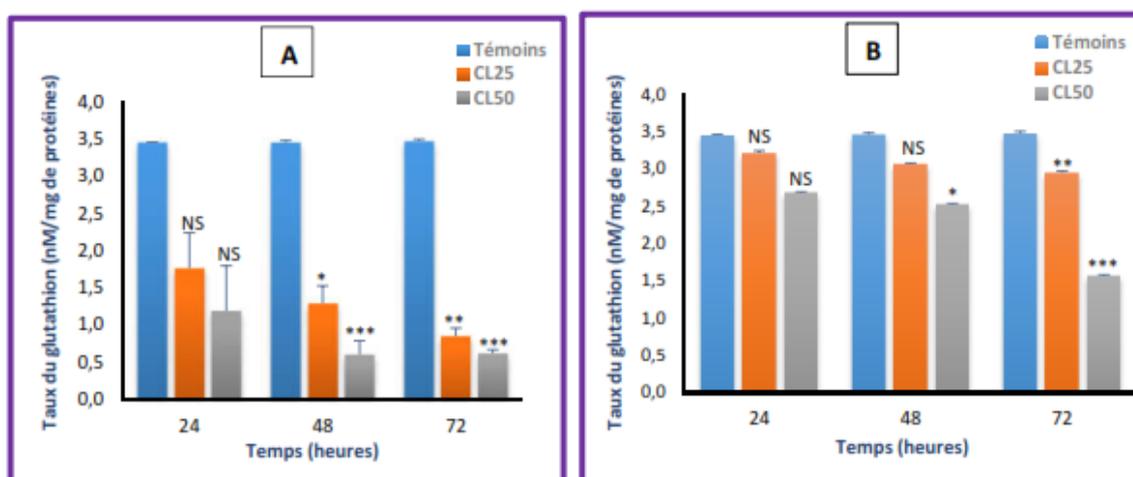
Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	0,013	a
	<i>T. vulgaris</i>	0,067	b
	<i>O. vulgare</i>	0,094	c
48	Témoins	0,030	a
	<i>T. vulgaris</i>	0,085	b
	<i>O. vulgare</i>	0,107	b
72	Témoins	0,018	a
	<i>T. vulgaris</i>	0,087	b
	<i>O. vulgare</i>	0,121	c

### 2.1.3. Effet sur le taux de la GSH

Le taux de la GSH a été estimé chez les larves 4 témoins et traitées avec la CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub>. Les résultats exprimés en nanomoles par milligramme de protéines (nM/ mg de protéines), sont mentionnés dans la figure 26 A et B.

La comparaison des valeurs moyennes par le test "t" de Student, révèle une réduction significative du taux de la GSH chez les séries traitées (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) au *T. vulgaris* à 48 (p = 0,014 et p = 0,001 respectivement) et 72 h (p = 0,005 et p = 0,001 respectivement). Aucun effet n'a été signalé à 24 h (p > 0,005).

Par contre, les résultats du traitement par l'huile d'*Origan* mettent en évidence une diminution significative du taux de la GSH à 48 h avec la CL<sub>50</sub> (p = 0,016) et à 72h avec les deux concentrations appliquées (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) (p = 0,010 ; p = 0,002 respectivement). Par contre à aucun effet (p > 0,05) n'a été signalé à 24h. De plus, on remarque que le thymus a plus d'effet sur la GSH comparativement à l'origan.



**Figure 26.** Effet des HEs (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) extraites de *T. vulgaris* (A) et d'*O. vulgare* (B) sur le taux de la GSH (nM/mg de protéines) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* à différentes périodes (m ± SEM, n= 3). (NS différence non significative ; \*Différence significative (p<0,05); \*\*: Différence hautement significative (p≤0,01) ; \*\*\* : Différence très hautement significative (p≤0,001)).

Un classement par ordre décroissant du taux de la GSH est résumé dans le tableau 22. Les résultats mettent en évidence l'existence de deux groupes distincts à 24 et 48 heures, le premier est représenté par les témoins et les traités à l'Origan et un deuxième groupe renfermant les traités au Thymus. Par contre, à 72 heures, trois groupes ont été constatés, chacun étant représenté par une série et cela pour les traités à la CL<sub>25</sub>.

**Tableau 22.** Classement par ordre décroissant du taux du glutathion (nM/mg de protéines) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement par les HÉs des deux plantes (CL<sub>25</sub>): test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	3,840	a
	<i>O. vulgare</i>	2,684	a
	<i>T. vulgaris</i>	1,193	b
48	Témoins	3,255	a
	<i>O. vulgare</i>	2,530	b
	<i>T. vulgaris</i>	0,603	c
72	Témoins	2,453	a
	<i>O. vulgare</i>	1,571	b
	<i>T. vulgaris</i>	0,617	c

Pour la CL<sub>50</sub>, les résultats du classement (Tableau 23), révèlent deux groupes distincts à 24 heures, un groupe formé par les témoins et les traités à l'Origan et un deuxième groupe représenté par les traités au Thymus. Par contre, à 48 et 72 heures, trois groupes ont été signalés, chacun étant représenté par une série.

**Tableau 23.** Classement par ordre décroissant du taux du glutathion (nM/mg de protéines) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement par les HÉs des deux plantes (CL<sub>50</sub>) : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	3,840	a
	<i>O. vulgare</i>	3,211	a
	<i>T. vulgaris</i>	1,766	b
48	Témoins	3,255	a
	<i>O. vulgare</i>	3,063	a
	<i>T. vulgaris</i>	1,289	b
72	<i>O. vulgare</i>	2,946	a
	Témoins	2,453	b
	<i>T. vulgaris</i>	0,851	c

### 3. Discussion

#### 3.1. Effet des HEs sur les biomarqueurs

Les biomarqueurs sont des importants éléments d'évaluation des risques écologiques liés à la pollution, ils mesurent l'interaction entre un système biologique et un agent environnemental. Ils peuvent être chimiques, physiques ou biologiques (WHO, 1993). L'inhibition ou l'induction des biomarqueurs dépend de l'évaluation du niveau d'exposition et des effets toxiques de xénobiotiques sur l'organisme (Sturm *et al.*, 2000; Varo *et al.*, 2001). Les principaux biomarqueurs utilisés sont des marqueurs enzymatiques tels que l'AChE, la glutathion peroxydase et la glutathion S-transférase.

##### 3.1.1. Effet des HEs sur l'activité spécifique de l'AChE

L'acétylcholinestérase est une enzyme clé du système nerveux des insectes, qui peut inactiver le neurotransmetteur acétylcholine au niveau de la fente synaptique (Fields & Burnstock, 2006; Lopez *et al.*, 2010). Cette enzyme est indispensable au bon fonctionnement des synapses cholinergiques (Haubruge & Amichot, 1998).

Dans les jonctions interneuronales, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique, l'acétylcholine (ACh) qui a une durée de vie très courte et qui permet la transmission de l'influx nerveux. Lorsque l'ACh est libérée dans l'espace synaptique, elle se fixe sur des récepteurs cholinergiques qui se trouvent sur la membrane post synaptique. Cette fixation provoque une dépolarisation de la membrane post-synaptique, générant ainsi un potentiel d'action qui assure la transmission du signal nerveux. L'AChE, en inactivant rapidement l'ACh, permet au système de revenir immédiatement à son état de repos. Le rôle de l'acétylcholinestérase est d'hydrolyser l'acétylcholine en acétate et choline afin de stopper la stimulation du récepteur et par conséquent la repolarisation de la membrane (Soreq & Zakut, 1993 ; Charpentier *et al.*, 2000). Si l'action de cette enzyme est bloquée, la membrane post-synaptique se trouve continuellement excitée (Haubruge & Amichot, 1998). L'augmentation de la concentration d'acétylcholine dans le synapse et l'excitation excessive du système nerveux entraînent une liaison prolongée de l'acétylcholine (ACh) à son récepteur postsynaptique, ce qui entraîne une intoxication, notamment une agitation, une hyperexcitabilité, des tremblements, des convulsions et une paralysie, aboutissant finalement à la mort (Estrada Mandaca *et al.*, 1998 ; Bainsy, 2000 ; Samuel & Laurent, 2005 ; Braquenier, 2009 ; Rajashekar *et al.*, 2014).

L'analyse des résultats obtenus après détermination de l'activité enzymatique de l'AChE chez les larves 4 de *Cx. pipiens*, traitées par les HEs de *T. vulgaris* et de *O. vulgare* à différents temps 24, 48 et 72 heures, ne révèlent aucun effet sur ce biomarqueur de neurotoxicité.

Plusieurs travaux sur les huiles essentielles extraites à partir de plusieurs plantes ont enregistré une inhibition de l'activité de l'AChE (Orhan *et al.*, 2009 ; Tel *et al.*, 2010 ; Orhan *et al.*, 2013 ; Seo *et al.*, 2014). Cette inhibition a été également démontrée chez les larves 4 de *Cx. pipiens* traitées au basilic, à la lavande et la menthe (Dris, 2018). Des résultats similaires ont été signalés par El kady *et al.* (2008), qui ont observé une diminution de l'activité de l'AChE chez *Cx. pipiens* et *An. multicolor* après traitement aux deux bioinsecticides (Spinotoram & Vertemic) et Méthomyl. De plus, plusieurs monoterpènes agissent comme étant des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (Grundy & Still, 1985; Ryan & Byrne, 1988); cette observation a été également enregistrée par Hu *et al.* (2015) qui ont rapporté que le 1,8-cinéole inhibe l'activité de l'AChE et provoque une accumulation excessive d'acétylcholine dans l'espace synaptique, ce qui pourrait être l'une des raisons de la mort des larves de *Sarcoptes scabiei var. cuniculi*. Les huiles essentielles de *Syzygium Aromaticum* et de *Xylopiia aethiopica* ont montré une inhibition plus forte de l'AChE par rapport au BChE (Butyrylcholinestérase) (Adefeghaa *et al.*, 2015). Rattan (2010) a examiné le mécanisme d'action des métabolites secondaires des plantes sur les insectes et il a enregistré plusieurs perturbations physiologiques, telles que l'inhibition de acétylcholinestérase (par les huiles essentielles), les canaux chlorure GABA-dépendants (par le thymol), une perturbation des échanges d'ion sodium et potassium (par la pyréthrine), une inhibition de la respiration cellulaire (par le roténone), et un blocage mitotique (par l'azadirachtine). Les HEs extraites de deux plantes, *Cuminum cyminum* et *Piper nigrum* inhibent l'activité de l'AChE chez deux ravageurs, *Sitophilus zeamais* et *Sitophilus oryzae* (Chaubey, 2011; 2017). Par ailleurs, l'activité insecticide de plusieurs terpènes tels que la coumarine est directement liée à leurs capacité d'inhiber l'AChE (Olmedo *et al.*, 2015). Lopez & Pascual-Villalobs, (2010), ont montré l'inhibition de l'activité de l'AChE chez *Sitophilus oryzae* (L.) après traitement avec le fenchone et le camphre.

### 3.1.2. Effet des HEs sur l'activité spécifique des GSTs

Les glutathion-S-transferases (GSTs) sont des enzymes multifonctionnelles impliquées dans la phase II de détoxification ; catalysant la conjugaison du « glutathion réduit » à un grand nombre de xénobiotiques (Boyer, 2006). Elles sont surtout localisées dans le cytoplasme des cellules, du corps gras et des muscles alaires (Haubruge & Amichot, 1998). Elles ont un rôle

important dans la détoxification des xénobiotiques et interviennent en catalysant la conjugaison de ces substances avec le groupement thiol du glutathion endogène (Jakoby & Habig, 1990 ; Chelvanayagama *et al.*, 2001 ; Boyer, 2006 ; Walters *et al.*, 2009 ; Ebadoallahi *et al.*, 2013). Ceci résulte en synthèse d'un acide mercapturique qui est ensuite facilement éliminable. Donc, le rôle majeur des GSTs est de convertir des composés lipophiles en molécules hydrophiles facilement excrétables (Habig *et al.*, 1974). Les GSTs permettent le développement de la résistance envers les agents chimiothérapeutiques, les insecticides, les herbicides et les antibiotiques microbiens. Elles jouent un rôle important dans la physiologie du stress, le transport intracellulaire et dans les différentes voies de biosynthèse (George, 1994 ; Sun *et al.*, 2001).

L'activité spécifique des GSTs chez les larves 4 de *Cx. pipiens* traitées aux HES de *T. vulgaris* et d'*O. vulgare*, a augmenté d'une manière significative au cours des différentes périodes testées. L'augmentation de l'activité des GSTs dans le processus de détoxification est une forme de défense de l'insecte contre les pesticides (Clark, 1986). Cette augmentation est signalée chez *Cx. pipiens* traité au basilic (Dris *et al.*, 2017 b); chez *Culex* et *Culiseta* traités à la lavande et à la menthe (Dris, 2018); 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.*, 2014); 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). Des résultats similaires sont observés par Hu *et al.* (2015) et qui ont démontré que le 1,8-cinéole peut augmenter significativement l'activité de la GST de *Sarcoptes scabiei var. cuniculi*. De plus, Vanhaelen *et al.* (2001) ont signalé que les métabolites secondaires du Brassicaceae induisent l'activité de la GST chez *Myzus persicae* et chez plusieurs espèces de lépidoptères, tels que *Heliothis virescens*, *Trichoplusia ni* et *Anticarsia gemmatilis*. Zibae & Bandani (2010) ont signalé que l'activité des GSTs augmente de manière significative après traitement des adultes d'*Eurygaster integriceps* avec les extraits d'*Artemisia annua*. Les résultats d'Adeyi *et al.* (2014) suggèrent que les pyréthroïdes (PYR) et l'extrait d'*Ocimum gratissimum* augmentent la concentration des GSTs chez *Zonocerus variegatus* (Orthoptera: Pyrgomorphidae) après traitement à des insecticides synthétiques et botaniques. L'effet de deux bio-insecticides (Spinetoram et Vertemic) et Methomyl sur la GST, a montré une réduction de la GST chez deux espèces de moustiques *Cx. pipiens* et *An. multicolor* (El kady *et al.*, 2008).

Plusieurs chercheurs ont signalé l'augmentation de la GST chez différentes espèces d'insectes traitées avec différentes molécules telles que : *Tribolium castaneum* traité à l'HE d'*Artemisia dracuncululus* (Shojaei *et al.*, 2017); *B. germanica* traitée à l'acide borique (Habes *et al.*, 2006), à l'azadirachtine (Saci, 2006) et au spinosad (Meghlaoui & Mansouri, 2010). Par ailleurs, cette augmentation peut être due à une augmentation du nombre de copies des gènes qui codent pour ces enzymes et à une modification d'un gène régulateur contrôlant le degré d'expression de l'enzyme (Cédric, 2008).

### 3.1.3. Effet des HEs sur le taux de la GSH

Le système de défense antioxydant est présent chez toutes les cellules aérobiques, neutralisant les réactions chimiques intermédiaires produites par voie endogène et/ou le métabolisme des xénobiotiques (Winston & Di Giulio, 1991). L'activité du système antioxydant peut subir une augmentation ou une inhibition sous l'effet d'un produit toxique ou un polluant, ces deux types de réponse dépendent de la durée d'exposition d'une part et de la sensibilité de l'espèce exposée d'autre part (Sifi, 2009).

Le glutathion est un tripeptide soluble dans l'eau constitué de trois acides aminés ; glutamate, cystéine et glycine, produit naturellement dans le corps (Meister & Anderson, 1983). Le glutathion est un biomarqueur non-enzymatique qui joue un rôle majeur dans le processus de défense intracellulaire. C'est le principal système impliqué dans la détoxification des ions peroxydes et dans la lutte contre le stress oxydatif (Gannagé-Yared *et al.*, 1998). Il existe sous deux formes, oxydée GSSG et réduite GSH, et ses enzymes comprennent la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion S-transférase (GST) qui sont impliqués dans la détoxification (Yu, 1994 ; Kizek *et al.*, 2004 ; Zehnalek *et al.*, 2004). Une déficience en GSH expose les cellules à un risque de dommage oxydatif grâce à la fonction thiol (-SH) de la cystéine. Le glutathion sous sa forme réduite est un composé important pour le maintien de l'équilibre redox de la cellule. Cette fonction thiol peut aussi fixer des fonctions électrophiles et sert donc à la détoxification de nombreux pesticides qui contiennent une telle fonction (Habig *et al.*, 1974). Certains insecticides agissent sur un nombre très limité d'espèces, en augmentant l'activité des différents enzymes impliquées dans la détoxification (Lagadic *et al.*, 1997).

L'analyse de nos résultats montre que les HEs des deux plantes, *T. vulgaris* et *O. vulgare* diminuent le taux du glutathion au cours de la période testée, ce qui est en accord avec plusieurs travaux réalisés. Dris (2018) a démontré que les HEs extraites à partir de trois plantes,

*L. dentata*, *M. piperita* et *O. basilicum* provoquent une réduction du taux de la GSH chez deux espèces de moustiques *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens*. Nos résultats coroborent avec ceux de Kiran *et al.* (2017) qui ont démontré que les HEs de *Boswellia carterii* diminuent le taux de la GSH chez *Callosobruchus chinensis* et *C. maculatus*. Des résultats similaires ont été signalés par Kiran & Prakash, (2015) qui ont observé une réduction de la GSH chez *S. oryzae* et *R. dominica* après traitement par les HEs de *Gaultheria procumbens*. La diminution du glutathion peut s'expliquer par une consommation accrue de ce cofacteur par la GST afin de détoxifier l'organisme et une réduction du système antioxydant non enzymatique. Par contre, une augmentation de la GSH a été observée chez *B. germanica* traitée par l'acide borique (Habes *et al.*, 2006), l'azadirachtine (Saci, 2006) et le spinosad (Meghlaoui & Mansouri, 2010).



# CHAPITRE III

## 1. Introduction

L'efficacité des huiles végétales contre les insectes a été signalée dans plusieurs travaux (Cetin & Yanikoglu, 2006; Negahban *et al.*, 2007; Ayvazet *al.*, 2009; AlQahtani *et al.*, 2010; El akhalet *al.*, 2015; 2016); sur le plan physiologique que biochimique (El-Bermawy & Abdel Fattah, 2000; Renuga & Sahayaraj, 2009; Driset *al.*, 2017b). Une panoplie d'études a montré que les huiles essentielles affectent les protéines nécessaires au développement, à la croissance et à l'accomplissement des activités vitales des insectes (Yazdeni *et al.*, 2014), les lipides qui font partie intégrante des parois cellulaires des insectes, et qui contribuent également à d'autres fonctions (la synthèse des hormones juvéniles; métamorphose des larves en pupes et en adultes..etc) (Chapman, 1998; Timmermann & Briegel, 1999; Caroci *et al.*, 2004) et les glucides qui représentent une source d'énergie pour les organismes vivants, et qui jouent un rôle structural (Wiens & Gilbert, 1967). Par ailleurs, l'atteinte des acides nucléiques (ADN et ARN) a été également signalée dans des travaux antérieurs suite au traitement des larves par certaines plantes médicinales, qui peuvent à leur tour affecter négativement les voies métaboliques nécessaires à la réalisation des activités vitales (Preet & Sneha, 2018).

Les huiles essentielles peuvent engendrer des perturbations biochimiques exprimées sur le plan quantitatif par une augmentation ou un déclin en différents métabolites (protéines, carbohydrates, lipides) (Yazdani *et al.*, 2013; Driset *al.*, 2017 b; Gnanamani & Dhanasekaran, 2017). La baisse de ces réserves a été justifiée dans des travaux antérieurs, par une interférence des extraits avec les hormones régulatrices de la synthèse des protéines et l'accélération de leur dégradation (Ramakoteswara *et al.*, 1991; Vijayaraghavan *et al.*, 2010; Sharma *et al.*, 2011; Gnanamani & Dhanasekaran, 2017); ainsi que l'utilisation excessive des réserves lipidiques et glucidiques pour produire de l'énergie (Olga *et al.*, 2006; Yazdeni *et al.*, 2014). Par contre, l'élévation du taux des différents métabolites a été souvent expliquée par une glycolyse entraînant une hyperglycémie (Nath *et al.*, 1997); et une modification du taux lipidiques par le biais d'une peroxydation lipidique (Senthilkumari *et al.*, 2009).

Toutes ces modifications dans le profil biochimique témoignent du stress physiologique des larves, qui dépend probablement de l'action de différents composés phytochimiques contenus dans ces extraits (Sharma *et al.*, 2011). Un grand nombre d'extraits de plantes a été testé comme larvicides (El-Akhalet *al.*, 2014; Driset *al.*, 2017a; Guenezet *al.*, 2018). Cependant, le

mécanisme de ces produits n'est pas complètement connu. Par conséquent, il est essentiel d'étudier les modifications des substances biochimiques dans les échantillons traités avec des insecticides végétales (Sharma et al., 2011). L'évaluation des paramètres biochimiques constitue un moyen majeur pour déterminer le pouvoir toxique des bioinsecticides d'origine végétale et qui ont un grand intérêt dans le contrôle biologique des insectes nuisibles (Saket al., 2006).

Ce chapitre traite l'effet des huiles essentielles extraites de deux plantes, *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* sur le taux d'épuisement énergétique via la composition biochimique (glucides, lipides et protéines) des larves de *Cx. pipiens*. De plus, une analyse quantitative des acides nucléiques (ADN et ARN) a été déterminée après traitement aux huiles essentielles.

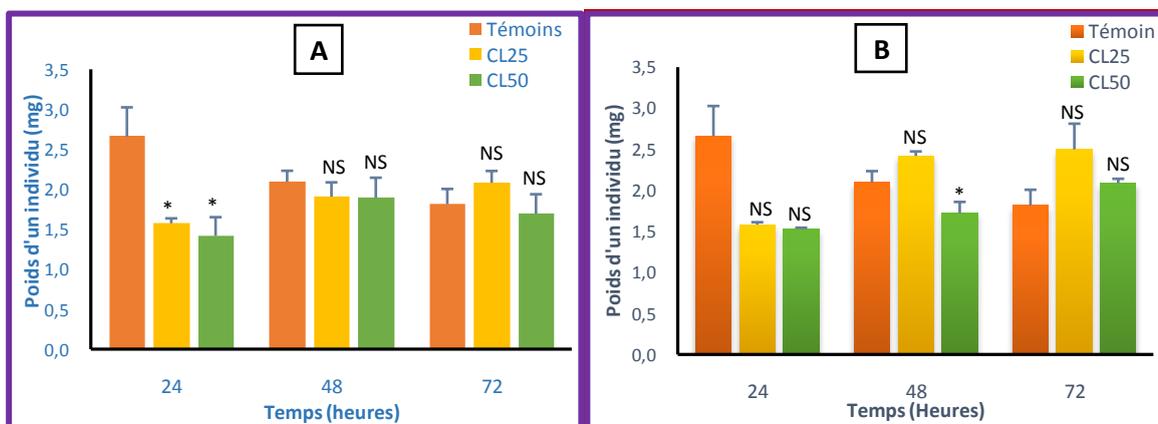
## 2. Résultats

### 2.1. Effet des HEs sur la croissance pondérale des moustiques

Les résultats de l'évolution du poids corporel des larves du quatrième stade de *Cx pipiens* témoins et traitées sont mentionnés dans la figure 27A et B.

La comparaison des valeurs moyennes par le test « *t* » de Student des séries témoins et traitées, montre que l'application des HEs de *T. vulgaris* et d'*O. vulgare* affecte légèrement le poids corporel des individus. Le traitement par *T. vulgaris* montre une diminution significative du poids du corps des larves 4 seulement à 24 h avec les deux concentrations appliquées, CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub> ( $p = 0,018$  et  $p = 0,020$  respectivement) et aucun effet n'a été signalé ( $p > 0,05$ ) à 48 et 72 h après traitement.

Tandis que, l'huile de l'Origan induit une diminution de ce paramètre uniquement à 48 h et avec la plus forte concentration ( $p = 0,023$ ). Aucun effet traitement n'a été observé à 24 et 72 h ( $p \geq 0,05$ ). De plus, le poids corporel des larves semble plus affecté par l'HE de *T. vulgaris* comparativement à l'*O. vulgare*.



**Figure 27.** Effet des HEs (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) extraites de *T. vulgaris* (A) et *O. vulgare* (B) sur le poids corporel (mg) des larves 4 de *Cx. pipiens* à différentes périodes ( $m \pm SEM$ ,  $n=3$ ). (NS: Différence non significative ; \*Différence significative ( $p < 0,05$ )).

Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey pour la CL<sub>25</sub>, met en évidence deux groupes de moyennes à 24 heures, le premier est représenté uniquement par les témoins et le second est composé des larves traitées par les HEs de *T. vulgaris* et *O. vulgare*. A 48 heures, trois groupes sont signalés, un premier groupe composé par l'*O. vulgare*, un deuxième

renfermant les témoins, et un dernier groupe constitué de traités au *T. vulgaris*. Une seule classe de moyenne a été signalée à 72h, renfermant ainsi les témoins et traités (Tableau 24).

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	2,65	a
	<i>O. vulgare</i>	1,58	b
	<i>T. vulgaris</i>	1,57	b
48	<i>O. vulgare</i>	2,41	a
	Témoins	2,09	b
	<i>T. vulgaris</i>	1,90	c
72	<i>O. vulgare</i>	2,49	a
	<i>T. vulgaris</i>	2,08	a
	Témoins	1,81	a

**Tableau 24.** Classement par ordre décroissant du poids corporel (mg) des larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement aux HEs (CL<sub>25</sub>) des deux plantes: test HSD de Tukey.

Pour la CL<sub>50</sub>, le classement des moyennes par le test HSD de Tukey met en évidence deux groupes de moyennes à 24 heures, un groupe renfermant les témoins et un deuxième groupe composé des traités aux *T. vulgaris* et *O. vulgare*. A 48 et 72 heures un seul groupe a été constaté et qui englobe les témoins et les traités (Tableau 25).

On peut conclure que le poids des larves n'est pas trop affecté par le traitement aux huiles essentielles des deux plantes, Thymus et Origan.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	2,65	a
	<i>O. vulgare</i>	1,53	b
	<i>T. vulgaris</i>	1,41	b
48	Témoins	2,09	a
	<i>T. vulgaris</i>	1,89	a
	<i>O. vulgare</i>	1,72	a
72	<i>O. vulgare</i>	2,11	a
	Témoins	1,81	a
	<i>T. vulgaris</i>	1,69	a

**Tableau 25.** Classement par ordre décroissant du poids corporel (mg) des larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL<sub>50</sub>): test HSD de Tukey.

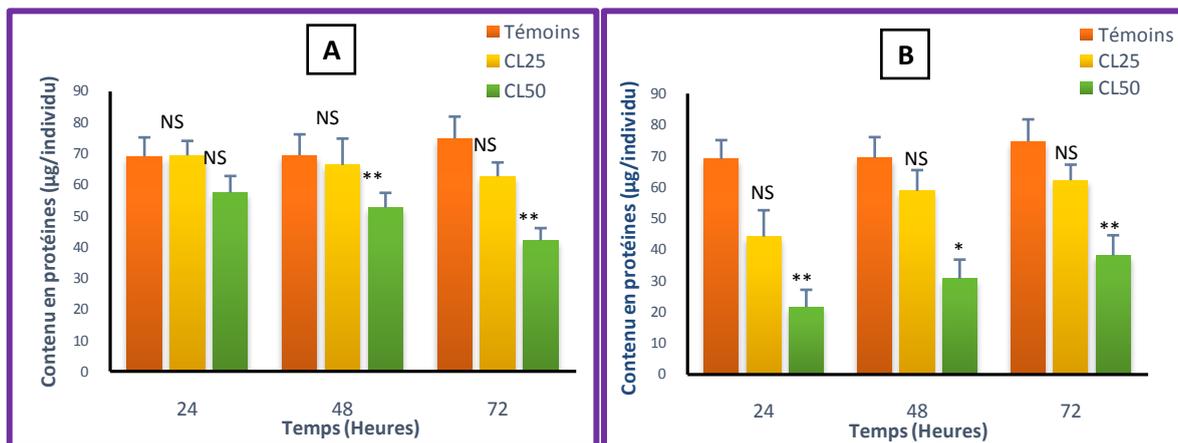
## 2.2. Effets des HEs sur la composition biochimique de *Cx.pipiens*

La CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub> à 72h des HEs extraites de *T.vulgaris* et *O.vulgare* ont été appliquées sur les larves 4e de *Cx.pipiens*. L'effet de ces huiles a été évalué sur le contenu en protéines, glucides et lipides corporels à différentes périodes : 24, 48 et 72 heures après traitement.

### 2.2.1. Effet sur le contenu en protéines

Le contenu en protéines a été déterminé chez les larves 4e témoins traitées et les résultats du dosage sont mentionnés dans la figure 28A et B.

La comparaison des valeurs moyennes, révèle une diminution significative du contenu en protéines à 48 (p = 0,0042) et 72 h (p = 0,0068) pour *T. vulgaris* avec la CL<sub>50</sub> et à tous les temps testés, 24 (p = 0,002), 48 (p = 0,030) et 72 h (p = 0,008) pour *O. vulgare* avec la même dose (CL<sub>50</sub>). De plus, on note que l'*Origan* est le traitement le plus efficace comparativement au *Thymus*.



**Figure 28.** Effets des HEs (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) extraites de *T.vulgaris* (A) et *O.vulgare* (B) sur le contenu en protéines totales chez les larves 4 de *Cx.pipiens* à différentes périodes (m ± SEM, n=3). (NS: Différence non significative ; \*Différence significative (p<0,05), \*\*Différence hautement significative (p<0,01)).

Un classement des différentes moyennes selon leurs effets sur le contenu en protéines, a été réalisé grâce à la méthode HSD de Tukey. Ce classement par ordre décroissant est résumé dans les tableaux 26 et 27.

Pour les traités à la CL<sub>25</sub>, les résultats mettent en évidence l'existence de deux groupes à 24h, un groupe renfermant les témoins et les traités au *T.vulgaris*, et un deuxième groupe englobant *O. vulgare*. A 48 et 72 heures, un seul groupe apparaît, composé par les témoins, et les deux traitements par *T.vulgaris* et *O. vulgare*.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	<i>T. vulgaris</i>	69,33	a
	Témoins	69,02	a
	<i>O. vulgare</i>	44,17	b
48	Témoins	69,38	a
	<i>T. vulgaris</i>	66,28	a
	<i>O. vulgare</i>	58,84	a
72	Témoins	74,69	a
	<i>T. vulgaris</i>	62,63	a
	<i>O. vulgare</i>	62,24	a

**Tableau 26.** Classement par ordre décroissant du contenu en protéines totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement par les HEs des deux plantes ( $\text{CL}_{25}$ ) : test HSD de Tukey.

Pour les traités à la plus forte dose ( $\text{CL}_{50}$ ), les témoins et les traités sont regroupés en deux classes à 24, 48 et 72 heures. A 24 et 48 heures, le premier groupe renferme les témoins et les traités au *T. vulgaris* et le second groupe constitué d'*O. vulgare*. A 72 heures, deux groupes sont également constatés : le premier groupe, englobe uniquement les témoins et le deuxième représente les traités au Thymus et à l'Origan.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	69,02	a
	<i>T. vulgaris</i>	57,38	a
	<i>O. vulgare</i>	21,52	b
48	Témoins	69,38	a
	<i>T. vulgaris</i>	52,59	a
	<i>O. vulgare</i>	30,60	b
72	Témoins	74,69	a
	<i>T. vulgaris</i>	42,07	b
	<i>O. vulgare</i>	38,04	b

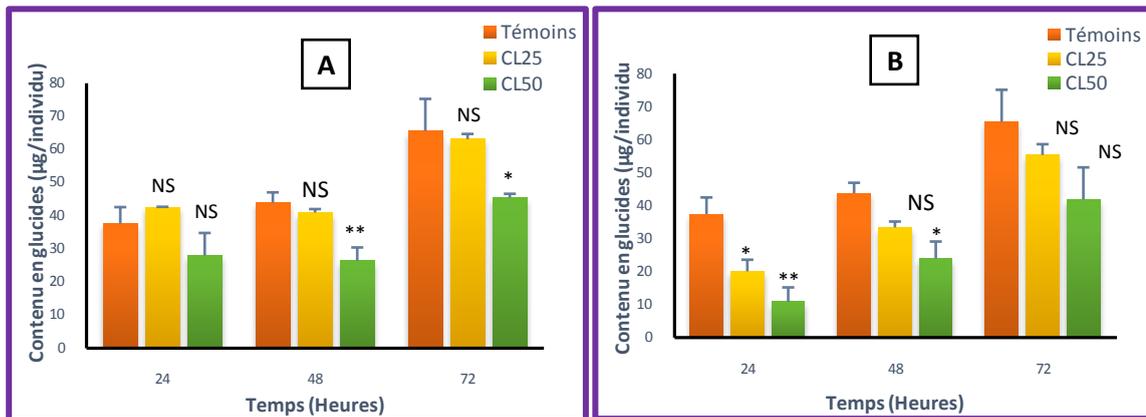
**Tableau 27.** Classement par ordre décroissant du contenu en protéines totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement par les HEs des deux plantes ( $\text{CL}_{50}$ ) : test HSD de Tukey.

### 2.2.2. Effet sur le contenu en glucides

Le contenu en glucides chez les larves 4 de *Cx.pipiensa* été déterminé au cours des différentes périodes 24, 48 et 72heures après traitement et les résultats obtenus sont enregistrés dans la figure 29A et B.

La comparaison des valeurs moyennes par le test « *t* » de Student montre que l'HEextraite de *T. vulgaris*, induit une diminutionsignificative du contenu en glucides totaux chez la série traitée à la CL<sub>50</sub> à 48 (p = 0,006) et 72 h (p = 0,023)pour *T. vulgaris*. Tandis que l'*O. vulgare*provoque une réduction significative avec les deux concentrations testées (CL<sub>25</sub>: p = 0,030 et CL<sub>50</sub>: p = 0,005) à 24h et avec la concentration la plus élevée (CL<sub>50</sub>: p = 0,030) à 48h par rapport aux séries témoins.

De plus, on note que ce contenu est trop affecté par l'Origan par rapport au Thymus au cours de tous les temps testés.



**Figure 29.** Effets des HEs (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) extraites de *T. vulgaris*(A)et *O. vulgare*(B)sur le contenu en glucides totaux chez les larves 4 de *Cx. pipiens*à différentes périodes (m ± SEM, n=3). (NS: Différence non significative ; \*Différence significative (p<0,05), \*\*Différence hautement significative (p<0,01)).

Concernant les traités à la CL<sub>25</sub>, le test HSD de Tukey met en évidence 2 groupes de moyennes à 24 et 48 heures, l'un est représenté par les témoins et les traités au thymus et l'autre englobe les traités à l'origan. Par contre, à 72 heures un seul groupe est constaté et qui renferme les témoins et les traités aux 2 plantes (Tableau 28).

**Tableau 28.** Classement par ordre décroissant du contenu en glucides totaux (µg/individu) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL<sub>25</sub>): test HSD de Tukey.

Pour les traités à la CL<sub>50</sub>, le classement des moyennes révèle l'existence de 2 groupes à 24 et 48 heures, un groupe formé des témoins et un autre des traités aux huiles des 2 plantes. Par contre, à 72 heures un seul groupe est enregistré et il renferme les 2 séries témoins et traitées (thymus et origan) (Tableau 29).

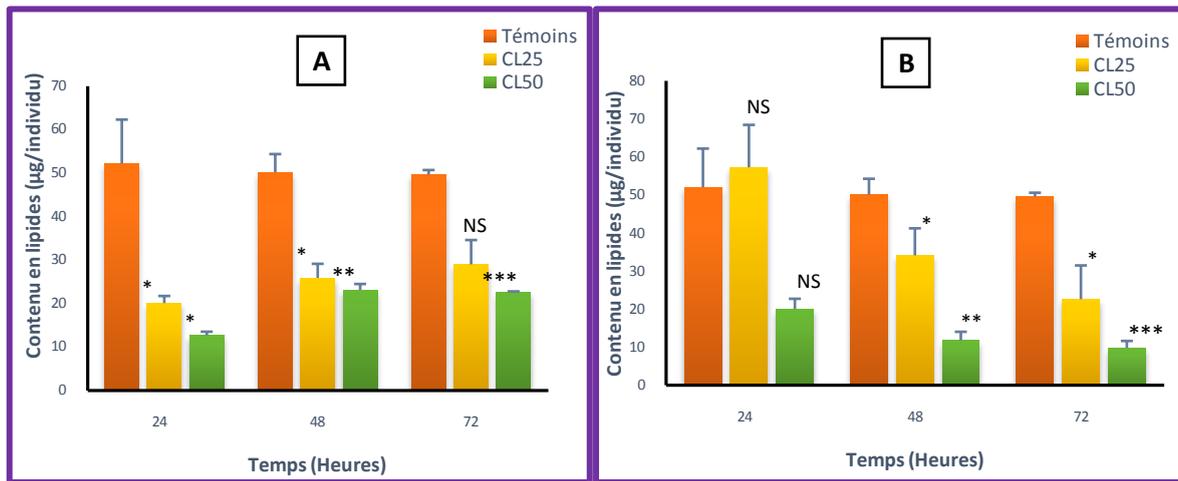
**Tableau 29.** Classement par ordre décroissant du contenu en glucidestotaux ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL<sub>50</sub>) : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	37,30	<b>a</b>
	<i>T. vulgaris</i>	27,73	<b>b</b>
	<i>O. vulgare</i>	10,69	<b>b</b>
48	Témoins	42,98	<b>a</b>
	<i>T. vulgaris</i>	26,13	<b>b</b>
	<i>O. vulgare</i>	23,76	<b>b</b>
72	Témoins	65,31	<b>a</b>
	<i>T. vulgaris</i>	45,17	<b>a</b>
	<i>O. vulgare</i>	41,70	<b>a</b>

### 2.2.1. Effet sur le contenu en lipides

Le contenu en lipides a été estimé chez les larves 4 témoins et traitées de *Cx. pipiens*, au cours des différents temps et les résultats du dosage sont mentionnés dans la figure 30A et B. L'étude comparative par le test « *t* » de Student, révèle une diminution significative de ce contenu après traitement au thymus avec les deux concentrations (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) respectivement à 24 ( $p= 0,043$  et  $p= 0,013$ ) et 48 heures ( $p= 0,040$  et  $p= 0,006$ ) et avec la plus forte dose (CL<sub>50</sub>) seulement à 72 heures ( $p= 0,001$ ). Par ailleurs, l'huile de l'origan induit une réduction du contenu en lipides à 48 (0,012 et 0,004) et à 72 heures ( $p = 0,032$  et  $p \leq 0,001$ ) et cela chez les traités avec les 2 doses testées (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) respectivement.

A partir des résultats obtenus, on remarque que les lipides sont trop affectés par le thymus comparativement à l'origan.



**Figure 30.** Effets des HEs (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) extraites de *T.vulgaris*(A) et *O.vulgare*(B) sur le contenu en lipides totaux chez les larves 4 de *Cx.pipiens* à différentes périodes (m ± SEM, n=3). (NS: Différence non significative; \*Différence significative (p<0,05), \*\*Différence hautement significative (p<0,01), \*\*\* Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).

Un classement par ordre décroissant du contenu en lipides totaux est résumé dans le tableau 30. Pour les traités à la CL<sub>25</sub>, les résultats mettent en évidence l'existence de deux groupes de moyennes à 24 heures ; le premier est représenté par les témoins et les traités à l'Origan, et le second groupe composé par les traités au Thymus. A 48 et 72 heures, trois groupes sont constatés, le témoin représente le premier groupe, un deuxième groupe renferme l'*O. vulgare* et un troisième groupe composé par le *T. vulgaris*.

**Tableau 30.** Classement par ordre décroissant du contenu en lipides totaux (µg/individu) chez les larves 4 de *Cx.pipiens* au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL<sub>25</sub>): test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	<i>O. vulgare</i>	57,30	a
	Témoins	52,07	a
	<i>T. vulgaris</i>	20,02	b
48	Témoins	50,07	a
	<i>O. vulgare</i>	34,17	b
	<i>T. vulgaris</i>	25,82	c
72	Témoins	49,59	a
	<i>T. vulgaris</i>	28,92	b
	<i>O. vulgare</i>	22,66	c

Concernant les traités à la CL<sub>50</sub>, le classement relatif au contenu en lipides totaux (Tableau 31), a permis de mettre en évidence 2 groupes distincts à 24 heures, le premier est représenté par les témoins et le second par le *T. vulgaris* et l'*O. vulgare*. Par contre à 48 et 72 heures, trois groupes ont été constatés, le premier groupe représenté par les témoins, le second groupe par le *T. vulgaris* et le dernier groupe renfermant l'*O. vulgare*.

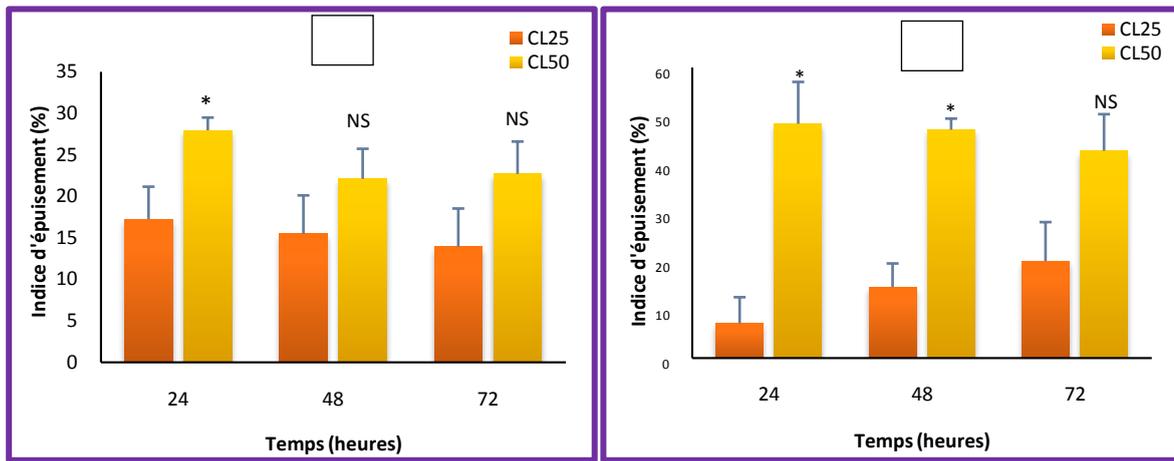
**Tableau 31.** Classement par ordre décroissant du contenu en lipides totaux (µg/individu) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL<sub>50</sub>) : test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	52,07	a
	<i>O. vulgare</i>	20,06	b
	<i>T. vulgaris</i>	12,58	b
48	Témoins	50,07	a
	<i>T. vulgaris</i>	23,00	b
	<i>O. vulgare</i>	11,79	c
72	Témoins	49,59	a
	<i>T. vulgaris</i>	22,47	b
	<i>O. vulgare</i>	9,83	c

### 2.3. Effet des HEs sur le taux d'épuisement des réserves énergétiques de *Cx. pipiens*

L'indice d'épuisement des réserves énergétiques (NDI) calculé chez les traités à la CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub> des deux plantes de *Cx. pipiens* est représenté dans la figure 31A et B. Les résultats révèlent une augmentation de cet indice en fonction des doses appliquées, car elle est importante chez les traités avec la dose la plus élevée (CL<sub>50</sub>).

La comparaison des valeurs moyennes avec le test 't' de Student montre que les HEs extraites de *T. vulgaris* et de l'*O. vulgare*, induisent une augmentation significative du taux d'épuisement des réserves énergétiques chez la série traitée avec la CL<sub>50</sub> à 24 h (p = 0,043) pour *T. vulgaris*. Tandis que, l'*O. vulgare* provoque une augmentation significative à 24 (p = 0,037) et 48h (p = 0,026) avec la dose la plus élevée (CL<sub>50</sub>). De plus, on remarque que l'origan a plus d'effet sur le taux d'épuisement des réserves énergétiques comparativement au thymus.



**Figure 31.** Effet des HEs (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) extraites de *T.vulgaris*(A)et *O.vulgare*(B)sur le taux d'épuisement des réserves énergétiques chez les larves 4 de *Cx.pipiens*à différentes périodes (m ± SEM, n=3) (NS : Différence non significative; \*Différence significative (p<0,05)).

### 2.3. Effet des HEs sur les acides nucléiques chez les moustiques

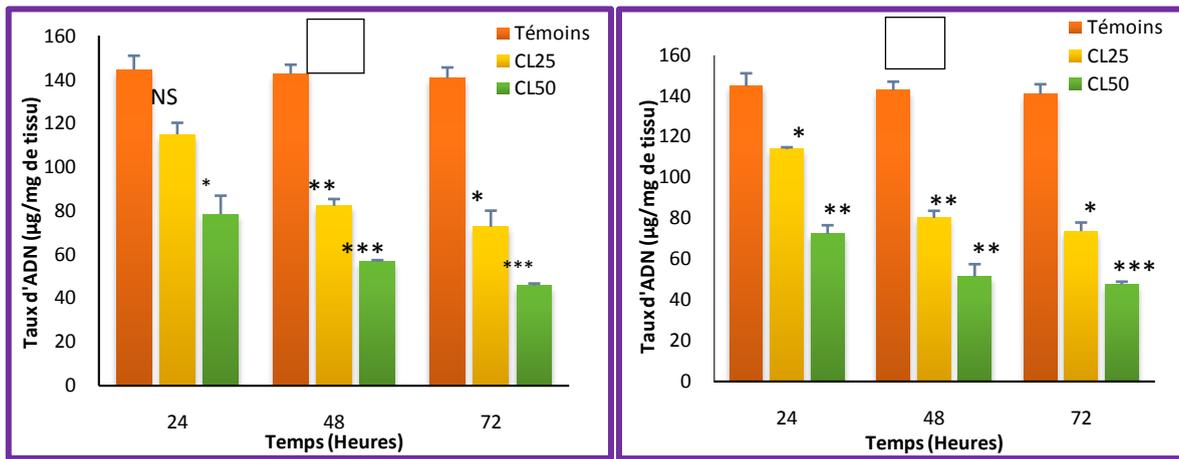
Les HEs (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) extraites de *T.vulgaris* et *O.vulgare* ont été appliquées sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cx.pipiens*. L'effet de ces huiles a été évalué sur le taux d'ADN et d'ARN corporels à différentes périodes : 24, 48 et 72 heures après traitement.

#### 2.4.1. Effet sur le taux d'ADN

Le taux d'ADN a été déterminé chez les larves 4 de *Cx.pipiens* et les résultats du dosage sont mentionnés dans la figure 32A et B.

La comparaison des moyennes par le test "t" de Student révèle une diminution significative du taux d'ADN après traitement à l'HE de *T. vulgaris* à 48 (p= 0,005 et p=0,001) et 72h (p=0,018 et p=0,001) pour les 2 concentrations appliquées (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub> respectivement) et à 24h pour la concentration la plus élevée (p=0,027).

Par ailleurs, le traitement à l'huile de l'origan induit une réduction du taux d'ADN avec les 2 concentrations appliquées respectivement et à tous les temps testés, 24 (p=0,021 et p=0,002), 48 (p=0,006 et p=0,003) et 72h (p=0,011 et p=0,001).



**Figure 32.** Effet des HEs (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) extraites de *T. vulgaris* (A) et *O. vulgare* (B) sur le taux d'ADN (µg/mg de tissu) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* à différentes périodes (m ± SEM, n=3). (NS: Différence non significative ; \*Différence significative (p<0,05), \*\*Différence hautement significative (p<0,01), \*\*\* Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).

Un classement par ordre décroissant des moyennes relatives aux taux d'ADN est résumé dans les tableaux 32 et 33. Les résultats mettent en évidence l'existence de deux groupes pour les traités à la CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub> à 24, 48 et 72 heures ; le premier est représenté par les témoins et le second groupe composé par les traités aux *T. vulgaris* et *O. vulgare*.

**Tableau 32.** Classement par ordre décroissant du taux d'ADN (µg/mg de tissu) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL<sub>25</sub>): test HSD de Tukey.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	144,58	a
	<i>T. vulgaris</i>	78,76	b
	<i>O. vulgare</i>	72,33	b
48	Témoins	142,65	a
	<i>T. vulgaris</i>	56,85	b

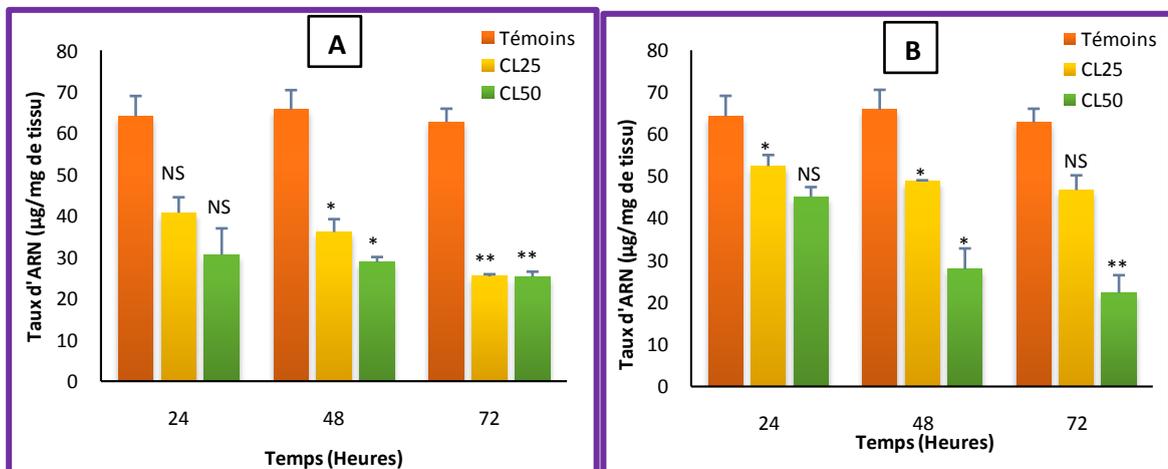
	<i>O. vulgare</i>	51,70	b
72	Témoins	140,67	a
	<i>T. vulgaris</i>	47,46	b
	<i>O. vulgare</i>	45,57	b
Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	144,58	a
	<i>T. vulgaris</i>	114,99	b
	<i>O. vulgare</i>	113,87	b
48	Témoins	142,65	a
	<i>T. vulgaris</i>	82,27	b
	<i>O. vulgare</i>	80,09	b
72	Témoins	140,67	a
	<i>T. vulgaris</i>	73,62	b
	<i>O. vulgare</i>	72,62	b

**Tableau 33.** Classement par ordre décroissant du taux d'ADN ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) chez les larves 4 de *Cx.pipiens* cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes ( $\text{CL}_{50}$ ): test HSD de Tukey.

#### 2.4.2. Effet sur le taux d'ARN

Le taux d'ARN a été déterminé chez les larves 4 de *Cx.pipiens* à différentes périodes. Les résultats du dosage sont présentés dans la figure 33A et B.

Concernant les valeurs moyennes des taux d'ARN, la comparaison avec le test "t" de Student révèle une diminution significative du taux d'ARN après traitement avec l'HE de *T. vulgaris* ( $\text{CL}_{25}$  et  $\text{CL}_{50}$  respectivement) à 48 ( $p = 0,043$  et  $p = 0,013$ ) et 72h ( $p = 0,006$  et  $p = 0,005$ ). Par contre, l'HE extraite de *O. vulgare* provoque une diminution significative d'ARN à 24 ( $\text{CL}_{25}$  :  $p = 0,038$ ), 48 ( $\text{CL}_{25}$  :  $p = 0,049$  et  $\text{CL}_{50}$  :  $p = 0,019$ ) et à 72h ( $\text{CL}_{50}$  :  $p = 0,006$ ) chez les larves 4 de *Cx.pipiens*.



**Figure 33.** Effet des HEs (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) extraites de *T.vulgaris*(A) et *O.vulgare*(B) sur le taux d'ARN ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) chez les larves 4 de *Cx.pipiens* à différentes périodes ( $m \pm \text{SEM}$ ,  $n=3$ ). (NS: Différence non significative ; \*Différence significative ( $p \leq 0,05$ ), \*\*Différence hautement significative ( $p \leq 0,01$ )).

Un classement par ordre décroissant du taux d'ARN est résumé dans le tableau 34. Les résultats mettent en évidence l'existence de trois groupes, un groupe témoin, un groupe traité à l'origan et troisième groupe formé par le thymus et cela à 24, 48 et 72 heures, concernant la CL<sub>25</sub>.

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	64,17	a
	<i>O. vulgare</i>	52,35	b
	<i>T. vulgaris</i>	40,80	c
48	Témoins	65,76	a
	<i>O. vulgare</i>	48,73	b
	<i>T. vulgaris</i>	36,12	c
72	Témoins	72,64	a
	<i>O. vulgare</i>	46,63	b
	<i>T. vulgaris</i>	25,40	c

**Tableau 34.** Classement par ordre décroissant du taux d'ARN ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL<sub>25</sub>) : test HSD de Tukey.

Pour la CL<sub>50</sub>, les résultats mentionnés dans le tableau 35, révèlent la présence de 2 groupes au cours des périodes testées, 24, 48 et 72 heures. Le premier groupe renferme les témoins et le second représenté par les traités à l'origan et le thymus.

**Tableau 35.** Classement par ordre décroissant du taux d'ARN ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) chez les larves 4 de

Temps (heures)	Traitements	Valeurs moyennes	Groupes
24	Témoins	64,17	a
	<i>O. vulgare</i>	45,00	b
	<i>T. vulgaris</i>	30,60	b

*Cx. pipiens* au cours de différentes périodes après traitement aux HEs des deux plantes (CL<sub>50</sub>): test HSD de Tukey.

48	Témoins	65,76	a
	<i>T. vulgaris</i>	28,85	b
	<i>O. vulgare</i>	27,82	b
72	Témoins	62,74	a
	<i>T. vulgaris</i>	25,28	b
	<i>O. vulgare</i>	22,15	b

### 3. Discussion

#### 3.1. Effet des HEs sur la croissance

Les paramètres morphométriques du corps des moustiques peuvent influencer quelques paramètres tels que le volume du sang consommé, le degré de son utilisation dans les voies métaboliques, le nombre d'œufs qui arrive à la maturation (Hosoi, 1954 b; Van Den Heuvel, 1963) et le potentiel de transmission des maladies (Farjana & Tuno, 2013). Le poids corporel des insectes dépend généralement de la présence d'aliments dans leurs habitats, des conditions environnementales et en particulier des caractères héréditaires de chaque espèce (Braquenier, 2009). Colless & Chellapah (1960) ont démontré la relation entre la fécondité d'*Aedes aegypti* et la quantité de sang ingéré qui sont tous deux sous le contrôle du volume corporel, déterminant d'une part l'ovogenèse et d'autre part, le nombre d'œufs produits.

Les résultats de notre étude ont démontré que les HEs extraites de deux plantes, affectent légèrement la croissance pondérale des individus, en réduisant le poids corporel des larves 4 de *Cx. pipiens*. Des résultats similaires sur la même espèce *Cx. pipiens* ont été signalés par Driset *al.* (2017 b) qui ont enregistré une diminution significative du poids des larves, des pupes et des adultes traités avec les HEs d'*O. basilicum*. Des travaux sur les biopesticides d'origine végétales ont montré des effets délétères sur la croissance et le développement des insectes, en réduisant le poids des larves, des pupes et des adultes et l'allongement des stades de développement (Talukder, 2006). Dris (2018) a montré que les HEs de *L. dentata* et *M. piperita* provoquent une réduction des paramètres morphométriques des larves, des pupes et des adultes mâles et femelles chez deux espèces de moustiques, *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata*. Le poids corporel des insectes a été également affecté par d'autres insecticides, tels que *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* traités au spiromésifin (Bouabida *et al.*, 2017 a,b), *Cs. longiareolata* traité par le novaluron (Bouaziz *et al.*, 2011), *Drosophila melanogaster* traitée par le spiromésifin (Kissoum & Soltani, 2016) et *Plutella xylostella* traité à l'indoxacarb (Mahmoud *et al.*, 2011). Par contre, Hamaidia & Soltani, (2014) n'ont signalé aucun effet sur ce paramètre après l'application du kinoprène. Plusieurs pesticides d'origine végétales ont induit des perturbations de la croissance, de la durée de développement et de l'émergence des adultes des insectes (Shaalani *et al.*, 2005). L'extrait éthanolique de *Melia azedaracha* réduit le taux de croissance des larves de *Spodoptera littoralis*, un blocage de la pupaison et une réduction du poids de la pupa suite à une diminution de la consommation d'aliments et la digestibilité des larves (Akacha *et al.*, 2017).

#### 3.2. Effet des HEs sur les réserves énergétiques des moustiques

Les huiles essentielles extraites à partir de plusieurs plantes peuvent engendrer des perturbations biochimiques exprimées par une augmentation ou un déclin en différents métabolites (protéines, carbohydrates, lipides)(Yazdani *et al.*, 2013 ; Driset *et al.*, 2017 b ; Gnanamani & Dhanasekaran, 2017). Il est important d'étudier les modifications de la composition biochimique des individus traités par des insecticides botaniques, pour déterminer le pouvoir toxique de ces derniers (Sak, 2006).

### 3.2.1. Effet sur le contenu en protéines

Dans les études physiologiques, la détermination des protéines totales et de nombreuses macromolécules chimiques, telles que les lipides et les carbohydrates, est importante (Yazdani *et al.*, 2014). Chez les insectes, les protéines et les acides aminés jouent un rôle majeur durant les différentes phases de leur vie, ce sont des composants biochimiques majeurs nécessaires au développement, à la croissance et à l'accomplissement de ses activités vitales (Yazdani *et al.*, 2014). La teneur de l'insecte en protéines dépend de sa synthèse, sa dégradation, du mouvement de l'eau entre les tissus et de l'hémolymphe (Gnanamani & Dhanasekaran, 2017). Cependant, elles peuvent être inductibles à la suite d'une exposition à des xénobiotiques (Haubruge & Amichot, 1998).

Les résultats obtenus au cours de notre expérimentation, montrent que l'application des HEs (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) de *T. vulgaris* et *O. vulgare* sur les larves 4 de *Cx. pipiens*, diminue le contenu en protéines avec l'effet marqué de *O. vulgare*. Des résultats similaires ont été enregistrés chez la même espèce suite à un traitement par les HEs de *O. basilicum* (Dris *et al.*, 2017 b) et chez *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* traités à la lavande et à la menthe (Dris, 2018). Les résultats de Sharma *et al.* (2011) ont montré que les teneurs en protéines ont été réduites à 63,13% et 92,62% chez les Anophelins et à 32,39% et 48,12% chez les larves de Culicidés après traitement aux extraits d'*Artemisia annua* et d'*Azadirachta indica*, respectivement. De même, il a été rapporté que le contenu en protéines réduit chez les larves d'*Anopheles stephensi* traitées avec certains extraits végétaux (Senthilkumar *et al.*, 2009). En effet, le taux de protéines est significativement affecté chez les nymphes de *Callosobruchus maculatus* nourries avec une lectine végétale de *Bauhinia monandra* (Macedo *et al.*, 2007). En outre, l'expression des protéines chez *Spodoptera litura* a été significativement diminuée après traitement avec l'azadirachtine (Huang *et al.*, 2004). Smirle *et al.* (1996) et Huang *et al.* (2004) ont signalé que l'exposition des larves de lépidoptères de *Choristoneura rosaceana* et de *Spodoptera litura* à des bioinsecticides puissants (huile de neem et azadirachtine) a entraîné une réduction significative des niveaux de protéines. De plus, les larves de cinquième stade de *Pericallia ricini* (Lepidoptera: Arctiidae) traitées avec différentes doses d'extrait de feuilles d'*Azadirachta indica* ont montré une forte diminution en protéines. Par contre, des résultats opposés ont été observés par Madaci *et al.* (2008) et qui ont montré que les extraits hydroalcooliques des feuilles de *Nerium oleander* (Apocynaceae) provoquent une augmentation des taux de protéines chez les larves blanches de *Rhizotrogini* (Coleoptera: scarabaeidae).

Plusieurs travaux réalisés sur d'autres molécules d'insecticides et d'autres espèces d'insectes ont montré une diminution du contenu en protéines (Rouibi, 2002 ; Kapelnikov *et al.*, 2008 ; Khosravi&Sendi, 2010 ;Ebadollahiet *al.*,2013 ;Yazdani *et al.*, 2013 ; Mojarab-Mahboubkaret *al.*, 2015 ;Askar *et al.*, 2016 ;Borzouiet *al.*,2016). Cette diminution de la teneur en protéines est probablement due à un ou plusieurs facteurs, comme une réduction de la synthèse des protéines, une interférence de l'extrait (bioinsecticide) avec les hormones régulatrices de la synthèse des protéines ou une augmentation de la dégradation des protéines pour détoxifier le principe actif présent dans ces extraits (Ramakoteswara *et al.*, 1991 ; Vijayaraghavan *et al.*, 2010 ; Sharma *et al.*, 2011) et enfin le besoin accru en énergie dans les conditions de stress peut conduire au catabolisme des protéines (Gnanamani&Dhanasekaran, 2017).

### 3.2.2. Effet sur le contenu en glucides

Les glucides forment un groupe de composés très importants. Certains représentent une source d'énergie pour les organismes vivants, soit immédiatement utilisable (tréhalose), soit sous forme de réserves (glycogène) ; d'autres ont un rôle structural (cellulose, chitine, acide hyaluronique)(Nation, 2008). Les taux de glycogène et de tréhalose dans les tissus sont étroitement liés aux événements physiologiques tels que le vol, la mue, et la reproduction (Wiens& Gilbert, 1967 ; Kaufmann & Brown, 2008). Le tréhalose est la fraction la plus importante des glucides circulants. Il joue un rôle métabolique de premier plan dans le cycle de développement (Steel, 1981) et constitue une source énergétique essentielle en libérant le glucose sous l'action d'une enzyme, tréhalase.Sa concentration dans l'hémolymphe est déterminée par la vitesse de deux processus: son retrait pour les besoins énergétiques de l'insecte et son stockage dans le corps gras (Wyatt, 1967).

Nos résultats montrent une réduction significative des niveaux de glucides chez les larves traitées par les huiles essentielles des deux plantes *T.vulgaris* et *O.vulgare*. Des résultats similaires ont été observés par Driset *al.* (2017 b), qui ont noté une perturbation des glucides totaux chez les larves et les pupes de *Cx. pipien* traitées aux huiles de l'*Ocimum basilicum* et par Khosravi *et al.*(2011) chez les larves de *Glyphodespyloalis* traitées avec l'extrait d'*A.annua*. AbdulRazak&Sivasubramanian (2007) ont constaté que les glucides chez les femelles adultes de *Chrysoperlacarnea* ont été affectés par l'huile de *Manduca*. Ce composé a été également réduit chez les larves de *Glyphodespyloalis* traitées à l'huile de *Lavandula angustifolia* (Yazdani *et al.*, 2013) ;chez *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* traités à la lavande et à la menthe (Dris, 2018) et chez les larves de *Crocodolomiabinotalis* traitées aux extraits de *Strychnos nuxvomica*, *Vitex negunduet Lippianodiflora* (Vijayaraghavan *et al.*, 2010). Dans des conditions de stress, plus de sucres pourraient être métabolisés pour faire face aux dépenses énergétiques (Yazdeni *et al.*, 2014). Cela pourrait être la raison de l'appauvrissement en carbohydrates chez les insectes traités.

### 3.2.3. Effet sur le contenu en lipides

Les lipides sont également des composants importants formés 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 (Beenakker *et al.*, 1985), transportés du corps gras, site de leur synthèse et stockage (Keely, 1986 ; Van Hensdan & Law, 1989) vers les organes utilisateurs, notamment les ovaires (Kilby, 1963 ; Chino *et al.*, 1981), via l'hémolymphe pour être utilisés lors de la vitellogénèse (Downer, 1985 ; Keely, 1986). Les réserves lipidiques semblent être la résultante d'un équilibre entre la prise de nourriture et les dépenses énergétiques indispensables pour certains processus tel que la croissance (Beenakker *et al.*, 1985).

Dans la présente étude, les résultats obtenus montrent que le traitement des larves de *Cx. pipiens* par les huiles essentielles extraites à partir de *T. vulgaris* et d'*O. vulgare* avec la CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub> affecte le contenu en lipides. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Dris (2018) qui a constaté que le contenu en lipides réduit chez les larves et les pupes de *Cx. pipiens* après traitement au basilic, à la lavande et la menthe. Les travaux de Senthilkumar *et al.* (2009), ont également démontré une réduction des lipides totaux chez les larves d'*An. stephensi* traitées avec certains extraits de plantes. Des résultats similaires ont été observés par Sharma *et al.* (2011) qui ont rapporté que les teneurs en lipides chez les larves d'Anophélidés et de Culicidés diminuent de 28,57% et de 25,0% respectivement après traitement avec l'extrait d'*Artemisia annua*. Le taux de lipides chez les larves 4 de *Glyphodespyloalis* a été affecté après traitement à l'huile de *Lavandula angustifolia* (Yazdani *et al.*, 2013). La réduction des lipides chez les larves traitées aux huiles essentielles peut être due à leur effet sur le métabolisme lipidique et à l'utilisation de réserves lipidiques pour produire de l'énergie indispensable pour lutter contre ce stress (Olga *et al.*, 2006).

### 3.3. Effet des HEs sur les acides nucléiques des moustiques

Les êtres vivants sont constitués de certaines biomolécules complexes (acides nucléiques et protéines) intervenant dans certains processus physiologiques notamment la reproduction (Bergeron & Regnault, 1980). Le dosage des acides nucléiques a une importance particulière en raison de la relation entre le rapport ADN / ARN et les niveaux de croissance chez une grande variété d'organismes marins tels que les phytoplanctons (Berdalet & Dortch, 1991; Berdalet & Estrada, 1993), les bactéries (Kerkhof & Ward, 1993; Jeffrey *et al.*, 1996; Mordy & Carlson, 1991), les poissons (Buckley & Lough 1987; Bulow, 1987) et les invertébrés (Sutcliffe, 1970). L'exposition à des xénobiotiques, induit des changements dans le matériel génétique ainsi que dans la protéosynthèse car il a été prouvé que certains de ces molécules (par exemple, le DDT) agissent au niveau cellulaire et stimulent la transcription des gènes. Ces substances semblent affecter soit les histones ou les protéines acides qui sont impliqués dans le contrôle de l'expression génétique (Vladimirov *et al.*, 1991).

La présente étude montre que les acides nucléiques chez les individus traités aux HEs des deux plantes sont perturbés. Les résultats obtenus révèlent une diminution du taux d'ADN et du taux d'ARN chez les larves 4 de *Cx. pipiens* à différentes périodes. Plusieurs études réalisées ont démontré la réduction des taux d'ADN et

d'ARN, suite à une exposition aux pesticides (Rathodet *al.*, 2009). Chez *Daniorerio* (Cyprinidae), la teneur en ADN semble être affectée après l'action directe de la lambda-cyhalothrine et l'extrait de neem (Nutan & Ravindra, 2010). Ce même auteur a proposé deux hypothèses : soit ces pesticides agissent indirectement et bloquent certaines voies métaboliques nécessaires à la synthèse de l'ARN, ou bien ils ont un impact direct sur celui-ci (Nutan & Ravindra, 2010). L'évaluation des effets du RH-2485 et RH-5992 sur le taux des acides nucléiques, montre respectivement une réduction et une élévation du taux d'ADN au niveau des testicules d'*Ephesiakuehniella* (Bouzeraa, 2009). Les travaux de Meskache & Soltani-Mazouni, (2013) enregistrent une diminution hautement significative de la quantité d'ADN testiculaire chez les adultes d'*E. kuehniella*, après traitement au RH-5849 et le RH-2485 contrairement au RH-5992 qui la stimule. Une augmentation du taux d'acides nucléiques a été enregistrée par Soltani Mazouni & Hami (2010) après traitement des femelles d'*E. Kuehniella* par le RH-5992. Le traitement avec d'autres agonistes des ecdystéroïdes, le RH-0345, RH-5849 ainsi le RH-5992 entraîne une réduction du contenu ovarien en ADN chez *T. molitor* (Soltani Mazouni *et al.*, 2001). Des travaux réalisés sur les acides nucléiques ont montré que le lisinopril stimule la synthèse des acides nucléiques testiculaires et ovariens, de plus l'énalapril n'as pas d'effet sur l'ADN testiculaire mais stimule la synthèse d'ARN testiculaire et des acides nucléiques ovariens chez un ravageur des denrées stockées *E. kuehniella* (Bensalem-Djidi, 2014). Par ailleurs, les travaux de Jaksic *et al.* (2008) ont montré une perturbation de la quantité d'ADN chez *Gambusia affinis* après exposition au lindane, avec un effet dose/réponse.

Des résultats similaires ont été observés chez les poissons d'eau douce *Punctius arenatus* suite à une exposition aux pesticides (Nutan & Ravindra, 2010). En outre, Tripathi & Singh (2003) ont noté une diminution du contenu en acides nucléiques chez des poissons exposés au diméthoate. L'application du Diflubenzuron sur des femelles adultes de *T. molitor*, réduit de façon significative le contenu nucléiques des ovaires (Soltani-Mazouni *et al.*, 2007). La cyperméthrine a également modifié le taux des protéines totales, des acides aminés libres dans le foie et les muscles et le taux des acides nucléiques (ADN /ARN) dans les gonades d'un poisson téléostéen, *Colisafasciatus* (Singh *et al.*, 2010). Ahmad *et al.* (2012), a constaté une perturbation des constituants cellulaires de base (protéines totales, acides aminés libres et les acides nucléiques dans les organes vitaux, comme les branchies, le foie et les ovaires). Un blocage dans la synthèse d'ARN peut affecter la quantité des protéines, car l'ARN joue un rôle prépondérant dans la synthèse protéique (Nutan & Ravindra, 2010).

Dans des études antérieures, Mitlinet *al.* (1977) ont montré que la diminution de l'activité sexuelle chez *Anthonamus grandis* résulte de l'inhibition de la synthèse d'ADN par le diflubenzuron (DFB), un autre inhibiteur de la synthèse de la chitine chez les femelles adultes. Swietla & Zuk, (1978) ont rapporté que les herbicides agissent comme inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques et des protéines. Alors que Bendjeddou, (1993) et après traitement des femelles d'*E. Kuehniella* par le flucycloxyuron (FCX) un autre inhibiteur de la synthèse de la chitine, constate une stimulation de la synthèse de l'ADN ovarien.

Des chercheurs ont trouvé que la baisse des niveaux d'acides nucléiques dans le foie des souris exposées au carbosulfan, pourrait être à l'origine d'une action génotoxique (diminution de l'index mitotique), d'une perturbation de la division cellulaire (Topktaset *al.*, 1996) ou d'une action inhibitrice du pesticide sur la synthèse d'ADN et d'ARN (Walter *et al.* , 1980) ou de la mort cellulaire due à une nécrose (Shivanandappa&Krishnakunari, 1981).

# CONCLUSION ET PERSPECTIVES



### 3. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'utilisation intensive et abusive des insecticides conventionnels contre les moustiques a entraîné divers problèmes environnementaux, atteinte des organismes non ciblés et l'apparition des espèces résistantes. De ce fait, la principale préoccupation des scientifiques est la recherche de nouvelles méthodes plus sélectives, biodégradable, amies de l'environnement et avec un faible risque toxicologique pour l'homme et les animaux telles que les pesticides d'origine végétale. Plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées avec 344 espèces ont une activité anti culicidienne.

Les HEs de deux plantes appartenant à la famille des Lamiaceae présentent des rendements de 1,58 % et 1,71% de la matière sèche de la partie aérienne de *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* respectivement. L'analyse chimique par CPG-SM des HEs extraites de *T. vulgaris* a révélé une abondance des composés monoterpéniques dominés par la présence de Linalool (82,88%). Alors que les HEs de *O. vulgare* sont caractérisées par la présence de Carvacrol (77,63%) comme composé majoritaire.

Ces HEs ont été testées sur *Culex pipiens*, l'espèce de moustique la plus abondante dans la région de Tébessa. Leurs actions ont été évaluées sur plusieurs aspects : toxicologique, morphométrique, biochimique, et les biomarqueurs.

Les essais toxicologiques ont permis de déterminer les concentrations sous létales et létales des huiles de deux plantes à l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuvies de *Cx. pipiens*. Elles révèlent un effet insecticide avec une relation dose-réponse. Les HEs de *O. vulgare* représentent un pouvoir larvicide très élevé contre *Culex pipiens* par rapport aux HEs de *T. vulgaris*.

L'évaluation d'un biomarqueur de neurotoxicité, indique que les HEs de *T. vulgaris* et *O. vulgare* n'ont pas d'effet neurotoxique chez *Cx. pipiens* puisqu'aucun

effet n'a été signalé sur l'activité spécifique de l'AChE. De plus, ces huiles provoquent une réduction du taux de la GSH et une augmentation de l'activité des GSTs chez les traités comparativement aux témoins, suggérant une induction des processus de détoxication.

De plus, les HEs extraites de deux plantes, affectent la croissance pondérale des individus, en réduisant légèrement le poids corporel des larves 4 de *Cx. pipiens*. Enfin, les réserves énergétiques et les acides nucléiques des larves sont perturbés sous l'effet des huiles essentielles. Les résultats révèlent une diminution significative du contenu en protéines, glucides et lipides avec un effet plus marqué de l'origan. Cette perturbation a été également observée pour les acides nucléiques. Les résultats montrent une diminution du taux de l'ADN accompagnée d'une baisse du taux d'ARN.

Ceci suggère un effet dépressif des huiles essentielles sur la reproduction, le vol et la nuisance de cette espèce.

A l'avenir, il serait intéressant de compléter le présent travail par :

- ❖ 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 larvicide.
- ❖ Purification des composés majoritaires et mineurs de ces HEs et étudier leurs effets sur les moustiques.
- ❖ Etude de l'impact de ces HEs sur le potentiel reproducteur des moustiques.
- ❖ Evaluation de l'impact des variations saisonnières sur le rendement, la composition chimique et l'efficacité de ces huiles essentielles.
- ❖ Evaluation de l'activité biologique de ces huiles, activité antibactérienne, antifongique et antioxydante.

**RESUMES**



## RESUME

Cette présente étude a pour but de déterminer la composition chimique des huiles essentielles extraites de *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* (Lamiaceae), cultivés dans la région de Blida et de Sétif respectivement, et d'évaluer leurs activités larvicides à l'égard d'une espèce de moustique la plus abondante dans la région de Tébessa, *Culex pipiens* L. (Diptera : Culicidae).

Les HEs extraites de *T. vulgaris* et d'*O. vulgare* ont été testées à différentes concentrations sur les larves 4 nouvellement exuviées de *Culex* dans les conditions du laboratoire selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé.

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

Le rendement des HEs de *T. vulgaris* et d'*O. vulgare* obtenues par hydrodistillation, affiche des valeurs de 1,58 et 1,71% de la matière sèche respectivement. Leur composition chimique a été déterminée par CPG-SM. L'analyse chimique a montré que les HEs de *T. vulgaris* et d'*O. vulgare* contiennent 18 et 25 composés respectivement, avec linalool (82,88%) et carvacrol (77,63%) comme constituants majoritaires respectivement.

Les tests toxicologiques effectués selon le protocole standard de l'OMS, ont révélé l'activité larvicide de ces HEs. De plus, l'HE d'*O. vulgare* est plus efficace par rapport aux HEs de *T. vulgaris*.

L'activité enzymatique déterminée chez les larves traitées (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) aux huiles essentielles a révélé une perturbation de l'activité de l'acétylcholinestérase et une induction du système de détoxification, traduite par une inhibition de la GSH et une augmentation de l'activité des GSTs.

Par ailleurs, l'étude morphométrique montre que les HEs provoquent une légère diminution du poids corporel des individus des larves 4 de *Cx. pipiens*. De plus, elles réduisent le contenu en protéines, glucides et lipides. Cela est probablement dû aux conditions de stress imposées par le traitement à ces insectes qui ont besoin d'un apport supplémentaire d'énergie provenant du métabolisme glucidique et lipidique. Le taux d'acides nucléiques (ADN et ARN) a été

également perturbé après traitement des larves par les HEs des deux plantes. Ceci suggère un effet dépressif de ces huiles sur la reproduction qui est un facteur de pullulation des moustiques.

Les HEs de *T. vulgaris* et d'*O. vulgare* sont efficaces dans la lutte biologique contre les moustiques puisque aucun effet neurotoxique n'a été signalé.

**Mots clés :** Moustiques, Huiles essentielles, *Culex pipiens*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, Toxicité, Biomarqueurs, Morphométrie, Composition biochimique.

## ABSTRACT

The present study was conducted in order to determine the chemical composition of the leaf essential oil of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* (Lamiaceae) cultivated in Blida and Setif (Algeria) and to assess their potential larvicidal activity against *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae), the most abundant and investigated mosquito species in Tebessa area.

The essential oils extracted from *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* were tested at different concentrations on newly molted fourth-instar larvae of *Culex*, under standard laboratory conditions according to the World Health Organization recommendations. The effects were examined on the mortality, the enzymatic (AChE, GSTs) and non-enzymatic (GSH) biomarkers, the morphometric measurements, and the biochemical composition of larvae.

The EOs yield calculated from the dry matter of the aerial part of *T. vulgaris* and *O. vulgare* were 1.58 % and 1.71 % respectively. Its chemical compositions investigated by GC-MS, showed that *T. vulgaris* and *O. vulgare* essential oils contained eighteen and twenty five compounds respectively, with linalool (82.88%), and carvacrol (77.63%) as major components respectively.

Bioassay test done following the World Health Organization standard protocol revealed that these essential oils exhibited larvicidal activity. Moreover, *O. vulgare* EO appeared most toxic in comparison with *T. vulgaris*.

The enzymatic and non enzymatic biomarkers performed in treated larvae (LC<sub>25</sub> and LC<sub>50</sub>) revealed no effects in specific activity of AChE and an activation of detoxification system as showed by an increase in GST activity and a decrease in GSH rate.

Moreover, the morphometric study showed that the tested essential oils were found to reduce the weight of larvae of *Cx. pipiens*. Lastly, the biochemical compositions show that the essential oils affected the energy reserves (carbohydrates, proteins, lipids) with a marked effect on lipids of larvae. This is probably due to the stress induced by these EOs in mosquitoes which require additional energy input from carbohydrate and lipid metabolism in

particular. In addition, a decrease of DNA and RNA were recorded after treatment of larva with EOs.

Our results proved the potential use of this natural material as an alternative to synthetic insecticides for controlling mosquitoes. This suggests a depressive effect of these oils on reproduction which is a factor of mosquito multiplication.

**Keywords:** Mosquitoes, Essential oils, *Culex pipiens*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, Toxicity, Biomarkers, Morphometry, Biochemistry.

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد التركيبة الأساسية للزيوت المستخلصة من نبتتين الزعتر والزعيترة المتحصل عليهما في منطقة البلدة و سطيف وتحديد فعاليتها ضد يرقات البعوض *Culex pipiens* الأكثر انتشارا في منطقة تبسة.

الزيوت الأساسية المستخلصة من الزعتر والزعيترة تم تجربتها باستعمال عدة تراكيز على يرقات الطور الرابع لنوع من البعوض *Culex* في ظروف مخبرية حسب توجيهات المنظمة العالمية للصحة.

تأثيرات هذه الزيوت تم فحصها على موت اليرقات، على المؤشرات الحيوية الإنزيمية (AChE, GSTs) وغير الإنزيمية (GSH)، على المعايير القياسية والبيوكيميائية لليرقات.

مردود الزيوت الأساسية المستخلصة من الزعيترة والزعتر يظهر قيم 1.58 و 1,71% من المادة الجافة على التوالي، وكشف التحليل الكيميائي عن طريق (CPG/SM) لهذه الزيوت على وجود 18 و 25 مركب مع توفرها على Linalool (88.82%) و Carvacrol (77.63%) كمكونين سائدين لكل من الزعيترة والزعتر على التوالي.

أظهرت الاختبارات السمية التي أجريت حسب توجيهات المنظمة العالمية للصحة أن هذه الزيوت تمتلك خصائص مبيدات حشرية وأن الزيت المستخلص من الزعتر هو الأكثر فعالية من الزيت المستخلص من الزعيترة.

بكشف المؤشرات الحيوية التي تمت معايرتها عند اليرقات المعالجة بالزيوت الأساسية عن عدم تأثير النشاط النوعي لـ AChE وتخفيف نظام إزالة السموم بواسطة زيادة في GST ونقصان في GSH.

الدراسات القياسية توضح أن الزيوت الأساسية تسبب نقص في نمو الأفراد كما أنها تنقص من محتوى البروتينات، الكربوهيدرات والدهون عند اليرقات وهذا يحتمل أن يكون راجع إلى احتياجاتهم الإضافية للطاقة الناجمة عن الاستقلاب السكري والدهني وهذا لمواجهة حالة التوتر التي تعرضت إليها هذه الحشرة من جراء معالجتها بهذه الزيوت الأساسية، من جهة أخرى لاحظنا نقص في قيمة الأحماض النووية (ADN/ARN) لليرقات.

الزيوت الأساسية للزعتر والزعيترة يظهر فعالية كبيرة في المكافحة البيولوجية ضد البعوض وهذا راجع إلى عدم تأثيرهم على النشاط AChE.

## الكلمات المفتاحية:

البعوض، الزيوت الأساسية، *Culex pipiens*، *Thymus vulgaris*، *Origanum vulgare*، السمية، المؤشرات الحيوية، المعايير القياسية، البيوكيميائية.

**REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**



## 5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

## A

- Abbott, W.B. (1925).** A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18: 265 – 267.
- Abdul Razak, T. & Sivasubramanian, P. (2007).** Effect of three botanical oil on carbohydrate content in *Cheilomenes sexmaculata Fabricius* and *Chrysoperla carnea Stephens*. *Asian Journal of Biochemistry*. 2: 124 – 129.
- Abedini, S., Sahebkar, A. & Hassanzadeh-Khayyat, M. (2014).** Chemical composition of the essential oil of *Thymus vulgaris* L. grown in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 17 (3) : 538 – 543.
- Abu Lafi, S., Odeh, I., Dewik, H., Qabajah, M., Hanus, L.O. & Dembitsky, V.M. (2008).** Thymol and carvacrol production from leaves of wild Palestinian *Majorana syriaca*. *Bioresource Technology*. 99: 3914–3918.
- Adams, R.P. (2007).** Identification of essential oil components by gas chromatograph/mass spectrometry 4th ed. Carol Stream, USA: Allured Publishing Corporation.
- Adebayo, O., Dang, T., Belanger, A. & Khanizadeh, S. (2012).** Anti-fungal studies of selected essential oils and a commercial formulation against *Botrytis Cinerea*. *Journal of Food Research*. 2 (1) :217 – 226.
- Adefeghaa, S.A., Oboha, G., Odubanjo, T. & Ogunsuyia, O.B. (2015).** A comparative study on the antioxidative activities, anticholinesterase properties and essential oil composition of Clove (*Syzygium aromaticum*) bud and Ethiopian pepper (*Xylopi aethiopica*). *La rivista italiana delle sostanze grasse*. 92: 257 – 286.
- Adeyi, A.O., Akozi, G.O., Adeleke, M.A., Agbaogun, B.K.O. & Idowu, A.B. (2014).** Induction and activity of glutathione S-transferases extracted from *Zonocerus variegatus* (Orthoptera: Pyrgomorphidae) exposed to insecticides. *International Journal of Tropical Insect Science*. 1–7.
- Aebi, H. (1983).** Catalase. In: Bergmeyer, H. ed. *Methods in enzymatic Analysis*. New York, Academic Press. 3: 276– 286.
- Ahmad, M.K., Sharma, D.K., Ansari, S. & Ansari, B.A. (2012).** Effect of lambda-cyhalothrin and Neemgold on some biochemical parameters in the gill, liver, and ovary of zebrafish, *Danio rerio* (Cyprinidae). *Archives of Polish Fisheries*. 20: 19 – 25.
- Ahn, Y.J., Lee, S.B., Lee, H.S. & Kim, G.H. (1998).** Insecticidal and acaricidal activity of Carvacrol and Thujaplicine derived from *Thujopsis dolabrata* var. *hondai* Sawdust. *Journal of Chemical Ecology*. 24(1):81– 90.
- Aidi Wannes, W., Mhamdi, B., Sriti, J., Ben Jmia, M., Ouchikh, O., Hamdaoni, G. et al. (2010).** Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from Myrtle (*Myrtus communis* var. *italica*) Leaf, Stem and Flower. *Food and Chemical Toxicology*. 48 (5): 1362 – 1370.

- 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 : 104 – 109.
- Akacha, M., Chaieb, I., Laarif, A., Haouala, R. & Boughanmi, N. (2017).** Effects of *Melia azedarach* leaf extracts on nutritional behavior and growth of *Spodoptera littoralis*. *Tunisian Journal of Plant Protection*. 12:61 – 70.
- Akhlaghi, H. (2008).** The essential oils from flowers, stems and leaves of *Ferulago angulate* from Iran. *Chemistry of Natural Compounds*. 44 (3) : 396– 397.
- Alessio, L., Roberto, G., Paolo, P. & Marco, V. (2016).** Natural variability of enzymatic biomarkers in freshwater invertebrates. *Environmental Science and Pollution Research*. 24(1): 1 – 11.
- Alphey, L., Ben Beard, C., Billingsley, P., Coetzee, M., Crisanti, A. & Curtis, C. (2002).** Malaria control with genetically manipulated insect vectors. *Science*. 298 (5591): 119– 121.
- Al Qahtani, A.M., Zamzam, M., AlDhafar, M., Naema, B., Kassas, E.L. & Rady, M.H. (2010).** Toxicological and biochemical effects of different biological control agents used against the disease vectors, *Culex pipiens* and *Aedes caspius*. *Al-Azhar Bulletin of Science*. 21 (2): 1 – 15.
- 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).** Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* larvae (Diptera, Culicidae). *Parasitology Research*. 99(4): 466 – 472.
- Andi, S.A., Nazeri, V., Hadian, J. & Zamani, Z. (2013).** Chemical composition of essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *viride* from Iran. *Journal of essential oil-bearing plants*. 14(6): 805 – 809.
- 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.
- Arras, G. & Usai, M. (2001).** Fungitoxic Activity of 12 essential oils against four post harvest *Citrus* pathogens: Chemical analysis of *Thymus capitatus* oil and its effect in subatmospheric pressure conditions. *Journal of Food Protection*. 64: 1025– 1029.
- Askar, S.I., Al-Assaal, M.S. & Nassar, A.M.K. (2016).** Efficiency of some essential oils and insecticides in the control of some *Sitophilus* insects (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Plant Protection Research*. 4(2) :39 – 55.
- Atti-Santos, A.C., Pansera, M.R., Paroul, N., Atti-Serafini, L. & Moyna, P. (2004).** Seasonal variation of essential oil yield and composition of *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) from South Brazil. *Journal of Essential Oil Research*. 16 (4) : 294 – 295.

**Ayvaz, A., Karaborklu, S. & Sagdic, O. (2009).** Fumigant toxicity of five essential oils against the eggs of *Ephestia kuehniella* Zeller and *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Asian Journal of Chemistry*. 21: 596 – 596.

<b>B</b>
----------

**Badiou, A. (2007).** Caractérisation cinétique et moléculaire du biomarqueur acétylcholinestérase chez l'Abeille, *Apis mellifera*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université de Paul Cezanne AIX-MARSEILLE III. 147 pages.

**Badiou, A., Brunet, J.L. & Belzunces, L.P. (2007).** Existence of two membrane-bound acetylcholinesterases in the honeybee head. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 66 : 122– 134.

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

**Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. & Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*. 46 (2) : 446– 475.

**Banafshi, O., Abai, M.R., Ladonni, H., Bakhshi, H., Karami, H. & Azari-Hamidian, S. (2013).** The fauna and ecology of mosquito larvae (Diptera: Culicidae) in western Iran. *Turkish Journal of Zoology*. 37: 298 – 307.

**Bandeira, G.N., Augusto Gomes da Camara, C., Martins de Moraes, M., Barros, R., Muhammad, S. & Akhtar, Y. (2013).** Insecticidal activity of *Muntingia calabura* extracts against larvae and pupae of diamondback, *Plutella xylostella* (Lepidoptera, Plutellidae). *Journal of King Saud University Science*. 25 : 83– 89.

**Barata, C., Damasio, J.B., Lopez, M.A., Kuster, M., Lopez de Alda, M., Barcelo, D. et al (2007).** Combined use of biomarkers and in situ bioassays in *Daphnia magna* to monitor environmental hazards of pesticides in the field. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 26 : 370 – 379.

**Baser, K.H.C., Tümen, G. & Duman, H. (1997).** Essential oil of *Origanum acutidens* (Hund. Murr.) letswaart. *Journal of Essential Oil Research*. 9: 91 – 92.

**Baser, K.H.C. (2008).** Biological and pharmacological activities of Carvacrol and Carvacrol bearing essential oils. *Current Pharmaceutical Design*. 14 (29): 3106 – 3119.

**Baser, K.H.C. & Buchbauer, G. (2010).** Handbook of Essential Oils: science, technology, and applications. Taylor and Francis Group, LLC, USA. 994pages.

**Basli, A., Chibane, M., Madani, K. & Oukil, N. (2012).** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*. 10 : 2–9.

**Baytop, T. (1999).** Therapy with medicinal plants in Turkey; today and in past. Istanbul University. Press, Istanbul.

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

- Beenakers, A.M.T.H., Vander Host, D.G. & Van Marrewijk, W.J.A. (1985).** Insect lipids and lipoproteins and their role in physiological process. *Progress in Lipid Research*. 24 : 19 – 67.
- Belaiche, P. (1979).** *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. Tome1 : l'Aromatogramme. Maloine. Paris. 204 pages.
- Belhatab, R., Larous, L., Kalantzakis, Y., Boskou, D. & Exarchou, V. (2004).** Antifungal properties of *Origanum glandulosum Desf* extracts. *Journal of Food Agriculture and Environment*. 2: 69–73.
- Belhatab, R., Larous, L., Figueiredo, A., Santos, P.A.G., Barroso, J.G. & Pedro, L.G. (2005).** *Origanum glandulosum Desf.* grown wild in Algeria: essential oil composition and glycosidic bound volatiles. *Flavour and Fragrance Journal*. 20(2): 209–212.
- Benayache, F., Bouregghda, A., Ameddah, S., Marchioni, E., Benayache, F. & Benayache, S. (2014).** Flavonoids from *Thymus numidicus* Poiret. *The Pharma Letter*. 6 (2): 50 – 54.
- Bendjeddou, F. (1993).** La reproduction chez *Ephestia kuehniella* (Zeller) et effet du flucyloxuron. Aspects toxicologiques, biologique et biochimiques. Thèse de magistère. Université d'Annaba, Algérie.
- Benelli, G. (2015b).** Plant borne ovicides in the fight against mosquito vectors of medical and veterinary importance : a systemic review. *Journal of Parasitology Research*. 114 : 3201 – 3212.
- Benelli, G., Pavela, R., Canale, A. & Mehlhorn, H. (2016b).** Tick repellents and acaricides of botanical origin: a green road map to control tick-borne diseases?. *Parasitology Research*. 115 (7): 2545 – 2560.
- Ben Marzoug, H.N., Romdhane, M., Lebrihi, A., Mathieu, F., Couderc, F. & Abderraba, M. (2011).** *Eucalyptus oleosa* essential oils: chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the oils from different plant parts (Stems, Leaves, Flowers and Fruits). *Molecules*. 16(2): 1695 – 1709.
- Berdalet, E. & Dortch, Q. (1991).** New double-staining technique for RNA and DNA measurement
- Bensalem-Djidi, F. (2014).** *Effet de deux hypotenseurs le lisinopril et l'enalapril sur quelques paramètres de la reproduction d'un ravageur des denrées stockées Ephestia kuehniella (Lépidoptère : Pyralidé)*. Thèse en vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Spécialité : Biologie Animale Environnementale. Université Badji Mokhtar, Annaba. 97 pages.
- in marine phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*. 73 : 295 – 305.
- Berdalet, E. & Estrada, M. (1993).** Relationships between nucleic acid concentrations and primary production in the Catalan Sea (Northwestern Mediterranean). *Marine Biology*. 117: 163–170.
- Bergeron, R. & Regnault, J.P. (1980).** Reproduction et développement. Collection Biomoduls. Edition études vivantes. Monreale, Paris. 28: 19–28.
- Bianchi, M., Petracci, M. & Cavani, C. (2006).** Effects of dietary inclusion of dehydrated lucerne and whole linseed on rabbit meat quality. *World Rabbit Science*, 14 (4): 247– 257

- Borkent, A. (2012).** The pupae of Culicomorpha - Morphology and a new phylogenetic tree. *Zootaxa*. 3396 : 1– 98.
- Borugă, O., Jianu, C., Mișcă, C., Goleț, I., Gruia, A.T. & Horhat, F.G. (2014).** *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Medicine and Life*. 3: 56– 60.
- Borzoui, E., Naseri, B., Abedi, Z. & Karimi-Pormehr, M.S. (2016).** Lethal and sublethal effects of essential oils from *Artemisia khorassanica* and *Vitex pseudo-negundo* against *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Entomology*. 1–7.
- Boti, J.B., Muselli, A., Tomi, F., Kouakou, G., N'guessan, Y.T. Costa, J. & Casanova, J. (2006).** Combined analysis of *Cymbopogon giganteus* Chiov. Leaf oil from Ivory Coast by GC/RI, GC/MS and 13-NMR. *Compte rendu de Chimie*. 99 :164 – 168.
- Bouabida, H., Tine-Djebbar, F., Tine, S. & Soltani, N. (2017a).** Activity of spiromesifen on growth and development of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae): Toxicological, biometrical and biochemical aspects. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 5(1): 572 – 577.
- Bouabida, H., Tine-Djebbar, F., Tine, S. & Soltani, N. (2017b).** Activity of a lipid synthesis inhibitor (spiromesifen) in *Culiseta longiareolata* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 7(12): 1120 – 1124.
- 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*. *Biology Research*. 2 (3):134– 142.
- 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.
- Boughendjioua, H. & Seridi, R (2017). Antimicrobial efficacy of the essential oil of *Origanum vulgare* from Algeria. *Journal of Pharmacy and Pharmacology Research*.(1) : 019 – 027.
- Bouguerra, N., Tine-djebbar, F. & Soltani, N. (2017).** Algerian *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and larvicidal activity against the mosquito *Culex pipiens*. *International Journal of Mosquito Research*. 4(1): 37–42.
- Bouguerra, N., Tine-Djebbar, F. & Soltani, N. (2018).** Effect of *Thymus vulgaris* L. (Lamiales: Lamiaceae) essential oil on energy reserves and biomarkers in *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) from Tebessa (Algeria). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 21 (4): 1082– 1095.
- Boulkenafet, F. (2006).** Contribution à l'étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera : Culicidae) dans la région de Skikda. Présentation pour l'obtention du Diplôme de Magister en entomologie. Option : application agronomique et médicale. 191pages.
- Bouzeraa, H. (2009).** Evaluation de l'impact de deux mimétiques de l'hormone de mue (RH-2485 et RH-5992) sur les gonades males d'*Ephestia kuehniella*, un lepidoptere ravageur des denrees stockees: aspect structural, biochimique et hormonal. Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur en Biologie Animale. Université Badji-Mokhtar Annaba. 108 pages.

- Boyer, S. (2006).** Résistance métabolique des larves de moustiques aux insecticides : conséquences environnementales. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat. Université Joseph Fourier. Grenoble I. 78 pages.
- 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.
- Braga, P.C., Dal Sasso, M., Culici, M., GaSastri, L., Marceca, M.X. & Guffanti, E.E. (2006).** Antioxidant potential of Thymol determined by chemiluminescence inhibition in human neutrophils and cell-free systems. *Pharmacology*.76 (2) : 61 – 68.
- Braquenier, J.B. (2009).** Etude de la toxicité développementale d'insecticides organophosphorés : Analyse comportementale de la souris CD1. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat. Université de Liege. 217 pages.
- Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2ème édition. Tec & Doc. Paris. 915pages.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc. 3ème édition. Paris. 200 pages.
- Bruneton, J. (2009).** Menthe in: Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc. 4ème édition. Paris. 631–638.
- Brunhes, J., Rhaim, A., Geoffroy, B., Angel, G. & Hervy, J.P. (1999).** Les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne. Logiciel de l'institut de recherche et de développement de Montpellier (France).
- Buckley, L.J. & Lough, R.G. (1987).** Recent growth, biochemical composition, and prey field of larval haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*) on George's Bank. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 44 :14–25.
- Bulow, F.J. (1987).** RNA-DNA ratios as indicators of growth in fish: R. C. Summerfelt and G. E. Hall (ed.), *The age and growth of fish*. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 45 – 64.
- Burt S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food and Microbiology*.94: 223– 253.

**Burton, K. (1956).** A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochemical Journal*. 62(2): 315 – 323.

**Butterfield, D. & Lauderback, C. (2002).** Lipid peroxidation and protein oxidation in alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid Beta-peptide associated free radical oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*. 32 (11) : 1050 – 1060.

C

**Catauro, M., Bollino, F., Tranquillo, E., Sapio, L., Illiano, M., Caiafa, I. et al (2017).** Chemical analysis and anti-proliferative activity of Campania *Thymus vulgaris* essential oil. *Journal of Essential Oil Research*. 1 – 10.

**Cavalcanti, E.S.B.C., Morais, S.M., Lima, M.A.A. & Santana, E.W.P. (2004).** Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti*L. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 99 (5): 541–544.

**Cédric, P. (2008).** Interactions entre insecticides non pyréthrinoïdes et répulsifs pour la lutte contre *Anopheles gambiae* : Mécanismes, efficacité et impact sur la sélection de la résistance. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Université de Montpellier I, Formation doctorale. Parasitologie. 65 pages.

**Cetin, H. & Yanikoglu, A. (2006).** A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from south west Turkey. *Journal of Vector Ecology*. 31: 118–122.

**Chapman, R.F. (1998).** The insects structure and function. fourth edition. Cambridge University Press, Cambridge. 782 pages.

**Charchari, S.& Boutekedjret, C. (1994).** Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisiaherba albaassa* provenant de différentes régions d'Algérie. *Rivista Italiana EPPOS*. 13: 631 – 633.

**Charles, D.J. & Simon, J.E. (1992).** A new geraniol chemotype of *Ocimum gratissimum* L. *Journal of Essential Oil Research*. 4 : 231 – 234.

- Charpentier, A., Menozzi, P., Marcel, V., Villatte, F. & Fournier, D. (2000).** A method to estimate acetylcholinesterase-active sites and turnover in insects. *Analytical Biochemistry*. 285:76 – 81.
- Chaubey, M.K. (2011).** Fumigant toxicity of essential oils against rice weevil *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: curculionidae). *Journal of Biological Sciences*. 11(6) :411–416.
- Chaubey, M.K. (2017).** Evaluation of insecticidal properties of *Cuminum cyminum* and *Piper nigrum* essential oils against *Sitophilus zeamais*. *Journal of Entomology*. 14:148 – 154.
- Chelvanayagam, G., Parker, M.W. & Board, P.G. (2001).** Fly fishing for GSTs: a unified nomenclature for mammalian and insect glutathione transferases. *Chemico-biologicalInteractions*. 133: 256 – 260.
- Chiasson, H. & Beloin, N. (2007).** Les huiles essentielles, des biopesticides nouveaux. *Revue de littérature. Bulletin de la société d'entomologie du Québec. Antennae*. 14(1) : 3 – 6.
- Chino, H., Katase, H., Downer, R. C. & Hard Takahashi, K. (1981).** Diacylglycerolcarrying lipoprotein of hemolymph of the American cockroach: purification, characterization and function. *Journal of Lipid Research*.22:7 – 15.
- Choi, W.S., Park, B.S., Lee, Y.H., Jang, D.Y., Yoon, H.Y. & Lee, S.E. (2006).**Fumigant toxicities of essential oils and monoterpenes against *Lycoriella mali* adults. *Crop Protection*. 25 :398– 401.
- Clark, A.G., Shamaan, N.A., Sinclair, M.D. & Dauterman, W.C. (1986).** Insecticide metabolism by multiple glutathione S-transferases in two strains of the house fly, *Musca domestica* (L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 25:169 – 175.
- Clarke, S. (2008).** Chemistry of essential oil. 1st edition. Elsevier. British. 302pages.
- Clements, A.N., (1992).** The biology of mosquitoes. In: Development, Nutrition andReproduction. Vol 1. Chapman and Hall, London.
- Colless, D.H. & Chellapah, W.T. (1960).** Effects of body weight and size of blood-meal upon egg production in *Aedesaegypti* (Linnaeus) (Diptera, Culicidae). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 54 : 475 – 482.
- Constantin, E. (1996).** Spectrométrie de masse. Lavoisier Tec & Doc, Paris. 1– 14.

- Gonzalez-Coloma, A., Martn-Benito, D., Mohamed, N., Garcia-Vallejo, M.C. & Soria, A.C. (2006).** Antifeedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L. *Biochemical Systematics and Ecology*. 34 : 609 – 616.
- Cosentino, S., Tuberoso, C.I.G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E. et al (1999).** In vitro antimicrobial activity and chemical composition of sardinian *Thymus* essential oils. *Letters in Applied Microbiology*. 29 (2) : 130– 135.
- Daferera, D.J., Ziagos, B.N. & Polissiou, M.G.<sup>D</sup> (2003).** The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* and *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*. *Crop Protection*. 22: 39–44.
- 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.
- D'Antuono, L.F., Galleti, G.C. & Bocchini, P. (2000).** Variability of essential oil content and composition of *Origanum vulgare L.* populations from a North Mediterranean area (Liguria Region, Northern Italy). *Annals of Botany*. 86 : 471–478.
- Delaquis, P.J., Stanich, K., Girard, B. & Mazza, G. (2002).** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*. 74:101– 109.
- de Padua, L.S., Bunyapraphatsara, N. & Lemmens, R.H.M.J. (1999).** Plant resources of South-East Asia. Medicinal and poisonous plants. Backhuys Publishers, Leiden. The Netherlands. 12 (1/2) : 713.
- Dharmagadda, V.S.S., Naik, S.N., Mittal, P.K. & Vasudevan, P. (2005).** Larvicidal activity of *Tagetes patula* essential oil against three mosquito species. *Bioresource Technology*. 96: 1235 –1240.
- Dimock, M.B & Renwick, J.A.A. (1991).** Oviposition by field populations of *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) deterred by an extract of a wild crucifer. *Environmental Entomology*. 20 : 802–806.

- Dinesh, D., Murugan, K., Madhiyazhagan, P., Panneerselvam, C., Nicoletti, M., Jiang, W. et al (2015).** Mosquitocidal and antibacterial activity of green-synthesized silver nanoparticles from *Aloe vera* extracts : towards an effective tool against the malaria vector *Anopheles stephensi*?. Journal of Parasitology Research. 114: 1519 – 1529.
- Dob, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T. & Chelghoum, C. (2006).** Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus fontanesi*. Pharmaceutical Biology. 44 (8): 607– 612.
- Do Nascimento, J.C., David, J.M., Barbosa, L.C.A., De Paula, V.F., Demuner, A.J., David, J.P. et al (2013).** Larvicidal activities and chemical composition of essential oils from *Piper klotzschianum* (Kunth) C. DC. (Piperaceae). Pest Management Science. 69: 1267 – 1271.
- Dorman, H.J.D. & Deans, S.G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology. 88(2) : 308– 316.
- Downer, R.G.H. (1985).** Lipid metabolism. In Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology.(G. A. Kerkert et L. I. Gilbert, eds). Pergamon Press. Oxford. 10:77 – 113.
- Dris, D., Tine-Djebbar, F. & Soltani, N.(2017a).***Lavandula dentata* essential oils: chemical composition and larvicidal activity against *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). African Entomology. 25(2): 387 – 394.
- Dris, D., Tine-Djebbar, F., Bouabida, H. & Soltani, N. (2017b).** Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: Toxicological, biometrical and biochemical aspects. South African Journal of Botany. 113: 362– 369.
- Dris, D. (2018).** Etude de l'activité larvicide des extraits de trois plantes *Mentha piperita*, *Lavandula dentata* et *Ocimum basilicum* sur les larves de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* (Linné) et *Culiseta longiareolata* (Aitken). Thèse de Doctorat en sciences. Spécialité : Biologie Animale. Université Badji Mokhtar, Annaba. 140 pages.
- Duchateau, G. & Florkin, M. (1959).** Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. Archives of Insect Biochemistry and Physiology. 67: 306 – 314.

- Ebadollahi, A., Khosravi, R., Sendi, J.J., Honarmand, P. & Amini, R.M. (2013).** Toxicity and physiological effects of essential oil from *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. Annual Review & Research in Biology. 3(4) :649 – 658.
- Edris, A.E. (2007).** Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents. Phytotherapie Research.21 (4) : 308– 323.
- El Akhal, F., El Ouali Lalami, A., Ez Zoubi, Y., Greche, H. & Guemmouh, R. (2014).** Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of *Origanum majorana* (Lamiaceae) cultivated in Morocco against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). Asian Pacific Journal of Tropical Biomedecine.4: 746–750.
- El Akhal, F., Greche, H., Ouazzai, C.F., Guemmouh, R. & El Ouali Lalami, A. (2015).** Chemical composition and larvicidal activity of *Culex pipiens* essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Morocco. Journal of Materials and Environmental Science. 1: 214–219.
- El Akhal, F., Guemmouh, R., Maniar, S., Taghzouti, K. & El Ouali Lalami, A. (2016).** Larvicidal activity of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum majorana* (Lamiaceae) against of the malaria vector *Anopheles labranchiae* (Diptera: Culicidae). International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science. 8(3): 372– 376.
- El-Bermawy, H. & Abdel, F. (2000).** Changes in protein electrophoretic patterns of *Tribolium confusum* 4th instar larvae after treatment with volatile plant oil (vetiver). Journal of the Egyptian-German Society of Zoology, 31(E): 167– 182.
- El haib, A. (2011).** Valorisation de terpene naturels issus de plantes marocaines par trnsformations catalytiques. Thèse en vue de l'obtention du Doctorat de l'universitéde Toulouse. Délivré par l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. Spécialité : Chimie organique et catalyse. 09– 10.
- EL Kady, A.G., Kamel, H.N., Mosleh, Y.Y. & Bahgt, I.M. (2008).** Comparative toxicity of two bio-insecticides (Spinotoram and Vertemic) compared with methomyl against *Culex pipiens* and *Anopheles multicolor*. World Journal of Agricultural Sciences.4 (2): 198–205.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. & Featherstone, R.M. (1961).** A new and rapid colorimetic determination of acetylcholerastase activity. Biochemical Pharmacology. 7: 88 – 95.
- Elshafie, H.S. & Camele, I. (2016).** Investigating the effects of plant essential oils on post- harvest fruit decay, in Fungal pathogenicity. INTECH, Chapter 5. 16 pages. Rijeka, Croatia.

- Enan, E.E. (2005a).** Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 35:309 – 321.
- Estrada-Mondaca, S., Lougarre, A. & Fournier, D. (1998).** *Drosophila* acetylcholinesterase: effect of post-traductional modifications on the production in the baculovirus system and substrate metabolization. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 38(2): [84](#) – [90](#).
- Fachini-Queiroz, F.C., Kummer, R., Estevao-<sup>F</sup> Silva, C.F., Carvalho, M.D.B., Cunha, J.M., Grespan, Ret al.(2012).** Effects of thymol and carvacrol, constituents of *Thymus vulgaris* L. essential oil, on the inflammatory response. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 10 pages.
- Faraj, C., Elkohli, M. & Lyagoubi, M. (2006).** Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. 99(2) :119– 121.
- Farajollahi, A., Fonseca, D.M., Kramer, L.D. & Marm, K.A. (2011).** Bird biting mosquitoes and human disease: a review of the, role of *Culex pipiens* complex mosquitoes in epidemiology. *Infection, Genetics and Evolution*. 11: 1577 – 1585.
- Farjana, T. & Tuno, N. (2013).** Multiple blood feeding and host-seeking behavior in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*. 50(4):838 – 846.
- Feng, R.&Isman, M.B. (1995).** Selection for resistance to azadirachtin in the green peach aphid *Myzus persicae*. *Experientia*. 51 : 831– 833.
- Fields, R.D. & Burnstock, G. (2006).** Purinergic signalling in neuronglia interactions. *Nature Reviews Neuroscience*. 7(6): 423– 436.
- Figueredo, G., Chalchat, J.C. & Pasquier, B. (2006).** Studies of Mediterranean oregano populations IX: chemical composition of essential oils of seven species of oregano of various origins. *Journal of Essential Oil Research*. 18 (4) : 411 – 415.
- Fonseca, D.M., Keyghobadi, N., Malcolm, C.A., Mehmet, C. et al (2004).** Emerging vectors in the *Culex pipiens* complex. *Science*. 303:1535 – 1538.

- Fouad, R., Bousta, D., El Ouali Lalami, A., Ouazzani Chahdi, F., Amri, I. & Jamoussi, B. (2015).** Chemical composition and herbicidal effects of essential oils of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, *Eucalyptus cladocalyx*, *Origanum vulgare* L and *Artemisia absinthium* L. cultivated in Morocco. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 18 (1) : 112–123.
- Gannagé-Yared, M., Khneisser, I., Salem, N.,<sup>G</sup> Gouyette, A., Loiselet, J. & Halaby, G. (1998).** Glutathion et glutathion S-transférase sanguins et leucocytaires : relation avec la cholestérolémie chez des volontaires sains. *Annales de biologie clinique*. 56 (3) : 321– 327.
- Garland, S. (1980).** Le livre des herbes et des épices. Ed. Fernand Nathan, Paris, 288. Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano, Padulosi S (ed.). CIHEAM: Valenzano (BA), Italy, May 1996. 8–12.
- Geiger, J.L. (2005).** The essential oil of *Ginger*, *Zingiber officinale*, and *Anaesthesia*. *International Journal of Aromatherapy*. 15 (1) : 7– 14.
- George, S.G., (1994).** Enzymology and molecular biology of phase II xenobiotic conjugating enzymes in fish. In: Malins, D.C., Ostrander, G. K. *Aquatic Toxicology Molecular Biochemical and Cellular. Perspect Lewis, Boca Raton, FL*. 37 – 85.
- Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M. & Orecchioni, A.M. (2001).** Le préparateur en pharmacie. Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. Tec & Doc, Paris. 273pages.
- Giatropoulos, A., Kimbaris, A., Michaelakis, A., Papachristos, D.P., Polissiou, M.G. & Emmanouel, N. (2018).** Chemical composition and assessment of larvicidal and repellent capacity of 14 Lamiaceae essential oils against *Aedes albopictus*. *Parasitology Research*. 117(6):1953– 1964.
- Giordani, R. & Kaloustian, J. (2006).** Action anticandidosique des huiles essentielles : leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques. *Journal of Phytothérapie*. 4(3) : 121– 124.
- Glisic, S.B., Mistic, D.R., Stamenic, M.D., Zizovic, I.T., Asanin, R.M. & Skala D.U. (2007b).** Supercritical carbon dioxide extraction of carrot fruit essential oil: chemical composition and antimicrobial activity. *Food and Chemistry*. 105 (1): 346– 352.

- Gnanamani, R. & Dhanasekaran, S. (2017).** Efficacy of azadirachta indica leaf extract on the biochemical estimation of a lepidopteran pest *Pericallia ricini* (Lepidoptera: Arctiidae). *WorldAppliedSciencesJournal*. 35 (2): 177– 181.
- Goldsworthy, A.C., Mordue, W. & Guthkelch, J. (1972).** Studies on insect adipokinetic hormones. *General and Comparative Endocrinology*. 18: 306–314.
- Gonny, M., Bradesi, P. & Casanova, J., (2004).** Identification of the components of the essential oil from Corsican *Daucus carota* L. using <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy. *Flavour and Fragrance Journal*. 19:424– 433.
- Gourmelon, A. & Ahtiainen, J. (2007).** Developing test guidelines on invertebrate development and reproduction for the assessment of chemicals, including potential endocrine active substances- the OECD perspective. *Ecotoxicology*. 16(1):161 – 167.
- Govindarajan, M., Mathivanan, T., Elumalai, K., Krishnappa, K. & Anandan, A. (2011).** Ovicidal and repellent activities of botanical extracts against *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedecine*. 1: 43– 48.
- Govindarajan, M., Rajeswary, M., Hoti, S.L. & Benelli, G. (2016).** Larvicidal potential of carvacrol and terpinen-4-ol from the essential oil of *Origanum vulgare* (Lamiaceae) against *Anopheles stephensi*, *Anopheles subpictus*, *Culex quinquefasciatus* and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). *Research in Veterinary Science*. 104: 77–82.
- Granger, R. & Passet, J. (1973).** *Thymus vulgaris* spontane de France: Races chimiques et chemotaxonomie. *Phytochemistry*. 12(7):1683 – 1691.
- Grant, D.F. & Matsumura, F. (1989).** Glutathione S-transferase 1 and 2 in susceptible and insecticide resistant *Aedes aegypti*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 33(2):132 – 143.
- Grundy, D.L. & Still, C.C. (1985).** Inhibition of acetylcholinesterases by pulegone-1,2-epoxide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 23:383 – 388.
- Guenez, R., Tine-Djebbar, F., Tine, S. & Soltani, N (2018).** Larvicidal efficacy of *Mentha Pulegium* essential oil against *Culex pipiens* L. and *Aedes Caspius* P. larvae. *World Journal of Environmental Biosciences*. 7 (1): 1– 7.

**Gueye, M.T., Seck, D., Ba, S., Hell, K., Sembene, M., Wathelet, J.P. et al (2011).** Insecticidal activity of *Boscia senegalensis* (Pers.) Lam ex Poir. on *Caryedon serratus* (Ol.) pest of stored groundnuts. African Journal of Agricultural Research. 6(30) : 6348 – 6353.

**Guillen, M.D. & Manzanos, M.I. (1998).** Study of composition of different parts of Spanish *Thymus vulgaris* L. plant. Food Chemistry. 3 : 373– 383.

**Gyorgyi, H., Laszlo, G.S. & Éva, H. (2006).** Essential oil composition of three cultivated *Thymus* chemotypes from Hungary. Journal of Essential Oil Research. 18(3):315 – 317.

#### H

**Habbadi, K., Meyer, T., Vial, L., Gaillard, V., Benkirane, R., Benbouazza, A. et al (2017).** Essential oils of *Origanum compactum* and *Thymus vulgaris* exert a protective effect against the phytopathogen *Allorhizobium vitis*. Environmental Science and Pollution Research. 25(30): 29943 – 29952.

**Habes, D., Kilani-Morakchi, S., Aribi, N., Farine, J.P. & Soltani, N. (2006).** Boric acid toxicity to the German cockroach, *Blattella germanica*: alterations in midgut structure, and acetylcholinesterase and glutathion S-transferase activity. Pesticide Biochemistry and Physiology. 84: 17–24.

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

**Hamaidia, K. & Soltani, N. (2014).** Laboratory evaluation of a biorational insecticide, kinoprene, against *Culex pipiens* larvae: effects on growth and development. Annual Research and Review in Biology. 4(14): 2263 – 2273.

**Harbach, R.E. & Kitching, I.J. (1998).** Phylogeny and classification of the Culicidae (Diptera).

Systematic Entomology. 23 : 327– 370.

**Harbach, R.E. & Peyton, E.L. (2000).** Systematic of *Onirion*, a new genus of Sabethini (Diptera :

Culicidae) from the Neotropical Region. Bulletin of the Natural History Museum

Entomology Series. 69 : 115 – 169.

- Hashemabadi, D., Kaviani, B., Erfatpour, M. & Larijani, K. (2010).** Comparison of essential oils compositions of Eryngo (*Eryngium caucasicum* Trautv.) at different growth phases by hydrodistillation method. *Plant Omics Journal*. 3 (4): 135 – 139.
- Haubruge, É. & Amichot, M. (1998).** Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. *Biotechnology Agronomy Society and Environment*. 2(3): 161– 174.
- Hazzit, M., Baaliouamer, A., Verissimo, A.R., Faleiro, M.L. & Miguel, M.G. (2009).** Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chemistry*. 116 : 714–721.
- Hernandez-Ochoa, L.R. (2005).** Substitutions des solvants et matières actives de synthèse par combiné ‘solvant / actif’. d’origine végétale. Thèse de doctorat. Institut nationalpolytechniques de Toulouse. Spécialité: Sciences des Agroressources, France. 225pages.
- Heylen, K., Gobin, B., Arckens, L., Huybrechts, R. & Billen, J. (2011).** The effects of four crop protection products on the morphology and ultrastructure of the hypopharyngeal gland of the European honeybee, *Apis mellifera*. *Apidologie*. 42 : 103 – 116.
- Hosoi, T. (1954).** Egg production in *Culex pipiens pallens* coquillett. I V. Influence of breeding conditions on wing length, body weight and follicule production. *Japanese Journal of Medical Science & Biology*. 7:129 - 134.
- Houmani, Z., Azzoudj, S., Naxakis, G. & Skoula, M. (2002).** The essential oil composition of Algerian Zaatar : *Origanum ssp.* And *Thymus ssp.* *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*. 9: 275 – 280.
- Houmani, Z., Azzoudj, S., Naxakis, G. & Skoula, M. (2014).** The essential oil composition of Algerian Zaatar:*Origanum ssp.* and *Thymus ssp.* *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*.9: 275–280.
- Howes, M.J.R., Simmonds, M.S.J. & Kite, G.C. (2004).** Evaluation of the quality of sandalwood essential oils by gas, chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1028 (2) : 307– 312.

- Hu, Z., Chen, Z., Yin, Z., Jia, R., Song, X., Li, L. et al. (2015).** In vitro acaricidal activity of 1,8-cineole against *Sarcoptes scabiei* var. *cuniculi* and regulating effects on enzyme activity. *Parasitology Research*. 114 (8): 2959 – 2967.
- Huang, Z., Shi, P., Dai, J. & Du, J. (2004).** Protein metabolism in *Spodoptera litura* (F.) is influenced by the botanical insecticide azadirachtin. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 80: 85 – 93.
- Huang, S., Molaei, G. & Andreadis, T.G. (2008).** Genetic insights into the population structure of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in the northeastern United States by using microsatellite analysis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 79: 518 – 527.
- Huang, S., Higgs, S. & Vanlandingham, D.L. (2017).** Biological control strategies for mosquito vectors of arboviruses. *Insects*. 8(1) : 21 – 46.
- Huignard, J., Lapied, B., Dugravot, S., Magnin Robert, M. & Ketoh, G.K. (2008b).** Mode d'actions neurotoxiques des dérivés soufrés et de certaines huiles essentielles et risques liés à leur utilisation. In : *Biopesticides d'origine végétale* (C. Regnault-Roger, B.J.R. Philogène, C. Vincent, éd), Lavoisier, 219 – 230.
- Hussain, A.I., Anwar, F., Rasheed, S., Nigam, P.S., Janneh, O. & Sarker, S.D. (2011).** Composition, antioxidant and chemotherapeutic properties of the essential oils from two *Origanum* species growing in Pakistan. *Journal of Pharmacognosy*. 21: 943 – 952.

I
---

- Ietswaart, J.H. (1980).** A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). LaHague: Leiden University Press.
- Imelouane, B., Amhamdi, H., Wathelet, J.P., Ankit, M., Khedid, K. & El Bachiri A. (2009).** Chemical composition of the essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *International Journal of Agriculture and Biology*. 11: 205–208.
- Isikber, A.A., Navarro, S., Finkelman, S. & Rindner, M. (2006).** Propylene oxide : a potential quarantine and pre-shipment fumigant for disinfestation of nuts. *Phytoparasitica*. 34(4):412 – 419.

**Islam, M.S., Hasan, M.M., Xiong, W., Zhang, S.C. & Lei, C.L. (2009).** Fumigant and repellent activities of essential oil from *Coriandrum sativum* (L.) (Apiaceae) against red flour beetle *Tribolium castaneum*(Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Pest Science. 82: 171– 177.

**Isman, M. (1999).** Pesticides based on plant essential oils. Pesticide Outlook. 68– 72.

**Ivask, K., Orav, A., Kailas, T., Raal, A., Arak, E. & Paaver, U. (2005).**Composition of the essential oil from Wild Marjoram (*Origanum vulgare* L.ssp.vulgare) cultivated in Estonia. Journal of Essential Oil Research. 17 : 384 – 387.

**J**

**Jaganathan, A., Murugan, K., Panneerselvam, C., Madhiyazhagan, P., Dinesh, D., Vadivalagan, C. et al (2016).** Earthworm-mediated synthesis of silver nanoparticles: A potent tool against hepatocellular carcinoma, *Plasmodium falciparum* parasites and malaria mosquitoes. Parasitology International. 65(3): 276 – 284.

**Jakoby, W.B. & Ziegler, D.M. (1990).** The enzymes of detoxication. Minireview. Journal of Biological Chemistry. 265: 20715 – 20718.

**Jaksic, Z. & Batel, R. (2003).** DNA integrity determination in marine mussel *Mytilus galloprovincialis* by Fast Micromethods. Aquatic Toxicology. 65 : 361 – 376.

**Jeffrey, W.H., Von Haven, R., Hoch, M.P. & Coffin, R.B. (1996).** Bacterioplankton RNA, DNA, protein content and relationships to rates of thymidine and leucine incorporation. Aquatic Microbial Ecology. 10 :87 – 95.

**Jennings, W. & Shibamoto, T. (1980).** Qualitative analysis of flavour and fragrance volatile by glass capillary gas chromatography. New York: Academic Press.

**Jham G.N., Dhingra O.D., Jardim C.M. & Valente V.M.M. (2005).** Identification of the major fungitoxic component of *Cinnamon* bark oil. Fitopatologia Brasileira. 30 (4): 404– 408.

**Johansen, C., Verheul, A., Gram, L., Gill, T. & Abee, T. (1997).** Protamine-induced permeabilization of cell envelopes of Gram-positive and Gram-negative bacteria. Applied and Environmental Microbiology. 63 (3): 1155– 1159.

## K

- Kabouche, A., Kabouche, Z. & Bruneau, C. (2005a).** Analysis of the essential oil of *Thymus numidicus* (Poiret) from Algeria. *Flavour and Fragrance Journal*. 20: 235 – 236.
- Kalemba, D. & Kunicka, A. (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10 : 813– 829.
- [Kaloustian, J.](#), [El-Moselhy, T.](#) & [Portugal, H.](#) (2003).** Chemical and thermal analysis of the biopolymers in thyme (*Thymus vulgaris*). *Thermochimica Acta*. 401(2): 77 – 86.
- Kamaraj, C., Bagavan, A., Rahuman, A.A., Zahir, A.A., Elango, G. & Pandiyan, G. (2009).** Larvicidal potential of medicinal plant extracts against *Anopheles subpictus* Grassi and *Culex tritaeniorhynchus* Giles (Diptera: Culicidae). *Journal of Parasitology Research*. 104:1163 – 1171.
- Kapelnikov, A., Zelinger, E., Gottlieb, Y., Rhrissorrakrai, K., Gunsalus, K.C. & Heifetz, Y. (2008).** Mating induces an immune response and developmental switch in the *Drosophila oviduct*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 105(37): 13912 – 13917.
- Kaufmann, C.C. & Brown, C. (2008).** Regulation of carbohydrate metabolism and flight performance by a hyper trehalosaemic hormone in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Journal of Insect Physiology*. 54: 367– 377.
- Keely, L.L. (1986).** Physiology and biochemistry of fat body, pp. 211 – 248. In GA Kerkut & L.I. Gilbert (eds): *Comprehensive Insect Biochemistry, physiology and pharmacology*, vol. 3, Pergamon Press, oxford.
- Kerkhof, L. & Ward, B.B. (1993).** Comparison of nucleic acid hybridization and fluorometry for measurement of the relationship between RNA/DNA ratio and growth rate in a marine bacterium. *Applied and Environmental Microbiology*. 59 :1303 – 1309.
- Khalfi, O., Sahraoui, N., Bentahar, F. & Boutekedjiret, C. (2008).** Chemical composition and insecticidal properties of *Origanum glandulosum* (Desf.) essential oil from Algeria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.88: 1562–1566.
- Khanavi, M., Bagheri Toulabi, P., Abai, M.R., Sadati, N., Hadjiakhoondi, F., Hadjiakhoondi, A. et al. (2011).** Larvicidal activity of marine algae, *Sargassum swartzii* and *Chondria dasyphylla*, against malaria vector, *Anopheles stephensi*. *Journal of Vector Borne Diseases*.48: 241–244.

- Khosravi, R. & Sendi, J.J. (2010).** Biology and demography of *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) on mulberry. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 13: 273–276.
- Khosravi, R., Sendi, J.J., Ghadamyari, M. & Yazdani, 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(156) : 1–13.
- Kilby, B.A. (1963).** The biochemistry of the insect. *Advances in Insect Physiology*. 1:112–174.
- Kimbaris, A.C., Siatis, N.G., Daferera, D.J., Tarantilis, P.A., Pappas, C.S. & Polissiou, M.G. (2006).** Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrason Sonochem*. 13:54–60.
- Kiran, S. & Prakash, B. (2015).** Assessment of toxicity, antifeedant activity, and biochemical responses in stored-grain insects exposed to lethal and sublethal doses of *Gaultheria procumbens* L. essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63 (48):10518–10524.
- Kiran, S., Kujur, A., Patel, L., Ramalakshmi, K. & Prakash, B. (2017).** Assessment of toxicity and biochemical mechanisms underlying the insecticidal activity of chemically characterized *Boswellia carterii* essential oil against insect pest of legume seeds. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 139:17 – 23.
- Kissoum, N. & Soltani, N. (2016).** Spiromesifen, an insecticide inhibitor of lipid synthesis, affects the amounts of carbohydrates, glycogen and the activity of lactate dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 4(1): 452–456.
- Kizek, R., Vacek, J., Trnkova, L. & Jelen, F. (2004).** Cyclic voltammetric study of the redox system of glutathione using the disulfide bond reductant tris (2-carboxethyl) phosphine. *Bioelectrochemistry*. 63: 19 – 24.
- Knio, K.M., Usta, J., Dagher, S., Zournajian, H. & Kreydiyyeh, S. (2008).** Larvicidal activity of essential oils extracted from commonly used herbs in Lebanon against the seaside mosquito, *Ochlerotatus caspius*. *Bioresource Technology*. 99 : 763–768.
- Kokkini, F. (1996).** Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. In Proceedings of the IPGRI International Workshop on *Oregano*. Valenzano: Padulosi Ed.

- 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*. *Journal of Parasitology Research*. 107: 327 – 335.
- Konan, N.S., Kouame, B.A., Bossoh, A.M., Bekro, J.A.M., Konan, K.M. & Nemlin, G.J. (2011).** Etude chromatographique et activité anti-oxydante de l'huile essentielle d'*Afraegle Paniculata* (Rutaceae). *European Journal of Scientific Research*. 63(4) : 482 – 488.
- Koua K.H. (1994).** Mise en évidence de l'activité larvicide de *Persea americana* sur Anopheles Gambiae, un moustique d'importance médicale. Thèse de Doctorat. Université Nationale de Cote d'Ivoire.
- Kouri, G., Tsimogiannis, D., Bardouki, H. & Oreopoulou, V. (2007).** Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 8: 155–162.
- Kula, J., Majda, T., Stoyanova, A. & Georgiev, E. (2007).** Chemical composition of *Origanum vulgare* L. essential oil from Bulgaria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 10 (3) : 215 – 220.
- Kulevanova, S., Ristić, M. & Stafilov, T. (1996).** Composition of the essential oil from *Thymus moesiacus* from Macedonia. *Planta Medica*. 62(1):78 – 79.
- L*
- Lagadic, L., Caquet, T. & Ramade, F. (1997).** Les biomarqueurs en écotoxicologie « Aspects fondamentaux ». Elsevier / Masson. 419 pages.
- Lahlou, M., Berrada, R., Hmamouchi, M. & Lyagoubi, M. (2001).** Effect of some Moroccan medicinal plants on mosquito larvae. *Thérapie*. 56 : 193–196.
- Lecointre, G. & Le Guyader, G. (2001).** Phylogenetic classification of the living. Belin. Third French edition: 2006. 544 pages.
- Liu, X.C., Liu, Q., Chen, X.B., Zhou, L. & Liu Z.L. (2015).** Larvicidal activity of the essential oil from *Tetradium glabrifolium* fruits and its constituents against *Aedes albopictus*. *Pest Management Science*. 71: 1582 – 1586.
- Longevialle, P. & McLafferty, F.W. (1981).** Principes de la spectrométrie de masse des substances organiques. Masson, Paris. 208 pages.

- Lopez, M.D. & Pascual-Villalobos, M.J. (2010).** Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. *Industrial Crops and Products*.31(2): 284 – 288.
- Lukas, B., Schmiderer, C. & Johannes Novak (2015).**Essential oil diversity of European *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae). *Phytochemistry*.119 :32 – 40.

## M

- Macedo, M.L.R., Freire, M.G.M., Silva, M.B.R. & Coelho, L.C.B.B. (2007).** Insecticidal action of *Bauhinia monandra* leaf lectin (Bmoll)against *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Zabrotes subfasciatus* and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*.146 (A): 486 – 498.
- Madaci, B., Merghem, R., Doumandji, B. & Soltani, N. (2008).**Effet du *Nerium oleander*, laurier-rose, (Apocynaceae) sur le taux des protéines, l'activité de l'ACHé et les mouvements des vers blancs *Rhizotrogini*, (Coleoptera : Scarabaeidae). *SciTechnol*. 73 – 78.
- Madhiyazhagan, P., Murugan, K., Kumar, A.N., Nataraj, T., Dinesh, D., Panneerselvam, C. et al (2015).***Sargassum muticum*synthesized silver nanoparticles: an effective control tool against mosquito vectors and bacterial pathogens. *Journal of Parasitology Research*. 114: 4305–4317.
- Mahanta, S., Khanikor, B. & Sarma, R. (2017).** Potentiality of essential oil from *Citrus grandis* (Sapindales: Rutaceae) against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 5(3):803 – 809.
- Mahfouf, N., Bennadja, S., Nasri, H., Djahoudi, A. & Heni, S. (2017).** Antioxidant and antibacterial activities of the essential oil of *Origanum vulgare* L. against *Escherichia coli*strains. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 20 (5) : 1391 – 1399.

- Mahmoudvand, M., Abbasipour, H., Garjan, A.S. & Bandani, A.R. (2010).** Sublethal effects of indoxacarb on the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Entomology and Zoology*. 46(1): 1– 6.
- Manal, A.A., Abd El-razik.& Gamal, M.M. (2013).** Efficacy of some plant products and two conventional insecticides and their residual activities against *Callosobrochus maculatus* (F.). *American Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 3(4): 356 – 368.
- Marino M., Bersani C. & Comi G. (2001).** Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from lamiaceae and compositae. *International Journal of Food Microbiology*. 67 (3) : 185– 187.
- Marquardt, W.C. (2005).** Biology of disease vectors, second edition. *Clinical Infectious Diseases*. 41(11):1692– 1693.
- Marriott, P., Shellie, R., Fergeus, J., Ong, R. & Morrison, P. (2000).** High resolution essential oil analysis by using comprehensive gas chromatographic methodology. *Flavour and Fragrance Journal*. 15 : 225–239.
- Marriott, P., Shellie, R. & Cornwell, C. (2001).** Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. *Journal of Chromatography A*. 936: 1– 22.
- Masotti, V., Juteau, F., Bessiere, J.M. & Viano, J. (2003).** Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(24) : 7115 – 7121.
- Mathew, M.Sc., Thanuja, A. & Phil, M. (2008).** Studies on the accessory sex glands of *Spodoptera mauritia* Bois. (Lepidoptera: Noctuidae). Thesis submitted to the University of Calicut in partial fulfilment of the requirements for the Degree of Doctor of Philosophy in Zoology. University of Calicut Kerala, India.
- Maurya, P., Sharma, P., Mohan, L., Batabyal, L. & Srivastava, C.N. (2009).** Evaluation of the toxicity of different phytoextracts of *Ocimum basilicum* against *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus*. *Journal of Asia Pacific Entomology*. 12(2): 113 – 115.
- Maxwell, D.M. (1992).** The specificity of carboxylesterase protection against the toxicity of organophosphorus compound. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 114 : 306 – 312.

- Mechergui, K., Coelho, J.A., Serra, M.C., Ben Lamine, S., Boukhchina, S. & Khouja, M.L. (2010).** Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* (Desf.) Ietswaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 90:1745–1749.
- Meghlaoui, Z. & Mansouri, K. (2010).** Effet d'un bioinsecticide, le spinosad sur *Blattella germanica* (Dictyoptera : Blattellidae): Activité spécifique de la GST et du GSH. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Master Université de Badji Mokhtar. Annaba. 7– 21.
- Mehdizadeh, L., Mirzaei Najafgholi, H., Yazdani Biouki, R. & Moghaddam, M. (2018).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Origanum vulgare* subsp. *viride* essential oils cultivated in two different regions of Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 21 (4) : 1062 – 1075.
- Meister, A. & Anderson, M.E. (1983).** Glutathione. *Annual Review of Biochemistry*. 52 : 711–760.
- Merabeti, B. & Ouakid, M.L. (2011).** Contribution a l'étude des moustiques (Diptera: Culicidae) dans les Oasis de la région de Biskra (nord est d'Algérie). Actes du séminaire International sur la Biodiversité faunistique en Zones Arides et Semi-aride. 85 – 89.
- Meskache, R. & Soltani-Mazouni, N. (2013).** Activité comparée de quatre agonistes de l'hormone de mue chez *Ephestia kuehniella*: composition biochimique des testicules et potentiel reproducteur. *Bulletin de la Société zoologique de France*. 138(1-4) : 177–187.
- Mighri, H., Hajlaoui, H., Akrouf, A., Najjaa, H. & Neffati, M. (2010).** Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*. 13 (3): 380– 386.
- Mileski, K., Džamić, A., Ćirić, A., Grujić, S., Ristić, M., Matevski, V. et al (2014).** Radical scavenging and antimicrobial activity of essential oil and extracts of *Echinophora sibthorpiana* Guss. from Macedonia. *Archives of Biological Sciences*. Belgrade. 66 (1): 401 – 413.
- Mills, C., Cleary, B.J., Gilmer, J.F. & Walsh, J.J. (2004).** Inhibition of acetylcholinesterase by tea tree oil. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 56: 375 – 379.
- Mitlin, N., Wiygul, G. & Hayenes, J.W. (1977).** Inhibition of DNA synthesis in Boll Weevils (*Anthonomus grandis* Boheman) strilized by Dimlin. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 7: 559 – 563.

- [Mockute, D.](#), [Bernotiene, G.](#) & [Judzentiene, A.](#) (2003). The  $\beta$ -ocimene chemotype of essential oils of the inflorescences and the leaves with stems from *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* growing wild in Lithuania. *Biochemical Systematics and Ecology*. 31(3): 269 – 278.
- Mohammed, Z., Akhtar, M.S., Said, S., Mohammed Weli, A., Al-Sabahi, J.N., Al-Riyami, Q. et al (2016). Composition of essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Oman. [Journal of Essential Oil Bearing Plants](#). 19(2) : 475 – 478.
- Mohammedi, Z. (2017). Carvacrol : An update of biological activities and mechanism of action. *Journal of Chemistry*. 1 (1) : 53 – 62.
- Moharramipour, S., Taghizadeh, A., Meshkatsadat, M.H., Talebi, A.A. & Fathipour, Y. (2008). Repellent and fumigant toxicity of essential oil from *Thymus persicus* against *Tribolium castaneum* and *Callosobruchus maculatus*. *Communications in agricultural and applied biological sciences*. 73: 639– 642.
- Mojab F. & Nickavar B. (2003). Composition of the essential oil of the root of *Heracleum persicum* from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2(4): 245– 247.
- Mojarab-Mahboubkar, M., Sendi, J.J. & Aliakbar, A. (2015). Effect of *Artemisia annua* L. essential oil on toxicity, enzyme activities, and energy reserves of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Plant Protection Research*. 55(4): 1 – 7.
- Moradi, M., Hassani, A., Sefidkon, F. & Maroofi, H. (2015). Chemical composition of leaves and flowers essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *gracile* growing wild in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 18 (1) : 242– 247.
- Morales, R. (2002). The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In E. Stahl-Biskup & F. Saez (Eds.). *Thyme: The genus Thymus*. Medicinal and aromatic plants. Taylor & Francis 13. 330 pages.
- Mordy, C.W. & Carlson, D.J. (1991). An evaluation of fluorescence techniques for measuring DNA and RNA in marine microorganisms. *Marine Ecology Progress Series*. 73 : 283 – 293.
- Msaada, K., Salem, N., Tammar, S., Hammami, M., Saharkhiz, M.J. & Debiche, N. (2012). Essential oil composition of *Lavandula dentata*, *L. stoechas* and *L. multifida* cultivated in Tunisia. *Journal of Essential Oil of Bearing Plants*. 15(6): 1030– 1039.
- [Murugan, K.](#), [Mahesh Kumar, P.](#), [Kovendan, K.](#), [Amerasan, D.](#), [Subrmaniam, J.](#) & [Hwang, J.S.](#) (2012). Larvicidal, pupicidal, repellent and adulticidal activity of *Citrus sinensis* orange peel

extract against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). [Parasitology Research](#). 111(4): 1757 – 1769.

**Murugan, K., Dinesh, D., Paulpandi, M., Dakhellah Meqbel Althbyani, A., Subramaniam, J., Madhiyazhagan, P. et al (2015a).** Nanoparticles in the fight against mosquito-borne diseases: bioactivity of *Bruguiera cylindrica*-synthesized nanoparticles against dengue virus DEN-2 (in vitro) and its mosquito vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Parasitology Research*. 114: 4349– 4361.

**Murugan, K., Benelli, G., Panneerselvam, C., Subramaniam, J., Jeyalalitha, T., Dinesh, D. et al (2015b).** Cymbopogon citratus-synthesized gold nanoparticles boost the predation efficiency of copepod *Mesocyclops aspericornis* against malaria and dengue mosquitoes. *Experimental Parasitology*. 153:129–138.

**Murugan, K., Priyanka, V., Dinesh, D., Madhiyazhagan, P., Panneerselvam, C., Subramaniam, J. et al (2015c).** Enhanced predation by Asian bullfrog tadpoles, *Hoplobatrachus tigerinus*, against the dengue vector *Aedes aegypti* in an aquatic environment treated with mosquitoicidal nanoparticles. *Parasitology Research*. 114:3601–3610.

## N

**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 and 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 activity and histology of brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 70:244 – 250.

**Nation, J.L. (2008).** *Insect physiology and biochemistry*, 2nd edition. CRC Press, London, UK.

**Negahban, M., Moharrampour, S. & Sefidkon, F. (2007).** Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*. 43 (2): 123 – 128.

**Nissinen, A., Ibrahim, M., Kainulainen, P., Tilikkala, K. & Holopainen, J. K. (2005).** Influence of Carrot Psyllid (*Trioza apicalis*) feeding or exogenous limonene or methyl jasmonate treatment on composition of Carrot (*Daucus carota*) leaf essential oil and headspace volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (22): 8631– 8638.

**Nutan, D.R. & Ravindra, V.K. (2010).** Quantification of nucleic acid from fresh water Fish *punctius arenatus* (day) exposed to pesticides. International Journal of Advanced Biotechnology and Research. 1(1) : 43– 51.

## O

**Olga, S., Fevizi, U. & Ekrem, E. (2006).** Effects of Cypermethrin on total body weight, glycogen, protein, and lipid contents of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). The Belgian Journal of Zoology. 136 (1): 53–58.

**Olmedo, R., Herrera, J.M., Lucini, E.I., Zunino, M.P., Pizzolitto, R.P., Dambolena, J.S. & Zygadlo, J.A. (2015).** Essential oil of *Tagetes filifolia* against the flour beetle *Tribolium castaneum* and its relation to acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation. Agriscientia. 32 (2) : 113 – 121.

**Organisation mondiale de la Sante. (1960).** Comité d'experts des Insecticides Org. Mond. SanteJ Seir. Rapp. techn. 191 pages.

**Orhan, I.E., Senol, F.S., Gülpinar, A.R., Kartal, M., Sekeroglu, N., Deveci, M., Kan, Y. & Sener, B. (2009).** Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of *Cyclotrichium niveum*, *Thymus praecox* subsp. *caucasicus* var. *caucasicus*, *Echinacea purpurea* and *E. pallida*. Food Chemistry and Toxicology. 47:1304 – 1310.

**Orhan, I.E., Senol, F.S., Ozturk, N., Celik, S.A., Pular, A. & Kan, Y. (2013).** Phytochemical contents and enzyme inhibitory and antioxidant properties of *Anethum graveolens* L. (dill) samples cultivated under organic and conventional agricultural conditions. Food Chemistry and Toxicology. 59:96 – 103.

**Oussou K.R., (2009).** Etude chimique et activité biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan. 241pages.

**Özcan, M.& Chalchat, J.C. (2004).** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey. Bulgarian Journal of Plant Physiology.30(3/4) : 68 – 73.

**Özcan, M.M. & Chalchat, J.C. (2007).** Chemical composition of carrot seeds (*Daucus carota*L.) cultivated in Turkey: characterization of the seed oil and essential oil. Grasas Y Aceites. 58(4) : 359 – 365.

**Özer, Z., Kiliç, T., Selvi, S. & Pasa, C. (2018).** Effect of different drying methods and development stages on the essential oil chemical composition of aerial parts of *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (link) Letsw. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 21 (5) : 1403– 1409.

<b>P</b>
----------

**Paolini, J. (2005).** Caractérisation des huiles essentielles par CPG/IR, CPG/SM (IE et IC) et RMN du Carbone-13 de *Cistus albidus* et de deux Asteraceae endémiques de Corse: *Eupatorium cannabinum subsp. corsicum* et *Doronicum corsicum*. Thèse de Doctorat. Discipline: Chimie Organique et Analytique. Université de Corse Pascal Paoli, France. 342pages.

**Pariente, L. (2001).** Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2 ème Edition. Académie nationale de pharmacie. Paris. 1643 pages.

**Paul, R. (2009).** Généralités sur les moustiques du littoral méditerranéen français. Méditerranée. 1– 11.

**Pavela, R. (2004a).** Repellent effect of ethanol extracts from plants of the family Lamiaceae on *Colorado potato Beetle* adults (*Leptinotarsa decemlineata* SAY). National Academy Science Letters. 27 (5/6):195 – 203.

**Pavela, R. (2004b).** Insecticidal activity of certain medicinal plants. Fitoterapia 75(7/8):745 – 749.

**Pavela, R. (2005).** Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. Fitoterapia. 76(7/8): 691 – 696.

**Pavela, R., Harmatha, J., Barnet, M. & Vokáč, K. (2005).** Systemic effects of phytoecdysteroids on the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* (Sternorrhyncha: Aphididae). European Journal of Entomology. 102(4): 647– 653.

**Pavela, R. (2006).** Insecticidal activity of essential oils against Cabbage Aphid *Brevicoryne brassicae*. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 9 (2) : 99 –106

**Pavela, R. (2008).** Larvicidal effects of various Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say. Larvae (Diptera: Culicidae). Journal of Parasitology Research. 102:555–559.

- Pavela, R., Vrchotová, N. & Tříška, J. (2009a).** Mosquitocidal activities of thyme oils (*Thymus vulgaris* L.) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Parasitology Research*. 105: 1365 – 1370.
- Pavela, R. (2009b).** Larvicidal property of essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Industrial Crops and Products*. 30: 311– 315.
- Pavela, R., Kaffková, K. & Kumšta, M. (2014).** Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from different *Mentha* L. and *Pulegium* species against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Plant Protection Science*. 50: 36 – 42.
- Pavela, R. (2015a).** Essential oils for the development of ecofriendly mosquito larvicides: a review. *Industrial Crops and Products*. 76: 174 – 187.
- Peterson, E.L. (1980).** Alimit cycle interprétation of a mosquito circadian oscillator. *Journal of Theoretical Biology*. 84 : 281 – 310.
- Pinho, A.I., Wallau G.L., Nunes, M.E.M., Leite N.F., Tintino S.R., da Cruz L.C. et al (2014).** Fumigant activity of the *Psidium guajava* var. pomifera (Myrtaceae) essential oil in *Drosophila melanogaster* by means of oxidative stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1– 8.
- Pitarokili, D., Michaelakis, A., Koliopoulos, G., Giatropoulos, A. & Tzakou, O. (2011).** Chemical composition, larvicidal evaluation, and adult repellency of endemic Greek *Thymus* essential oils against the mosquito vector of West Nile virus. *Parasitology Research*. 109: 425 – 430.
- Poletti, A. (1982).** Les fleurs et les plantes médicinales. Edition. Delachaux et Niestle, Lausanne, T.1.1 – 190.
- Popović, A., Šučur, J., Orčić, D. & Štrbac, P. (2013).** Effects of essential oil formulations on the adult insect *Tribolium castaneum* (herbst) (Col: Tenebrionidae). *Journal of Central European Agriculture*. 14(2): 181– 193.
- Poupardin, R. (2011).** Gene environment interactions in mosquitoes and their impact on insecticide resistance. Thèse pour obtenir le grade de Docteur de l'université de Grenoble. Spécialité : Biodiversité, Ecologie et Environnement. 275pages.

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

**Priestley, C.M., Williamson, E.M., Wafford, K.A. & Sattelle, D.B. (2003).** Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABA receptors and a homooligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *British Journal of Pharmacology*. 140 : 1363 – 1372.

## Q

**Quezel, P. & Santa, S. (1962).** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions CNRS, Paris. Tomes 1. 565 pages.

**Quézel, P. & Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et méridionales. Tome 2, Edition. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris. 603pages.

## R

**Rageau, J. & 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* stored grain and household insect pests. *International Journal Of Biological and Medical Research*. 1 – 6.

**Ramakoteswara, S., Chiia, K.C. & Kameshwara, P. (1991).** Studies on the effect of certain plant extracts on the protein metabolism of *Spodoptera litura* (F.). *Indian Journal of Entomology*. 57(4): 406 –408.

**Rasooli I. & Abyaneh M.R. (2004).** Inhibitory effect of thyme oils on growth and afltoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Food Control*. 15 (6): 479– 483.

- Rathod, D.S., Lokhande, M.V. & Shembekar, V.S. (2009).** Toxic impact of the biochemical composition of vital tissues of fish, *Arius dussumieri*. Shodh, Samiksha and Mulyankan. 2: 147– 149.
- Rattan, R.S. (2010).** Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. Crop Protection. 29: 913 – 920.
- Regnault-Roger, C.& Hamraoui, A. (1995).** Fumiganttoxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Stored Products Research. 31 : 291 – 299.
- Regnault-Roger, C., Vincent, Ch.& Arnason, J.T. (2012).** Essential oils in insect control : low-risk products in a high-stakes world. Annual Review of Entomology. 57: 405 – 424.
- Rehimi, N. & Soltani, N. (1999).** Laboratory evaluation of Alsystyn, a chitin synthesis inhibitor, against *Culex pipiens pipiens* L. (Dip : Culicidae): effects on development and cuticle secretion. Journal of Applied Entomology. 123: 437 – 441.
- Rehimi, N. & Soltani, N. (2002).** Laboratory evaluation of andalin, an insect growth regulator interfering with cuticle deposition, against mosquito larvae. Sciences & Technology Review. 18: 106 – 110.
- Renuga, F.B. & Sahayaraj, K. (2009).** Influence of botanicals in total head protein of *Spodoptera litura* (Fab). Journal of Biopesticide. 2 (1): 52– 55.
- Resnik, D.B. (2012).** Ethical issues in field trials of genetically modified disease-resistant mosquitoes. Developing World Bioethics. 14(1): 37–46.
- Resseguier, P. (2011).** Contribution à l'étude du repas sanguin de *Culex pipiens pipiens*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Université Paul – Sabatier de Toulouse. 80 pages.
- Richard, H. (1992).** Epices et aromates. Ed. Dec & Doc Lavoisier, Collection Science Et Techniques Alimentaires, Paris. 339 pages.
- Roméo, M., Hoarau, P., Garello, G., Gnassia-Barelli, M. & Girard, J.P. (2003a).** Mussel transplantation and biomarkers as useful tools for assessing water quality in the NW Mediterranean. Environmental Pollution. 122 : 369 – 378.

- Rouibi, A. (2002).** Evaluation d'un mimétique des ecdystéroïdes (RH-0345) sur *Blattella germanica* (Dictyoptera : Blattellidae) : Aspects morphométriques et Biochimiques. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Magister, Université de Badji Mokhtar Annaba. 95pages.
- Rodrigues, J.P.P., de Paula, R.M., Rennó, L.N., Fontes, M.M.S., Machado, A.F., Valadares Filho, S. de C., et al. (2017).** Short-term effects of soybean oil supplementation on performance, digestion, and metabolism in dairy cows fed sugarcane-based diets. *Journal of Dairy Science*. 100 (6): 4435 – 4447.
- Ruberto, G., Baratta-Tiziana, M., Sari, M. & Kaabeche, M. (2002).** Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour Fragrance Journal*. 17: 251 – 254.
- Ryan, M.F. & Byrne, O. (1988).** Plant–insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Chemical Ecology*. 14:1965 – 1975.

## S

- Saad, H.E.A., El-Sharkawy, S.H. & Halim, A.F. (1995).** Composition of the essential oils of the leaves and stems of *Torilis arvensis*. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*.(70) : 85– 87.
- Saci-Messiad, R. (2006).** Effet d'un régulateur de croissance, l'azadrachine chez *Blattella germanica* (Dictyoptera : Blattellidae): physiologie, activité enzymatique et comparaison de la détoxification avec d'autres groupes de pesticides. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Master Université de Badji Mokhtar- Annaba-. 94 pages.
- Sadek, M.M. (2003).** Antifeedant and toxic activity of *Adhatoda vasica* leaf extract against *Spodoptera littoralis* (Lep: Noctuidae). *Journal of Applied Entomology*. 127 : 396 – 404.
- Sak, O., Uckan, F. & Ergin, E. (2006).** Effects of cypermethrin on total body weight, glycogen, protein and lipid contents of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Belgian Journal of Zoology*. 136:53 – 58.
- Salzer, U.J. (1977).** The analysis of essential oils and extracts (*Oleo-resins*) from seasonings critical. *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*. 9:345– 373.

- Samuel, O. & Laurent, L. S. (2005).** Profil toxicologique des insecticides retenus pour le contrôle des insectes adultes impliqués dans la transmission du virus du Nil occidental au Québec. Institut national de santé publique du Québec. Canada. N° 378. Vol 86.
- Santoyo, S., Cavero, S., Jaime, L., et al. (2005).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. Journal of Food Protection. 68:790–795.
- Savage, H.M. & Miller, B. (1995).** House Mosquitoes of the U.S.A., *Culex pipiens* Complex. Wing Beats. 6: 8 – 9.
- Schneider, W.C. (1957).** Determination of nucleic acids in tissues by pentose analysis. In: Methods in Enzymology (Sidney, P. Colowick and Nathan, O. Kaplan, eds). Academic Press, New York.
- Sellami, I.H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannas, W.A., Kchouk, M.E. & Marzouk, B. (2009).** Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). Industrial Crops and Products. 30: 395–402.
- Senthilkumar, N., Varma, P. & Gurusubramaniam, G. (2009).** Larvicidal and adulticidal activities of some medicinal plants against the malaria vector, *Anopheles stephensi* (Liston). Journal of Parasitology Research. 104: 237 – 244.
- Seo, S.M., Kim, J., Kang, J.S., Koh, S.H., Ahn, Y.J., Kang, K.S. & Park, I.K. (2014).** Fumigant toxicity and acetylcholinesterase inhibitory activity of 4 Asteraceae plant essential oils and their constituents against Japanese termite (*Reticulitermes speratus* Kolbe). Pesticides Biochemistry and Physiology. 113:55 – 61.
- Shalan, E.A., Canyon, D., Younes, M.W., Abdel-Wahab, H. & Mansour, A.H. (2005).** A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. Environment International. 31: 1149 – 1166.
- Shafaghat, A. & Shafaghatlonba, M. (2011).** Comparison of biological activity and chemical constituents of the essential oils from leaves of *Thymus caucasicus*, *T. kotschyanus* and *T. vulgaris*. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 14 (6) : 786 – 791.
- 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.

- 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.
- Shivanandappa, T. & Krishnakumari, M.K. (1981).** Histochemical and biochemical change sin rats fed dietary benzene hexachloride. *Indian Journal of Experimental Biology*. 19 :1163– 1168.
- Shojaei, A., Talebi, K., Sharifian, I. & Ahsae, S.M. (2017).** Evaluation of detoxifying enzymes of *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* (Col: Tenebrionidae) exposed to essential oil of *Artemisia dracunculus* L. *Biharean Biologist*. 11 (1) : 5 – 9.
- Sifi, K. (2009).** Biosurveillance de la qualité des eaux du Golf d'Annaba : croissance, composition biochimique et dosage de biomarqueurs du stress environnementale chez *Donax trunculus* (Mollusque: Bivalve). Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université de Annaba. 229 pages.
- Singh, S.K. Singh, S.K. & Ram, P.Y. (2010).** Toxicological and biochemical alterations of Cypermethrin (Synthetic Pyrethroids) against fresh water teleost fish *Colisa fasciatus* at different season. *World Journal of Zoology*. 5 (1): 25 – 32.
- Smallfield, B. (2001).** Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop and Food Research*. 45: 4 pages.
- Smirle, M.J., Lowery, D.T. & Zurowski, C.L. (1996).** Influence of neem oil on detoxication enzyme activity in the obliquebanded leafroller, *Choristoneura rosaceana*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 56: 220– 230.
- Sokmen, A., Sokmen, M., Daferera, D., Polissiou, M., Candan, F., Unlu, M. et al (2004).** The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of *Achillea biebersteini* Afan. (Asteraceae). *Phytotherapy Research*. 18:451–456.
- Soliman, B.A. & El-Sherif, L.S. (1995).** Larvicidal effect of some plant oils on mosquito *Cx. pipiens* L. (Diptera : Culicidae). *Journal of the Egyptian-German Society of Zoology*. 16 (E) : 161 – 169.
- Solomon, T. & Vaughn, D.W. (2002).** Pathogenesis and clinical features of Japanese encephalitis and West Nile virus infections. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 267: 171 – 94.

- Soltani-Mazouni, N., Taibi, F., Berghiche, H., Smagghe, G. & Soltani, N. (2001).** RH- 0345 restored partly the effects induced by KK-42 on reproductive events in mealworms. *Med .Fac Landbouww. Univ. Gent.* 66(2a) : 437– 443.
- Soltani-Mazouni, N., Bouteldja, D., Lemeire, E. & Smagghe, G.(2007).** In vivo effect of ACE inhibiting in mealworms on ovarian composition and ecdysteroid amounts. *Communications in agricultural and applied biological sciences.* 72(3): 623 – 627.
- Soltani-Mazouni, N. & Hami, M. (2010).** Effets de deux agonistes des ecdystéroïdes sur la reproduction chez *Ephestia kuehniella* (Insectes : Lépidoptères) : dosage des acides nucléiques et des protéines ovariens. *Travaux de l’Institut Scientifique, Série Zoologie, Rabat,N° 47, Tome I,* 153 –156.
- Soreq, H. & Zakut, H. (1993).** Human Cholinesterase and Anticholinesterase. Academic Press, New York. 328 pages.
- Sosan, M.B., Adewoyin, F.B. & Adewunmi, C.O. (2001).** Larvicidal properties of three indigenous plant oils on the mosquito *Aedes aegypti*. *Niger. Journal of Natural Products.* 5: 30 – 33.
- Stahl-Biskup, E. & Sáez, F. (2002).** Essential oil chemistry of the genus *Thymus*. A global view. In: *Thyme: The Genus Thymus*. Edits., E. Stahl-Biskup and F. Sáez, Taylor & Francis Group, London, UK.
- Steele, J.E. (1981).** The role of carbohydrate metabolism in physiological function. In: Downer, R.G.H. (Ed.), *Energy Metabolism in Insects*. Plenum, New York. 101 – 133.
- Stojković, D., Glamočlija, J., Ćirić, A., Nikolić, M., Ristić, M., Šiljegović, J. et al (2013).** Investigation on antibacterial synergism of *Origanum vulgare* and *Thymus vulgaris* essential oils. *Archives of Biological Sciences.* Belgrade. 65 (2): 639 – 643.
- Sturm, A., Worgam, J., Segner, H. & Liess, M. (2000).** Different sensitivity to organophosphate of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase from three-spined stickleback (*Gasterosteus vaculeatus*): application on biomonitoring. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 19: 1607 – 1617.
- Sukumar, K., Perich, M.J. & Boobar, L.W. (1991).** Botanical derivatives in mosquito control: a review. *Journal of the American Mosquito Control Association.* 7: 210– 237.

- Sun, C.N., Huang, S.Y., Hu, N.T. & Chung, W.Y. (2001).** Glutathione S-transferase and insect resistance to insecticides. In: Biochemical sites of insecticide action and resistance (Ishaaya I, ed). Springer, Berlin. 239 – 252.
- Suresh, U., Murugan, K., Benelli, G., Nicoletti, M., Barnard, D.R., Panneerselvam, C. et al (2015).** Tackling the growing threat of dengue : Phyllanthus niruri-mediated synthesis of silver nanoparticles and their mosquitocidal properties against the dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Parasitology Research. 114:1551 – 1562.
- Svoboda, K.P. & Hampson, J.B. (1999).** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. <http://www.csl.gov.uv/ienica/seminars/>.
- Swietla, A. & Zuk, J. (1978).** Cytotoxic effects of maleic hydrazine. Mutation Research : Reviews in Genetic Toxicology. 55 : 15 – 30.
- Szczepanik, M., Zawitowska, B. & Szumny, A. (2012).** Insecticidal activities of *Thymus vulgaris* essential oil and its components (thymol and carvacrol) against larvae of lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). Allelopathy Journal. 30(1): 129 – 142.
- Tabachnick, W.J. (2013).** Nature, nurture and  $T$  evolution of intra-species variation in mosquito competence for arboviruses. International Journal of Environmental Research and Public Health. 10: 249 – 277.
- Talukder, F.A. (2006).** Plant products as potential stored product insect management agents A mini review. Emirates Journal of Food and Agriculture. 18(1):17 – 32.
- Tang, G.W., Yang, C.J. & Xie, L.D. (2007).** Extraction of *Trigonella foenum-graecum* L. by supercritical fluid CO<sub>2</sub> and its contact toxicity to *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae). Journal Pest Science. 80: 151 – 157.
- Tantaoui-Elaraki, A., Lattaoui, N. & Errifi, A. (1993).** Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus broussonetii*, *T. xygis* and *T. satureioides*. Journal of Essential Oil Research. 5 : 45– 53.
- Tapondjou, A.L., Adler, C., Fontem, D.A., Bouda, H. & Reichmuth, C. (2005).** Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus salgina* against

*sitophiluszeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du val. Journal of Stored Products Research.41: 91– 102.

- Tarigan, S.I., Dadang, D. & Sakti Harahap, I. (2016).** Toxicological and physiological effects of essential oils against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Biopesticides. 9(2):135 – 147.
- Tchoumboungang, F., Amvam Zollo, P.H., Dagne, E. & Mekonnen, Y. (2005).** In vivoantimalarial activity of essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Ocimum gratissimum* on mice infected with *Plasmodium berghei*. Planta medica. 71 : 20 – 23.
- Tchoumboungang, F., Zollo, P.H.A., Avlessi, F., Alitonou, G.A., Sohounhloue, D.K. & Ouamba, J.M. et al(2006).** Variability in the chemical compositions of the essential oils of five *Ocimum* species from Tropical African Area. Journal of Essential Oil Research. 18 : 194– 199.
- Tchoumboungang, F., Dongmo, P.M.J., Sameza, M.L., Mbanjo, E.G.N., Fotso, G.B.T., Zello, P.H.A. & Menut, C. (2009).** Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. Biotechnology, Agronomy, Society and Environment. 13 (1) :77– 84.
- Teixeira Duarte, M.C.T., Figueira, G.M., Sartoratto, A., Rehder, V.L.G. & Delarmelina, C. (2005).** Anti candida activity of Brazilian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology.97(2): 305– 311.
- Tel, G., Öztürk, M., Duru, M.E., Harmandar, M. & Topçu, G. (2010).** Chemical composition of the essential oil and hexane extract of *Salvia chionantha* and their antioxidant and anticholinesterase activities. Food and Chemical Toxicology. 48:3189 – 3193.
- Thomas, T.G., Rao, S. & La, S. (2004).** Mosquito larvicidal properties of essential oil of an indigenous plant, *Ipomoea cairica* Linn. Japanese journal of infectious diseases. 57:176–177.
- Thomas, C.S. & Ralf, N. (2014).** RAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. Pesticide Biochemistry and Physiology.121 : 122–128.
- Thompson, J.D., Chalchat, J.C., Michet, A., Linhart, Y.B. & Ehlers, B (2003).** Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. Journal of Chemical Ecology. 29(4) : 859 – 880.

- Timbrell, J.A. (1998).** Biomarkers in toxicology. *Toxicology*. 129:1–12.
- Tine-Djebbar, F., Bouabida, H. & Soltani, N. (2016).** Répartition spatio-temporelle des Culicidés dans la région de Tébessa. Editions universitaires européennes. ISSN/ISBN : 978-3-639-50856-7.
- Tine, S., Aribi, N. & Soltani, N. (2011).** Laboratory evaluation of azadirachtin against the oriental cockroach, *Blatta orientalis* L. (Dictyoptera, Blattellidae): Insecticidal activity and reproductive effects. *African Journal Biotechnology*. 10:85 pages.
- Tong, F. & Coats, J. (2010).** Effects of some monoterpenoid insecticides on [3 H]-TBOB binding in house fly GABA receptor and <sup>36</sup>Cl-uptake in American cockroach ventral nerve cord. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 98(3) : 317 – 324.
- Topktas, M., Renci Zogullari, E. & Ila, H.B. (1996).** In vivo chromosomal aberrations in bone marrow cells of rats with marshal. *Myt Research*. 371: 259 – 264.
- Torras, J., Grau, M.D., Lopez, J.F. & F Xavier C de las Heras (2007).** Analysis of essential oils from chemotypes of *Thymus vulgaris* in Catalonia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87: 2327 – 2333.
- Traboulsi, A.F., Taoubi, K., El-Haj, S., Bessiere, J.M. & Rammal, S. (2002).** Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Management Science*. 58 (5): 491 – 495.
- Tripathi, P.K. & Singh, A. (2003).** Toxic effects of dimethoate and carbaryl pesticides on reproduction and related enzymes of the freshwater snail *Lymnaea acuminata*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 71 (3) : 535 – 542.
- Tsuchiya, H., Sato M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohyama, M. et al (1996).** Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 50 (1) : 27– 34.
- Turell, M.J., Sardelis, M.R., Dohm, D.J. & O’Guinn, M.L. (2001).** Potential north american vectors of west Nile virus. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 467(951) : 317 – 324.

U
---

- Ultee, A., Bennik, M.H.J. & Moezelaar, R. (2002).** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 68 (4): 1561 – 1568.

V

- Valizadeh, B., Jalali Sendi, J., Zibae, A. & Oftadeh, M. (2013).** Effect of Neem based insecticide Achook® on mortality, biological and biochemical parameters of elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* (Col : Chrysomelidae). *Journal of Crop Protection*. 2(3): 319 – 330.
- Van Den Heuvel. (1963).** The effect of rearing temperature on the wing length, thorax length, leg length and ovariol number of the adult mosquito, *Aedes aegypti* (L.). *Transactions royal entomological society london*. 115: 197 – 216.

- Vanhaelen, N., Haubruge, E., Lognay, G. & Francis, F. (2001).** Hoverfly glutathione S-transferases and effect of *Brassicaceae* secondary metabolites. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 71: 170 – 177.
- Van Hensden, H.C. & Law, J.H. (1989).** An insect transport particule promotes lipid loading from fat body to lipoprotein. *Journal of Biological Chemistry*. 264: 17287 – 17292.
- Varo, I., Navarro, J.C., Amat, F. & Guilhermino, L. (2001).** Characterization of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of chlorpyrifos and dichlorvos to *Artemia salina* and *Artemia parthenogenetica*. *Chemosphere*. 48: 563 – 569.
- Vatandoost, H., Sanei Dehkordi, D.A., Sadeghi, S.M.T., Davari, B., Karimian, F., Abai, M.R. et al. (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.
- Vijayaraghavan, C., Sivakumar, C., Zadda Kavitha, M. & Sivasubramanian, P. (2010).** Effect of plant extracts on biochemical components of cabbage leaf webber, *Crocidolomia binotalis* Zeller. *Journal of Biopesticides*. 3 (1): 275–277.
- Vinogradova, E.B. (2000).** *Culex pipiens pipiens* mosquitoes: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control. Pensoft, SofiaMoscow. 250 pages.
- Viollon C. & Chaumont J. P. (1994).** Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia*. 128(3): 151–153.
- Vladimir, L., Jan, S., Frantisek, M., Vladimir, M. & Tomas, S. (1991).** Methods for assessing exposure of human and non-human biota. Edited by R.G. Tardiff and B. Goldstein(f) SCOPE. 265 pages.
- Walter, Z., Czajkowska, A. & Lipecka, K. (1980).** Effect of malathion on the genetic material of human lymphocytes stimulated by phytohemagglutinin (PHA). *Human Genetics*. 53(3): 375 – 381.
- Walters, K.B., Grant, P. & Johnson, D.L.E. (2009).** Evolution of the GST omega gene family in 12 *Drosophila* species. *Journal of Heredity*. 100 (6) :742 – 753.
- Walter Reed Bio Systematics Unit (2016).** Systematic catalog of Culicidae. Smithsonian Institution, Washington DC, USA. <http://www.mosquitocatalog.org>.
- 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.
- Werker, E. (1993).** "Function of essential oil secreting glandular hairs in aromatic plants of Lamiaceae - a review. *Flavour and Fragrance Journal*. 8(5) : 249 – 255.
- Wiegmann, B.M., M.D. Trautwein, I.S. Winkler, N.B. Barr, J. Kim, C. Lambkin, et al. (2011).** Episodic radiations in the fly tree of life. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108 : 5690– 5695.
- Wiens, A.W. & Gilbert, L.I. (1967).** The phosphorylase system of the silkworm, *Hyalophora cecropia*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 21:145– 159.
- Wilke, A.B., Gomes, A., de, C., Natal, D & Marrelli, M.T. (2009).** Control of vector populations using genetically modified mosquitoes. *Revista de Saude Publica*. 43: 869 – 874.

- Winston, G.W. & Di Giulio, R.T. (1991).** Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*. 19: 137 – 161.
- Wood, D.M. & Borkent, A. (1989).** Phylogeny and classification of the Nematocera. Pages 1333– 1370 in: J.F. McAlpine & D.M. Wood (eds.), *Manual of Nearctic Diptera*. Research Branch Agriculture Canada. Monograph n. 32, Canadian Government Publishing Centre, Hull, Quebec.
- World Health Organization, (1982).** Biological control of vectors of disease. Sixth report of the World Health Organization, expert committee on vector biology and control. Technical Report Series. 679 pages.
- World Health Organization, (1993).** Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles. Geneva: World Health Organization : 82 pages.
- World Health Organization, (1996).** The World Health Report 1996: Fighting Disease, Fostering Development. World Health Organization, 137 pages.
- World Health Organization (2014).** A global brief on vector-borne diseases. Geneva : World Health Organization, 56 pages.
- Wyatt, G.R. (1967).** The biochemistry of sugars and polysaccharides in insects. *Advances in Insect Physiology*. 4:287 – 360.

## Y

- Yazdani, E., Jalali Sendi, J., Aliakbar, A. & Senthil-Nathan S. (2013).** Effect of *Lavandula angustifolia* essential oil against lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) and identification of its major derivatives. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 107: 250 – 257.
- 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.
- Yu, B.P. (1994).** Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews*. 74: 139 – 162.

## Z

- Zantar, S., Yedri, F., Mrabet, R., Laglaoui, A., Bakkali, M. & Zerrouk, M.H. (2014).** Effect of *Thymus vulgaris* and *Origanum compactum* essential oils on the shelf life of fresh goat cheese. *Journal of Essential Oil Research*. 26:76 – 84.
- Zehnalek, J., Adam, V. & Kizek, R. (2004).** Influence of heavy metals on production of protecting compounds in agriculture plants. *Listy Cukrovarnicke Reparske*. 120: 222 – 224.
- Zein, S., Awada, S., Rachidi, S., Hajj, A., Krivoruschko, E. & Kanaan, H. (2011).** Chemical analysis of essential oil from Lebanese wild and cultivated *Origanum syriacum* (Lamiaceae) before and after flowering. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5: 379–387.
- Zenasni, L. (2014).** Etude de polymorphisme chimique des huiles essentielles de *Thymus satureioides* Coss et d'*Origanum compactum* Benth et du genre *Nepeta* et evaluation de leur propriété antibactérienne. Thèse de Doctorat, Biochimie Pharmacologique, Université Mohammed 5, Agdal, Rabat. 169 pages.
- Zhao, B., Grant, G.G., Langevin, D. & MacDonald, L. (1998).** Detering and inhibiting effects of quinolizidine alkaloids on spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) oviposition. *Environmental Entomology*. 27 : 984 – 992.
- Zibae, A., sendi, J.J., Alinia, F., Ghadamvari, M. & Etebari, K. (2009b).** Diazinon resistance in different selected strains of *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera; Pyralidae), rice striped stem borer, in the north of Iran. *Journal of Economic Psychology*. 102(3): 1189– 1196.
- Zibae, A. & Bandani, A. R. (2010b).** A study on the toxicity of the medicinal plant, *Artemisia annua* L. (Asteracea) extracts the Sunn pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Heteroptera: Scutelleridae). *Journal of Plant Protection Research*. 50 : 48 – 54.

- [Zibae](#), A. (2011). Botanical insecticides and their effects on insect biochemistry and immunity. In book: Pesticides in the Modern World. Pests Control and Pesticides Exposure and Toxicity Assessment. 55 – 68.
- Zittra, C., Flechl, E., Kothmayer, M., Vitecek, S., Rossiter, H., Zechmeister, T. et al (2016). Ecological characterization and molecular differentiation of *Culex pipiens* complex taxa and *Culex torrentium* in eastern Austria. Parasitology & Vectors. 9: 1– 9.
- Zoubiri, S. & Baaliouamer, A. (2011). Potentiality of plants as source of insecticide principles. Journal of Saudi Chemical Society. 18(6) : 1 – 14.



## ANNEXES

## 6. ANNEXES

### PRODUCTION SCIENTIFIQUE

#### ✚ PUBLICATIONS INTERNATIONALES

1. **BOUGUERRA N., TINE-DJEBBAR F & SOLTANI N (2017).** Algerian *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and larvicidal activity against the mosquito *Culex pipiens*. *International Journal of Mosquito Research*; 4(1): 37-42.
2. **BOUGUERRA N., TINE-DJEBBAR F & SOLTANI N (2018).** Effect of *Thymus vulgaris* L. (Lamiales: Lamiaceae) Essential Oil on Energy Reserves and Biomarkers in *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) from Tebessa (Algeria). *Journal of Essential Oil Bearing Plants – Taylor & Francis*; 21 (4): 1082-1095.
3. **BOUGUERRA N., TINE-DJEBBAR F & SOLTANI N (2019).** Oregano Essential Oil As Potential Mosquito Larvicides. *Transylvanian Review*; acceptée

#### ✚ COMMUNICATIONS ORALES

1. **BOUGUERRA N., TINE-DJEBBAR F & SOLTANI N.** Chemical composition and insecticidal activity of essential oils extracted from *Thymus vulgaris* (Lamiaceae) and *Origanum vulgare* (Lamiaceae) against *Cx. pipiens* (Diptera: Culicidae). 3rd International Conference on Integrated Environmental Management for Sustainable Development : May 02-05, 2018 Sousse, Tunisia.
2. **BOUGUERRA N., TINE-DJEBBAR F & SOLTANI N.** Algerian *Origanum vulgare* Essential oil: Chemical composition, larvicidal activity and effects on biomarkers responses in the larvae of *Cx. pipiens*. Séminaire Internationales de 'Science & Research Congress : 21-23 September 2018 Antalya, Turkey.

#### ✚ COMMUNICATIONS AFFICHEES

1. **BOUGUERRA N., TINE-DJEBBAR F & SOLTANI N.** Effets de la nouvelle molécule (spiromésifene) sur : les métabolites et sur l'activité enzymatique chez une espèce de moustique (*Culiseta longiareolata*). Séminaire international en biotechnologie et valorisation des bio-ressources (Hammamet-Tunisie), du 24 au 27 mars 2016.
2. **BOUGUERRA N., TINE-DJEBBAR F & SOLTANI N.** Chemical composition and larvicidal activity of *Thymus vulgaris* essential oil against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). Participation au séminaire Internationales de Biotechnologie JIB 2016 : 18 - 22 décembre 2016. Sousse ; Tunisia.
3. **BOUGUERRA N., TINE-DJEBBAR F & SOLTANI N.** Effets du spiromésifene sur la composition biochimique et un biomarqueur chez une espèce de moustique, *Culiseta*

*longiareolata*. Participation au séminaire national en entomologie médicale et la lutte biologique (Tébessa- Algérie), 18-19 octobre 2015.

#### **FORMATION**

- **Participation au 1<sup>IER</sup> séminaire de formation en analyse physico-chimique et biologique « CRAPC-SFAPCB 8-20 Juillet 2017 »** :Chromatographie gazeuse (GC-FID) et chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS).

#### **PROJET DE RECHERCHE**

Membre dans un projet de recherche PRFU, intitulé "**Etude des huiles essentielles de plantesaromatiques et médicinales algériennes: composition chimique et activité biologique**" sous le code: "**D01N01UN120120180004**" et sous la direction du Pr. Tine-Djebbar Fouzia.