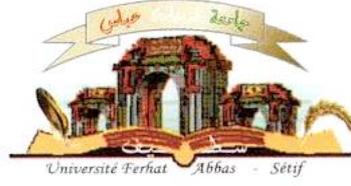


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biologie et Physiologie Animales

N°...../SNV/2023

THÈSE

Présenté par

KEFFOUS Bisma Safa

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT 3^{ème} CYCLE

Spécialité : Parasitologie

THÈME

Lutte biologique contre le moustique *Aedes caspius*
(Pallas, 1771) : Aspect toxicologique, biochimique et
histologique.

Soutenue publiquement le .../.../2023

Devant le jury :

Présidente	DAHAMNA Saliha	Pr. Univ. Sétif 1
Directrice	AISSAOUI Lynda	MCA. Univ. Sétif 1
Examineur	BOUNECHADA Mustapha	Pr. Univ. Sétif 1
Examineur	BOUDJELIDA Hamid	Pr. Univ. Annaba
Examineur	BOUAZIZ Ali	MCA. Univ. Souk-Ahras

Laboratoire d'Amélioration et de Développement de la production Végétale et Animale (LADPVA)

Remerciements

Je tiens à exprimer mes remerciements et ma profonde gratitude avant tout à Allah le Tout-Puissant de m'avoir donné la force, le courage, la santé et la patience pour pouvoir accomplir ce travail.

J'exprime mes sincères remerciements et toute ma considération à Mme Saliha DAHAMNA (Professeur au Département de Biologie et Physiologie Animales, Université Ferhat Abbas/Setif) qui m'a fait l'honneur de présider le présent jury.

C'est un devoir d'exprimer toute ma gratitude et une infinie reconnaissance à mon encadrant Mme Lynda AISSAOUI (Maître de conférences au Département de Biologie et Physiologie Animales, Université Ferhat Abbas/Setif). Ses orientations, son soutien à tout moment et au besoin, m'ont été d'un grand apport dans l'avancement et la finalisation de ce travail. Merci pour ses encouragements, ses conseils, sa patience et sa disponibilité à notre égard, du fond du cœur : Merci chère madame !

Mes plus vifs remerciements et toute ma considération à M. Mustapha BOUNECHADA (Professeur au Département de Biologie et Physiologie Animales, Université Ferhat Abbas/Setif) qui a bien voulu accepter d'être membre de ce jury et de me faire l'honneur de juger ce travail.

Toute ma considération à l'égard de M. Hamid BOUDJELIDA (Professeur au Département de Biologie, Université d'Annaba) qui m'a fait l'honneur de juger le présent travail.

Ma gratitude va vers M. Ali BOUAZIZ (Maître de conférences au Département de Biologie, Université de Souk-Ahras) qui a bien voulu accepter d'être membre du jury et de me faire l'honneur de juger ce travail.

Comme je présente mes sincères remerciements à tous les membres de LADPVA soit les professeurs, les docteurs et les doctorants qui ont su rendre mon travail agréable à travers leurs conseils et leur simple présence tout particulièrement notre humble gratitude et notre profonde reconnaissance au directeur de LADPVA M. MEBARKIA Amar (Professeur au Département d'agronomie, Université Ferhat Abbas/Setif).

Nos remerciements s'adressent également à L'INSTITUT NATIONAL DE CRIMINALISTIQUE ET DE CRIMINOLOGIE d'Alger pour leur collaboration et à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

Un merci spécial est adressé au Pr. ABDELLOUCHE Djamel chef du service d'anatomie pathologique du CHU de Sétif, pour son examen histologique.

Nous adressons nos plus vifs remerciements au Pr. Guendouz Ali de l'institut national de la recherche agronomique d'Algérie.

Ces remerciements vont au corps professoral et administratif de la Faculté des sciences naturelles et de la vie pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leur étudiants une formation actualisée : Pr MAZAACHE Samia, RIACHE Farida, Zina, HAMLAM Meriem, BOUTECHBAK Souad, DJAAFER Nawel et KERMALI Chafik.

Dédicaces

Ce travail est dédié à mon père KEFFOUS Moussa

Je dédie cette thèse à la mémoire de mon cher tendre et honorable père qui a consacré tout son temps, sa sagesse et sa patience pour m'encourager à faire ce doctorat. Je respecterais ce vœu si cher à toi père. Dommage que la Covid t'a emporté et que tu ne seras pas présent à ma soutenance mais je suis sûre que ta belle âme de ta demeure éternelle me guidera vers le chemin de la raison. Je suis reconnaissante pour tous tes sacrifices, pour tes conseils en or, pour ton dévouement à moi et à toute la famille.

A ma très chère mère ABAOUI Fouzia

Honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

À mon cher mari KEROUANI Abdelhakim

Pour le respect et l'amour que tu m'as offert. Pour la patience, le soutien et l'optimisme dont il a fait preuve pendant toute la durée de ce travail et à qui je voudrais exprimer mes affections et mes gratitude.

A mes chères frères Mohammed, Mohcen et mes sœurs Ahlem, Nihed

Vous avez toujours été présents pour les bons conseils. Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie professionnelle et

personnelle. Veuillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour tous vos efforts.

À mes petits neveux d'amour, Maninou et Mouanes

A toute la famille

Mes chers oncles Abdenour, Salim et Yacine ; Mes chères tantes Fahima, Chahira, Leila et Sabrina

Merci pour votre soutien et motivation. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

Hamida, Maissem, Nada, Insaf, Malek, Lina, Rokaia, Yasmine, Attifa, Fairouz et Amira : ceux qui ont réussi à me donner la joie même aux pires moments par leur soutien moral. Je vous dédie ce travail en priant que vous aurez un avenir brillant et glorieux.

Ma meilleure amie, BOUAOUD Laldja

Je ne peux pas trouver les mots justes et sincères pour t'exprimer mon affection et mes pensées, tu es pour moi une sœur sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de notre parcours, de tous les moments que nous avons passés ensemble, je te dédie ce travail et je te souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Enfin je remercie tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de cette thèse.

KEFFOUS Bisma Safa

ملخص

يهدف هذا العمل إلى المساهمة في تعزيز دور بعض الزيوت الأساسية في مكافحة البعوض. حيث كشفت اختبارات السمية التي أجريت بتراكيز مختلفة على يرقات البعوض *Aedes caspius* الطور الرابع حديثة الانسلاخ في ظروف مخبرية وفقاً لتوصيات منظمة الصحة العالمية، عن خصائص مييدات الحشرات للزيوت الأساسية التي تم الحصول عليها عن طريق التقطير المائي لأنواع النباتات: الاكليل الجبلي *Rosmarinus officinalis*، الزعتر *Origanum vulgare*، الكاليتوس *Eucalyptus globulus*، الصنوبر الحلبي *Pinus halepensis*، النعناع *Mentha pulegium* والشمر البري *Foeniciculum vulgare* والتي تم جمعها من منطقة الهضاب العليا سطيف (شمال شرق الجزائر)؛ أظهر مردود الزيوت الأساسية المستخلصة من الأنواع النباتية المذكورة أعلاه القيم: 0.86، 1.51، 1.08، 0.58، 1.36 و 1.40% على التوالي. من جهة أخرى كشفت نتائج التحليل الكيميائي لهذه الزيوت عن النسب المئوية للمكونات الرئيسية *Terpinene* 38.08%، *Limonene* 47.28%، *cis-Sabinene hydrate* 36.02%، *Melilotal* 28.26%، *Camphor* 38.2% و *Pulegone* 60.8%؛ للاكليل الجبلي *Rosmarinus officinalis*، الزعتر *Origanum vulgare*، الكاليتوس *Eucalyptus globulus*، الصنوبر الحلبي *Pinus halepensis*، النعناع *Mentha pulegium* والشمر البري *Foeniciculum vulgare* على التوالي. تم تقييم سمية الزيوت المختبرة وتقدير التراكيز المميتة LC_{25} ، LC_{50} و LC_{90} مع حدود مجالات الثقة الخاصة بها لفترات التعرض الثلاث (24، 48 و 72 ساعة)؛ حيث بينت النتائج المتحصل عليها إلى حساسية يرقات *Aedes caspius* للأنواع النباتية الستة، مع علاقة الاستجابة للجرعة. أظهر العلاج بنفس التراكيز أن لجميع الزيوت الأساسية المدروسة تأثيراً ساماً، في حين أظهر الزيت العطري للشمر البري *Foeniciculum vulgare* قدرة عالية جداً على إبادة اليرقات ضد *Aedes caspius* مقارنة بالأنواع النباتية الأخرى. وبناء عليه تم فحص تأثير هذا الأخير على التراكيب البيوكيميائية (البروتينات، الكربوهيدرات والدهون) وعلى أنسجة المعى المتوسط ليرقات الطور الرابع *Aedes caspius*. يمكن لتطوير هذه الاختبارات السمية باستخدام المستخلصات الأساسية للأنواع النباتية الأصلية بالحصول على بدائل آمنة لمكافحة البعوض.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، السمية، *Aedes caspius*، التراكيب البيوكيميائية، الأنسجة.

RESUME

Le présent travail est une contribution à la valorisation des huiles essentielles des espèces végétales autochtones dans la lutte des moustiques. Les essais toxicologiques effectués à différentes concentrations sur les larves de 4^{ème} stade, nouvellement exuviées d'*Aedes caspius* dans les conditions du laboratoire selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé, ont révélé les propriétés insecticides des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des espèces végétales : *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare*, *Eucalyptus globulus*, *Pinus halepensis*, *Mentha pulegium* et *Foeniculum vulgare* récoltées sur les hauts plateaux de la région de Sétif (Nord-Est de l'Algérie). Le rendement des HEs : *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare*, *Eucalyptus globulus*, *Pinus halepensis*, *Mentha pulegium* et *Foeniculum vulgare*, affiche des valeurs de : 0.86, 1.51, 1.08, 0.58, 1.36 et 1.40% respectivement. D'autre part, une analyse chimique de ces extraits a révélé les composants majoritaires dans les huiles essentielles susmentionnées : Limonene 47.28%, Terpinene 38.08%, cis-Sabinene hydrate 36.02%, Melilotal 28.26%, Pulegone 60.8% et Camphre 38.2% respectivement. La toxicité des huiles testées a été évaluée et les concentrations létales, les valeurs CL₂₅, CL₅₀ et CL₉₀ ont été estimées pour les trois temps d'exposition (24, 48 et 72 heures) ; les résultats obtenus ont indiqué une sensibilité des larves d'*Aedes caspius* aux six espèces végétales, avec relation dose-réponse. Les concentrations létales ont été calculées avec leurs limites de confiance. Après traitement avec les mêmes concentrations, toutes les HEs présentent un effet toxique. L'HE de *Foeniculum vulgare* présente un pouvoir larvicide très élevé à l'égard d'*Aedes caspius* par rapport aux autres plantes. Les effets de l'huile essentielle de *Foeniculum vulgare* ont été examinés sur la composition biochimique (protéines, carbohydrates et lipides) et l'histologie de l'intestin moyen des larves L4 d'*Aedes caspius*. Ces essais toxicologiques, utilisant ces extraits de plantes autochtones pourraient être développés comme composé alternatif sûr pour le programme de lutte contre les moustiques.

Mots clés : Huiles essentielles, Toxicité, *Aedes caspius*, Composition biochimique, Histologie.

ABSTRACT

This work is a contribution to the enhancement of essential oils of botanical species role in the control against mosquitoes. The toxicological tests carried out at different concentrations on the newly exuviated larvae of *Aedes caspius* under laboratory conditions according to the recommendations of the World Health Organization, revealed the insecticidal properties of the essential oils obtained by hydrodistillation of: *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare*, *Eucalyptus globulus*, *Pinus halepensis*, *Mentha pulegium* and *Foeniculum vulgare* harvested on the high plateaus of the Setif region (North-East of Algeria). The yield and hydrodistillation of the aforementioned EOs obtained by display the values 0.86, 1.51, 1.08, 0.58, 1.36 and 1.40% respectively. The percent composition of major components has been identified, namely Limonene 47.28%, Terpinene 38.08%, cis-Sabinene hydrate 36.02%, Melilotal 28.26%, Pulegone 60.8% and Camphor 38.2%, respectively. The toxicity of the oils tested was evaluated and lethal concentrations, LC₂₅, LC₅₀ and LC₉₀ values were estimated for the three exposure times (24, 48 and 72 hours); the results obtained indicated a sensitivity of the larvae of *Aedes caspius* to the six plant species, with dose-response relationship. Lethal concentrations were calculated with their confidence limits. After treatment with the same concentrations, all EOs show a toxic effect. The EO of *Foeniculum vulgare* has a very high larvicidal power against *Aedes caspius* compared to other plants. The effects of *Foeniculum vulgare* essential oil were examined on the biochemical composition (proteins, carbohydrates and lipids) and midgut histology of L4 larvae of *Aedes caspius*. These toxicological tests, using these native plant extracts, could be developed as a safer alternative compound for the mosquito control program.

Keywords: Essential oils, Toxicity, *Aedes caspius*, Biochemical composition, Histology.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Cycle de développement des moustiques	5
Figure 2 : Caractéristiques des œufs des Culicidae	6
Figure 3 : Morphologie générale d'une larve du 4 ème stade de Culicinae	7
Figure 4 : Aspect général des larves et des nymphes des Culicidae	8
Figure 5 : Aspect général des adultes des Culicidae	9
Figure 6 : Critères morphologiques d' <i>Aedes caspius</i>	11
Figure 7 : Critères morphologiques d'identification de la larve d' <i>Aedes caspius</i>	25
Figure 8 : Elevage des moustiques au laboratoire.....	26
Figure 9 : <i>Rosmarinus officinalis</i>	26
Figure 10 : <i>Mentha pulegium</i>	27
Figure 11 : <i>Pinus halepensis</i>	27
Figure 12 : <i>Origanum vulgare</i>	28
Figure 13 : <i>Ecalyptus globulus</i>	28
Figure 14 : <i>Foeniculum vulgare</i>	29
Figure 15 : Broyage du matériel végétal.....	29
Figure 16 : Montage de l'hydro distillateur de type Clavenger	30
Figure 17 : Aglient 7000D combiné avec un CG 7890A.....	31
Figure18 : Tests de toxicité sur les larves de moustiques.....	32
Figure 19 : Extraction et dosage des constituants biochimiques	34
Figure 20 : Agitation des échantillons	35
Figure 21 : Coloration bleue des échantillons contenant des protéines	35
Figure 22 : Coloration rose des échantillons contenant des lipides	37
Figure 23 : Coloration bleue des échantillons contenant des glucides	38

LISTE DES FIGURES

Figure 24 : Extraction des glucides, lipides et protéines totaux selon Shibko et al. (1966).....	39
Figure 25 : Préparation des échantillons histologiques	41
Figure 26 : Chromatogramme GC-FID pour l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i> (abondance en fonction du temps en min).....	44
Figure 27 : Chromatogramme GC-FID pour l'huile essentielle de <i>M. pulegium</i> (abondance en fonction du temps en min).....	45
Figure 28 : Chromatogramme GC-FID pour l'huile essentielle de <i>P. halepensis</i> (abondance en fonction du temps en min).....	47
Figure 29 : Chromatogramme GC-FID pour l'huile essentielle d' <i>O. vulgare</i> (abondance en fonction du temps en min).....	48
Figure 30 : Chromatogramme GC-FID pour l'huile essentielle d' <i>E. globulus</i> (abondance en fonction du temps en min).....	50
Figure 31 : Chromatogramme GC-FID pour l'huile essentielle de <i>F. vulgare</i> (abondance en fonction du temps en min).....	51
Figure 32 : Mortalité observée (%) des larves L4 d' <i>Ae. caspius</i> après traitement par les différentes concentrations de l'HE de <i>R. officinalis</i> ($m \pm SD$; $n=75$).....	53
Figure 33 : Effets de l'HE de <i>R. officinalis</i> appliquée sur les larves 4 d' <i>Ae. caspius</i> : courbe Dose-réponse des probits avec l'équation de régression pour l'effet de l'HE de <i>R. officinalis</i> testée sur des larves L4 d' <i>Ae. caspius</i> pendant 24, 48 et 72 h.....	54
Figure 34 : Mortalité observée (%) des larves L4 d' <i>Ae. caspius</i> après traitement par les différentes concentrations de l'HE de <i>M. pulegium</i> ($m \pm SD$, $n=75$).....	55
Figure 35 : Effets de l'HE de <i>M. pulegium</i> appliquée sur les larves 4 d' <i>Ae. caspius</i> : Courbe dose-réponse des probits avec l'équation de régression pour l'effet de l'HE de <i>M. pulegium</i> testée sur des larves L4 d' <i>Ae. caspius</i> pendant 24, 48 et 72 h.....	56
Figure 36 : Mortalité observée (%) des larves L4 d' <i>Ae. caspius</i> après traitement par différentes concentrations de l'HE de <i>P. halepensis</i> ($m \pm SD$, $n=75$).....	57
Figure 37 : Effets de l'HE de <i>P. halepensis</i> appliquée sur les larves 4 d' <i>Ae. caspius</i> : Courbe dose-réponse des probits avec l'équation de régression pour l'effet de l'HE de <i>P. halepensis</i> testée sur des larves L4 d' <i>Ae. caspius</i> pendant 24, 48 et 72 h.....	58

LISTE DES FIGURES

- Figure 38** : Mortalité observée (%) des larves L4 d'*Ae. caspius* après traitement par les différentes concentrations de l'HE de *O. vulgare* ($m \pm SD$, $n=75$).....**59**
- Figure 39** : Effets de l'HE d'*O. vulgare* appliquée sur les larves 4 d'*Ae. caspius* : Courbe dose-réponse des probits avec l'équation de régression pour l'effet de l'HE d'*O. vulgare* testée sur des larves L4 d'*Ae. caspius* pendant 24, 48 et 72 h.....**60**
- Figure 40** : Mortalité observée (%) des larves L4 d'*Ae. caspius* après traitement par les différentes concentrations de l'HE de *E. globulus* ($m \pm SD$, $n= 75$).....**61**
- Figure 41** : Effets de l'HE d'*E. globulus* appliquée sur les larves 4 d'*Ae. caspius* : Courbe dose-réponse des probits avec l'équation de régression pour l'effet de l'HE d'*E. globulus* testée sur des larves L4 d'*Ae. caspius* pendant 24, 48 et 72 h.....**62**
- Figure 42** : Mortalité observée (%) des larves L4 d'*Ae. caspius* après traitement par les différentes concentrations de l'HE de *F.vulgare* ($m \pm SD$, $n= 75$).....**63**
- Figure 43** : Effets de l'HE de *F. vulgare* appliquée sur les larves 4 d'*Ae. caspius* : Courbe dose-réponse des probits avec l'équation de régression pour l'effet de l'HE de *F. vulgare* testée sur des larves L4 d'*Ae. caspius* pendant 24, 48 et 72 h.....**64**
- Figure 44** : La variation de la mortalité des larves L4 d'*Ae. caspius* par huile.....**66**
- Figure 45** : Efficacité larvicide des huiles essentielles appliquées sur les larves L4 d'*Ae. caspius* en fonction de différentes concentrations.**67**
- Figure 46**: La variation de la mortalité des larves L4 d'*Ae. caspius* en fonction des temps d'exposition.**68**
- Figure 47**: Dosage des protéines totales des larves L4 d'*Ae. caspius* : droite de régression exprimant les absorbances en fonction des quantités d'albumine (μg). (R^2 : coefficient de détermination).....**70**
- Figure 48** : Dosage des lipides totaux des larves L4 d'*Ae. caspius* : droite de régression exprimant les absorbances en fonction des quantités de lipides (μg). (R^2 : coefficient de détermination).....**70**
- Figure 49** : Dosage des glucides totaux des larves L4 d'*Ae. caspius* : droite de régression exprimant les absorbances en fonction des quantités de glucose (μg).**71**

LISTE DES FIGURES

Figure 50 : Coupe longitudinale des cellules de l'intestin moyen des larves L4 d' <i>Ae. caspius</i>	73
--	-----------

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.....	36
Tableau 2 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.....	37
Tableau 3 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.....	38
Tableau 4 : Caractérisation organoleptiques des huiles essentielles étudiées.....	42
Tableau 5 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i>	43
Tableau 6 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>M. pulegium</i>	45
Tableau 7 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>P.halepensis</i>	46
Tableau 8 : Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>O.vulgare</i>	48
Tableau 9 : Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>E. globulus</i>	49
Tableau 10 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>F.vulgare</i>	51
Tableau 11 : Toxicité de l'HE de <i>R. officinalis</i> appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées d' <i>Ae.caspius</i> : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).....	54
Tableau 12 : Toxicité de l'HE de <i>M. pulegium</i> appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées d' <i>Ae. caspius</i> : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).....	56
Tableau 13 : Toxicité de l'HE de <i>P. halepensis</i> appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées d' <i>Ae.caspius</i> : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).....	58
Tableau 14 : Toxicité de l'HE de <i>O. vulgare</i> appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées d' <i>Ae.caspius</i> : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).....	60
Tableau 15 : Toxicité de l'HE de <i>E. globulus</i> appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées d' <i>Ae.caspius</i> : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).....	62

Tableau 16 : Toxicité de l'HE de <i>F. vulgare</i> appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées d' <i>Ae. caspius</i> : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).....	64
Tableau 17 : Analyse statistique de la varianc des résultats de la toxicité des HEs.....	65
Tableau 18 : Effet de l'HE de <i>F. vulgare</i> appliquée (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur le poids corporel (mg) à 24, 48 et 72 heures après traitement chez les larves L4 d' <i>Ae. caspius</i> (m ± SD, n = 3 pools contenant chacun 10 individus) (test post-hoc LSD de Fisher).....	69
Tableau 19 : Effet de l'HE de <i>F. vulgare</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur les teneurs en protéines, carbohydrates et lipides (µg/mg) après 24, 48 et 72 heures après traitement chez les larves L4 d' <i>Ae. caspius</i> (m ± SD).....	72
Tableau 20 : Rendement des HEs dans différents pays.....	76
Tableau 21 : Constituants majoritaires des HEs dans différents pays.....	77

LISTE DES ABREVIATIONS

CL₂₅ : Concentration létale de 25% de la population

CL₅₀ : Concentration létale de 50% de la population

CL₉₀ : Concentration létale de 90% de la population

mm : millimètre

L4 : le quatrième stade larvaire

g : gramme

°C : degré Celsius

µl : micro litre

v : volume

trs : tours

min :minute

DO : Densité Optique

mg : milligramme

ml : millilitre

HE : Huile Essentielle

g : gramme

nm: nano mètre

n : nombre

h : heure

m : moyenne

SD: standard deviation (Ecart type)

ns: non significative

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	4
1.1. Généralités sur les Culicidae.....	4
1.1.1. Cycle de développement des moustiques	4
1.1.2. Œufs.....	6
1.1.3. Stade larvaire	6
1.1.4. Stade nymphal	8
1.1.5. Stade adulte	8
1.2. Présentation d' <i>Aedes caspius</i>	10
1.2.1. Bio-écologie d' <i>Aedes caspius</i>	12
1.2.2. Cycle de vie d' <i>Aedes caspius</i>	13
1.3. Importance médicale des Culicidae et lutte contre les moustiques vecteurs.....	14
1.3.1. Importance médicale d' <i>Aedes caspius</i>	16
1.3.2. Lutte chimique	17
1.3.3. Lutte biologique et utilisation d'extraits botaniques	17
1.4. Description botanique des espèces étudiées	20
1.4.1. <i>Rosmarinus officinalis</i>	20
1.4.2. <i>Mentha pulegium</i>	20
1.4.3. <i>Pinus halepensis</i>	21
1.4.4. <i>Origanum vulgare</i>	22
1.4.5. <i>Eucalyptus globulus</i>	23
1.4.6. <i>Foeniculum vulgare</i>	24

2. MATERIEL ET METHODES	25
2.1. Matériel Biologique	25
2.1.1. Echantillonnage et élevage des moustiques	25
2.2. Matériel végétal	26
2.2.1. Echantillonnage des espèces botaniques étudiées	26
2.2.2. Extraction des HE par hydrodistillation et rendement	29
2.3. Analyse par CG/SM-SM	30
2.4. Traitement et bioessais	32
2.5. Extraction et dosage des constituants biochimiques	33
2.5.1. Dosage des protéines	35
2.5.2. Dosage des lipides	36
2.5.3. Dosage des glucides	37
2.6. Analyse statistique	40
2.7. Etudes histologiques	40
3. RESULTATS	42
3.1. Rendement et caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles.....	42
3.2. Composition chimique des huiles essentielles	42
3.2.1. Composition chimique de l'HE de <i>R. officinalis</i>	43
3.2.2. Composition chimique d'HE de <i>M. pulegium</i>	44
3.2.3. Composition chimique d'HE de <i>P. halepensis</i>	46
3.2.4. Composition chimique d'HE d' <i>O. vulgare</i>	47
3.2.5. Composition chimique d'HE d' <i>E. globulus</i>	49
3.2.6. Composition chimique d'HE de <i>F. vulgare</i>	50

3.3. Activité larvicide	52
3.3.1. Toxicité de <i>R. officinalis</i> à l'égard des larves d' <i>Ae. caspius</i>	52
3.3.2. Toxicité de <i>M. pulegium</i> à l'égard des larves d' <i>Ae. caspius</i>	54
3.3.3. Toxicité de <i>P. halepensis</i> à l'égard des larves d' <i>Ae. caspius</i>	56
3.3.4. Toxicité d' <i>O. vulgare</i> à l'égard des larves d' <i>Ae. caspius</i>	59
3.3.5. Toxicité d' <i>E. globulus</i> à l'égard des larves d' <i>Ae. caspius</i>	61
3.3.6. Toxicité de <i>F. vulgare</i> à l'égard des larves d' <i>Ae. caspius</i>	63
3.4. Efficacité comparée des six HEs (concentration et temps d'exposition) à l'égard d' <i>Ae. caspius</i>	65
3.4.1. Analyse statistique de la variance des résultats de la toxicité des HEs (ANOVA à un facteur : Test de Fisher et test Tukey)	65
3.5. Effet de l'HE de <i>F. vulgare</i> sur le poids et la composition biochimique des larves L4 d' <i>Ae. caspius</i>	69
3.5.1. Effet de l'HE de <i>F. vulgare</i> sur le poids des larves L4 d' <i>Ae. caspius</i>	69
3.5.2. Effet de l'HE de <i>F. vulgare</i> sur la composition biochimique des larves L4 d' <i>Ae. caspius</i>	69
3.6. Effet de l'HE <i>F.vulgare</i> sur l'aspect histologique de l'intestin moyen d' <i>Ae. caspius</i>	72
4.DISCUSSION.....	74
4.1. Rendement et composition chimique des HEs.....	74
4.2. Toxicité des HEs à l'égard des larves d' <i>Ae. caspius</i>	78
4.3. Effet d'HE de <i>F. vulgare</i> sur le poids corporel des larves d' <i>Ae. caspius</i>	82

4.4. Effet d'HE de <i>F. vulgare</i> sur la composition biochimique des larves d' <i>Ae. caspius</i>	83
4.5. Effet histologique sur l'intestin moyen d' <i>Ae. caspius</i>	84
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	85
REFERENCES	87
ANNEXES	110

INTRODUCTION

Les maladies transmises par les Culicidae sont devenues un problème majeur de santé publique et représentent un défi majeur pour les autorités sanitaires. Les moustiques (Diptera : Culicidae) jouent un rôle prédominant comme insecte nuisible et vecteur responsable de la transmission de l'agent causal de maladies infectieuses d'importance médicale et vétérinaire dans le monde entier (Schmidt et al., 2018 ; Barrientos-Rolan et al., 2021). Par conséquent, les moustiques sont considérés comme les animaux les plus mortels de la planète, car les maladies qu'ils transmettent font au moins un million de victimes humaines chaque année (Benelli & Pavela, 2018 ; Murugan et al., 2018).

Dans le but de trouver des solutions aux risques sanitaires posés par les maladies vectorielles, la recherche scientifique a permis de constituer un réservoir de connaissances diversifié et important. Malgré ces avancées importantes, les maladies transmises par les moustiques, représentent toujours une part importante de la charge mondiale de morbidité et de mortalité estimée à 17 % des maladies infectieuses (WHO, 2021). Les moustiques sont de potentiels vecteurs d'agents pathogènes à cause de leur omniprésence, leur large distribution mondiale, mais surtout leur plasticité écologique et adaptation face à un large éventail de conditions environnementales (Chandrasegaran et al., 2020), avec ces phénomènes, ils présentent un schéma de transmission pratiquement ininterrompu tout au long de l'année, devenant un obstacle au développement économique et social.

La prochaine décennie sera marquée par des transitions environnementales et climatiques sans précédent dans le monde entier (Guillaume, 2018), affectant ainsi l'expansion des populations de moustiques (Arroussi et al., 2021) attribuée à la rapidité de ces changements, qui ont facilité leur propagation dans des zones auparavant inhabituelles ou inaccessibles (Kraemer et al., 2019). À cause de cette prolifération, les futures générations seront confrontées à des pathologies nouvelles qui, auparavant, ne se trouvaient que dans les régions tropicales (Darriet, 2014).

L'Algérie, comme de nombreux pays, a connu au cours de ces dernières décennies des fluctuations des maladies vectorielles (Boubidi et al., 2010 ; Lafri et al., 2017). Les espèces *Anopheles sergentii* et *Anopheles cinereus hispaniola* étaient impliquées dans la transmission du paludisme (Sinka et al., 2010 ; Snow et al., 2012) ; en outre, l'espèce

envahissante *Aedes albopictus*, le vecteur potentiel du virus Zika, a récemment envahi la partie Nord du pays (Hamaidia & Soltani, 2021).

Pour construire une reconnaissance éco-épidémiologique à multi-échelle, il est essentiel de s'appuyer sur des études de la biologie des moustiques à une échelle grossière ou fine afin de comprendre les liens entre les conditions environnementales, les caractéristiques du cycle de vie des moustiques et la propagation des maladies vectorielles (Chandrasegaran et al., 2020). L'augmentation rapide de l'étendue géographique des maladies vectorielles et la lenteur de la mise au point des vaccins ont conduit le secteur de la santé publique à ne plus se concentrer sur la lutte contre ces maladies, mais plutôt sur le contrôle des populations des moustiques (Heath, 2020).

L'utilisation abusive de produits chimiques de synthèse dans les campagnes de lutte contre les moustiques, présente plusieurs inconvénients majeurs, à savoir la pollution de l'environnement et la toxicité pour les organismes non cibles (Ramkumar & Shivakumar, 2015 ; Benelli & Pavela, 2018). Par conséquent, de nouvelles alternatives sont nécessaires pour une lutte efficace et sans effets secondaires. Parmi les propositions faites, la lutte biologique, comme le *Bacillus thuringiensis* (Aissaoui & Boudjelida, 2014) et les régulateurs de croissances des Insectes (IGRs) (Boudjelida et al., 2005). Les dernières décennies les insecticides d'origine végétale testés ont montré des résultats prometteurs (Bouguerra et al., 2019 ; Bouzidi et al., 2020 ; Draouet et al., 2020 ; Kharoubi et al., 2020 ; Seghier et al., 2020 ; Guettal et al., 2021 ; Aissaoui et al., 2022a). Les recherches s'orientent actuellement sur le règne végétal, car de nombreux produits végétaux ont des propriétés insecticides, répulsives, principalement les insectes vecteurs de maladies (Aissaoui et al., 2022b ; Abdelali et al., 2023).

Le présent travail de recherche a pour but à valoriser l'action insecticide de plusieurs plantes autochtones, naturelles et cultivées à l'égard d'une espèce de moustiques *Aedes caspius*, vecteur de plusieurs pathogènes.

La première partie, est destinée à l'extraction par hydrodistillation des huiles essentielles des plantes suivantes : *Foeniculum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare*, *Eucalyptus globulus*, *Pinus halepensis* et *Mentha pulegium*. Cette extraction est suivie par l'analyse chimique des différentes huiles par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CPG-SM /SM), afin de déterminer les composants majeurs de chaque huile.

Une autre partie a été consacrée à l'étude de l'effet larvicide de ces huiles sur l'espèce de moustiques, *Aedes caspius* pour révéler les paramètres de létalité (CL₂₅, CL₅₀ et CL₉₀).

La dernière partie traite l'impact de l'huile essentielle la plus toxique, sur des alternances développementales, biochimiques et histologiques, des larves du stade L4 de l'espèce *Ae. caspius*, traitées aux concentrations létales.

1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Généralités sur les Culicidae

Les insectes sont des Arthropodes, caractérisés par une diversité d'espèces qui sont présentes dans tous les différents milieux écologiques. Leur développement est caractérisé par les mues successives permettant la croissance et le changement morphologique de l'animal (Rodhain, 1996) et le passage au stade adulte et soumis à un processus appelé la métamorphose. Les insectes amétaboles considérés comme primitifs, ne sont pas soumis à des métamorphoses complètes et qui subissent uniquement des mues post-imaginale. Les Hétérométaboles sont des types d'insectes à métamorphose incomplète, qui deviennent adultes à l'issue de la mue imaginaire et en dernier les holométaboles représentent les insectes à métamorphose complète qui subissent successivement au cours de leur développement post-embryonnaire, trois phénotypes différents ; larve, nymphe puis adulte.

Parmi les nombreux ordres appartenant à la classe des insectes, les diptères et plus particulièrement la famille des Culicidae. Les Culicidae regroupent les insectes holométaboles communément appelés moustiques. Classée dans l'ordre des Diptères et le sous-ordre des Nématocères ; Cette famille est divisée en trois sous-familles ; les Toxorhynchitinae, les Anophelinae et les Culicinae, et comprend environ 3000 espèces. Elle est caractérisée par des individus avec un corps élancé, ils possèdent des antennes longues et fines à multiples articles (plus de six articles), Seules les femelles sont hémaphages, qui possèdent de longues pièces buccales en forme de trompe rigide de type piqueur-suceur et la présence d'écailles sur les nervures alaires (Boulkenafet, 2006).

1.1.1. Cycle de développement des moustiques

Les Culicidae sont des insectes holométaboles, qui offrent à tous les stades de leur développement des détails anatomique et morphologique qui facilitent amplement la systématique de ce groupe. Cependant, ce sont surtout les larves et les adultes qui fournissent le maximum de caractères taxonomiques.

Le cycle biologique du moustique comprend une phase aquatique et une phase aérienne (Fig.1). Les adultes ou imago, sont aériens alors que les œufs, les larves et les nymphes constituent les stades pré-imaginaux et vivent dans l'eau douce le plus souvent ou parfois saumâtre (Clements, 1999).

La femelle prend généralement un repas de sang pour assurer la maturation des ovocytes. Ce cycle dure environ douze à vingt jours dans les conditions optimales. L'accouplement des moustiques a lieu en vol ou dans la végétation et il ne se fait en générale qu'une seule fois durant leurs vies. La femelle, après la prise du sang, se pose dans un endroit abrité pour digérer son repas. La ponte des œufs aura lieu 2 à 4 jours après la prise du sang (Bendali-Saoudi, 2006). En général, la femelle ne s'accouple qu'une seule fois, mais pond périodiquement pendant tout son exocrine (Himmi, 2007).

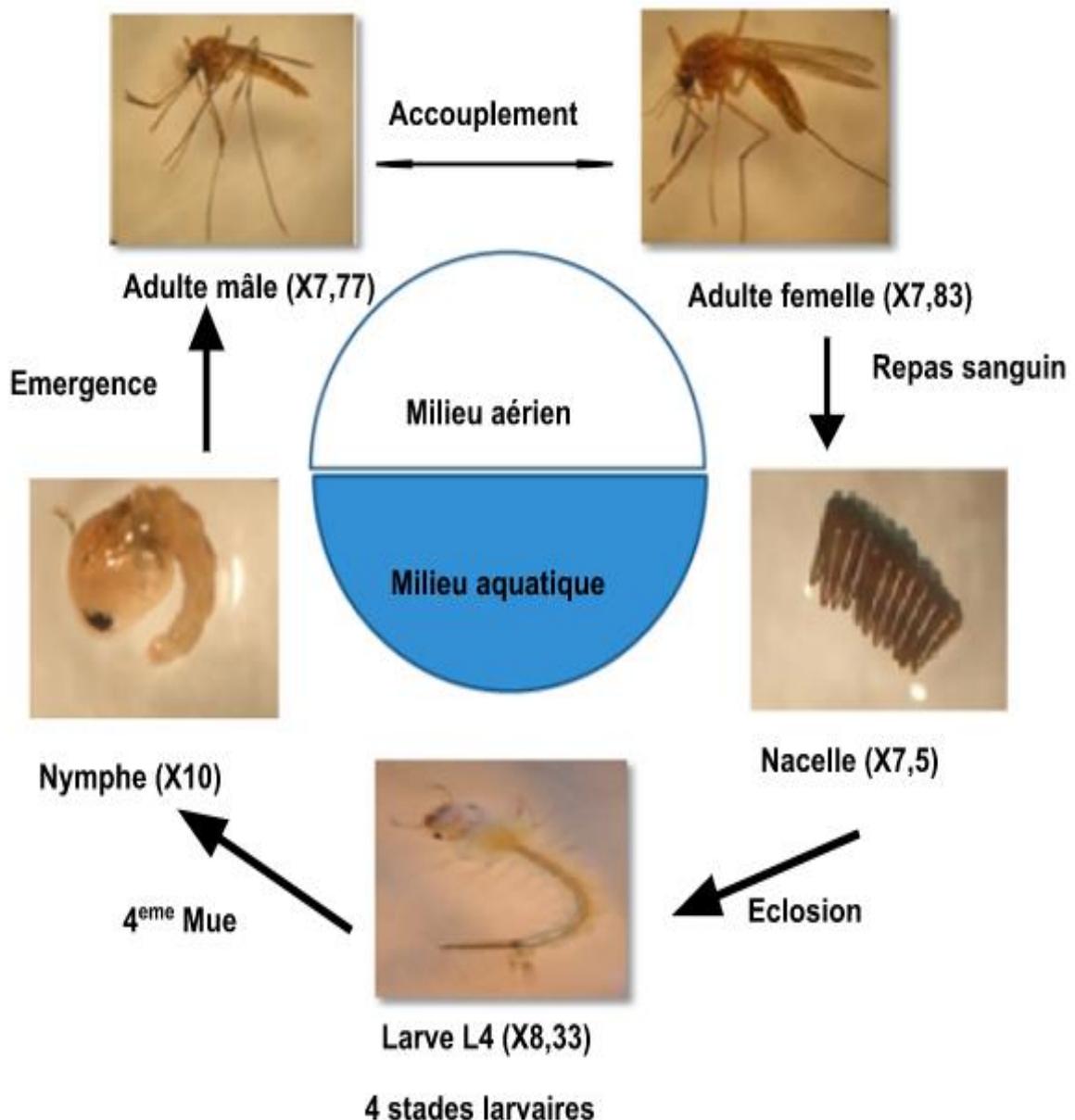


Figure 1. Cycle de développement biologique du moustique (Aissaoui, 2014).

1.1.2. Œufs

Après le repas sanguin, les femelles de moustiques se dirigent vers la surface de l'eau pour pondre leurs œufs. Le comportement de ponte dépend des espèces de moustiques. Les femelles gravides pondent leurs œufs de différentes manières (Djegahader, 2013).

L'œuf des moustiques est généralement fusiforme et mesure environ 0.5mm. Au moment de la ponte ; il est blanchâtre et prend rapidement, par oxydation de certains composants chimiques de la thèque une couleur marron ou noire (Fig.1). La couche externe de l'œuf ou exichorion présente des ornements particuliers caractéristiques des genres et espèces (Fig.2). Ces formations assurent aux œufs leur flottaison et leur position relative par rapport à la surface de l'eau (Brunhes et al., 2001).

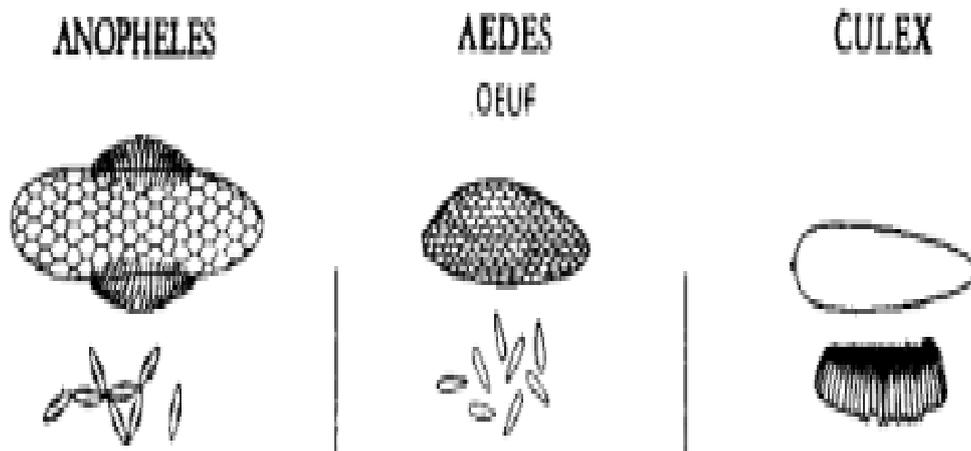


Figure 2. Caractéristiques des œufs des Culicidae (OMS, 2003).

1.1.3. Stade larvaire

Après l'éclosion des œufs, les larves vivent dans l'eau de 1 à 7 jours, parfois plus si les conditions ne sont pas optimales, et de même, certaines espèces peuvent hiberner pendant le stade larvaire. Quatre stades larvaires successifs sont séparés chacun par une mue (Fig.1).

Ce stade est aquatique ; Les larves de Culicidae se différencient des autres insectes aquatiques par l'absence de pattes. Ces larves sont vermiformes cylindro-coniques et apodes. Elles se déplacent rapidement par saccades. Leur corps est divisé en trois sections : la tête, le thorax et l'abdomen. Sa taille varie de 2 à 12 mm (Robert, 1998).

Une tête pourvue d'une paire d'antennes, d'une paire de mandibules armées de dents, la tête est la partie du corps fortement chitineuse légèrement allongée, et plus au moins aplatie dorso-ventralement (Himmi, 2007) (Fig.3). Un thorax plus large que la tête ; il est formé de trois segments soudés : le prothorax, le mésothorax et le métathorax. Les faces ventrales et dorsales sont ornementées de soies. L'abdomen est allongé, sub-cylindrique, composé de neuf segments individualisés dont le huitième possède un intérêt majeur en taxonomie et où se détache le siphon respiratoire caractérisant la sous-famille des Culicinae (Siengre, 1974). Alors que, les espèces de la sous-famille des Anophelinae sont dépourvues, respirant directement à partir de papilles anales postérieures.

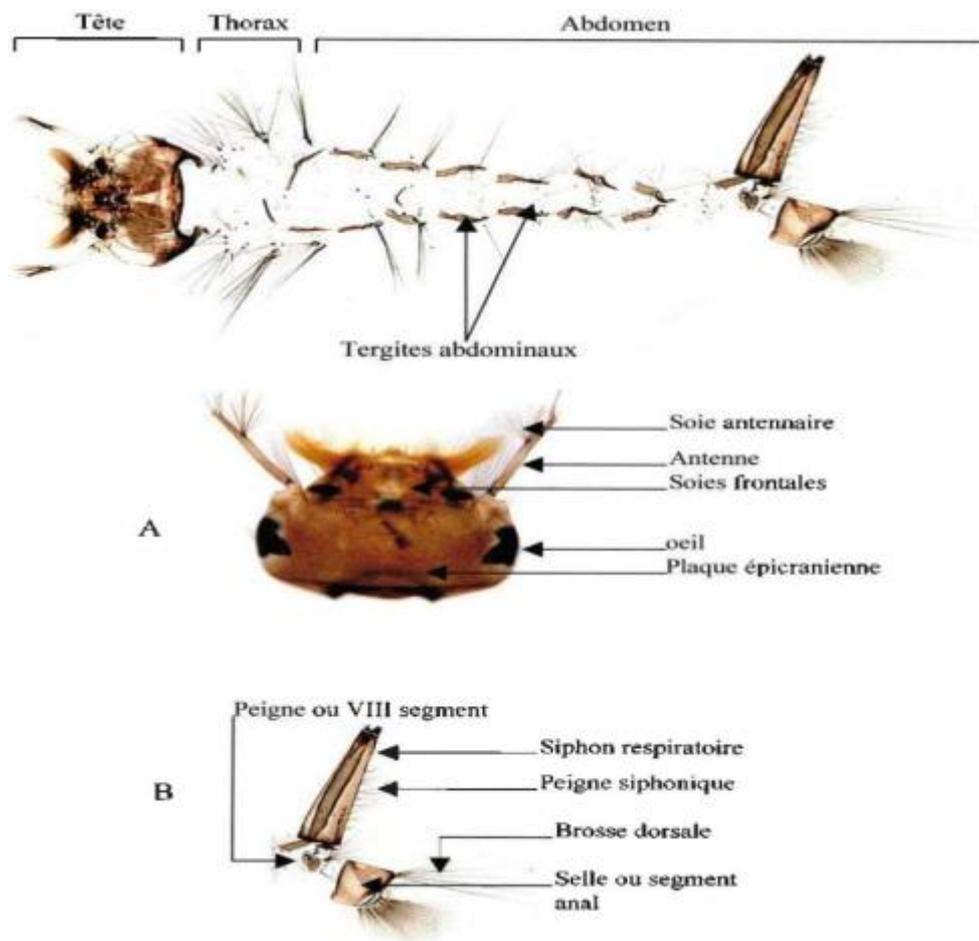


Figure 3. Morphologie générale d'une larve du 4^{ème} stade de Culicinae (Brunhes, 2001).

A: la tête, B: le siphon

1.1.4. Stade nymphal

Lorsque les larves de moustiques atteignent le quatrième stade larvaire L4, elles muent et deviennent des nymphes ou pupe. La nymphe est également aquatique.

Le stade de la nymphe est l'intervalle entre les stades larvaire et adulte chez les moustiques ; l'étape s'étend de 1 à 3 jours, la nymphe ne se nourrit pas, la bouche et l'anus sont clos (Duvallet et al., 2017). Cependant, ils atteignent la surface de l'eau pour respirer exactement comme des larves. Les pupes respirent à l'aide de trompettes respiratoires (Fig.4). La nymphe présente un céphalothorax. L'extrémité abdominale est aplatie en palettes ou nageoires, le moustique subit de profondes transformations morphologiques et physiologiques préparant le stade adulte.

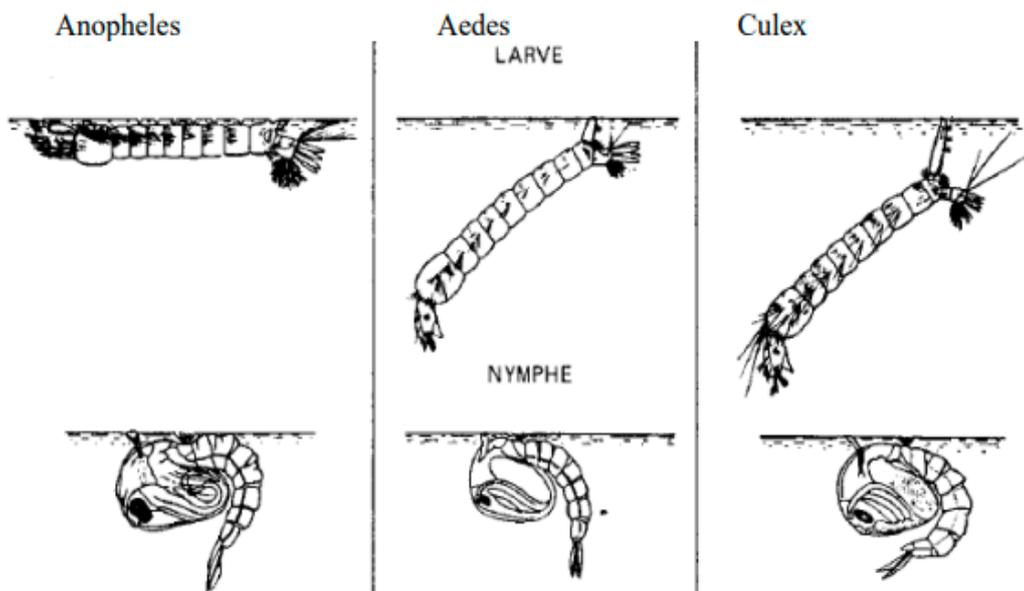


Figure 4. Aspect général des larves et des nymphes des Culicidae (OMS, 2003).

1.1.5. Stade adulte

Les mâles et les femelles s'accouplent 3 à 5 jours après l'émergence. La vie masculine est relativement courte comme son rôle se termine par l'accouplement. D'autre part, la durée de vie des femelles moustiques s'étend plus, et il peut varier selon les espèces. Le fait que les femelles sont responsables de la ponte et d'assurer la survie des générations ; les femelles ont donc besoin d'un repas sanguin pour pondre leurs œufs. La fécondation des œufs s'effectue lors de la ponte grâce au stockage du sperme des mâles par la femelle dans une spermathèque (Brunhes et al., 2001).

Les moustiques adultes, comme les autres insectes, ont trois régions du corps : la tête, le thorax et l'abdomen. Chacune de ces régions est en outre subdivisée en segments, qui peuvent ou non être discernables en tant qu'unités distinctes. Dans la tête et le thorax, les segments sont principalement fusionnés et difficiles à distinguer. Les segments de l'abdomen sont généralement évidents (Clements, 1999).

La tête de moustique est le centre sensoriel du corps. La tête est de forme presque sphérique et est dominée par deux grands yeux composés, qui sont d'excellents organes visuels, même dans des situations de faible luminosité. La surface de l'œil est divisée en plusieurs petites unités, appelées facettes. Les antennes appariées apparaissent entre les yeux et servent à la fois d'organes chimiosensoriels et mécanosensoriels (détecteurs de sons). L'antenne est divisée en trois régions (Fig.5).

Le thorax, situé entre la tête et l'abdomen, porte les pattes et les ailes, et est donc le centre locomoteur du moustique adulte. Les moustiques adultes ont six pattes (Fig.5).

L'abdomen, la région la plus postérieure du corps, est le principal site de digestion, d'excrétion et de reproduction. Il est divisé en dix segments, chacun composé d'une plaque dorsale et ventrale. L'abdomen se termine par deux appendices en forme de doigts, les cerques, qui fonctionnent lors de la ponte et de la copulation. Chez les femelles *Aedes* et *Psorophora*, les cerques sont visibles, dépassant de la pointe de l'abdomen. Dans de nombreux autres genres, les cerques sont rétractés dans le corps et ne sont pas visibles (Fig.5) (Burkett-Cadena, 2013).

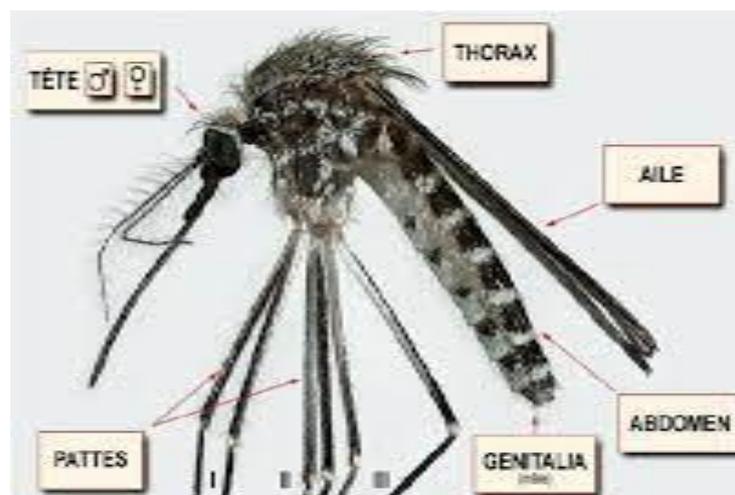


Figure 5. Aspect général des adultes des Culicidae (Brunhes et al., 2000).

1.2. Présentation d'*Aedes caspius*

Comme chez tous les moustiques, la morphologie externe des larves et des adultes permet en général une distinction rapide au niveau des genres (Duvallet et al., 2017). La tribu Aedini (famille des Culicidae) contient environ un quart des espèces connues de moustiques, y compris des vecteurs d'agents pathogènes mortels ou débilitants. Cette tribu contient le genre *Aedes*, qui est l'un des trois genres de moustiques les plus familiers. Au cours de la dernière décennie, Aedini a fait l'objet d'une série d'études phylogénétiques approfondies basées sur la morphologie publiée par Reinert, Harbach et Kitching (RH&K) (Wilkerson et al., 2015).

Les œufs d'*Aedes* sont allongés, rétrécis et fusiformes qui sont généralement déposés un par un sur un substrat humide à interface air/eau. Les œufs du genre *Aedes* sont dépourvus de flotteurs latéraux et munis de petites ailles qui assurent leur stabilité sur le fond de l'eau (Duvallet et al., 2017).

Ces œufs sont entourés d'une épaisse coquille pourvue au pôle antérieur d'un micropyle. Elles flottent horizontalement à la surface de l'eau. Le nombre des œufs pondus peut atteindre les 300 selon les espèces (Urquhart et al., 1996) qui éclosent en 24 à 48 heures (Ripert, 2007). Les œufs de certains moustiques comme *Aedes* peuvent supporter la dessiccation ; Asséchés au moment de la ponte, ils peuvent ainsi attendre la mise en eau (pluie) plusieurs semaines, mois, voire années (Kettle, 1995).

L'espèce a été reconnue en observant la tête et le siphon de la larve. La larve de cette espèce se distingue par des antennes courtes, d'un siphon court (large et petit) portant une touffe de soie médiane et dépourvu de soies dorsales et des dents de peigne siphonal en forme d'épines (Fig.5). Au niveau de l'abdomen, les dents du huitième segment (segment anal) sont disposées en désordre (Hassain, 2002).

L'adulte est un petit moustique long de 5 mm environ. Le moustique est reconnaissable à ses couleurs pales, au scutum qui présente des bandes claires continues, avec des écailles de couleur jaune crème ou blanche à la ligne abdominale médiane dorsale d'écailles pales (Fig.6). Les femelles d'*Ae. caspius* sont connues par les piqûres très douloureuses et sont considérées comme une nuisance sur les plages rocheuses. Ils pourraient également agir comme vecteurs de la tularémie, du virus Tahyna et peut-être du virus du Nil occidental (Becker et al., 2003).

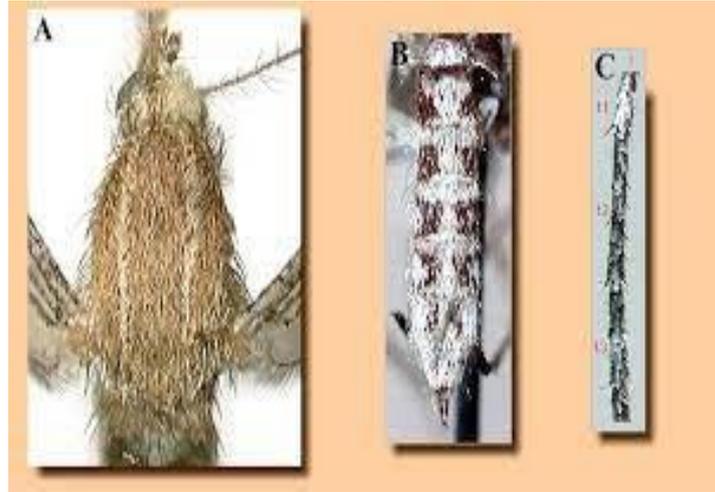


Figure 6. Critères morphologiques d'*Aedes caspius* (Brunhes, 2000).

A : thorax ; B : Abdomen ; C: Patte I (tarsomères t1, t2 & t3).

➤ Caractères femelles

Tête : Couleur des palpes entièrement sombres (sombres à la base et clairs à l'apex) avec des écailles claires et sombres mêlées. Les proboscis sont entièrement sombres (clairs sur la partie médiane). Thorax : Ornementation du scutum sans dessins bien marqués, avec des bandes continues avec 1 à 3 paires de points blancs avec une grosse tache antéro-médiane. Les couleurs des écailles du scutum sont seulement jaunes, jaunes et crèmes ou blanches jaunes, blanches et noires, jaunes et noires, blanches et noires (Brunhes, 2000).

➤ Caractères mâles

Tête : Couleur du proboscis est entièrement sombre, clair sur sa partie médiane. Thorax : Ornementation du scutum sans dessins bien marqués avec des bandes continues avec 1 à 3 paires de points blancs avec une grosse tache antéro-médiane. Les couleurs des écailles du scutum seulement jaunes, jaunes et crèmes ou blanches jaunes, blanches et noires, jaunes et noires, blanches et noires. Couleur du tarsomère 1 : entièrement sombre (seulement blanc à la base ou bien à la base et l'apex) (Brunhes, 2000).

La plupart des espèces de moustiques présentent un comportement anthropophile et elles peuvent donc servir de vecteurs de plusieurs agents pathogènes. *Aedes spp* et *Ochlerotatus spp* sont connus pour transmettre les virus de la dengue, du Chikungunya et de la fièvre jaune (Outammassine et al., 2021 ; Trewin et al., 2021 ; Ma et al., 2022).

Le moustique *Aedes caspius* se développe dans plusieurs types de gîtes temporaires et y compris les eaux peu profondes, eaux salées, saumâtres et eaux douces, le plus souvent des gîtes de grande taille (mares, marais, rizières, canaux...), mais parfois de dimension réduites (fossés, puits abandonnés...) (Shaffner et al., 2001).

Dont le cycle de vie est contrôlé par quelques facteurs environnementaux relativement peu nombreux et soumis à submersions temporaires. Toutes les nations africaines méditerranéennes ont signalé avoir vu *Aedes (Ochleratattus) caspius*, mais seulement à basse altitude (Benserradj, 2014).

La position systématique de moustiques *Aedes caspius* a été proposée par Pallas, (1771) comme suit :

Règne :	Animalia
Sous-Règne :	Metazoa
Embranchement :	Arthropoda
Sous-Embranchement :	Hexapoda
Classe :	Insecta
Sous-Classe :	Pterygota
Infra-Classe :	Neoptera
Super-Ordre :	Holometabola
Ordre :	Diptera
Sous-Ordre :	Nematocera
Famille :	Culicidae
Genre :	<i>Aedes</i>
Espèce :	<i>Aedes caspius</i> Pallas, 1771

1.2.1. Bio-écologie d'*Aedes caspius*

Moustique paléarctique *Ae. caspius* a été observé dans tous les pays d'Afrique méditerranéenne mais toujours à basse altitude. *Ae. caspius* ne doit pas être confondu avec *Ae. dorsalis*, espèce qui est morphologiquement très proches (Brunhes et al., 2001).

L'exochorion des œufs est marqué de bourrelets ponctués dessinant des pentagones ou des hexagones. Ils sont pondus isolément, à la base des touffes de végétation, dans un

sédiment riche en matière organique mais relativement peu salé (4 à 7 g de NaCl p.1000). Les œufs peuvent être associés à ceux d'*Ae. coluzzi* mais ces derniers affectionnent les sédiments nettement plus salés. Plusieurs cycles d'immersion et de dessiccation peuvent être nécessaires pour provoquer l'éclosion des larves (Brunhes et al., 2000 ; Shaffner et al., 2001).

Les gîtes larvaires sont très variés, le plus souvent de grande taille (mares, marais, rizières, canaux...) mais parfois de dimensions plus réduites (puits abandonnés...); l'eau peut y être douce ou salée (1 à 30 g de NaCl p.1000) La présence d'une abondante végétation halophile est la règle. L'éclosion différée de quelques œufs fait que des larves peuvent être présentes toute l'année dans les gîtes. L'espèce passe l'hiver à l'état d'œuf (Brunhes et al., 2000 ; Hassain, 2002).

Anthropophile et exophile, *Ae. caspius* est responsable d'une forte nuisance dans les zones de marais. Bon voilier, il peut aussi piquer loin des gîtes larvaires. Il est vecteur de filaires animales et d'arbovirus (Tahyna, virus de la myxomatose) (Porretta et al., 2007).

1.2.2. Cycle de vie d'*Aedes caspius*

Le type de cycle de vie d'*Aedes caspius* regroupe les moustiques culicinés multivoltins avec œufs résistants à la dessiccation. Ce dernier étant le seul représentant en Europe et en Afrique du Nord, où il est généralement et plus simplement désigné sous le nom d'*Ae. caspius* (Wassim et al., 2013); Les œufs de ce groupe sont déposés dans une variété d'habitats inondés de façon irrégulière par la pluie ou la marée. (Brunhes et al., 1999). Une génération distincte est produite chaque fois que les œufs sont inondés pendant les mois d'été. Les espèces de ce type de cycle de vie hivernent dans le stade de l'œuf lorsque les températures ambiantes ne sont pas propices à l'éclosion des œufs et au développement larvaire (Wayne, 2004).

➤ Habitats larvaires

Les stades préimaginaux d'*Ae. caspius* se développent normalement dans les eaux légèrement saumâtres, mais peuvent aussi se rencontrer dans des eaux douces et supporter des taux élevés de chlorures. Les gîtes larvaires sont de nature très variée (mares, marais, rizières, canaux, etc.), mais à végétation abondante ; les gîtes sont souvent de grande

dimension, mais ils peuvent parfois être de taille plus réduite (fossés, puits, creux de rocher, petits récipients artificiels) (Duvallat et al., 2017 ; Trari & Dakki, 2017).

➤ Comportement trophique

Les espèces d'*Aedes* sont fortement anthropophiles. Évidemment, les espèces les plus anthropophiles sont meilleurs vecteurs (Duvallat et al., 2017). Souvent responsables d'une grande nuisance, les femelles sont exophiles et piquent tous les vertébrés à sang chaud. Les imagos, dotés d'une grande capacité de vol, peuvent piquer dans des lieux bien éloignés des gîtes larvaires (Benhissen et al., 2022).

1.3. Importance médicale des Culicidae et lutte contre les moustiques vecteurs

Les Culicidae, appelés communément les moustiques, sont des insectes hématophages. La place importante qu'occupent les moustiques dans la faune terrestre comme dans la faune aquatique d'une part, et la lutte contre les maladies transmises par leurs piqûres d'autre part, font de ces arthropodes un matériel d'étude important pour les biologistes (Boulkenafet, 2006). Les moustiques en plus de leur nuisance sont des vecteurs actifs de plusieurs agents pathogènes, tels que les protozoaires (paludisme), des virus (fièvre jaune, dengue et West Nile) et des nématodes (filariose) qu'ils transmettent à l'homme et aux animaux domestiques et son histoire n'a appris toute son importance qu'avec la connaissance de l'éthologie de certaines maladies infectieuses et la découverte de l'agent microbien. Les maladies à transmission vectorielle sont des enjeux majeurs de santé publique dans de nombreux pays du monde, où plus de 80 % de la population mondiale est exposée au risque de maladies transmises par des vecteurs, dont les moustiques étant le principal contributeur au fardeau de maladies vectorielles (Ojianwuna et al., 2022). Raji et Potter (2022) rapportent que la moitié de la population humaine mondiale est exposée au risque de maladies transmises par les moustiques. De plus, environ 500 millions de cas et 2,7 millions de décès dus à des maladies transmises par ces arthropodes sont enregistrés chaque année (Al-Mekhlafi et al., 2021).

La dynamique de transmission des agents pathogènes à transmission vectorielle est déterminée par les interactions entre les agents pathogènes, les vecteurs et les hôtes vertébrés, et est influencée par des facteurs environnementaux et socio-écologiques (Martínez-de la Puente et al., 2021). La transformation anthropique du paysage a un effet

important sur la transmission des agents pathogènes à transmission vectorielle, en particulier dans la perspective d'une augmentation de leur distribution et de leur incidence au cours des dernières décennies (Feraguti et al., 2022). L'expansion géographique des moustiques est associée à une augmentation de la fréquence des épidémies de maladies transmises par les moustiques (MBD : Mosquito-Borne Arboviruses) dans le monde (Wang et al., 2020). En effet, le réchauffement supplémentaire augmente le risque d'apparition de maladies transmises par les moustiques à l'avenir. Cela a déjà constitué une menace potentielle pour la santé publique des habitants. De plus, des recherches prenant en compte à la fois le degré d'anthropisation de l'environnement urbain et l'assemblage d'espèces d'insectes sont essentielles pour développer des stratégies adéquates contre les maladies vectorielles émergentes. D'autres études sont nécessaires pour mesurer l'impact sur la santé publique à travers des études d'inventaires, d'occurrence et répartition spatio-temporelle actualisés des espèces de moustiques en Algérie ont été emportées pour réaliser un programme de surveillance plus active (Senevet & Andarelli, 1960 ; Aissaoui & Boudjelida, 2017 ; Benmalek et al., 2018 ; Benhissen et al., 2022 ; Hafsi et al., 2021 ; Chahed et al., 2021). Il existe environ 3000 espèces de moustiques, dont une centaine est vectrices de maladies. Parmi les espèces connues dans la transmission des maladies à l'homme, nous citons celles appartenant aux genres *Culex*, *Aedes* et *Anopheles*. Le paludisme et d'autres maladies à transmission vectorielle, dont la dengue et la maladie à virus Zika, touchent des millions de personnes dans le monde ; En 2019, il y avait environ 229 millions de cas de paludisme et 409 000 décès dus au paludisme dans le monde (Rasmussen et al., 2021). Le virus du West Nil est aujourd'hui le virus le plus répandu dans le monde, présent sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique (Kramer et al., 2008).

En Algérie, 1994, dans la région de Timimoune, le virus du West Nil a déclenché une importante épidémie qui a fait plusieurs cas mortels (Guenno et al., 1996 ; Zientara et al., 2001). A l'heure actuelle, la transmission des maladies par les culicidés a été signalée en Algérie, en plus des cas de WNV (West Nile Virus) qui ont été signalés chez l'Homme, le virus du Nil occidental a été détecté chez *Cx. perexiguus* (Benbetka et al., 2018, Hachid et al., 2019 ; Lafri et al., 2019). Les espèces *Cx. perexiguus* et *Cx. pipiens* étaient signalées, dans un premier rapport, comme espèce vectrice potentielle du SINV en Algérie et plus largement dans le nord-ouest de l'Afrique, ce qui peut constituer un risque potentiel pour la santé humaine dans la zone de circulation (Ayhan et al., 2022). En outre, l'espèce

envahissante *Aedes albopictus*, le vecteur potentiel du virus Zika, a récemment envahi la partie Nord du pays (Izri et al., 2011 ; Lafri et al., 2014 ; Benallal et al., 2016 ; Arroussi et al., 2021). Au même titre que *Culex pipiens* et *Cx. theileri*, *Ae. caspius* peut être vecteur d'arbovirus déjà identifiés en Europe (Trari et al., 2017). L'espèce de moustique *Aedes caspius* (Diptera: Culicidae) est l'un des principaux vecteurs d'arbovirus, dont les virus du West Nil, de la dengue, du chikungunya et de la fièvre jaune qui a fortement affecté les humains dans le monde entier, en particulier dans les régions tropicales et subtropicales où la température et l'humidité favorisent la prolifération (Ma et al., 2022). Ces dernières années, les maladies à transmission vectorielle ont été endiguées grâce à des médicaments, des vaccins et l'application de nouvelles approches basées sur les insecticides, y compris l'utilisation des moustiquaires imprégnée d'insecticides (George & Bockarie, 2022). Dans un examen récent, de l'importance des stratégies vectorielles pour le contrôle et l'élimination des maladies à transmission vectorielle, Wilson et al. (2020) ont suggéré que la lutte antivectorielle a davantage contribué à réduire la carte des maladies à transmission vectorielle que les médicaments ou les vaccins. Une nouvelle génération d'insecticides sans danger pour l'environnement sera essentielle pour lutter contre les moustiques résistants aux insecticides (Isoe et al., 2019).

1.3.1. Importance médicale d'*Aedes caspius*

Les moustiques Aedini sont responsables de la transmission de la Barmah forest, Batai, Babanki, Bouboui, Bunyamwera, Chikungunya, Cache, Valley, Dengue, Eastern Equine Encephalitis, Edge Hill, Everglades, Getah, Gangan, HighlandJ, Ilheus, James Canyon, Kedougou, La Crosse, Lebombo, Murray Valley River, Nyando, Ngari, Oriboca, Orungo, Pongola, Ross River, Rift Valley Fever, Semiliki Forest, Sindbis, St Louis, Encephalitis ; Spondweri, Tahyna, Tensaw, Trivittatus, Ouganda S, encéphalite équine vénézuélienne, Nil occidental, WSLV, Wesselbron, Wyeomyia, fièvre jaune et Zika (Wilkerson et al., 2015).

Aedes (Ochleratattus) caspius a été observé dans tous les pays d'Afrique Méditerranéenne mais toujours à basse altitude. Les espèces de ce genre peuvent être un véritable fléau par la nuisance qu'elles occasionnent à l'homme et aux animaux dans certaines régions, en particulier en zones tempérées (*Oc. caspius* par exemple) (Duvall et al., 2017). *Aedes caspius* est un vecteur de filaires animales et d'arbovirus (Tahyna, virus de la Myxomatose), peut être infecté naturellement par le virus West- Nille et dissémine la

tularémie (Joubert et al., 1967 ; Brunhes et al., 2001). Il a aussi été trouvé porteur du *Plasmodium aviaire* dans le Sud de l'Espagne (Ferraguti et al., 2013).

1.3.2. Lutte chimique contre les moustiques

La lutte contre les moustiques par des produits chimiques, tels que plusieurs insecticides neurotoxiques conventionnels, joue actuellement un rôle en santé publique en tant qu'élément essentiel d'une gestion globale et intégrée des vecteurs (Chansang et al., 2018). Malgré des décennies d'efforts de gestion efficaces à l'aide d'insecticides chimiques comme le meilleur moyen de réduire les populations de moustiques adultes, la transmission des maladies persiste (Ferraguti et al., 2021). Cependant, les pesticides chimiques conventionnels peuvent être toxiques pour d'autres organismes bénéfiques et plantes non ciblées, ainsi que pour l'air, l'eau et le sol, entraînant une pollution de l'environnement et une menace pour la santé humaine (Tudi et al., 2021). Toutefois, la nécessité de réduire l'utilisation des insecticides conventionnels et développer des alternatives est urgent en raison de l'effet délétère de l'application des insecticides, en particulier le développement d'une résistance chez les moustiques ainsi que l'impact sur la santé et l'environnement (Rathy et al., 2015 ; Shoba et al., 2018 ; Smith & Perfetti, 2020).

1.3.3. Lutte biologique et utilisation d'extraits botaniques

La méthode biologique, a fait l'objet d'une nouvelle lutte, plus sûre, plus sélective. Elle est représentée par l'utilisation de micro-organisme, champignons, poissons et même des extraits végétaux. Ces dernières induisent des effets toxiques contre différentes espèces de Diptères (Bendali et al., 2001 ; Scholte, 2005 ; Aissaoui & Boudjelida, 2014 ; Djeghader et al., 2018, Djeddar et al., 2021 ; Aissaoui et al., 2022a). L'application d'extraits botaniques pourrait être une solution alternative pour le contrôle des moustiques (Aissaoui et al., 2022b). Les plantes aromatiques sont parmi les insecticides les plus efficaces d'origine botanique et les huiles essentielles constituent souvent la fraction bioactive des extraits de plantes (Shaaya et al., 1997). Beaucoup de ces plantes, sont connues pour être productrices d'HEs, notamment des plantes supérieures, des angiospermes et des gymnospermes, appartenant à environ 50 familles, le plus souvent des Apiaceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Pinaceae et des Zingiberaceae. Leurs HEs sont connues pour leurs usages culinaires et surtout dans la médecine traditionnelle pour le traitement de différents maux (Abdel-Massih & El Beyrouthy, 2022).

L'activité antimicrobienne des HEs et de leurs composants a été démontrée sur une variété de microorganismes (Saviuc et al., 2015). De même, ils ont des activités antibactériennes, antivirales et antifongiques (Saika et al., 2019). La plupart de ces composés phytochimiques ont également des performances équivalentes à celles des larvicides synthétiques disponibles dans le commerce, ce qui conduit à leur promotion et à la suggestion de leur utilisation comme larvicide à base de plantes (Shaalán et al., 2009). De plus, Selon Naqqash et al. (2016), il n'y a aucun rapport de résistance aux larvicides à base de plantes actuellement commercialisés, et ceci est lié à leurs multiples mécanismes d'action. Cela nous permet de soutenir davantage l'utilisation des bioinsecticides pour le contrôle des moustiques (Pavela et al., 2016). Leur échec à remplacer les insecticides synthétiques est dû à de multiples problèmes sous-jacents, tels que l'incapacité de préparer des extraits de plantes ou des extraits phytochimiques en quantités de distribution en vrac, une application insuffisante ou un larvicide ou au-delà de la dose recommandée. Un autre inconvénient est de négliger d'étudier et de rassembler des preuves expérimentales concernant le mode d'action de cet extrait phytochimique ou végétal particulier dans le déclenchement de la mortalité larvaire (Rao et al., 2021).

Étant donné que les moustiques se reproduisent et que leurs stades embryonnaire et larvaire se produisent dans des mares et des flaques d'eau, l'application de produits phytochimiques pour leur contrôle est gérable (Becker et al., 2010 ; WHO, 2017). Contrairement aux adultes, les larves ne sont pas capables de modifier leur comportement pour éviter les agents de contrôle (EPA, 2016).

De plus, les œufs et les larves de moustiques sont les systèmes idéaux pour cribler les nouveaux insecticides présents dans les formulations à base de plantes (Subramaniam et al., 2012 ; Benelli et al., 2017). De nombreuses études ont rapporté les activités larvicides des extraits de plantes, et leurs applications directes semblent prometteuses (Abdel-Meguid, 2021 ; Bouguerra & Boukoucha, 2021 ; Emam et al., 2021 ; Guettal et al., 2021). Communément appelée clochettes jaunes, *Tecoma stans* (L.) Kunth (Bignoniaceae), est une plante ornementale populaire et une plante médicinale traditionnelle impliquant diverses classes chimiques telles que les polyphénols et les flavonoïdes (Saleh et al., 2019). C'est une espèce prometteuse en raison de ses activités anti-inflammatoires, analgésiques, anti-hyperglycémiques (Saleh et al., 2019) et anticancéreuses (Abisha & Raj, 2020), en plus de ses potentiels antioxydants (Larbie et al., 2019 ; Abisha & Raj, 2020), antibactériens et antifongiques (Bakr et al., 2019 ; Abisha & Raj, 2020). Afin d'évaluer les

extraits de *T. stans* comme mosquitocides plus sûrs et efficaces, plusieurs études ont été entreprises sur son potentiel répulsif (Gupta & Gupta, 2020). Récemment, Reis et al. (2020) ont démontré son potentiel contre un flavivirus infectieux transmis par les moustiques (Zika).

Les composés dérivés de plantes ont une bonne perspective comme alternatives naturelles sûres, sélectives, économiquement viables et biodégradables est importante pour lutter contre les maladies transmises par les moustiques (Damtie & Mekonnen, 2021). Ils possèdent également un effet insecticide interférant avec fonctions physiologiques, métaboliques, comportementales et biochimiques des insectes par inhalation, ingestion ou absorption cutanée, induisant une action neurotoxique (Khan & Mukhtar, 2013). Les huiles essentielles (HEs) des plantes et leurs principaux constituants, monoterpènes et sesquiterpènes, peuvent être une source alternative de contrôle des larves de moustiques et d'agents anti-moustiques. Ils agissent comme adulticides, pupicide, larvicides, dissuasifs et répulsifs (Govindarajan et al., 2016 ; Chansang et al., 2018 ; Mohamed et al., 2022 ; Abdelali et al. 2023). Ils sont relativement moins toxiques, biodégradables avec des impacts minimales sur la santé animale et humaine, et agissent souvent sur des sites cibles multiples et nouveaux, réduisant ainsi le potentiel de résistance (Isman, 2006 ; Perumalsamy et al., 2009 ; Khater & Geden, 2018).

Les familles Apiaceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Pinaceae et des Zingiberaceae ont attirés beaucoup d'attention dans le cadre d'être productrices d'HEs, ainsi que l'étude des disponibilités locales, nous a permis de choisir les plantes suivantes : *Foeniculum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare*, *Eucalyptus globulus*, *Pinus halepensis* et *Mentha pulegium*. En Algérie, la faune Culicidienne a fait l'objet d'un grand nombre de travaux qui s'intéressent plus particulièrement à la lutte biologique, par le biais d'utilisation des HEs, nous citons : l'activité larvicide des huiles essentielles de plantes médicinales aromatiques (*Ocimum basilicum*, *Lavandula dentata*, *Mentha piperita*, *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis*) a été confirmée dans les travaux de Tine-Djebbar et al. (2021) sur *Culex pipiens*. Sur la même espèce les travaux de Dris et Bouabida (2020) ont révélé l'activité larvicide d'une huile essentielle de *Ruta graveolens* algérienne. L'activité larvicide de plusieurs plantes médicinales (*Marrubium vulgare*, *Laurus nobilis*, *Eucalyptus globulus* et *Myrtus communis*) a été testée à l'égard de *Culiseta longiareolata* dans les travaux de (Aissaoui et al., 2022a)

Dans ce contexte le travail réalisé a pour but de contribuer utilement à l'amélioration des connaissances scientifiques sur les moustiques de la région de Sétif, la valorisation de plantes autochtones pour les programmes de lutttes anti-vectoriels.

1.4. Description botanique des espèces étudiées

1.4.1. *Rosmarinus officinalis*

Le romarin, connu en botanique sous le nom de *Rosmarinus officinalis* L. est un arbrisseau toujours vert, touffu et ligneux de 1 à 2 m environ de la famille des lamiacées. Les fleurs sont d'un bleu pale, maculées intérieurement de violet. Le romarin dégage une odeur analogue à celle de l'encens, sa saveur est camphrée et légèrement amère (Delille, 2007). Très répandu dans les régions méditerranéennes et la plante la plus populaires en Algérie, s'est avéré être un candidat polyvalent, pousse à l'état sauvage dans le bassin méditerranéen occidental avec plus de 20 variétés, *R. officinalis* a été utilisé, depuis l'Antiquité, à différentes fins médicinales, culinaires et ornementales (Zeroual et al., 2022).

La position systématique de *Rosmarinus officinalis* L., 1753 est la suivante :

Règne	Plantae
Classe	Equisetopsida
Sous-classe	Magnoliidae
Super-ordre	Asteranae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i> L., 1753

1.4.2. *Mentha pulegium*

La menthe pouliot est une plante herbacée vivace à odeur aromatique, fertile. Les tiges sont quadrangulaires, ramifiées. Elle peut atteindre de 15 cm jusqu'à 30-40cm de hauteur (Beloued, 2005).

M. pulegium, qui appartient à la famille Lamiaceae est très répandue dans l'aire méditerranéenne, est connue sous le nom de « menthe pouliot – Fliou en berbère ». Elle est fréquente dans les milieux humides et elle est parfois cultivée comme plante condimentaire

pour ses feuilles très aromatiques. C'est une espèce spontanée dans l'ensemble de l'Europe, l'Asie, l'Amérique et le nord de l'Afrique (du Maroc à l'Égypte) (Sutour, 2011). La partie aérienne florissante de pouliot est traditionnellement utilisée pour son effet antiseptique, et aussi comme antifatulent, carminatif, expectorant, diurétique, pour le traitement du rhume, sinusite, cholera, intoxications alimentaires, bronchite et tuberculose (Kamkara, 2010).

Cette plante a aussi la particularité d'être insecticide puisqu'elle a été déjà utilisée pour faire éloigner les insectes (Lahreche, 2010). Les parties aériennes de la plante *Mentha pulegium* ont été traditionnellement utilisées pour leurs propriétés antiseptiques dans le traitement des maladies infectieuses, elle possède plusieurs propriétés biologiques : antioxydantes, anticholinestérase, vermifuges, antimicrobiennes et insecticides (Ramzi et al., 2022).

La Position systématique de *Mentha pulegium* L., 1753 est la suivante :

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

1.4.3. *Pinus halepensis*

Le pin d'Alep est l'espèce de pin la plus répandue dans la région méditerranéenne et peut pousser dans des conditions climatiques très variées (Olivar et al., 2022). En Algérie *P. halepensis* Mill., qui appartient à la famille des Pinaceae occupe principalement l'étage semi-aride et s'accommode bien aux terrains calcaires (Sadou et al., 2015). L'huile essentielle de *Pinus halepensis* peut être utilisée à des façons très différentes pour un large spectre de maladie et symptômes.

Des nombreuses applications considérables de cette l'huile essentielle, comme antimicrobiennes (souches bactériennes pathogènes respiratoires) et insecticides (insectes diptères) (Mitića et al., 2019).

La position systématique de *Pinus halepensis* Mill., 1768 est la suivante :

Règne	Plantae
Division	Pinophyta
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Pinaceae
Sous-famille	Pinoideae
Genre	<i>Pinus</i>
Espèce	<i>Pinus halepensis</i> Mill., 1768

1.4.4. *Origanum vulgare*

Origanum vulgare L. appartenant à la famille des Lamiaceae communément appelé « Origan », très répandue dans toute la région méditerranéenne (Lukas et al., 2015). C'est une herbacée vivace, aromatique à tige érigée, dressée, grêle à section carrée, qui mesure de 20 à 80 cm de haut (Delille, 2007). Elle est ainsi reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolée, épicée et chaude (Dubois et al., 2006). Elle pousse jusqu'à 4000 m d'altitude, principalement sur les substrats calcaires et, fleurit de mai à octobre. C'est une plante hémicryptophyte. Les plantes hémicryptophytes sont des plantes vivaces dont les bourgeons de renouvellement sont situés au niveau du sol. En effet, les parties aériennes meurent pendant la mauvaise saison, et la plante peut donc repartir à partir des bourgeons de renouvellement (Caillaud, 2013). C'est une plante souvent peu rougeâtre violacée et qui est couverte de poils. Les tiges peuvent persister l'hiver à l'état sec. Dont les propriétés thérapeutiques ont été abondamment étudiées. Traditionnellement utilisé en applications locales contre la pédiculose, rhumatisme, parasiticide, antispasmodique, stomachique, antiseptique, bronchite chronique (Delille, 2007).

Des études antérieures ont montré qu'*O. vulgare* a des activités biologiques importantes telles que des effets antioxydants, antibactériens, antimicrobiens, antifongiques et anti-génotoxiques (Demir et al., 2013). De plus, en termes d'activité insecticide, l'huile essentielle d'*Origanum* a un excellent effet sur le contrôle des insectes des produits stockés, les moustiques, les cafards, les mouches domestiques et les insectes nuisibles agricoles (Gong & Ren, 2020).

La position systématique d'*Origanum vulgare* L. 1753 est la suivante :

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanum vulgare</i> L. 1753

1.4.5. *Eucalyptus globulus*

Eucalyptus globulus (ou gommier bleu de Tasmanie) est l'une des espèces végétales médicinales les plus largement utilisées, à travers le monde comme médicament traditionnel pour traiter diverses infections. Les espèces d'*Eucalyptus* sont de grands arbres qui appartiennent à la famille des Myrtacées ; originaires d'Australie et ont été introduites en Algérie par Ramel en 1854 (Benabdesslem et al., 2020), dans le but d'assainir les régions marécageuses, cet arbre aimant les régions humides. Il est caractérisé par sa croissance rapide (Beloued, 2009).

C'est une espèce qui appartient à la famille des Myrtacées (Delille, 2007). Il est caractérisé par ses feuilles bleus-gris au stade juvénile, se rejoignant à la base en formant un disque circulaire autour du rameau. Les feuilles adultes lancéolées sont de 12 cm de long et de 2,5 cm de large, ces feuilles ont une odeur balsamique et une saveur fortement aromatique et résineuse suivie d'une sensation de fraîcheur. L'écorce est grise et brune et les fleurs blanches contiennent de nombreuses étamines groupées. Le fruit est petit et mesure 5 mm de longueur. Fleurs : blanches, régulières le plus souvent solitaires (Perrier, 2014). Les feuilles d'eucalyptus possèdent des propriétés antiseptiques, fébrifuges, astringentes, rhumatismes, des névralgies, influenza, hyperglycémie (Masso, 2007).

Les extraits de feuilles d'*E. globulus* ont largement utilisé depuis des siècles. L'Activité insecticide considérable de l'huile d'*E. globulus* contre la mouche domestique démontre sa potentialité en tant qu'option viable pour le développement de produit écologique pour le contrôle des insectes (Kumar et al., 2012 ; Aissaoui et al., 2022a).

La position systématique d'*Eucalyptus globulus* est la suivante :

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Eucalyptus</i>
Espèce	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill., 1800

1.4.6. *Foeniculum vulgare*

Le fenouil est une plante annuelle, bisannuelle ou vivace selon les variétés, originaire du bassin méditerranéen (Barros et al., 2010). Plante à tiges élevées de 1 m ramifiée, à forte odeur d'anis, glabre un peu glauque et à souche épaisse. Le fenouil (*Foeniculum vulgare*) appartient à la famille des Apiaceae, qui est largement cultivée dans zones tropicales et tempérées du monde. La plante est largement utilisée par la population locale comme source d'épices et pour ses propriétés médicinales (Hendawy et al., 2010). En médecine traditionnelle, le fenouil est très usité pour ses effets carminatifs, sédatifs, apéritifs, stomachiques, antispasmodiques, ballonnements, stimulant, colite et gastrite (NamavarJahromi, 2002 ; Beloued, 2005).

La position systématique de *Foeniculum vulgare* Mill., 1768 est la suivante :

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Sous-famille	Apioideae
Tribu	Apieae
Genre	<i>Foeniculum</i>
Espèce	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill., 1768

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Echantillonnage et élevage des moustiques

Les larves d'*Aedes caspius* (Fig.7) ont été récoltées à partir du gîte non traité dans le district de Setif (Nord-Est de l'Algérie) (35°95'09'' N, 5°73'78''E), en tenant compte de ses caractères écologiques c'est un site urbain, permanent et riche en végétation.

Au laboratoire, l'élevage des larves a été réalisé dans une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ et une photopériode journalière de 14 :10 (Bendali-Saoudi et al., 2001) dans des bacs avec de l'eau du robinet, nourries avec de la nourriture pour poissons. Une fois que les larves atteignent le stade nymphal, les pupes sont disposées dans des cages où elles se transformeront en adulte. Le changement de l'eau et l'ajout de la nourriture sont effectués tous les 2 à 3 jours (Fig.8).

Une solution de glucose à 10% a été administrée à des adultes émergents. De plus, un repas sanguin a été fourni aux femelles adultes en plaçant un rat Wistar (Fig.8) dans la cage pendant deux heures dans une pièce sombre. Des plateaux contenant de l'eau du robinet étaient gardés à l'intérieur des cages d'élevage des adultes pour la ponte.

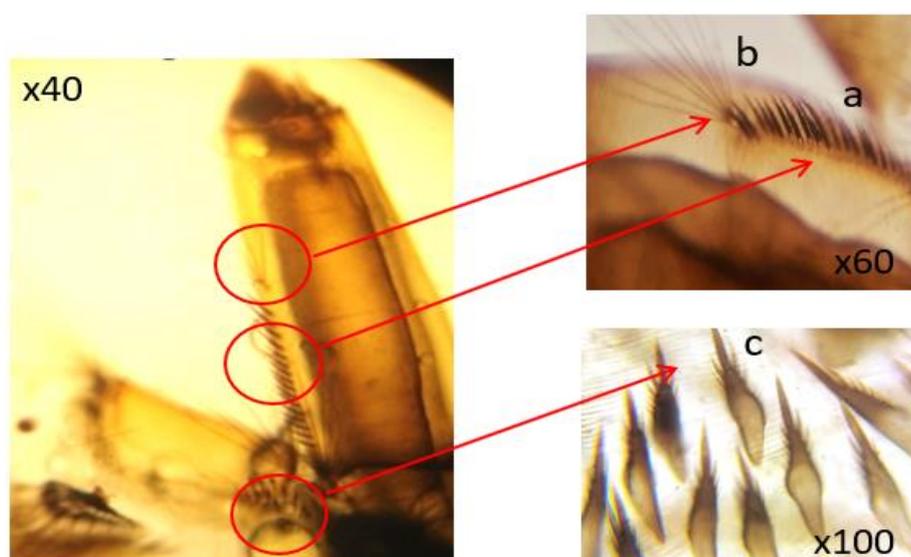


Figure 7. Critères morphologiques d'identification de la larve d'*Aedes caspius*

a : dents du peigne siphonal. b : touffe de soie. c : dents du segment VIII.

(Photo personnelle).

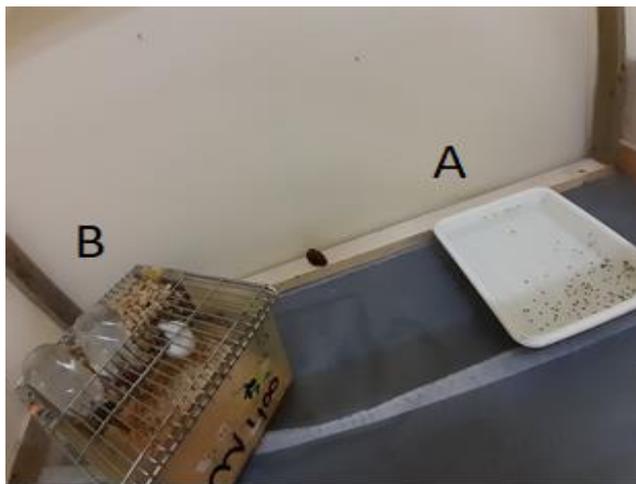


Figure 8. Elevage des moustiques au laboratoire (Photo personnelle).

A : Récipients des nymphes, B : Rat Wistar

2.2. Matériel végétal

2.2.1. Echantillonnage des espèces botaniques étudiées

➤ *Rosmarinus officinalis*

Les parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* L. ont été recueillies au mois de mars à Ouled Tebben (35°76'08'' N, 5°14'05''E) (Fig.9), région de Sétif : 1119m d'altitude.



Figure 9. *Rosmarinus officinalis* L., (Photo personnelle).

➤ *Mentha pulegium*

Les parties aériennes (Fig.10) de *M. pulegium* ont été recueillies au mois de juillet à Megress- Ain Abessa (36°30'73'' N, 5°36'23''E), Nord-Ouest de Sétif, Algérie, 1200 m d'altitude).



Figure 10. *Mentha pulegium* L. (Photo personnelle).

➤ *Pinus halepensis*

Les feuilles (aiguilles) de *P. halepensis* Mill., ont été recueillies au mois d'avril à Lakhbabcha – Ouricia (36°24'65'' N, 5°40'53''E), (Nord de Sétif, Algérie, 1230 m d'altitude) (Fig.11).



Figure 11. *Pinus halepensis* Mill. (Photo personnelle).

➤ *Origanum vulgare*

Les parties aériennes d'*Origanum vulgare* L. ont été recueillies au mois de Juin à Megress (36°33'01'' N, 5°35'96''E), Ain Abessa région montagneuse où les habitants utilisent fréquemment ses plantes en médecine traditionnelle (Nord-Ouest de Sétif, Algérie, 1200 m d'altitude) (Fig.12).



Figure 12. *Origanum vulgare* L., (Photo personnelle).

➤ *Eucalyptus globulus*

Les feuilles d'*Eucalyptus globulus* ont été recueillies au mois de Novembre à Berbesse-Tizi n'bechar (36°46'54'' N, 5°38'96''E) région des hauts plateaux (Nord de Sétif, Algérie, 750 m d'altitude) (Fig.13).



Figure 13. *Eucalyptus globulus* L. (Photo personnelle).

➤ *Foeniculum vulgare*

Les parties aériennes de *Foeniculum vulgare* ont été recueillies au mois d'Octobre à Hammam Guergour (36°34'77'' N, 5°06'26''E), région des hauts plateaux (Nord-Ouest de Sétif, Algérie, 1000 m d'altitude) (Fig.14).



Figure 14. *Foeniculum vulgare* Mill (Photo personnelle).

2.2.2. Extraction des HE par hydrodistillation et rendement

Après le rinçage du matériel végétal avec de l'eau distillé, les échantillons sont complètement séchés à l'air libre et à l'ombre. Puis, ils ont été soumis à un broyage avec un hachoir commercial Moulinex (Fig.15).



Figure 15. Broyage du matériel végétal (Photo personnelle).

Une quantité de 100g de poudre des six espèces végétales a été hydrodistillée pendant 3h à l'aide d'un appareil de type Clevenger (type apparatus) (Fig.16). Les huiles essentielles obtenues ont été conservées dans des flacons sombres à 4°C jusqu'à ce qu'elles soient testées et analysées.

Le rendement en huile essentielle a été estimé par le rapport entre le poids d'huile extraite et celui de la plante sèche. Elle est exprimée en pourcentage ; en utilisant l'équation suivante :

Rendement en huile = teneur en huile (g)/poids de la plante sèche \times 100.



Figure 16. Montage de l'hydro distillateur de type Clevenger (photo personnelle).

2.3. Analyse par CG/SM-SM

Les huiles essentielles des six espèces végétales (*Rosmarinus officinalis*, *Mentha pulegium*, *Pinus halepensis*, *Origanum vulgare*, *Eucalyptus globulus* et *Foeniculum vulgare*) ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse-spectrophotométrie de masse GC-MS/MS à Bouchaoui INCC (Institut National de Criminologie et Criminalistique, Algérie). Le volume de la solution a été ajusté à 1 ml avec de l'hexane avant d'être transféré dans un flacon de CG pour analyse. Tous les solvants utilisés (Fisher Scientific, Loughborough, Royaume-Uni) sont de qualité chromatographie liquide haute performance.

La quantification des composants des huiles essentielles a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse de type Agilent 7890A, équipée d'un détecteur CG-FID. Un échantillonneur automatique et une entrée multimode refroidie à l'air sont mis en œuvre sur le dispositif GC utilisé. La température du vaporisateur est réglée à 280 °C. Le volume

d'injection est de 1 μ L en mode fractionné et le rapport de fractionnement a été fixé à 10:1. La concentration de l'huile injectée est de 1 % dans l'hexane. Une colonne capillaire HP-5MS (30 m de longueur ; diamètre intérieur de 0.25 mm ; 0.25 μ m d'épaisseur du film) est utilisé. L'hélium de haute pureté (N60) a été utilisé comme gaz vecteur à un débit de 1 ml/min. La température du four est maintenue à 50 °C pendant 1 min, augmentée de 9 °C/min jusqu'à 280 °C. La température finale est maintenue pendant 5 min.

Dans les mêmes conditions chromatographiques que la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CG/SM-SM), l'identification des composants pétroliers essentiels est déterminée à l'aide d'un instrument quadripolaire triple Agilent 7000 D, qui combine un CG 7890A pour la séparation et un spectromètre de masse quadripolaire triple fonctionnant à 70V pour effectuer la spectrométrie de masse en tandem (Fig.17).

L'identification des constituants a été réalisée par MassHunter (MH) Workstation Software Qualitative Analysis Workflows (version B.10.00, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA). Il a été exploité avec les paramètres suivants : les composés ont été découverts par déconvolution du chromatogramme avec les paramètres par défaut ; Les substances ont été identifiées à l'aide d'une recherche dans la MS library (NIST17).



Figure 17. Agilent 7000D combiné avec un CG 7890A (Photo personnelle).

2.4. Traitement et bioessais

Les bioessais ont été effectués sur les larves de moustiques du quatrième stade nouvellement exuviées d'*Aedes caspius* à l'aide des huiles essentielles des espèces végétales étudiées. L'activité larvicide a été analysée selon la procédure standard recommandée par l'Organisation mondiale de la santé (WHO, 2005). Des essais préliminaires ont été effectués afin de sélectionner une gamme de concentrations pour les tests toxicologiques. 1ml de chaque HE a été dissout dans l'éthanol pour obtenir 1% et 10% de solution stock. Les concentrations suivantes ont été choisies : 10, 20, 40, 50, 60, 80, 100, 200 et 400 μ l. Pour chaque HE, les témoins positifs ont été exposés à 1 ml d'éthanol, tandis que les témoins négatifs ont été exposés à de l'eau seulement. Les tests toxicologiques ont été réalisés à partir des huiles essentielles des espèces : *Rosmarinus officinalis*, *Mentha pulegium*, *Pinus halepensis*, *Origanum vulgare*, *Eucalyptus globulus* et *Foeniculum vulgare*, avec différentes concentrations : 10, 20, 40, 50, 60, 80, 100, 200 et 400 μ l, à l'égard des larves de quatrième stade d'*Aedes caspius* (Fig.18). L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 25 individus pour chaque concentration. Après une exposition de 24, 48 et 72 h aux concentrations selon les recommandations, la mortalité des séries témoins et traitées est enregistrée quotidiennement. Les larves qui ne montraient aucun mouvement étaient enregistrées comme étant mortes.



Figure 18. Tests de toxicité sur les larves d'*Aedes caspius* (Photo personnelle).

2.5. Extraction et dosage des constituants biochimiques

Le corps entier des larves du quatrième stade d'*Aedes caspius* des séries témoins et traitées avec l'huile essentielle de l'espèce *F. vulgare* avec les concentrations létales CL₂₅ CL₅₀ pendant 24, 48 et 72h est préalablement pesé et conservé dans des tubes eppendorf contenant 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 %. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 10 individus avec des séries témoins. L'extraction des principaux constituants biochimiques (protéines, glucides et lipides) a été réalisée sur les échantillons correspondants à des groupes de 10 individus selon le procédé de Shibko et al. (1966) (Fig.24).

Après une homogénéisation aux ultrasons (Fig.19A) puis centrifugation (5000 tours/min à 4°C pendant 10 min) (Fig.19B) le surnageant I (Fig.19C) est récupéré et servira au dosage des glucides totaux selon la méthode de (Duchateau & Florkin, 1959), le culot I additionné de 1 ml d'un mélange éther/ chloroforme (v/v, 1/1) a subi une deuxième centrifugation (5000 trs /min, 10 mn), dans les mêmes conditions que précédemment, afin de récupérer le surnageant II (Fig.19D), qui sera utilisé pour l'analyse quantitative des lipides (Goldsworthy et al., 1972). Le culot II dissout dans 1 ml de soude (0.1N), permettra la quantification des protéines selon Bradford (1976).

Grâce à une courbe d'étalonnage dont l'équation ($y = a x + b$) exprime les densités optiques (DO). La quantité des métabolites a été déterminée en fonction de la quantité du standard utilisé selon la formule suivante :

$$\text{Quantité (glucides, lipides ou protéines)} = \frac{DO-b}{a} \times 10 / \text{poids (mg)}.$$

Les résultats ont été exprimés en µg par individu sur la base de trois répétitions.

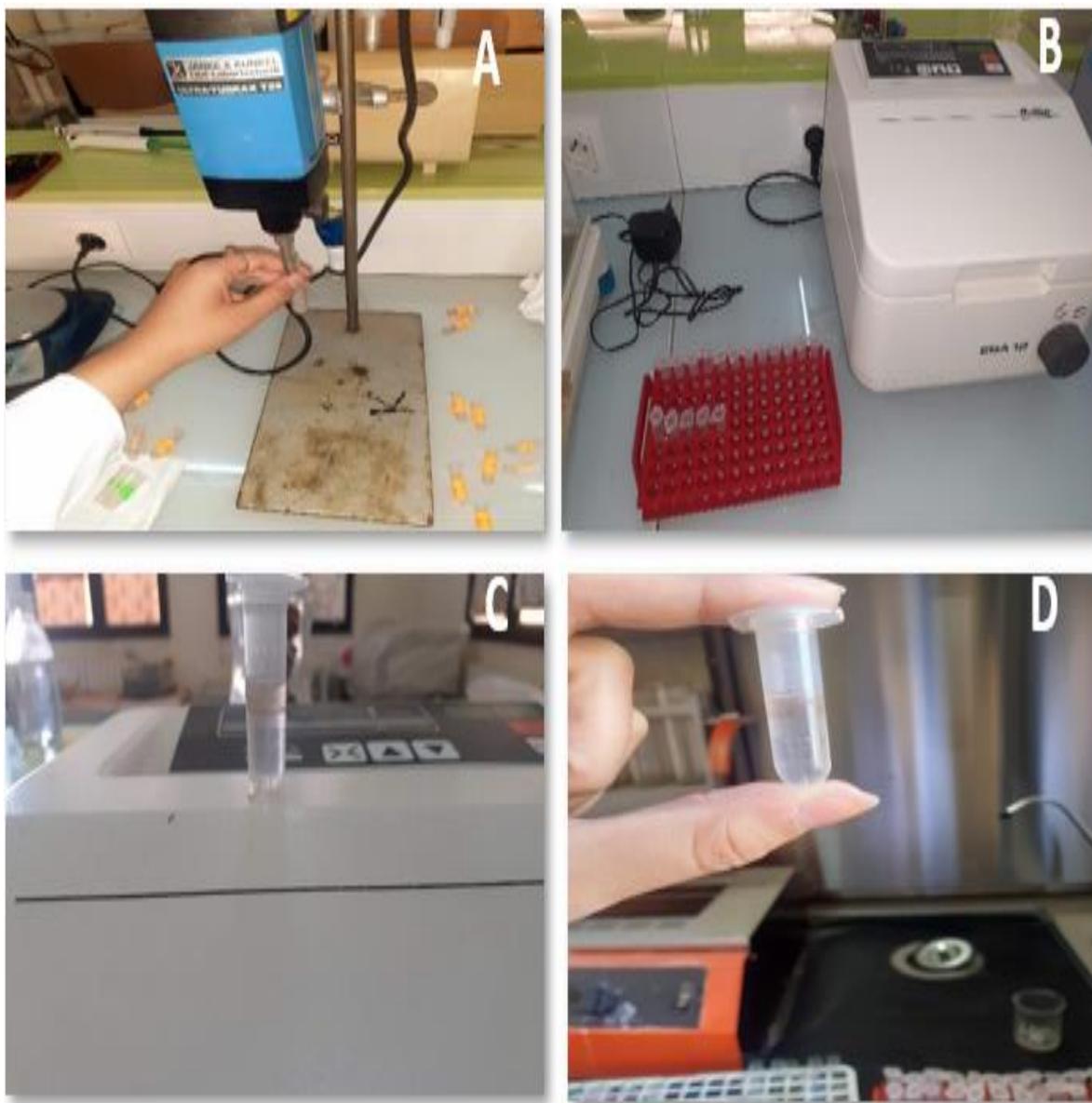


Figure 19. Extraction et dosage des constituants biochimiques (Photo personnelle).

A : Homogénéisation par ultra-turrax T25. **B :** Centrifugation des échantillons.

C : Le premier surnageant. **D :** Le deuxième surnageant.

2.5.1. Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de Bradford (1976), dans une fraction aliquote de 100 μ l à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de comassie (BBC) (G250, Merck) comme réactif (100mg BBC, 50 ml d'éthanol absolu 95°, 100ml d'acide orthophosphorique à 85% complété à 1000ml par de l'eau distillée), sa durée de conservation est de 2 à 3 semaines à 4°C, et l'albumine de sérum de bœuf (BSA) comme protéine standard à 1mg/ml. Après l'agitation (Fig.20) se développe avec la présence des protéines une coloration bleue (Fig.21). L'absorbance est lue avec un spectrophotomètre (JENWAY 6405 UV/Vis) dont la longueur d'onde est de 595 nm contre un blanc de gamme. La quantité de protéines est calculée à l'aide de la droite de régression issue d'une gamme d'étalonnage (Tableau 1).



Figure 20. Agitation des échantillons (Photo personnelle).



Figure 21. Coloration bleue des échantillons contenant des protéines (Photo personnelle).

Tableau 1. Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution (BSA) d'albumine (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

2.5.2. Dosage des lipides

Le contenu en lipides corporels totaux est déterminé selon la méthode de Goldsworthy et al. (1972). La concentration des lipides totaux a été estimée, utilisant la sulfophosphanillinique comme réactif (0.38g de vanilline, 55 ml d'eau distillée et 195 ml d'acide orthophosphorique à 85 %). Le dosage des lipides se fait après évaporation totale du solvant dans un bain à sec à 40°C, des prises aliquotes de 100 µl de surnagent II des extraits lipidiques ou de gamme étalon, on additionne 1 ml d'acide sulfurique concentré (96%). Les tubes fermés sont agités et chauffés dans un bain à sec à 100°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, on prélève 200 µl de chaque tube auxquels on ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphanillinique (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) et on agite. Après 30 minutes à l'obscurité, le complexe se colore en rose (Fig.22). La densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. La solution mère des lipides est préparée en utilisant l'huile de tournesol qui contient plus de 99 % de triglycérides selon la procédure suivante : 2.5 mg d'huile de table pesés dans un tube Eppendorf ; cette quantité est ensuite reprise dans 1 ml du mélange (éther / chloroforme) (V/V) (Tableau 2).



Figure 22. Coloration rose des échantillons contenant des lipides (Photo personnelle).

Tableau 2. Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Quantité de la solution mère de lipides (μl)	0	20	40	60	80	100
Solvant Ether/Chloroforme (μl)	100	80	60	40	20	0
Réactif de vanilline (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

2.5.3. Dosage des glucides

Le dosage des glucides totaux a été effectué selon la méthode de Duchateau et Florkin (1959). En utilisant l'anthrone comme réactif (150 mg d'anthrone 75 ml d'acide sulfurique et 25 ml d'eau distillée) et une solution mère de glucose (1mg/1ml) comme standard. La quantité des glucides est calculée à partir de la droite de régression obtenue à partir de la gamme d'étalonnage, effectuée à partir d'une solution mère de glucose 1mg/1ml d'eau distillée (Tableau 3).

La méthode consiste à additionnée à une fraction aliquote de 100 μ l de surnageant, 4 ml de réactif d'anthrone et après chauffage du mélange dans un bain marie (80°C pendant 10 min) une coloration verte se développe (Fig.23), dont l'intensité mesurée à une longueur d'onde de 620 nm est proportionnelle à la concentration des glucides présente dans l'échantillon.



Figure 23. Coloration verte des échantillons contenant des glucides
(Photo personnelle).

Tableau 3. Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Quantité de la solution mère de Glucose (μl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (μl)	100	80	60	40	20	0
Réactif d'anthrone (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

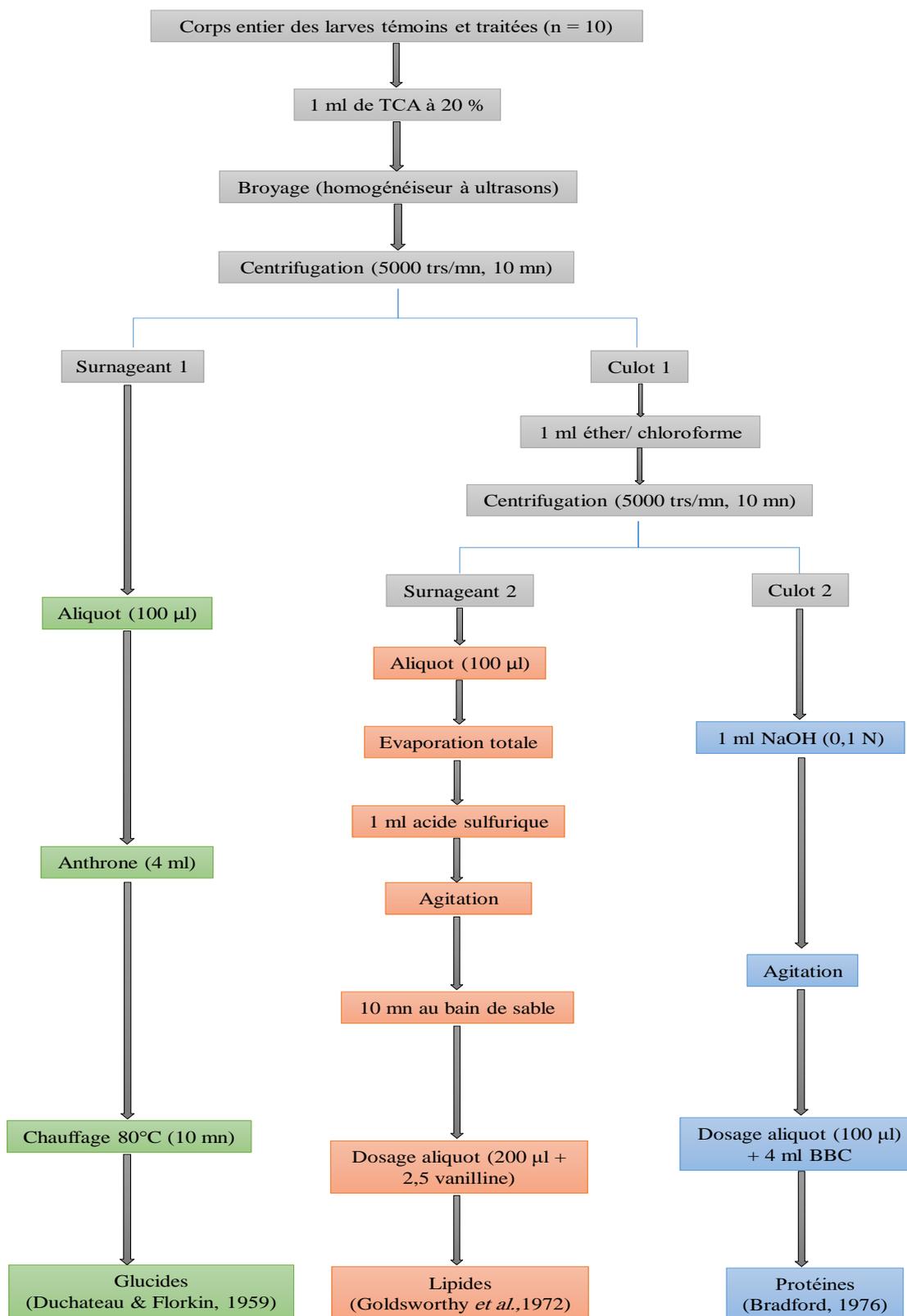


Figure 24. Extraction des glucides, lipides et protéines totaux selon Shibko et al. (1966).

2.6. Analyse statistique

L'analyse statistique des données expérimentales a été effectuée avec R 3.6.3 (packages drc) pour révéler les doses létales (CL₂₅, CL₅₀ et CL₉₀) avec leurs limites fiduciaires (95 %) et l'équation de régression à l'aide de l'analyse Probit. L'Analyse de variance (ANOVA) et le test Fisher (packages ggplot2) ont été utilisés pour évaluer la signification entre les huiles essentielles, les concentrations et le temps d'exposition.

Les résultats biochimiques ont été déterminés à l'aide d'un test de Student ANOVA à une seule voie, suivi d'un post hoc LSD (Costat v6.4).

2.7. Etudes histologiques

L'intestin moyen des larves de moustiques du quatrième stade d'*Aedes caspius* non traitées et traitées avec la CL₅₀ de l'huile essentielle de *F. vulgare* pendant 2, 4, 6, 12 et 24 h d'exposition a été examiné pour révéler les effets morphologiques de ce bio-insecticide par des tests histopathologiques (Laboratoire privé d'anatomie pathologique de professeur ABDELLOUCHE Djamel, Sétif, Algérie). Après 2, 4, 6, 12 et 24 h d'exposition, seules les larves vivantes ont été examinées.

Les larves traitées ont été soumises à une préparation histologique (Martoja & Matoja-Pierson, 1970). Elles ont successivement fixé (Fig.25A) et soumis à une déshydratation avec des concentrations croissantes d'éthanol (sept bains de 70° à 100°) dans un automate (Leica TP 1020) pendant deux jours (Fig.25B).

Les préparations ont été incluses dans la paraffine à 60°C (Fig.25C) et les blocs résultants ont été tranchés à l'aide d'un microtome. Des coupes semi-fines de 4 µm d'abdomen ont été coupées et colorées à l'aide de l'hématoxyline-éosine (Fig.25D).

Une observation microscopique des coupes obtenues (Fig.25E) a été réalisée à l'aide d'un microscope optique de type Leica DM 1000 (Fig.25F) (Bancroft & Stevens, 1996).



Figure 25. Préparation des échantillons histologiques (Photo personnelle).

3. RESULTATS

3.1. Rendement et caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

L'examen des caractéristiques organoleptiques et physicochimiques des huiles essentielles des parties aériennes des plantes : *R. officinalis* ; *M. pulegium*; *O. vulgare* et *F. vulgare* et les feuilles d'*E. globulus* et *P. halepensis*, obtenues par hydrodistillation a montré des propriétés communes entre quelques une, qui sont donnés dans le tableau 1. La qualité organoleptique présente des caractéristiques typiques qui concernent l'aspect, l'odeur et la couleur ; les principaux sont : l'aspect liquide à température ambiante, huile incolore ou jaune pâle. Par contre, la propriété privée de l'odeur camphrée, thymolée, aromatique et fraîche est distingué pour les huiles : *R. officinalis*, *O. vulgare*, *F. vulgare* et *M. pulegium* respectivement. Les résultats consignés dans le tableau 4 montrent une variation du rendement selon les HEs, l'*O. vulgare* est celui qui présente le taux le plus élevé marque un taux de 1.51 ± 0.27 %. Le *F. vulgare*, a pris la deuxième position avec (1.40 ± 0.13 %), tandis que le rendement le plus faible a été trouvé chez *P. halepensis* avec un taux de 0.58 ± 0.07 %.

Tableau4. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles étudiées.

Huile essentielle	Rendement %	Aspect	Odeur	Couleur
<i>R. officinalis</i>	0.86 ± 0.07	Liquide mobile	Agreste plus ou moins camphrée	Jaune verte (pâle)
<i>M. pulegium</i>	1.36 ± 0.07	Liquide mobile	Fraîche	Presque incolore
<i>P. halepensis</i>	0.58 ± 0.07	Liquide mobile	Aromatique montante	Jaune pâle
<i>O. vulgare</i>	1.51 ± 0.27	Liquide mobile	Thymolée	Jaune
<i>E. globulus</i>	1.08 ± 0.16	Liquide mobile	Caractéristique fraîche	Incolore à jaune pale
<i>F. vulgare</i>	1.40 ± 0.13	Liquide mobile	Aromatique	Jaune claire

3.2. Composition chimique des huiles essentielles

Le pourcentage des composants dans les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des parties aériennes des plantes : *R. officinalis* ; *M. pulegium* ; *O. vulgare* ; et *F. vulgare* et des feuilles d'*E. globulus* et *P. halepensis*, a été calculé en fonction de l'aire des pics chromatographiques et l'indice de rétention par rapport aux n-alcanes issus de l'analyse par GC-FID.

3.2.1. Composition chimique de l'HE de *R. officinalis*

Les pourcentages et le temps de rétention des composés identifiés sont indiqués dans le tableau 5 et la figure 26. Vingt-cinq constituants représentant 92.5 % de l'huile essentielle ont été révélés à partir de l'analyse de l'HE de *R. officinalis* par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Les trois composés les plus abondants obtenus dans l'extrait étaient : Limonene (47.28%), 2-Pinene (11.82%) et (+)-3-Carene (8.96%).

Tableau 5. Composition chimique de l'huile essentielle de *R. officinalis*.

N°	TR	Composant	Formule	N° case	IR	%
1	6.954	N-Acetylcystemine (S)-[2.3-13C2]-5-hydroxyhexanoate	C10 H21 N O3 S	0-00-0	872.7865051	0.39
2	7.127	2-Pinene	C10 H16	80-56-8	876.8933049	11.82
3	7.411	Camphene	C10 H16	79-92-5	883.3034955	4
4	7.943	4(10)-Thujene	C10 H16	3387-41-5	894.3454867	6.83
5	8.096	β-Myrcene	C10 H16	123-35-3	897.3163475	1.58
6	8.419	3-Carene	C10 H16	13466-78-9	1006.278216	0.21
7	8.539	α-Phellandrene	C10 H16	99-83-2	1010.333085	0.34
8	8.652	Cineole	C10 H18 O	470-82-6	1014.076708	0.43
9	9.031	Limonene	C10 H16	138-86-3	1026.138074	47.28
10	9.438	.omega...omega.-Diphenylhexane	C18 H20	0-00-0	1038.31869	0.78
11	9.609	Eucalyptol	C10 H18 O	470-82-6	1043.220178	0.21
12	10.008	gamma.-Terpinene	C10 H16	99-85-4	1054.204558	0.43
13	10.149	α-Terpinene	C10 H16	99-86-5	1057.944506	0.61
14	11.171	(+)-3-Carene	C10 H16	498-15-7	1083.120352	8.96
15	11.521	Camphor	C10 H16 O	76-22-2	1091.053155	2.53
16	11.696	Isoborneol	C10 H18 O	124-76-5	1094.903067	0.59
17	11.93	4-Terpinenyl acetate	C12 H20 O2	4821-04-9	1099.936298	2.16
18	13.593	.alpha.-Terpineol	C10 H18 O	98-55-5	1451.575759	0.79
19	15.177	L-bornyl acetate	C12 H20 O2	5655-61-8	1496.884056	0.26
20	16.062	Copaene	C15 H24	3856-25-5	1627.636835	0.07
21	16.481	Caryophyllene	C15 H24	87-44-5	1642.055233	0.82
22	16.753	.alpha.-Humulene	C15 H24	6753-98-6	1651.183348	0.33
23	17.113	gamma.-Muurolene	C15 H24	30021-74-0	1662.997825	0.36
24	17.437	delta.-Cadinene	C15 H24	483-76-1	1673.382251	0.44
25	18.467	beta-costol	C15 H24 O	515-20-8	1806.608652	0.28
Total identifié						92.5%
RT : temps de rétention (min).						
N° case : N° Substance chimique						
RI : indice de rétention : Indice de rétention de Kovats : par rapport aux n-alcane sur colonne						
% : Valeur exprimée en pourcentage de surface relative par rapport au total des composants identifiés.						

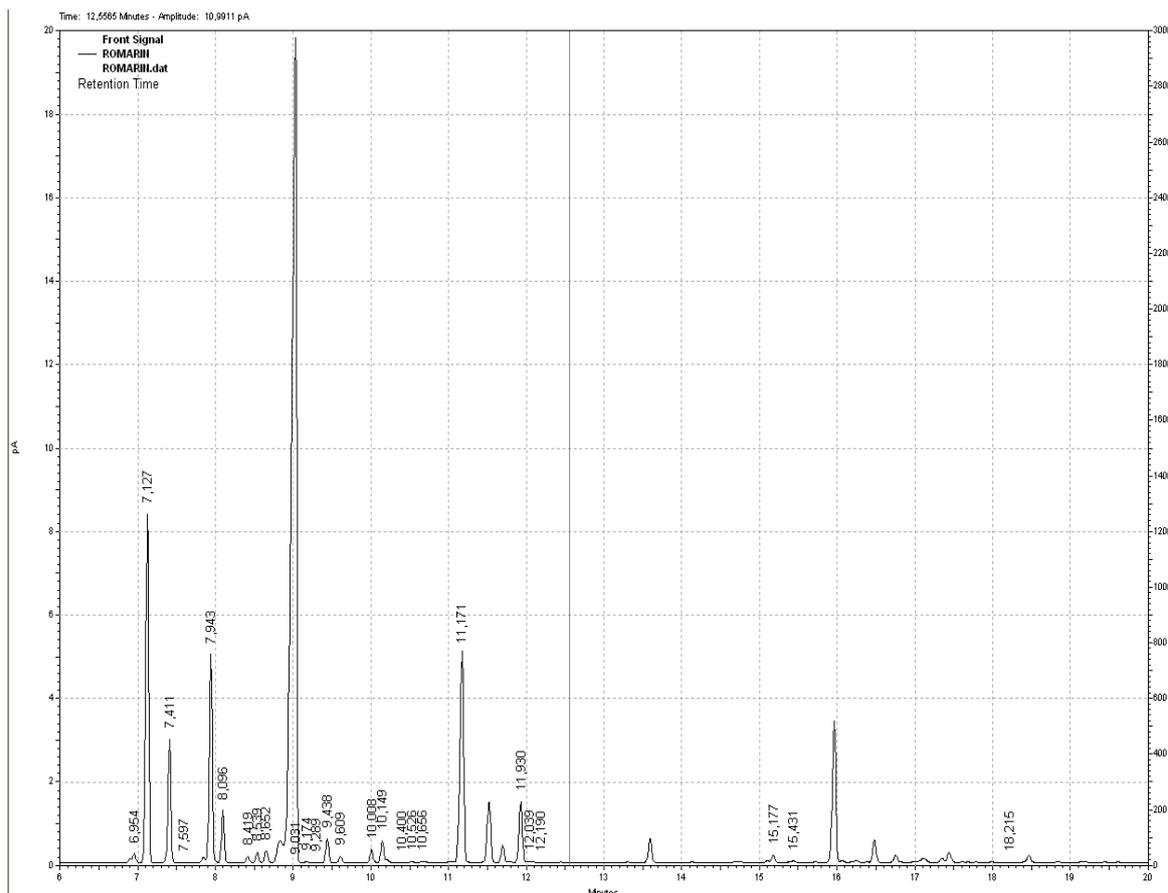


Figure 26. Chromatogramme GC-FID pour l'huile essentielle de *R. officinalis* (abondance en fonction du temps en min).

3.2.2. Composition chimique d'HE de *M. pulegium*

La composition chimique de l'huile essentielle de *M. pulegium* analysée par la méthode GC/MS a conduit à caractériser dix composants différents, pendant un temps de rétention de 16.478min (Fig.27) représentent 97,66% des compositions totales de l'huile essentielle et ceux-ci ont été identifiés ainsi que leur quantité ont été estimés (Tableau. 6). Les principaux composants de l'huile essentielle de *M. pulegium* sont principalement : Pulegone (60.8%), Pulespenone (14.58%), 1-Menthone (8.39%) et D-Limonene (5%). Ensuite, P-Menthone (2.71%), 3-Octanol (2.41%) et Piperitone (1.5%). Enfin, cis-Isopulegone, 3-Carene et alpha-Humulene, qui sont les composants qui présentent un pourcentage de moins de 0.9%.

Tableau 6. Composition chimique de l'huile essentielle de *M. pulegium*.

N°	TR	Composant	Formule	N° case	IR	%
1	7.102	3-Carene	C10 H16	13466-78-9	876.4131183	0.76
2	8.151	3-Octanol	C8 H18 O	589-98-0	898.3711275	2.42
3	8.883	D-Limonene	C10 H16	5989-27-5	1021.51544	5
4	11.29	l-Menthone	C10 H18 O	14073-97-3	1085.853444	8.39
5	11.472	p-Menthone	C10 H18 O	89-80-5	1089.961579	2.71
6	11.668	cis-Isopulegone	C10 H16 O	997077-93-6	1094.292107	0.85
7	12.948	Pulegone	C10 H16 O	89-82-7	1431.216811	60.8
8	13.115	Piperitone	C10 H16 O	89-81-6	1436.60774	1.5
9	14.648	Pulespenone	C10 H14 O	491-09-8	1482.422804	14.58
10	16.478	.alpha.-Humulene	C15 H24	6753-98-6	1641.953559	0.65
Total identifié						97.66%

RT : temps de rétention (min).
 N° case : N° Substance chimique
 RI : indice de rétention : Indice de rétention de Kovats : par rapport aux n-alcane sur colonne
 %: Valeur exprimée en pourcentage de surface relative par rapport au total des composants identifiés.

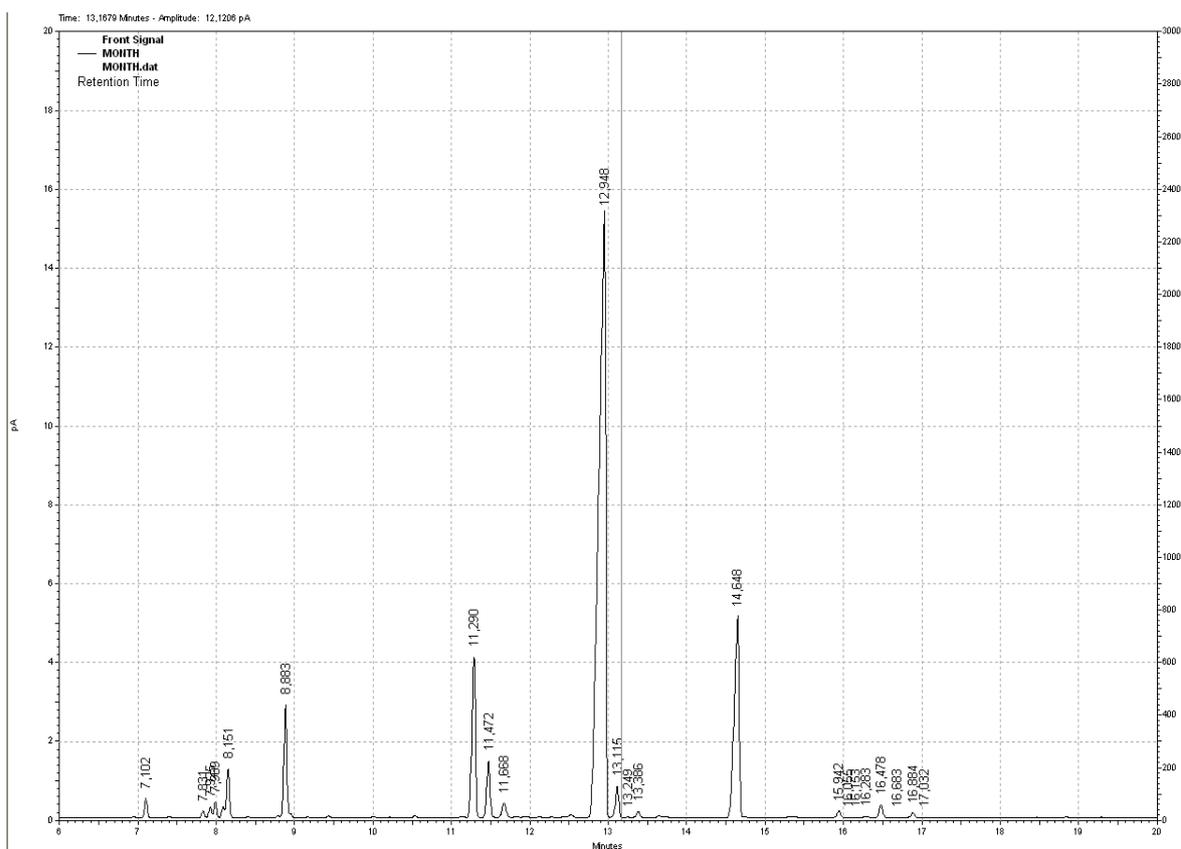


Figure 27. Chromatogramme GC-FID pour l'huile essentielle de *M. pulegium* (abondance en fonction du temps en min).

3.2.3. Composition chimique d'HE de *P. halepensis*

Le screening phytochimique de l'HE des feuilles de *P. halepensis* par GC-MS/MS a montré la présence de 31 phyto-constituants représentant 99.78 % du total des composés identifiés (Tableau.7, Fig.28). Ces résultats indiquent que les trois composés : Melilotal (28.26%), α -Phellandrene (25.09%) et β -Phellandrene (10.64%) étaient prédominants dans l'huile de *P. halepensis* ; Tandis que les autres composants présentent des pourcentages plus faibles. Globalement, quatorze de ces composantes sur trente-et-un étaient supérieures à 1 %. En plus d'autres qui existent à l'état de traces avec moins de 1 %.

Tableau 7. Composition chimique de l'huile essentielle de *P. halepensis*.

N°	TR	Composant	Formule	N° case	IR	%
1	6.963	α -Phellandrene	C10 H16	99-83-2	873.0041825	0.57
2	7.153	Melilotal	C9 H10 O	122-00-9	877.4967886	28.26
3	7.412	3-carene	C10 H16	13466-78-9	883.3253857	0.37
4	7.851	2-Pinene	C10 H16	80-56-8	892.5175362	4.27
5	7.943	Camphene	C10 H16	79-92-5	894.3454867	2.58
6	8.148	α -Phellandrene	C10 H16	99-83-2	898.3071135	25.09
7	8.429	β -Terpinen	C10 H16	99-84-3	1006.619323	0.16
8	8.554	β -Myrcene	C10 H16	123-35-3	1010.834134	4.62
9	8.654	α -Phellandrene	C10 H16	99-83-2	1014.142331	1.25
10	8.798	delta-3-Carene	C10 H16	13466-78-9	1018.810748	0.47
11	8.901	γ -Terpinen	C10 H16	99-85-4	1022.083472	2.59
12	9.18	o-Cymene	C10 H14	527-84-4	1030.685045	1.33
13	9.443	Pseudolimonen	C10 H16	499-97-8	1038.46375	2.15
14	10.04	β -Phellandrene	C10 H16	555-10-2	1055.059581	10.64
15	10.143	delta-3-Carene	C10 H16	13466-78-9	1057.786795	0.32
16	11.7	gamma.-Terpinene	C10 H16	99-85-4	1094.990193	1.61
17	11.913	Terpinolene	C10 H16	586-62-9	1099.57493	0.17
18	15.053	Terpinolene	C10 H16	586-62-9	1590.980748	0.42
19	15.18	4-Terpinenyl acetate	C12 H20 O2	4821_04_9	1595.75524	0.20
20	15.383	alpha.-Terpineol	C10 H18 O	98-55-5	1603.287394	0.09
21	15.964	Ylangene	C15 H24	14912-44-8	1624.199581	7.13
22	16.25	Copaene	C15 H24	3856-25-5	1634.161063	0.08
23	16.484	Caryophyllene	C15 H24	87-44-5	1642.156886	1.32
24	16.718	α -Humulene	C15 H24	6753-98-6	1650.018685	0.12
25	16.876	phenethyl isovalerate	C13 H18 O2	140-26-1	1655.253518	2.32
26	16.988	rose butanoate	C13 H18 O2	24817-51-4	1658.929215	0.03
27	17.103	α -Muurolene	C15 H24	31983-22-9	1662.673632	0.50
28	17.438	δ -Cadinene	C15 H24	483-76-1	1673.413948	0.34
29	18.468	beta-costol	C15 H24 O	515-20-8	1806.648253	0.35
30	18.563	cyclosativene	C15 H24	22469-52-9	1810.398961	0.13
31	23.065	m-Camphorene	C20 H32	20016-73-3	2112.782102	0.30
Total identifié						99.78%
RT : temps de rétention (min).						
N° case : N° Substance chimique						
RI : indice de rétention : Indice de rétention de Kovats : par rapport aux n-alcane sur colonne						
% : Valeur exprimée en pourcentage de surface relative par rapport au total des composants identifiés.						

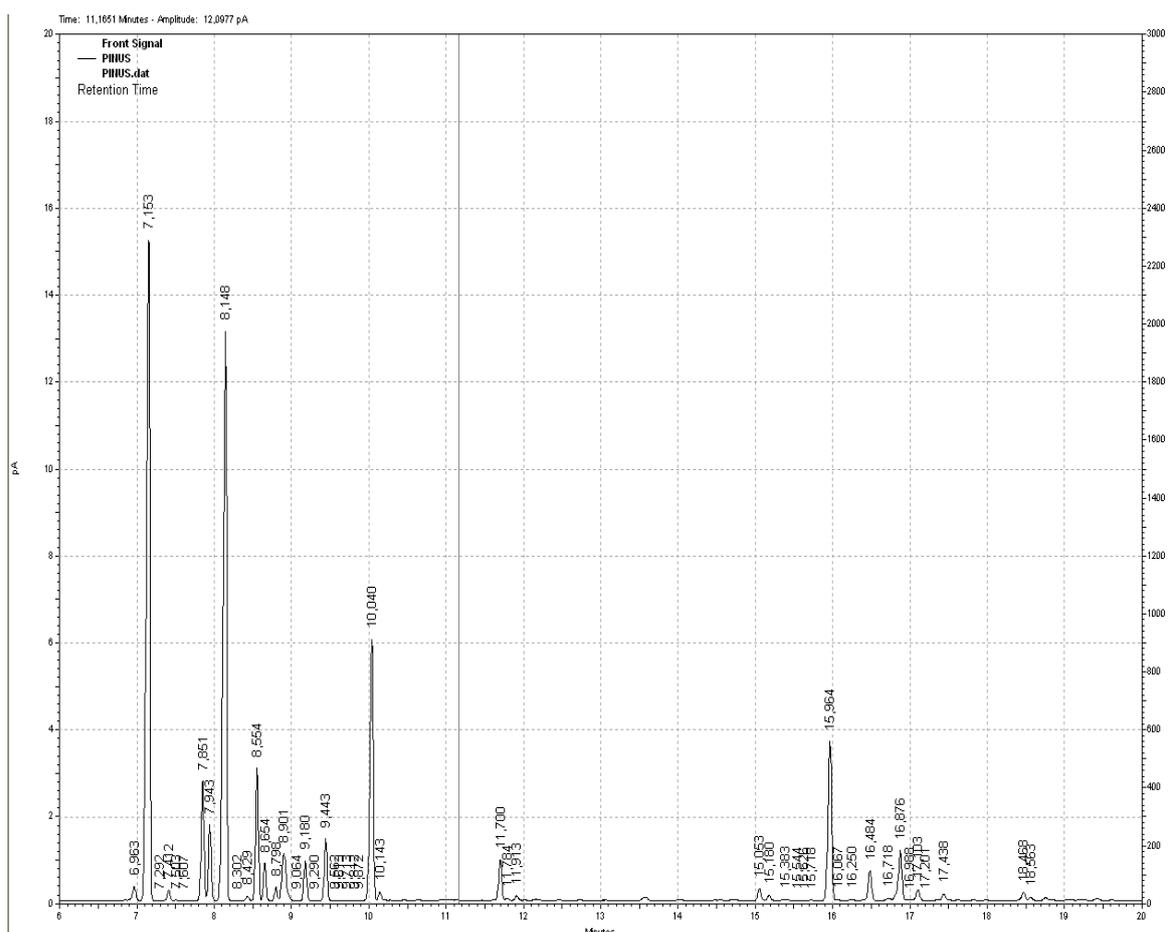


Figure 28. Chromatogramme GC-FID pour l'huile essentielle de *P. halepensis* (abondance en fonction du temps en min).

3.2.4. Composition chimique d'HE d'*O. vulgare*

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (CPG-SM) de l'HE d'*O. vulgare* a permis l'identification de dix-sept (17) composés, représentant 99.7% du total des composants chimiques détectés. Selon les constituants identifiés : le γ -Terpinene (38.08%), Thymol (37.1%) et Limonene (8.31%) étaient prédominants dans l'huile d'*O. vulgare*. Les 14 composants restants, dont la teneur est supérieure ou égale à 3.55% (Tableau.8).

Tableau 8. Composition chimique de l'huile essentielle d'*O. vulgare*.

N°	TR	Composant	Formule	N° case	IR	%
1	6.958	alpha-Phellandrene	C10 H16	99-83-2	813.459701	1.54
2	7.111	delta-3-Carene	C10 H16	13466-78-9	814.131341	0.9
3	7.842	β-Myrcene	C10 H16	123-35-3	817.052303	0.37
4	8.101	alpha.-phellandrene	C10 H16	99-83-2	817.989534	2.5
5	8.419	Terpinolene	C10 H16	586-62-9	1001.06777	0.35
6	8.656	p-Cymene	C10 H14	99-87-6	1002.41642	3.3
7	8.817	Limonene	C10 H16	138-86-3	1003.30261	8.31
8	8.893	β-Phellandrene	C10 H16	555-10-2	1003.71295	0.84
9	9.516	γ-Terpinene	C10 H16	99-85-4	1006.89988	38.08
10	10.148	Moslene	C10 H16	99-85-4	1009.85045	1.02
11	11.712	(+)-3-Carene	C10 H16	498-15-7	1016.19989	0.3
12	11.978	α-Terpineol	C10 H18 O	98-55-5	1200.2088	0.41
13	13.673	Thymol	C10 H14 O	89-83-8	1406.17208	37.1
14	13.807	Thyme camphor	C10 H14 O	89-83-8	1406.63478	3.55
15	17.138	Caryophyllene	C15 H24	87-44-5	1605.45019	0.28
16	17.392	beta.-Bisabolene	C15 H24	495-61-4	1606.14602	0.84
17	25.44	gamma.-Cadinene	C15 H24	30021-74-0	2203.82059	0.01
Total identifié						99.7%

RT : temps de rétention (min).
 N° case : N° Substance chimique
 RI : indice de rétention : Indice de rétention de Kovats : par rapport aux n-alcane sur colonne
 %: Valeur exprimée en pourcentage de surface relative par rapport au total des composants identifiés.

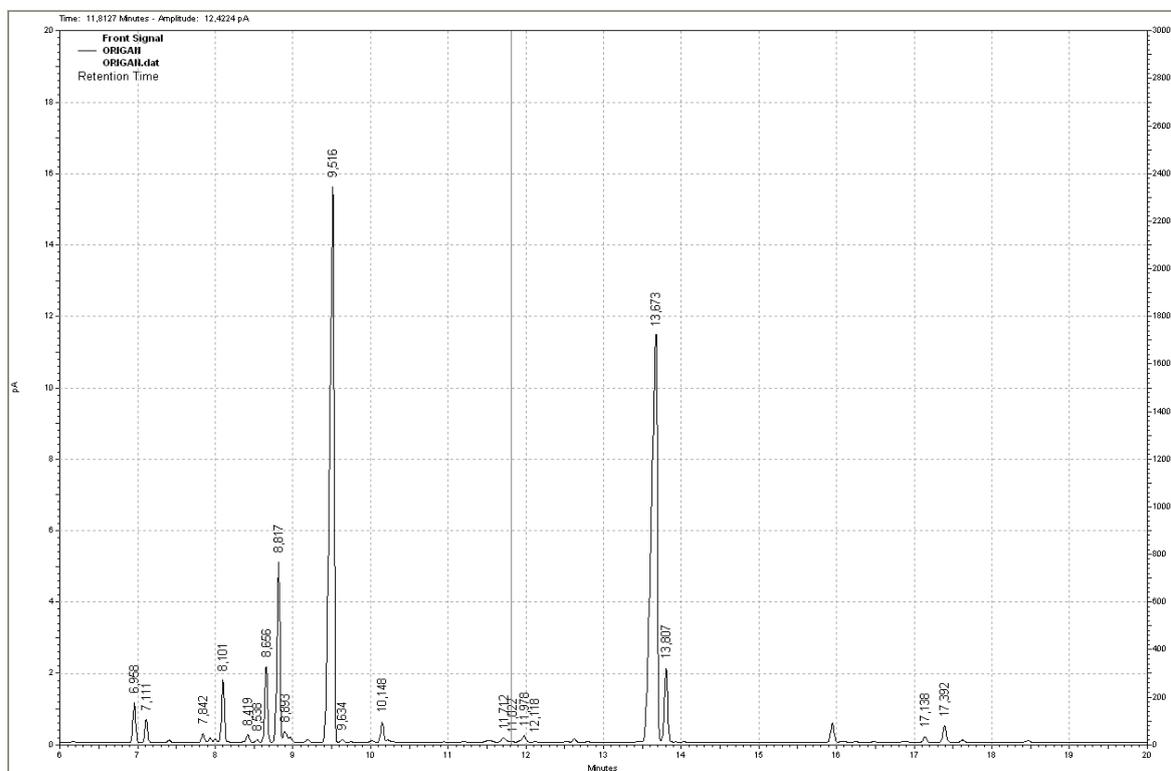


Figure 29. Chromatogramme GC-FID pour l'huile essentielle d'*O. vulgare* (abondance en fonction du temps en min).

3.2.5. Composition chimique d'HE d'*E. globulus*

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse et la détection par spectrométrie de masse a permis d'identifier, vingt-sept constituants représentant 95.96% de l'huile essentielle. Selon les résultats indiqués dans le tableau 9 et la figure 30, une variation de pourcentage selon les composants est observée. Les composants : cis-Sabinene hydrate (36.02%), 2-Pinene (19.71%) et p-Cymene (17.16%) étaient prédominants dans l'huile de *E. globulus*, suivi par 4-Terpinenyl acetate (4.78%), β -Guaiene (3.53%) et alpha.-Phellandrene (1.6%) et enfin, plus de la moitié des composants représentent moins de 1%.

Tableau 9. Composition chimique de l'huile essentielle d'*E. globulus*.

N°	TR	Composant	Formule	N° case	IR	%
1	6.959	alpha.-Phellandrene	C10 H16	99-83-2	872.907493	1.6
2	7.137	2-Pinene	C10 H16	80-56-8	877.1258268	19.71
3	7.838	γ -Terpinene	C10 H16	99-85-4	892.2566398	0.37
4	7.931	β -Terpinene	C10 H16	99-84-3	894.1088648	0.74
5	8.095	β -Myrcene	C10 H16	123-35-3	897.2972019	0.95
6	8.838	p-Cymene	C10 H14	99-87-6	1020.088164	17.16
7	9.008	cis-Sabinene hydrate	C10 H18 O	15537-55-0	1025.426761	36.02
8	10.142	Eucalyptol	C10 H18 O	470-82-6	1057.760498	0.31
9	10.638	delta-3-Carene	C10 H16	13466-78-9	1070.39177	0.28
10	11.022	Crithmene	C10 H16	99-85-4	1079.643985	1.05
11	11.702	Carveol	C10 H16 O	99-48-9	1095.033742	1.58
12	11.9	4-Terpinenyl acetate	C12 H20 O2	4821_04_09	1099.298142	4.78
13	12.827	Cryptone	C9 H14 O	500-02-7	1427.25596	0.74
14	12.948	Cryptone	C9 H14 O	500-02-7	1431.216811	0.32
15	13.465	4-Isopropylcyclohex-2-enone	C9 H14 O	500-02-7	1447.632611	0.7
16	13.634	Cumaldehyde	C10 H12 O	122-03-2	1452.829059	0.64
17	14.114	Phellandral	C10 H16 O	21391-98-0	1467.163769	0.6
18	14.917	Cumic alcohol	C10 H14 O	536-60-7	1489.854329	0.3
19	15.353	cis-p-Mentha-2.8-diene-1-ol	C10 H16 O	3886-78-0	1602.181856	0.35
20	15.706	3-p-Menthen-7-al	C10 H16 O	27841-22-1	1615.028161	0.36
21	16.131	Aromadendrene	C15 H24	489-39-4	1630.04192	0.38
22	16.251	Nealloocimene	C15 H24	///	1634.195525	1.24
23	16.599	Alloaromadendrene	C15 H24	25246-27-9	1646.037059	0.74
24	16.865	gamma-gurjunene	C15 H24	22567-17-5	1654.890954	0.28
25	17.001	Aristol-1(10)-en-9-ylisovalerate	C20 H32 O2	997575-68-8	1659.353998	0.41
26	18.368	β -Guaiene	C15 H24	88-84-6	1802.675739	3.53
27	18.468	β -cis-Guaiene	C15 H24	88-84-6	1806.648253	0.82
Total identifié						95.96%
RT : temps de rétention (min).						
N° case : N° Substance chimique						
RI : indice de rétention : Indice de rétention de Kovats : par rapport aux n-alcane sur colonne						
%: Valeur exprimée en pourcentage de surface relative par rapport au total des composants identifiés.						

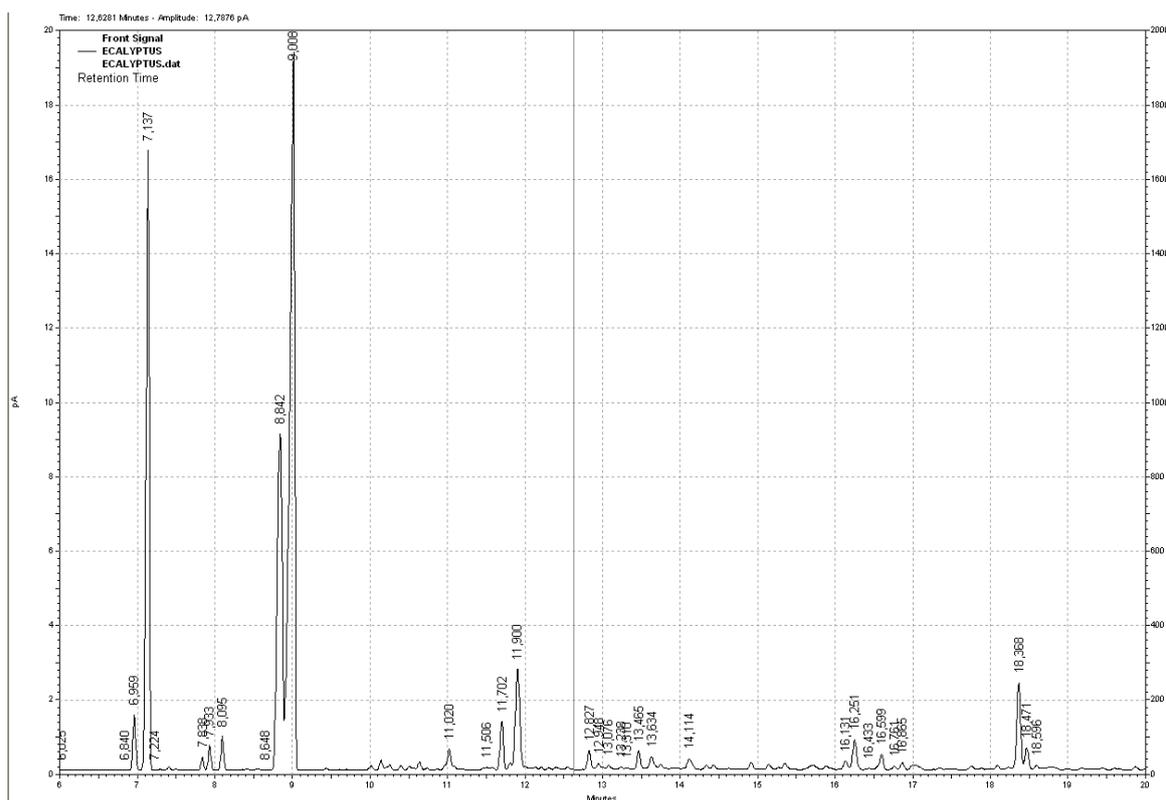


Figure 30. Chromatogramme GC-FID pour l'huile essentielle d'*E. globulus* (abondance en fonction du temps en min).

3.2.6. Composition chimique d'HE de *F. vulgare*

La séparation de différents composés par l'analyse de la composition chimique (GC-FID) de l'huile essentielle de *F. vulgare*, a révélé la présence de quatorze constituants qui représentent 99.22% de sa composition totale (tableau 10, figure 31). Trois constituants ont été identifiés comme composés majoritaires : Camphre (38.2%), Fenchone (28.24%) et l'O-cymène (11.44%). Par ailleurs, les autres composants présentent des teneurs inférieures à 6.65%, comme le Limonène (3.87%), l'Alpha-phellandrène (2.18%) et l'Estragole (1.80%).

Tableau 10. Composition chimique de l'huile essentielle de *F. vulgare*.

N°	TR	Composant	Formule	N° case	IR	%
1	7.100	α-Pinene	C10 H16	80-56-8	876.2628977	4.06
2	7.394	2(10)-Pinene	C10 H16	27-91-3	882.9306595	0.37
3	7.825	nopinene	C10 H16	27-91-3	891.9950901	0.3
4	7.921	Melilotal	C9 H10 O	122-00-9	893.9112696	0.45
5	8.086	alpha.-Phellandrene	C10 H16	99-83-2	897.1247334	2.18
6	8.429	o-Cymene	C10 H14	527-84-4	1006.619323	11.44
7	8.793	Limonene	C10 H16	138-86-3	1018.650488	3.87
8	8.886	Tricyclo[5.2.1.0(2,5)]dec-5(6)ene	C10 H14	997044-24-0	1021.610225	6.65
9	9.428	gamma.-Terpinene	C10 H16	99-85-4	1038.028249	0.96
10	10.102	Fenchone	C10 H16 O	11000-29-6	1056.705717	28.24
11	11.136	Fenchone	C10 H16 O	11000-29-6	1082.309243	0.55
12	12.115	Camphor	C10 H16 O	76-22-2	1402.951373	38.2
13	13.568	Estragole	C10 H12 O	140-67-0	1450.809246	1.8
14	16.876	Anise camphor	C10 H12 O	104-46-1	1539.515138	0.15
Total identifié						99.22%

RT : temps de rétention (min).
 N° case : N° Substance chimique
 RI : indice de rétention : Indice de rétention de Kovats : par rapport aux n-alcane sur colonne
 %: Valeur exprimée en pourcentage de surface relative par rapport au total des composants identifiés.

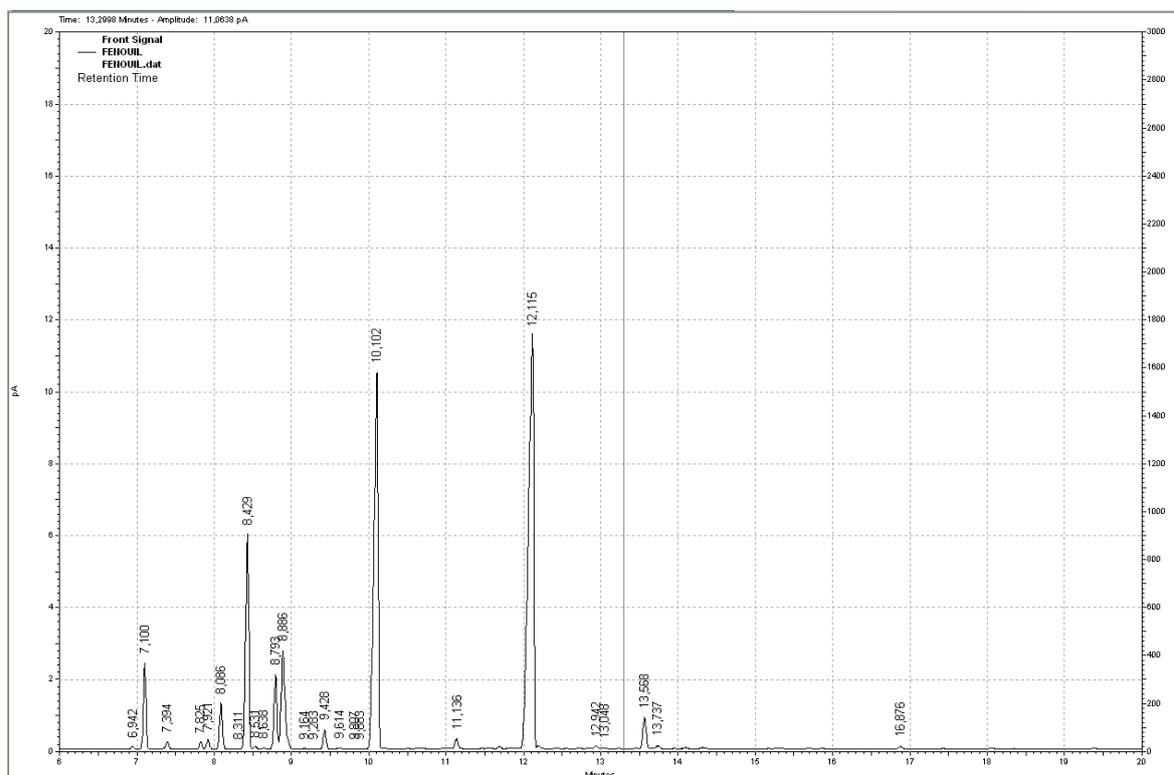


Figure 31. Chromatogramme GC-FID pour l'huile essentielle de *F. vulgare* (abondance en fonction du temps en min).

3.3. Activité larvicide

Dans le but de connaître l'effet larvicide des huiles essentielles des plantes médicinales : *R. officinalis* ; *M. pulegium*; *P. halepensis* ; *O. vulgare* ; *E. globulus* et *F. vulgare* , des essais toxicologiques à l'égard des larves du 4^{ème} stade d'*Ae. caspius* ont été réalisés. Les résultats de la toxicité en termes de mortalité observée sont présentés dans l'ensemble des figures ci-dessous (Fig.32 ; 34 ; 36 ; 38 ; 40 et 42) respectivement. La transformation des moyennes de mortalité en probits et les concentrations testées ont été calculé dans le but de tracer les équations de régression du taux de mortalité des larves L4 de moustiques d'*Ae. caspius* et d'estimer les concentrations létales avec leurs limites fiduciaires (95 %) pour les HEs de *R. officinalis* ; *M. pulegium*; *P. halepensis* ; *O. vulgare* ; *E. globulus* et *F. vulgare* , qui sont illustrées dans les graphiques ci-dessous (Fig.33 ; 35 ; 37 ; 39 ; 41 et 43) et les tableaux (11 ; 12 ;13 ;14 ;15 et 16) respectivement. Les concentrations létales CL₂₅ ; CL₅₀ et CL₉₀ de l'huile essentielle la plus efficace estimées à partir des essais toxicologiques font par la suite l'objet d'une étude sur les paramètres biochimiques et physiologiques, pour connaître son mode action chez l'espèce de moustique *Ae. caspius*.

3.3.1. Toxicité de *R. officinalis* à l'égard des larves d'*Ae. caspius*

L'activité larvicide de l'HE de *R. officinalis* contre les larves L4 d'*Ae. caspius* est présentée en termes de mortalité observée durant les périodes d'expositions (24, 48 et 72h) des différentes séries d'expérience est mentionnée dans la figure 32. Aucune mortalité n'a été observée dans les contrôles positifs (solvant éthanol) les larves d'*Ae. caspius*. Après 24 heures d'exposition à HE de *R. officinalis*, les taux de mortalités varient entre 4% et 48% avec les concentrations 10µl et 400µl respectivement. Les 48 et 72 heures d'expositions induites des mortalités observées de 78.66% et 98.66% respectivement, chez la concentration la plus élevé (400µl) (Fig.32). Une augmentation de la mortalité a été observée en fonction du temps et des concentrations avec une relation dose-réponse contre les larves d'*Ae. caspius*.

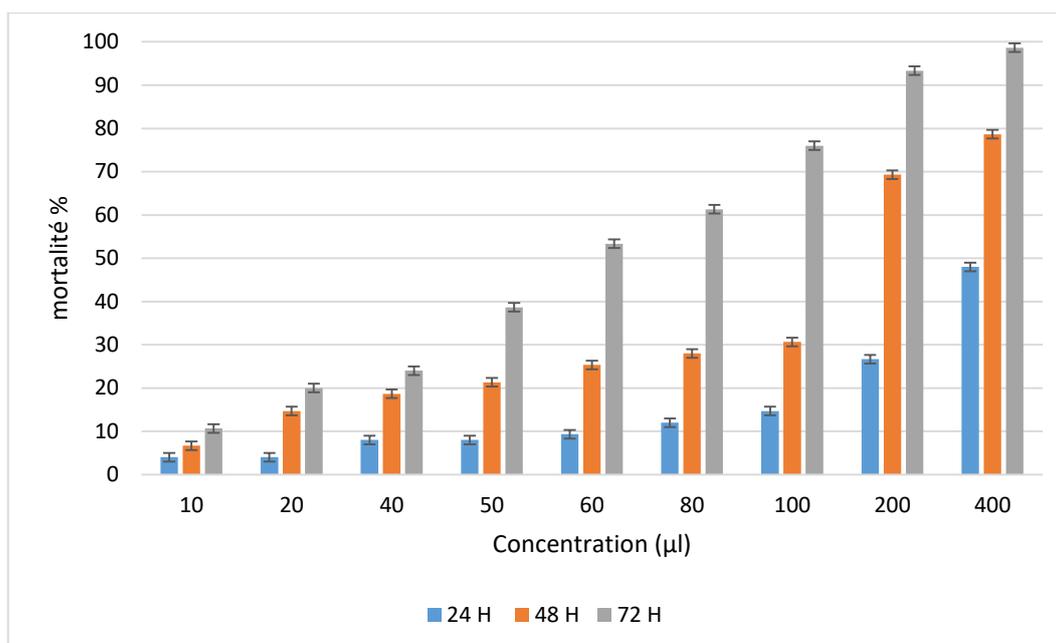


Figure 32. Mortalité observée (%) des larves L4 d'*Ae. caspius* après traitement par les différentes concentrations de l'HE de *R. officinalis* ($m \pm SD$; $n=75$).

Les résultats de l'analyse de régression de l'huile testée ont montré qu'HE de *R. officinalis* possède une efficacité larvicide contre *Ae. caspius* (Fig.33). Les concentrations létales CL_{25} , estimées à partir de l'équation de la droite de régression sont 176.76 ; 61.73 et 33.93 μl , CL_{50} de 447.88 ; 142.09 et 57.87 μl et CL_{90} 2875.47, 752.85 et 168.29 μl pour les larves L4 après 24, 48 et 72 h d'exposition respectivement (Tableau.11).

Rosmarinus officinalis

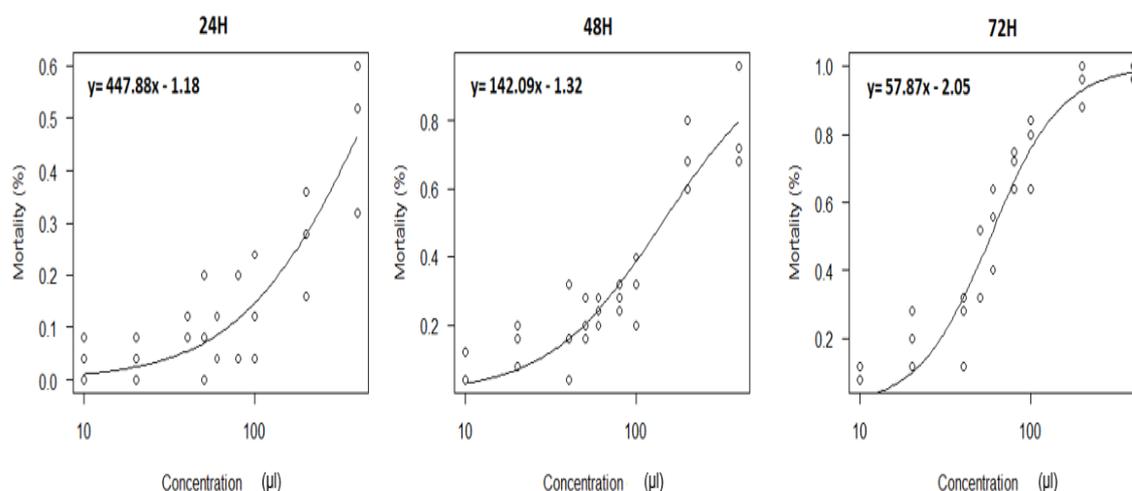


Figure 33. Effets de l’HE de *R. officinalis* appliquée sur les larves 4 d’*Ae. caspius* : courbe Dose-réponse des probits avec l’équation de régression pour l’effet de l’HE de *R. officinalis* testée sur des larves L4 d’*Ae. caspius* pendant 24, 48 et 72 h.

Tableau 11. Toxicité de l’HE de *R. officinalis* appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées d’*Ae. caspius* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).

Temps	Equation	LCL>CL ₂₅ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)	LCL>CL ₅₀ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)	LCL>CL ₉₀ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)
24 h	447.88x-1.18	139.92<176.76<213.60	311.18<447.88<584.570	545.22<2875.47<5205.72
48 h	142.09x-1.32	48.65<61.73<74.80	116.89<142.09<167.28	363.44<752.85<1142.27
72 h	57.87x-2.05	26.86< 33.93<41.01	51.86<57.87<63.87	114.75<168.29<221.83

3.3.2. Toxicité de *M. pulegium* à l’égard des larves d’*Ae. caspius*

L’efficacité de l’HE de *M. pulegium* appliqué sur des larves du quatrième stade d’*Ae. caspius* exposées pendant 24, 48 et 72h à la même gamme de concentrations (10, 20, 40, 50, 60, 80, 100, 200 et 400 µl) et la mortalité observée durant ce stade des différentes séries d’expérience (témoins et traitées) est mentionnée dans la figure 34. Les mortalités observées après 48h d’exposition affichent des taux variants entre 8 % pour la concentration la plus faible (10µl) et 88% pour la concentration la plus élevée (400µl) avec une relation

concentration–réponse (Fig.34). Aucune mortalité n'a été observée dans les contrôles positifs (solvant éthanol) les larves d'*Ae. caspius*.

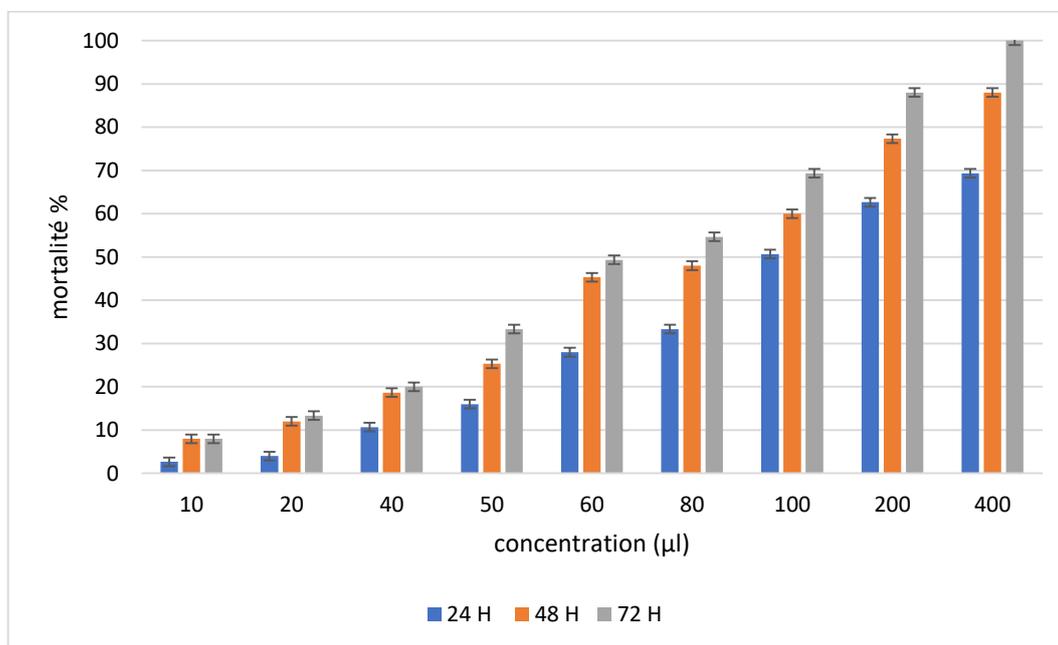


Figure 34. Mortalité observée (%) des larves L4 d'*Ae. caspius* après traitement par les différentes concentrations de l'HE de *M. pulegium* ($m \pm SD$, $n=75$).

L'équation de la droite de régression a été déterminée (Fig.35) après une transformation des moyennes des mortalités observées en probits et des concentrations testées en logarithmes décimaux. Les résultats de l'analyse de régression de l'huile testée ont montré qu'HE de *Mentha pulegium* possède une efficacité larvicide contre *Ae. caspius*. La CL_{25} , CL_{50} et CL_{90} , estimées après l'analyse des probits sont : 58.62 ; 40.68 et 39.16 µl ; 142.07, 84.12 et 68.55 µl et 834.37, 359.78 et 210.08 µl pour les larves L4 après 24, 48 et 72 h d'exposition respectivement (Tableau.12).

Mentha pulegium

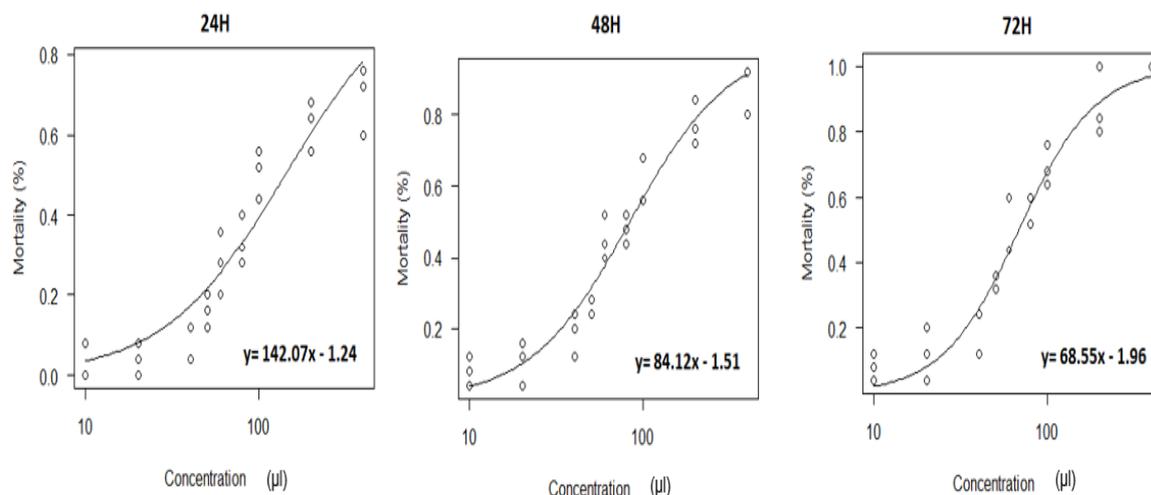


Figure 35. Effets de l’HE de *M. pulegium* appliquée sur les larves 4 d’*Ae. caspius* : Courbe dose-réponse des probits avec l’équation de régression pour l’effet de l’HE de *M. pulegium* testée sur des larves L4 d’*Ae. caspius* pendant 24, 48 et 72 h.

Tableau 12. Toxicité de l’HE de *M. pulegium* appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées d’*Ae. caspius* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).

Temps	Equation	LCL>CL ₂₅ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)	LCL>CL ₅₀ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)	LCL>CL ₉₀ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)
24 h	142.07x-1.24	48.43<58.62<68.81	117.71<142.07<166.43	433.91<834.37<1234.83
48 h	84.12x-1.51	35.00<40.68<46.35	75.85<84.12<92.39	249.71<359.78<469.85
72 h	68.55x-1.96	34.00< 39.16<44.32	63.04<68.55<74.07	158.69<210.08<261.47

3.3.3. Toxicité de *P. halepensis* à l’égard des larves d’*Ae. caspius*

Une relation dose-réponse a été déterminée contre les larves du 4^{ème} stade d’*Ae. caspius* exposées pendant 24, 48 et 72 h aux différentes concentrations de l’HE de *P. halepensis* testées (10, 20, 40, 50, 60, 80, 100, 200 et 400 µl) et la mortalité observée durant ce stade des différentes séries d’expérience (témoins et traitées) est mentionnée dans la figure 36. Les taux de mortalité observée sont compris entre 18,66% pour la concentration la plus faible 10µl et 100% pour les concentrations 200 et 400 µl à 72h. En revanche, le taux de mortalité a été doublé entre les concentrations 40 et 100 µl pour les trois temps d’exposition. Pratiquement le même effet est observé chez les concentrations les plus élevés 200 et 400µl où les taux de mortalités observés variants entre 50 et 100% pour les trois temps d’exposition

(24, 48 et 72h). Les contrôles positifs (solvant éthanol) n'ont montré aucun effet significatif contre les larves d'*Ae. caspius*.

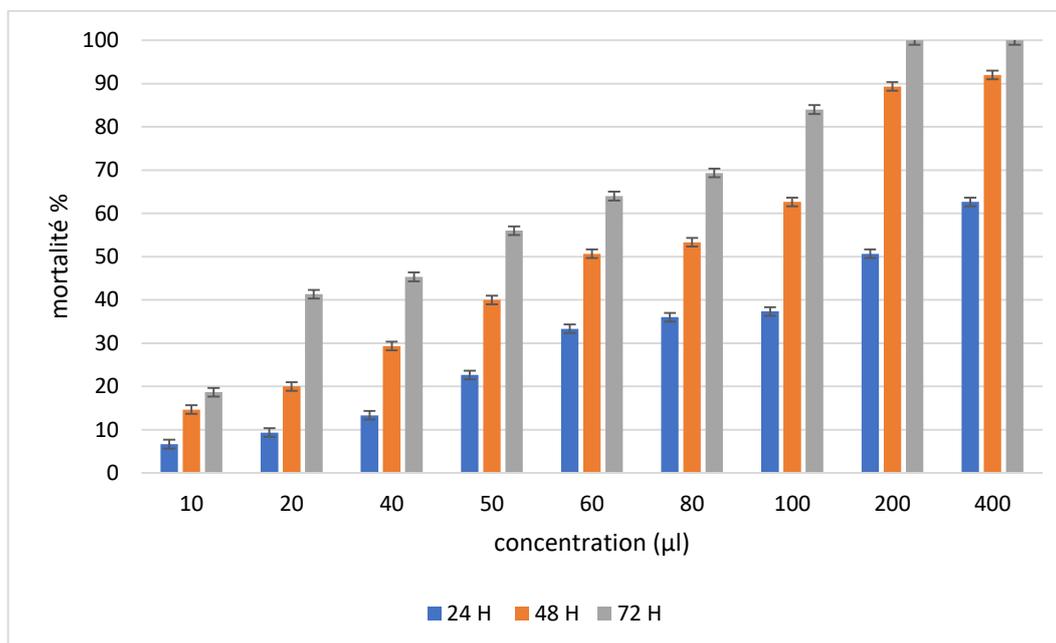


Figure 36. Mortalité observée (%) des larves L4 d'*Ae. caspius* après traitement par différentes concentrations de l'HE de *P. halepensis* ($m \pm SD$, $n=75$).

Les résultats de l'analyse de régression de l'huile testée ont montré qu'HE de *P. halepensis* possède une efficacité larvicide contre *Ae. caspius* (Fig.37) avec une valeur CL_{25} de 54.49 ; 28.61 et 15.10 μl et une valeur CL_{50} de 190.72 ; 64.67 et 35.85 μl et une valeur CL_{90} de 2336.43 ; 330.58 et 202.19 μl pour les larves L4 après 24, 48 et 72 h d'exposition respectivement (Tableau.13).

Pinus halepensis

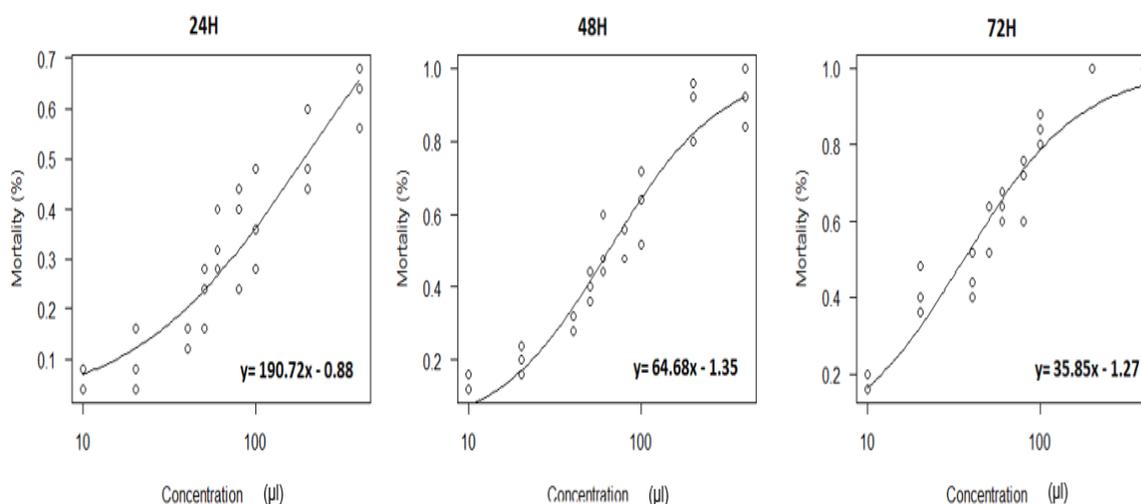


Figure 37. Effets de l’HE de *P. halepensis* appliquée sur les larves 4 d’*Ae. caspius*: Courbe dose-réponse des probits avec l’équation de régression pour l’effet de l’HE de *P. halepensis* testée sur des larves L4 d’*Ae. caspius* pendant 24, 48 et 72 h.

Tableau 13. Toxicité de l’HE de *P. halepensis* appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées d’*Ae. caspius* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).

Temps	Equation	LCL>CL ₂₅ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)	LCL>CL ₅₀ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)	LCL>CL ₉₀ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)
24 h	190.72x-0.88	43.17<54.49<65.81	149.88<190.72<231.56	820.80<2336.43<3852.05
48 h	64.68x-1.35	23.13<28.61<34.09	57.75<64.67<71.60	224.61<330.58<436.56
72 h	35.85x-1.27	11.22<15.10<18.98	30.70<35.85<41.00	143.45<202.19<260.94

3.3.4. Toxicité d'*O. vulgare* à l'égard des larves d'*Ae. caspius*

Les résultats mentionnés dans la figure 38 représente la variation du pourcentage de mortalité des larves L4 d'*Ae. caspius* après le traitement avec l'HE d'*O. vulgare* en fonction des 9 concentrations utilisées (10, 20, 40, 50, 60, 80, 100, 200 et 400 μ l) et ceci après 24h, 48 h et 72h d'exposition. Une relation dose-réponse a été déterminée où l'effet le plus important été enregistré à 72h. Pour la concentration la plus faible 10 μ l un taux de 4% est enregistré, cette mortalité augmente en fonction des concentrations jusqu'à 85.33% pour la concentration la plus élevée 400 μ l après 24h d'exposition. Pour la concentration 200 μ l les taux de mortalité sont de l'ordre de 80 et 100% après 48 et 72 h.

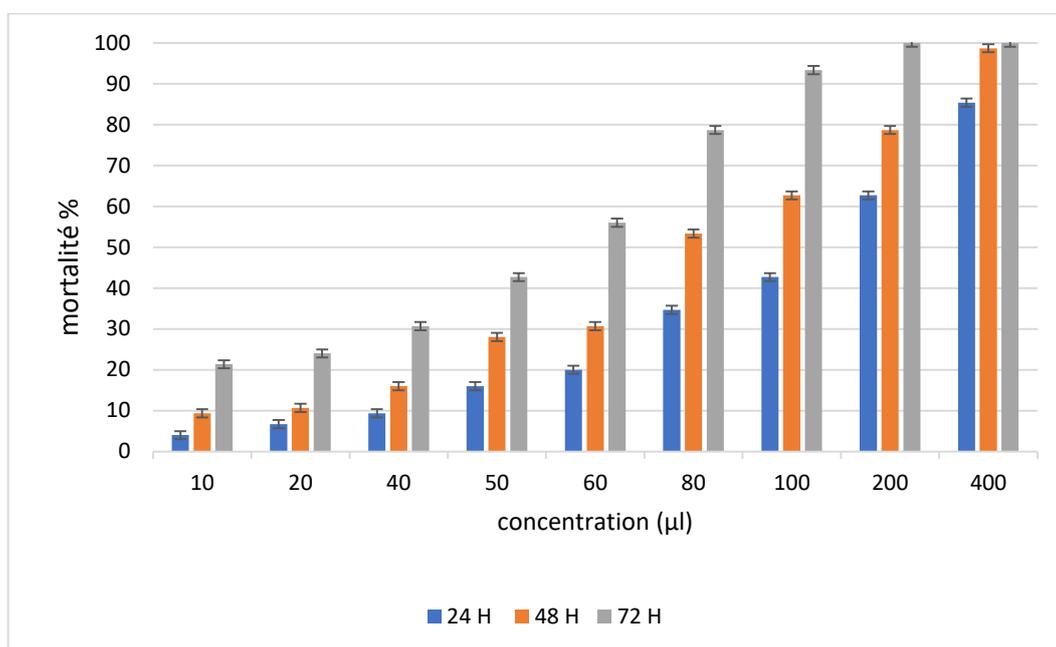


Figure 38. Mortalité observée (%) des larves L4 d'*Ae. caspius* après traitement par les différentes concentrations de l'HE de *O. vulgare* ($m \pm SD$, $n=75$).

Les résultats de l'analyse de régression de l'huile testée ont montré qu'HE d'*O. vulgare* possède une efficacité larvicide contre *Ae. caspius* (Fig.39) exprimé en CL_{25} , CL_{50} et CL_{90} respectivement de : 66.36, 45.84 et 30.82 μ l ; 133.03, 82.29 et 50.16 μ l et 534.51, 265.26 et 132.89 μ l pour les larves L4 après 24, 48 et 72 h d'exposition respectivement (Tableau.14).

Origanum vulgare

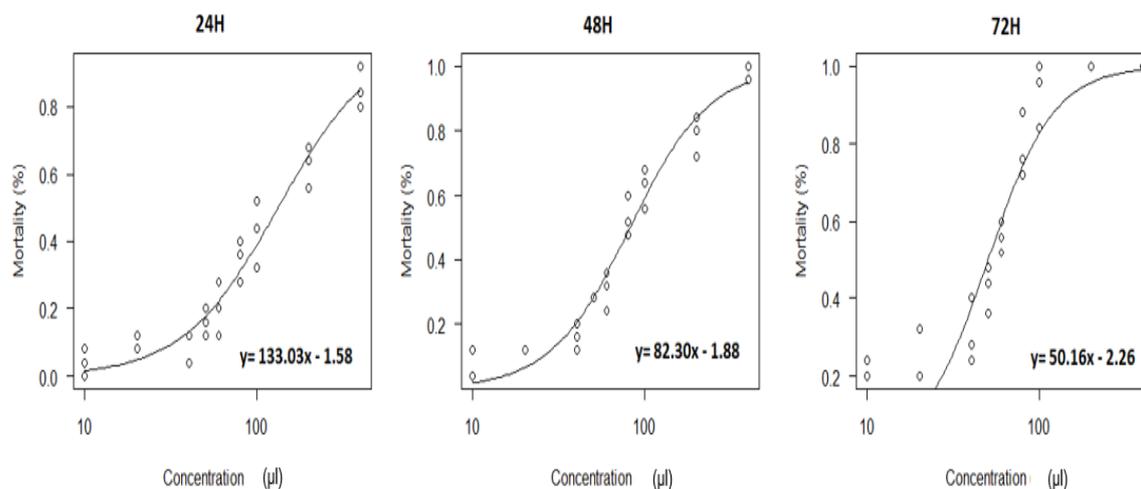


Figure 39. Effets de l’HE d’*O. vulgare* appliquée sur les larves 4 d’*Ae. caspius* : Courbe dose-réponse des probits avec l’équation de régression pour l’effet de l’HE d’*O. vulgare* testée sur des larves L4 d’*Ae. caspius* pendant 24, 48 et 72 h.

Tableau 14. Toxicité de l’HE d’*O. vulgare* appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées d’*Ae. caspius* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).

Temps	Equation	LCL>CL ₂₅ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)	LCL>CL ₅₀ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)	LCL>CL ₉₀ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)
24 h	133.03x-1.58	58.59<66.36<74.15	118.59<133.03<147.47	383.30<534.51<685.73
48 h	82.30x-1.88	40.86<45.84<50.81	75.97<82.29<88.63	202.74<265.26<327.78
72 h	50.16x-2.26	20.66<30.82<40.99	42.89<50.16<57.43	83.21<132.89<182.57

3.3.5. Toxicité d'*E. globulus* à l'égard des larves d'*Ae. caspius*

L'efficacité de l'HE d'*E. globulus* a été évaluée sur des larves L4 d'*Ae. caspius* exposées pendant 24, 48 et 72h à la même gamme de concentrations de 10, 20, 40, 50, 60, 80, 100, 200 et 400 μl , et la mortalité observée à différentes périodes au cours du stade des différentes séries d'expérience (témoins et traitées) est mentionnée dans la figure 40. Un taux de mortalité observée de 8% est enregistré à la concentration la plus faible (10 μl) et Un pourcentage de mortalité de (100 %) a été atteint à la concentration la plus élevée (400 μl) après 24h d'exposition. Tandis que la concentration 200 μl , induit la mortalité la plus élevée (100%) après 72h d'exposition. Cette mortalité observée a augmenté en fonction du temps et des concentrations (Fig.40) avec une relation dose-réponse. Les contrôles positifs (solvant éthanol) n'ont montré aucun effet significatif contre les larves d'*Ae. caspius*.

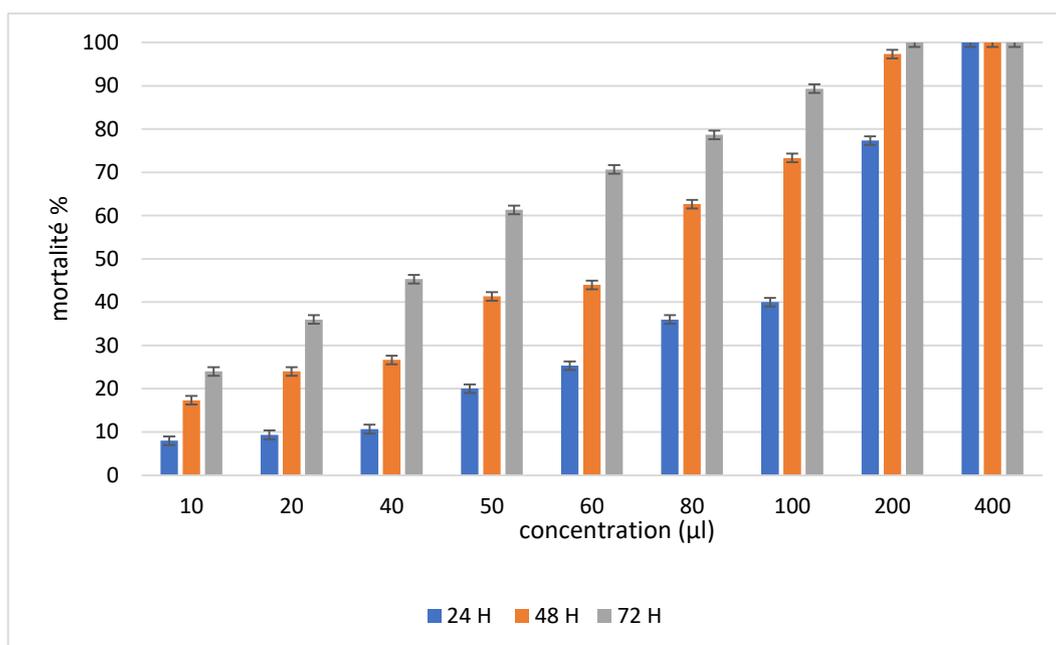


Figure 40. Mortalité observée (%) des larves L4 d'*Ae. caspius* après traitement par les différentes concentrations de l'HE de *E. globulus* ($m \pm SD$, $n = 75$).

La courbe dose-réponse exprimant les pourcentages de mortalité en fonction du logarithme des concentrations appliquées (Fig.41) a permis l'estimation des valeurs des différentes concentrations létales (CL_{25} , CL_{50} et CL_{90}) ainsi que leurs intervalles de confiance (Tableau.15).

Eucalyptus globulus

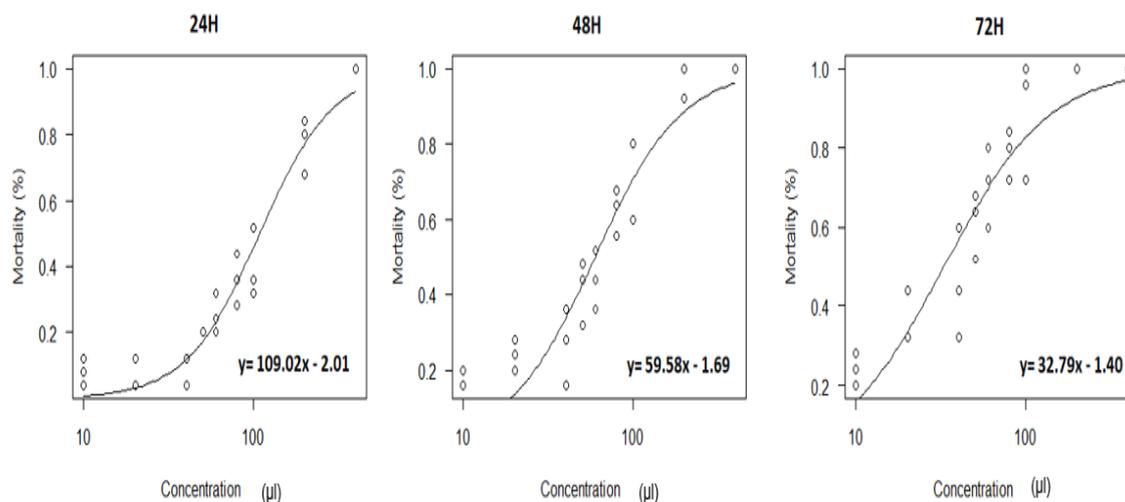


Figure 41. Effets de l’HE d’*E. globulus* appliquée sur les larves 4 d’*Ae. caspius* : Courbe dose-réponse des probits avec l’équation de régression pour l’effet de l’HE d’*E. globulus* testée sur des larves L4 d’*Ae. caspius* pendant 24, 48 et 72 h.

Tableau 15. Toxicité de l’HE d’*E. globulus* appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées d’*Ae. caspius* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).

Temps	Equation	LCL>CL ₂₅ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)	LCL>CL ₅₀ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)	LCL>CL ₉₀ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)
24 h	109.02x-2.01	56.26<63.17<70.09	98.96<109.02<119.08	248.88<324.69<400.51
48 h	59.58x-1.69	23.33<31.13<38.93	52.05<59.58<67.11	139.20<218.18<297.15
72 h	32.79x-1.40	10.15<14.96<19.77	26.88< 32.79<38.71	104.99<104.98<210.22

3.3.6. Toxicité de *F. vulgare* à l'égard des larves d'*Ae. caspius*

Les résultats de l'activité larvicide de l'HE de *F. vulgare* montrent une mortalité plus importante chez les larves L4 d'*Ae. caspius*, traduisant une plus grande sensibilité de cette espèce à l'action de l'HE de *F. vulgare* par rapport aux 5 huiles étudiées précédemment. Cette mortalité observée a augmenté en fonction du temps et des concentrations (Fig.42). Pour la concentration la plus faible (10 µl) un taux de mortalité moins de 10% est enregistré. Cette mortalité augmente en fonction des concentrations et de temps d'exposition jusqu'à 100% pour les concentrations 80, 100, 200 et 400µl, et pour les trois temps d'exposition 24, 48 et 72h ; aucune mortalité n'a été observée dans les contrôles positifs (solvant éthanol) les larves d'*Ae. caspius*.

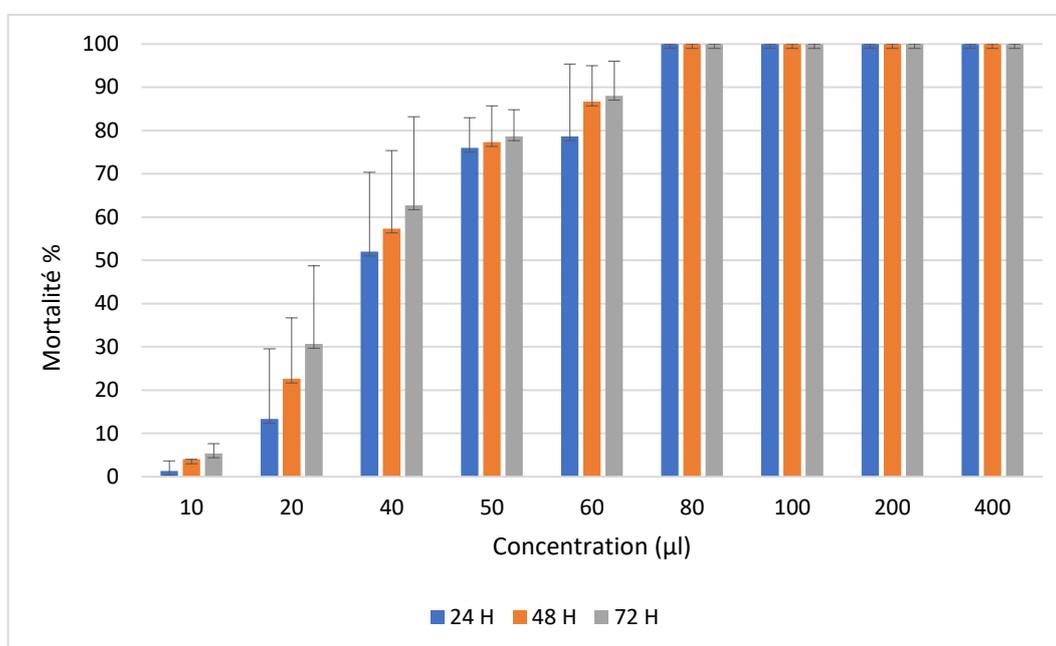


Figure 42. Mortalité observée (%) des larves L4 d'*Ae. caspius* après traitement par les différentes concentrations de l'HE de *F.vulgare* ($m \pm SD$, $n= 75$).

Le Tableau 16 présente les concentrations létales (CL_{25} , CL_{50} et CL_{90}) de l'HE obtenues chez les larves 4 d'*Ae. caspius*. Les CL_{25} , CL_{50} et CL_{90} , révélées à partir de l'analyse des probits sont respectivement 27.65, 22.87 et 19.28 µl ; 37.76, 33.14 et 29.43 µl et 70.40, 69.56 et 68.60 µl après : 24, 48 et 72 h d'exposition respectivement (Tableau 16).

Foeniculum vulgare

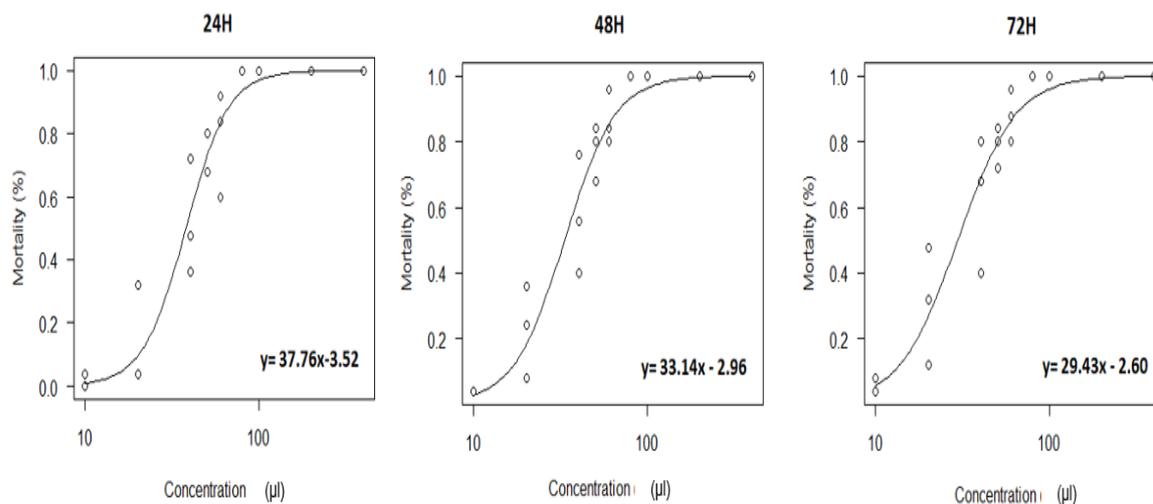


Figure 43. Effets de l’HE de *F. vulgare* appliquée sur les larves 4 d’*Ae. caspius* : Courbe dose-réponse des probits avec l’équation de régression pour l’effet de l’HE de *F. vulgare* testée sur des larves L4 d’*Ae. caspius* pendant 24, 48 et 72 h.

Tableau 16. Toxicité de l’HE de *F.vulgare* appliquée sur les larves 4 nouvellement exuviées d’*Ae. caspius* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiance (95%).

Temps	Equation	LCL>CL ₂₅ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)	LCL>CL ₅₀ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)	LCL>CL ₉₀ >UCL(µl) limites fiduciaires (95%)
24 h	37.76x-3.52	22.46<27.65<32.85	33.66<37.76<41.87	58.86<70.40<81.93
48 h	33.14x-2.96	18.87<22.87<26.87	29.48<33.14<36.80	59.24<69.56<79.87
72 h	29.43x-2.60	15.56<19.28<22.99	25.65< 29.43< 29.44	56.14<68.60<81.07

3.4. Efficacité comparée des six HEs (concentration et temps d'exposition) à l'égard d'*Ae. caspius*

3.4.1. Analyse statistique de la variance des résultats de la toxicité des HEs (ANOVA à un facteur : Test de Fisher et test Tukey)

Les résultats de l'analyse statistique à un seul critère de classification (traitement), les moyennes de mortalité en fonction des six huiles testées : *F. vulgare* ; *R. officinalis* ; *O. vulgare* ; *E. globulus* ; *P. halepensis* et *M. pulegium* sur les larves L4 d'*Ae. caspius* révèlent un effet très hautement significatif ($P=0.000$).

Nous avons pris en compte, le facteur concentrations et les analyses statistiques ont montré de différences très hautement significative ($p \leq 0.000$) entre les HEs : *F. vulgare* ; *R. officinalis* ; *O. vulgare* ; *E. globulus* ; *P. halepensis* et *M. pulegium* à l'égard des larves L4 d'*Ae. caspius*. Il est intéressant de noter qu'un effet significatif du temps d'exposition ($p < 0,01$) a également été observé ($P= 0.002-0.007$) pour les HEs de *R. officinalis* et *P. halepensis* respectivement. De plus, il n'y a pas d'association statistiquement significative ($P > 0.05$) entre les périodes d'exposition pour les HEs de *F. vulgare* ; *O. vulgare* ; *E. globulus* et *M. pulegium* (Tableau.17).

Tableau 17. Analyse statistique de la variance des résultats de la toxicité des HEs.

	Facteurs			
	Huile (df=5)		Concentration (df=9)	
	P valeur	Observation	P valeur	Observation
	0.000	***		
	Temps (df=2)		Concentration (df=9)	
	P valeur	Observation	P valeur	Observation
<i>F. vulgare</i>	0.693	ns	0.000	***
<i>R. officinalis</i>	0.002	**	0.000	***
<i>O. vulgare</i>	0.052	ns	0.000	***
<i>E. globulus</i>	0.114	ns	0.000	***
<i>P. halepensis</i>	0.007	**	0.000	***
<i>M. pulegium</i>	0.219	ns	0.000	***
NB: * ($P \leq 0,05$), ** ($P \leq 0,01$), *** ($P \leq 0,001$), ns ($P > 0,05$)				

Les résultats obtenus du test Fisher (ANOVA à un facteur), montrent une différence significative entre les groupes de chaque facteur, mais ne donne pas une présentation détaillée sur les positions exactes de ces différences des différentes paires de groupe, Nous

avons pris en compte les facteurs déjà mentionnés pour savoir les positions exactes de ces différences. Le test Tukey est généralement plus conservateur que le test de Fisher.

En effet, la comparaison par paires du test Tukey indique que les boîtes à moustaches de la variation de la mortalité par huile (effet) ont révélé l'existence d'une claire hétérogénéité (différences significatives, $p < 0.05$) pour l'huile *F. vulgare* d'une part, et les autres huiles : *R. officinalis* ; *O. vulgare* ; *E. globulus* ; *P. halepensis* et *M. pulegium* d'autre part, à l'exception de l'huile *E. globulus* qui présente une homogénéité avec l'huile *F. vulgare* (Fig.44). On note que l'HE de *F. vulgare* a démontré le potentiel larvicide le plus élevé comparativement à celui des autres HEs testées.

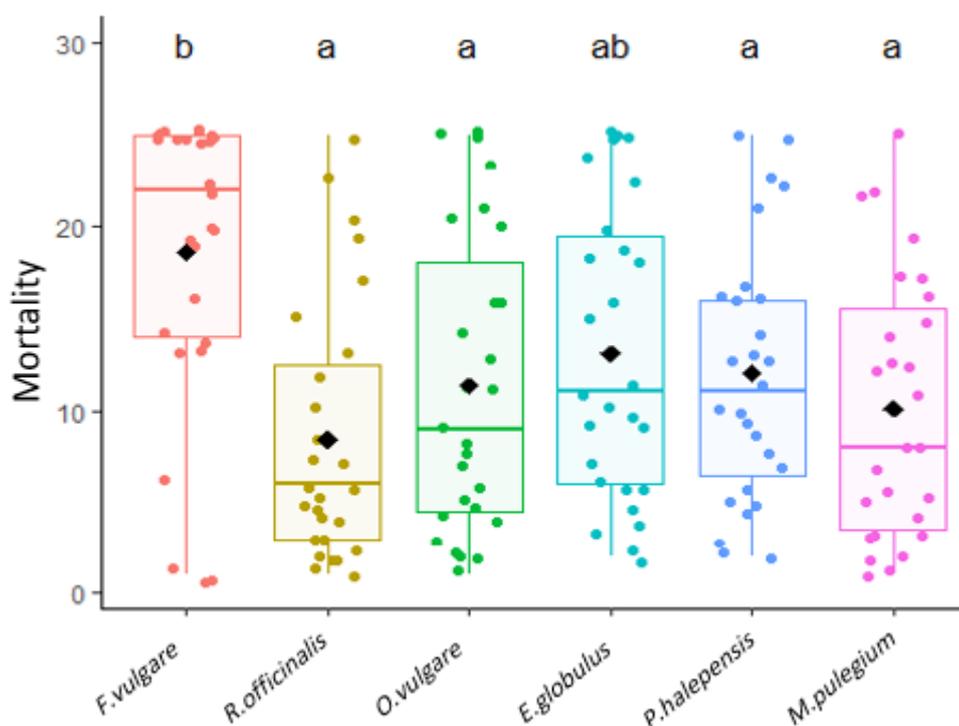


Figure 44. La variation de la mortalité des larves L4 d'*Ae. caspius* par huile.
a ; b et c indiquent la variation entre effet des huiles sur les larves d'*Ae. caspius*.

L'application du test de Tukey a défini les significations statistiques entre les concentrations appliquées. Les résultats ont montré que la variation entre les concentrations concernant la mortalité des larves d'*Ae. caspius* à l'égard des huiles essentielles de: *F. vulgare* ; *R. officinalis* ; *O. vulgare* ; *E. globulus* ; *P. halepensis* et *M. pulegium* est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Tukey (Fig.45).

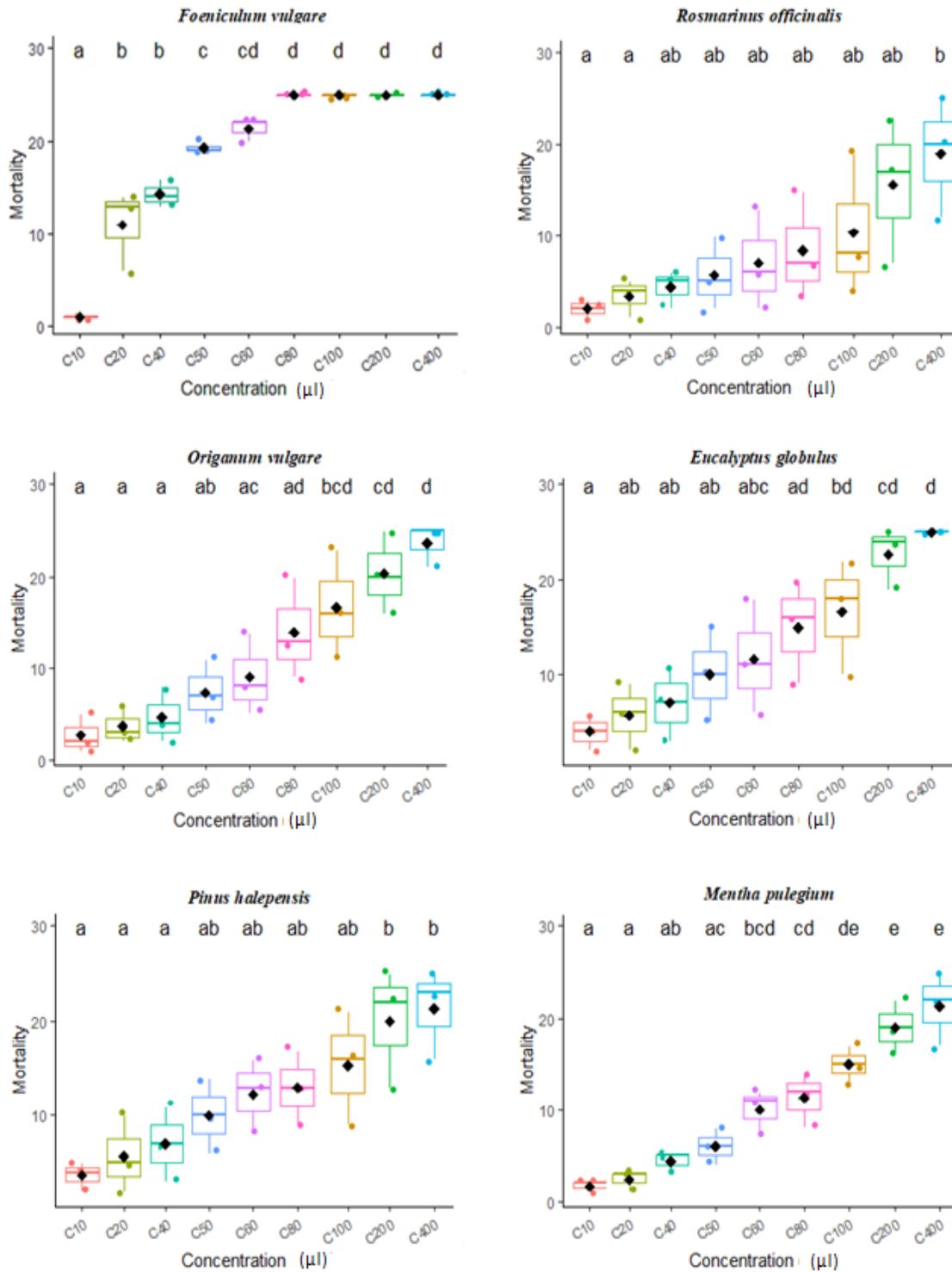


Figure 45. Efficacité larvicide des huiles essentielles appliquées sur les larves L4 d'*Ae. caspius* en fonction de différentes concentrations. a, b et c indiquent la variation entre les concentrations des huiles appliquées sur les larves d'*Ae. caspius*.

Les boîtes à moustaches de la variation de la mortalité des larves d'*Ae. caspius* ont révélé l'existence d'une claire hétérogénéité (différences significatives, $p < 0.05$) entre le temps d'exposition (24h) et le temps d'exposition (72h) pour les deux huiles *R. officinalis* et *P. halepensis* (Fig. 46).

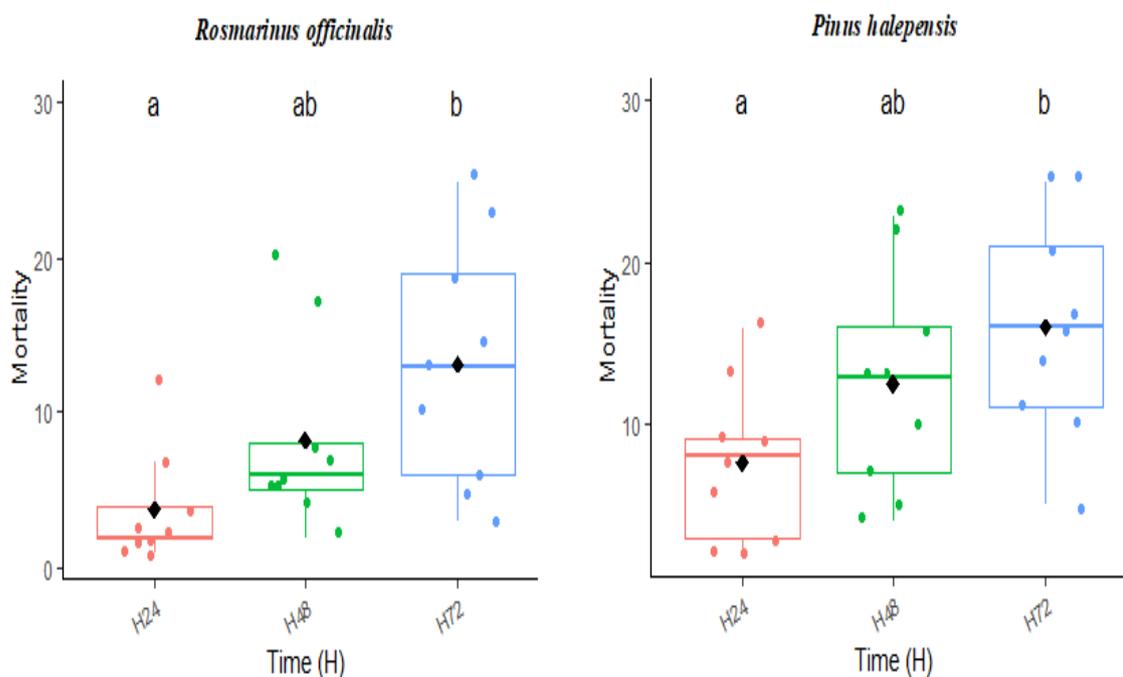


Figure 46. La variation de la mortalité des larves L4 d'*Ae. caspius* en fonction des temps d'exposition.

Les boîtes à moustaches étiquetées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p > 0.05$. Les limites de la boîte centrale montrent la plage interquartile (IQR) avec le premier quartile (borne inférieure) et le troisième quartile (borne supérieure). Les valeurs aberrantes sont indiquées par de petits cercles. a, b et c indiquent que la variation temporelle est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Tukey.

3.5. Effet de l'HE de *F. vulgare* sur le poids et la composition biochimique des larves L4 d'*Ae. caspius*

Le classement des différents traitements a été réalisé grâce au test de Tukey, il faut souligner que le *F.vulgare* est la plante la plus efficace contre les larves d'*Ae. caspius*. Ensuite, pour une meilleure compréhension du mode d'action de cette plante, les concentrations létales (CL₂₅= 27.65 µl et CL₅₀ = 37.76 µl) ont fait l'objet d'une autre partie d'investigation sur l'effet de l'HE de *F.vulgare* des paramètres du poids corporel et la composition chimique à différents temps d'exposition (Tableau.18 ; Tableau 19).

3.5.1. Effet de l'HE de *F. vulgare* sur le poids des larves L4 d'*Ae. caspius*

Selon les résultats obtenus dans le tableau 18, le poids corporel des larves témoins a progressivement augmenté après le traitement à différents temps d'exposition (24, 48 et 72h). De plus, les résultats de l'analyse statistique grâce au test post-hoc LSD de Student, ont montré que le poids corporel était considérablement réduit chez les larves L4 traitées par les concentrations létales : CL₂₅ et CL₅₀, de manière significative au cours des périodes testées à 24 h (p = 0.0029), 48 h (p = 0.0000) et 72 h (p=0.0378).

Tableau 18. Effet de l'HE de *F.vulgare* appliquée (CL₂₅ et CL₅₀) sur le poids corporel (mg) à 24, 48 et 72 heures après traitement chez les larves L4 d'*Ae. caspius* (m ± SD, n = 3 pools contenant chacun 10 individus) (test post-hoc LSD de Student).

Temps d'exposition	Poids corporel (mg)				P (valeur)
	Control	CL 25	CL 50		
24 h	5.52 ± 0.10 a	5.27 ± 0.06 b	5.20 ± 0.01 b		0.0029
48 h	6.07 ± 0.15 a	4.27 ± 0.07 b	3.81 ± 0.09 c		0.0000
72 h	7.86 ± 0.15 a	7.66 ± 0.01 b	7.61 ± 0.07 b		0.0378

3.5.2. Effet de l'HE de *F. vulgare* sur la composition biochimique des larves L4 d'*Ae. caspius*

Afin de déterminer l'effet de l'HE de *F. vulgare* sur les métabolites secondaires, les teneurs en protéines, carbohydrates et lipides ont été dosées sur des larves L4 d'*Ae. caspius*. Les courbes d'étalonnage dont l'équation de la droite de régression exprimant l'absorbance en fonction des quantités de métabolites standards utilisé (albumine, glucose et l'huile de tournesol) nous permettrons d'estimer leurs valeurs sur les larves L4 de la série témoin et traitée avec la CL₂₅ et CL₅₀ après 24, 48 et 72 heures d'exposition.

Les figures 47, 48, 49 représentent les droites utilisées pour le calcul des taux des métabolites.

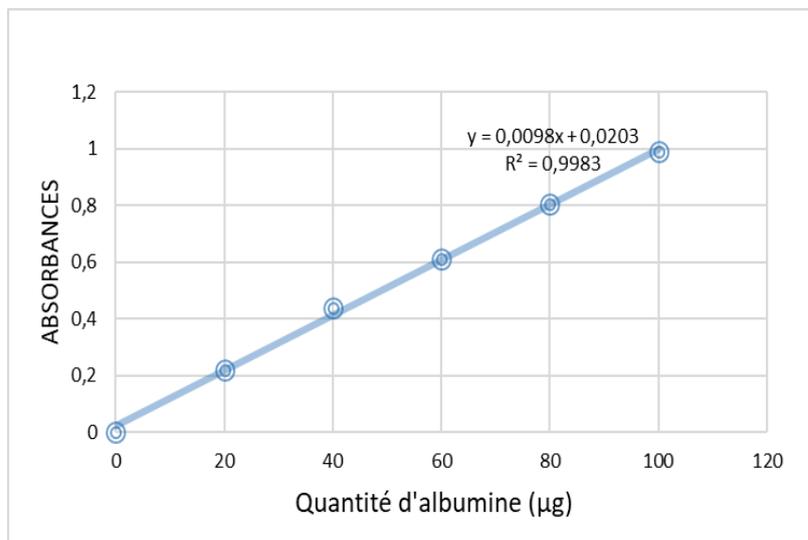


Figure 47. Dosage des protéines totales des larves L4 d'*Ae. caspius* : droite de régression exprimant les absorbances en fonction des quantités d'albumine (µg). (R2 : coefficient de détermination).

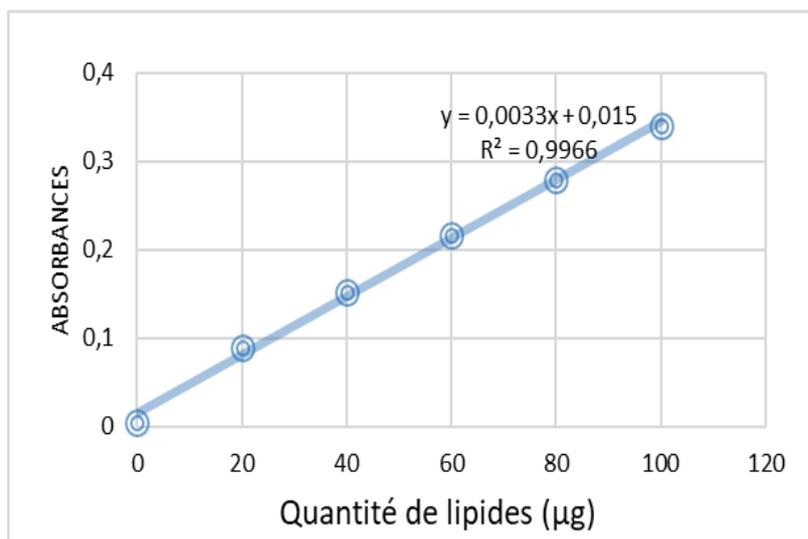


Figure 48. Dosage des lipides totaux des larves L4 d'*Ae. caspius* : droite de régression exprimant les absorbances en fonction des quantités de lipides (µg). (R2 : coefficient de détermination).

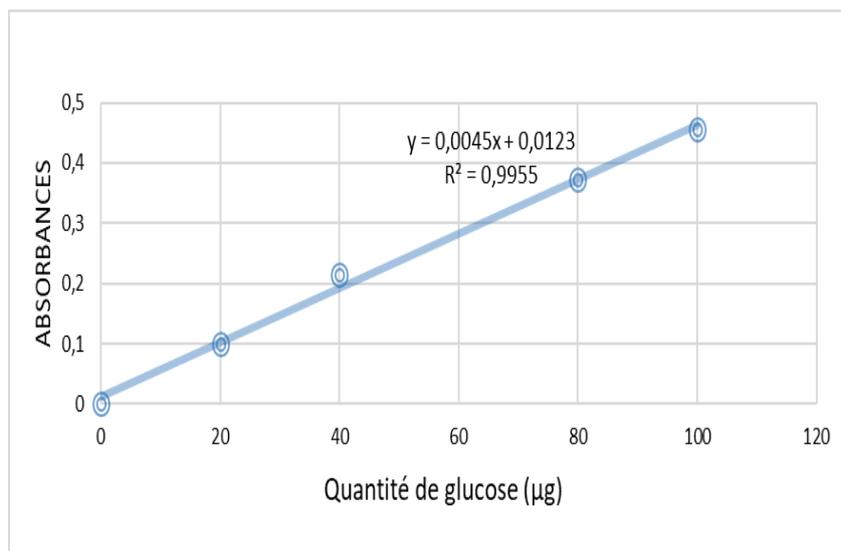


Figure 49. Dosage des glucides totaux des larves L4 d'*Ae. caspius* : droite de régression exprimant les absorbances en fonction des quantités de glucose (μg). (R^2 : coefficient de détermination).

Selon les résultats obtenus dans le tableau 19, les teneurs des principaux métabolites (protéines, carbohydrates et lipides) dans les tissus corporels des larves témoins ont progressivement augmenté à différentes périodes post traitement (24, 48 et 72 h).

D'après les résultats obtenus, on constate que les contenus en métabolites corporels étaient considérablement réduits chez les larves traitées, par rapport aux témoins.

Concernant la comparaison des valeurs moyennes des taux de protéines dans la série traitée avec les deux concentrations létales, Elle varie significativement fonction des concentrations. De plus, les résultats ont montré une diminution significative à 24, 48 et 72 heures ($p=0.0004$, $p=0.0002$ et $p=0.0000$) respectivement.

La teneur en lipides a également été réduite de manière significative avec les deux concentrations testées dans la série traitée par rapport au contrôle et cela a différents temps d'exposition 24, 48 et 72 heures ($p = 0.0001$, $p = 0.0027$ et $p=0.0259$) respectivement.

Les mêmes résultats ont été observés avec le contenu calorique des carbohydrates à 24h ($p= 0.0001$), à 48 h ($p= 0.0035$) et à 72 h ($p= 0.0000$).

Tableau 19. Effet de l'HE de *F. vulgare* (CL₂₅ et CL₅₀) sur les teneurs en protéines, carbohydrates et lipides (µg/mg) après 24, 48 et 72 heures après traitement chez les larves L4 d'*Ae. caspius* (m ± SD).

Temps (heurs)	Paramètre	Témoin	CL ₂₅	CL ₅₀	P valeur
24 h	Protéines	39.53 ± 0.85 a	35.92 ± 1.04 b	33.56 ± 0.554 c	0.0004
	Carbohydrates	28.47 ± 1.11 a	21.52 ± 1.71 b	15.40 ± 1.28 c	0.0001
	Lipides	10.26 ± 0.93 a	7.48 ± 0.5 b	4.08 ± 0.57 c	0.0001
48 h	Protéines	45.62 ± 1.92 a	43.32 ± 1.02 a	33.25 ± 1.77 b	0.0002
	Carbohydrates	30.78 ± 0.29 a	27.94 ± 1.47 b	26.25 ± 0.74 b	0.0035
	Lipides	12.50 ± 0.66 a	10.65 ± 0.87 b	9.01 ± 0.53 b	0.0027
72 h	Protéines	81.09 ± 2.42 a	49.29 ± 0.25 b	45.93 ± 0.23 c	0.0000
	Carbohydrates	67.10 ± 0.96 a	64.32 ± 0.26 b	60.04 ± 0.35 c	0.0000
	Lipides	25.07 ± 1.14 a	20.84 ± 1.80 b	21.09 ± 1.61 b	0.0259

Pour chaque paramètre dans la même période après le traitement, les valeurs (m ± SD) suivies d'une lettre différente sont significativement différentes à p < 0,05 (test post-hoc LSD de Student).

3.6. Effet de l'HE *F.vulgare* sur l'aspect histologique de l'intestin moyen d'*Ae. caspius*

Les changements histologiques dans la région de l'intestin moyen des larves L4 d'*Ae. caspius* exposé à la CL₅₀ de l'huile essentielle de *F. vulgare* ont montré la lyse cellulaire après 24 h. L'examen histologique et la coupe longitudinale de l'intestin moyen des larves témoins L4 d'*Ae. caspius* a montré une apparition d'une couche normale des cellules épithéliales intestinales (Fig.50A). Après 2 heures d'exposition à l'HE de *F. vulgare*, aucun changement n'a été observé (Fig.50B). L'ébauche de séparation de la couche cellulaire a été remarquée comme premier changement après 4 heures d'exposition (Fig.50C). Une hypertrophie cellulaire et une nette interruption entre les couches des cellules épithéliales est apparue après 6 heures d'exposition (Fig.50D). Les grands dommages ont été observés après 12 heures, il y avait une déformation, une hypertrophie et un détachement des cellules épithéliales de la membrane basale (Fig.50E). Les 24 heures post traitement par le *F. vulgare* montre, une lyse de toutes les cellules épithéliales intestinales (Fig.50F).

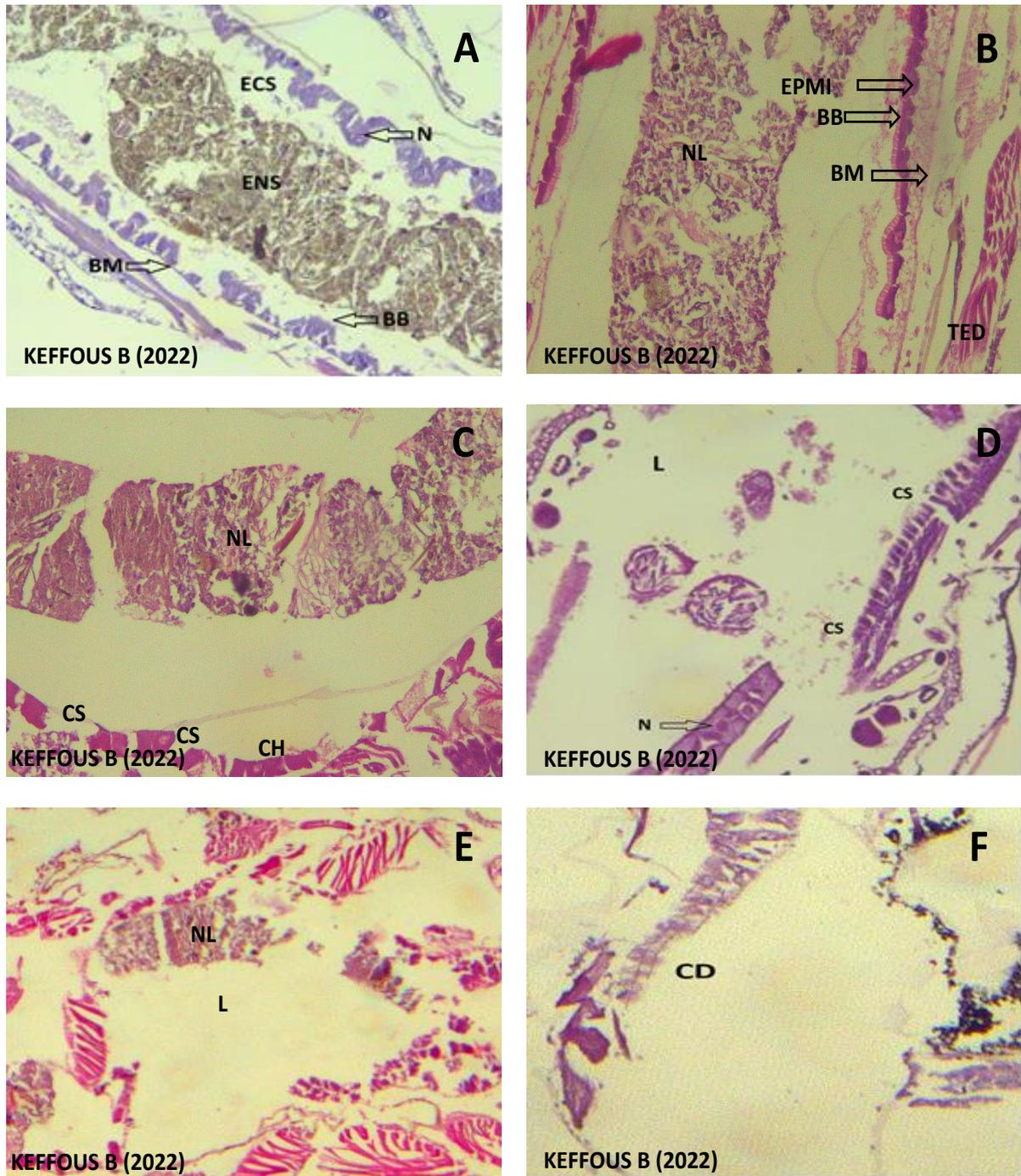


Figure 50. Coupe longitudinale des cellules de l'intestin moyen des larves L4 d'*Ae. caspius* 10X . A : contrôle ; B : après 2h d'exposition ; C : après 4h d'exposition ; D : après 6h d'exposition ; E : après 12h d'exposition ; F : après 24h d'exposition. N : noyau ; ECS : espace ectopéritrophe ; ENS : espace endopéritrophe ; BM : membrane basale ; BB : bordure en brosse ; EPIM : épithélium de l'intestin moyen ; TED : épithélium dégénéré du tégument ; CH : Cellules Hypertrophiées ; CS : Cellules séparées ; L : lumière intestinale ; N : noyau ; NL : nourriture dans la lumière intestinale ; CD : Cellules détruites.

4. DISCUSSION

4.1. Rendement et composition chimique des HEs

La présente contribution de recherche dans la valorisation des extraits organiques dans la lutte biologique, a pour but de proposer et d'encourager l'utilisation des HEs des parties aériennes des plantes : *F. vulgare* ; *R. officinalis* ; *O. vulgare* et *M. pulegium*, et les feuilles d'*E. globulus* et *P. halepensis*, obtenues par hydrodistillation, comme une bonne alternative des pesticides conventionnels, pour lutter contre le moustique *Aedes caspius* (Diptera : Culicidae). Ces huiles essentielles ont présenté des propriétés organoleptiques communes, tel que : l'aspect liquide à température ambiante, incolore ou jaune pâle et à l'exception de l'odeur qui était camphrée pour *R. officinalis*, thymolée pour *O. vulgare*, aromatique pour *F. vulgare* et *P. halepensis* et fraîche pour *E. globulus* et *M. pulegium*.

Les résultats obtenus révèlent une variation des moyennes du rendement et la composition chimique selon les HEs, l'*O. vulgare* est celui qui présente le rendement le plus élevé avec $1.51 \pm 0.27\%$, ainsi la CG/SM-SM a permis de recenser 17 composés à partir de cette huile, dont le γ -Terpinene (38.08%), Thymol (37.1%) et Limonene (8.31%) sont les constituants majoritaires représentent 98,83% de la totalité d'huile. Ozdemir et al. 2017 ont démontré une moyenne de rendement plus élevée ($2.53 \pm 0.13 \%$) que celle calculé dans notre étude, avec comme composants majoritaires le carvacrol (46.44%), thymol (15.50%), γ -terpinene (14.34%), p-cymene (5.80%). Les rendements de l'*O. vulgare* présentent également des variations d'un pays à un autre, Ces résultats sont considérés comme important à ceux signalés dans certains pays de l'Afrique du Nord, dont au Maroc, Derwich et al. (2010) ont signalé un taux de rendement de 1.15% d'*O.vulgare*. Tandis que, Mechergui et al. (2010) ont obtenu un rendement significativement inférieur (0.1-0.7%) fourni de l'espèce d'*O.vulgare* cultivée en Tunisie.

La moyenne de rendement du *F. vulgare*, a pris la deuxième position avec une valeur de $1.40 \pm 0.13\%$. L'HE de cette plante contient 14 substances qui représentent 99.22% dominées par la présence camphre (38.2%), fenchone (28.24%) et l'o-cymène (11.44%). Garcia-Jimenez et al. (2000) rapportent que le rendement d'HE de l'herbe de fenouil était compris entre 0.69 % et 4.60 %. Cependant, le rendement d'HE des graines de *F. vulgare* cultivées dans la même région (Sétif) récoltées au cours du mois de mai était inférieur au rendement estimé dans notre étude ($0.93 \pm 0.07 \%$) (Zoubiri et al., 2014). Plusieurs travaux

ont mis en évidence de multiples chémotypes pour l'huile de fenouil tels que : le trans-anéthole, l'estragole, la fenchone et le limonène (Ahmed et al., 2019 ; Sabzi-Nodjadedh et al., 2020 ; Bahmani et al., 2015). Tandis que Belabdelli et al., 2020 ont constaté que les principaux composants étaient l'estragole (84.8 %), le limonène (7.8 %), la fenchone (3.1 %) et l' α -pinène (1.3 %) dans l'HE de *F. vulgare* des graines algériennes.

La plante *M. pulegium* affiche une moyenne de rendement de 1.36 ± 0.07 % dont les constituants majoritaires sont le Pulegone (60.8%), Pulespenone (14.58%), 1-Menthone (8.39%) et D-Limonene (5%). Boutabia et al. (2020) ont constaté que le rendement en huile essentielle des parties aériennes de *M. pulegium* récoltée dans la région de Souarekh en Algérie est de 1.82%, et que les principaux composants étaient Pulegone (61.24%), Isomenthone (11.32%), Menthone (5.6%).

Les investigations réalisées en Algérie sur le rendement et la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles d'*E. globulus*, ont montré qu'il existe plusieurs chémotypes pour cette même espèce. Le rendement obtenu par hydrodistillation des feuilles d'*E. globulus*, dans cette étude, donne un rendement de $(1.08 \pm 0.16$ %). L'analyse chromatographique de l'HE extraite d'*E. globulus* montre que cette espèce présente un taux élevé de cis-Sabinene hydrate (36.02%), le second pic correspond à α -Pinene avec 19.71% et le troisième pic représenté par le p-Cymene 17.16%. Merabet et al. 2018, a montré la prédominance du chemotype 1,8-Cineol (78.45%) dans l'HE de l'espèce d'*Eucalyptus* de la région de Constantine. Par ailleurs, Le chémotype de l'HE de la région de Saida c'était le p-Cymene (20.24%) (Benabdesslem et al., 2020).

Les rendements les plus faibles dans cette étude, ont été trouvés chez les espèces végétales de la région de Sétif : *R. officinalis* et *P. halepensis* avec des taux de $0.86 \pm 0.07\%$ et $0.58 \pm 0.07\%$ respectivement. Ejjabraoui et al. (2021), ont montré qu'à partir d'un échantillon de *P. halepensis*, collecté au Maroc, le rendement était de 0.63%. Par contre, Abi-Ayad et al. (2011) ont trouvé un taux de rendement inférieur (0.3%) de l'HE de *P. halepensis* recueillies à Ghazaouet (Tlemcen, Algérie). Les données de la (CG/ SM-SM) dans la présente étude ont permis d'identifier les composants phytochimiques dans l'HE de *P. halepensis* ; Melilotal (28.26%), α -Phellandrene (25.09%) et β -Phellandrene (10.64%) comme principaux composants. D'autre part, les mêmes auteurs (Abi-Ayad et al., 2011) ont signalé que les composants majoritaires sont Caryophyllene oxide (52%), Thumbergol (9%), Humulene oxide (7.2%) dans l'HE de *P. halepensis*.

Les analyses qualitative et quantitative par la chromatographie à phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CG/ SM-SM) de l'huile essentielle des parties aériennes de *R. officinalis* ont permis d'identifier et de quantifier 25 composés représentant 92.5 % du total de l'huile, dont les principaux constituants sont : Limonene (47.28%), 2-Pinene (11.82%) et (+)-3-Carene (8.96%). Par ailleurs le rendement de cette même plante présente également un taux de 0.82% (Djeddi et al., 2006), les mêmes auteurs ont signalé que l'HE des parties aériennes de *R. officinalis* provenant de El Hamma (Algérie) contient Camphor (14.6%), 1,8-Cineole (12.2%) et β -Caryophyllene (10.9%).

Les résultats obtenues montrent que les rendements en HEs varient, selon la méthode d'extraction soit différente ou la même, la variété pourrait être affectée par la qualité du matériel végétal utilisé en plus d'autres facteurs biotiques ou abiotiques, tels que le stade de croissance et de développement de la plante, la qualité du sol, les conditions climatiques, le moment de la récolte, la période de séchage, aussi elle peut être liée au type de la méthode d'extraction et la conservation (Calo et al., 2015 ; Mohammedi et al., 2020) (Tableau 20).

Tableau 20. Rendements des HEs obtenues par hydrodistillation dans différents pays.

HE	Rendement	Partie de plante	Pays	Reference
<i>O. vulgare</i>	1.15%	Feuilles	Maroc	Derwich et al., 2010
	2.5- 4.6 %	Fleurs et feuilles	Tunisie	Mechergui et al., 2010
	2.53 \pm 0.13 %	Partie aérienne	Turquie	Ozdemir et al., 2017
<i>F. vulgare</i>	1.40 \pm 0.13%	Partie aérienne	Algérie (Setif)	Keffous & Aissaoui, 2022
	0.93 \pm 0.07 %	Graines	Algérie (Sétif)	Zoubiri et al., 2014
	0.6 %	Partie aérienne	Inde (Pithoragarh)	Punetha et al., 2019
	0.9 %	Partie aérienne	Inde (Didihat)	Punetha et al., 2019
<i>M. pulegium</i>	1.82%	Partie aérienne	Algérie (Souarekh)	Boutabia et al., 2020
<i>E. globulus</i>	0.96 %	Feuilles	Algérie (Constantine)	Merabet et al., 2018
	2.64 \pm 0.1%	Feuilles	Algérie (Saida)	Benabdesslem et al., 2020
<i>R. officinalis</i>	0.82%	Partie aérienne	Algérie (El hamma)	Djeddi et al., 2006
<i>P. halepensis</i>	0.3%	Aiguilles	Algérie (Ghazaouet)	Abi-Ayad et al., 2011
	0.81%	Aiguilles	Algérie (Kala)	Sadou et al., 2015
	0.3%	Aiguilles	Algérie (Souk-Ahras)	Sadou et al., 2015
	0.63%	Partie aérienne	Maroc	Ejjabraoui et al., 2021

De plus, il faut noter que le rendement et la composition chimique des huiles essentielles peuvent varier d'un organe à un autre pour la même plante, c'est le cas du citronnier dont l'huile essentielle prévenant des feuilles a une composition différente de celle des fleurs (Bouguerra, 2012). La variation de la composition chimique des HE peut être causée par plusieurs facteurs tels que la méthode d'extraction, la période de collecte des plantes. Il est également influencé par des facteurs internes et externes affectant la plante, tels que les structures génétiques et les conditions environnementales (Venditti et al., 2016 ; Saxena et al., 2018). Les études phytochimiques ont montrés que plusieurs métabolites secondaires ont été isolés et identifiés de ces HEs (Tableau 21).

Tableau 21. Constituants majoritaires des HEs dans différents pays.

HE	Constituants majoritaires	Pays	Partie de plante	Références
<i>O. vulgare</i>	para-Cymene (25.615%), Thymol (23.129%), Carvacrol (20.321%)	Algérie	Partie aérienne	Bouhaddouda et al., 2016
	Carvacrol (46.44%), Thymol (15.50%), γ -Terpinene (14.34%), p-Cymene (5.80%)	Turquie	Toute la plante	Ozdemir et al., 2017
	4-Terpineol (47.95%), Carvacrol (9.42%), Thymol (8.42%), α -Terpineol (7.57%)	Chile	Feuilles	Cleff et al., 2010
<i>F. vulgare</i>	Camphre (38.2%), Fenchone (28.24%), o-Cymène (11.44%)	Algérie (Setif)	Partie aérienne	Keffous & Aissaoui, 2022
	a-Phellandrene (36.85% - 41.59%), b-Phellandrene (19.68% - 25.79%)	Italie Palermo	Tiges et Feuilles	Ilardi et al., 2021
	Limonene ($4.67 \pm 0.07\%$), Fenchone ($11.01 \pm 0.07\%$), trans-Anethole ($74.88 \pm 0.55\%$)	Tunisie Bizerte	Graines	Kalleli et al., 2019
	Estragole ($88.92 \pm 1.08\%$), Limonene ($5.65 \pm 0.34\%$), Fenchone ($2.82 \pm 0.07\%$)	France Marseille	Graines	Kalleli et al., 2019
<i>M. pulegium</i>	Pulegone (61.24%), Isomenthone (11.32%), Menthone (5.6%)	Algérie	Partie aérienne	Boutabia et al., 2020
	Pulegone (74.03%), Carvone (5.45%), Dihydrocarvone (3.66%)	Maroc	Partie aérienne	Ramzi et al., 2022
	1,8-Cineole (14.60%), p-Menthan-3-one (14.9%), Piperitenone (11.4%), Carene (10.19%), Menthol (8.76%)	Tunisie	Feuilles	Ben Chaaban et al., 2019

<i>E. globulus</i>	p-Cymene (20.24 %), Spathulenol (14.10 %), Eucalyptol (11.30 %)	Algerie Saïda	Feuilles	Benabdesslem et al., 2020
	1,8-Cineol (78.45%), o-Cymene (2.18%)	Algerie Constantine	Feuilles	Merabet et al., 2018
	trans-Anéthole (79.9%), Limonène (8.7%), Fenchone (4.2%)	Algérie Biskra	Graines	Ferhat et al., 2018
<i>R.officinalis</i>	Camphor (14.6%), 1,8-Cineole (12.2%), β -Caryophyllene (10.9%)	Algérie	Partie aérienne	Djeddi et al., 2006
	1,8-Cineol (33.08-37.75 %), Camphor (13.55-18.13 %), α -Pinene (8.58-9.32 %)	Tunisie	Partie aérienne	Sotomayor et al., 2013
	1, 8-Cineole (23.55%), Verbenone (18.89%), Camphor (15.06%) α -Terpineol (6.43%)	Ethiopie	Feuilles	Kesatebrhan & Tesfahun, 2014
<i>P. halepensis</i>	β -Caryophyllène (40.31%), α - Humulene (7.92%), Aromadendrene (7.1%).	Algérie	Aiguilles	Berramdane et al., 2005
	Caryophyllene oxide (52%), Thumbergol (9%), Humulene oxide (7.2%).	Algérie	Aiguilles	Abi-Ayad et al., 2011
	α - Pinene (88.62%), α - Terpineol (1.43%), Myrcène (1.16%)	Maroc	Partie aérienne	Ejjabraoui et al., 2021

4.2. Toxicité des HEs à l'égard des larves d'*Ae. caspius*

L'utilisation de produits naturels décomposables et respectueux pour l'environnement pour une lutte antivectorielle efficace a pris un essor considérable dans la société moderne (Chellappandian et al., 2018). Les HEs pourraient servir d'alternatives appropriées aux insecticides synthétiques car ils sont relativement sûrs, disponibles et biodégradables (Khater, 2013). On considère que les biopesticides à base d'HE peuvent être des outils de choix dans les programmes de gestion de la résistance des insectes aux pesticides. Les HEs ont montré différents modes d'action, tels que des activités antiappétissantes, répulsives ou dissuasives, et elles peuvent être utiles comme agents larvicides, ovicides et adulticides (Chansang et al., 2018 ; Gong & Ren, 2020 ; Baz et al., 2022 ; Abdelali et al., 2023). Dans cette étude, les tests toxicologiques sont adoptés pour tester la sensibilité des larves d'*Aedes caspius* vis-à-vis des six huiles essentielles des espèces végétales cultivées dans les hauts plateaux (Région de Sétif) et ils sont nécessaires pour évaluer les concentrations létales (CL_{25} , CL_{50} et CL_{90}). Les résultats obtenus révèlent une sensibilité variable des

larves d'*Ae. caspius* suite aux traitements par les HEs étudiées. Les concentrations létales sont calculées pour chaque HE. De point de vue toxicité, nous avons constaté que toutes les HEs testées montrent une activité larvicide avec relation dose-réponse et que les valeurs des doses létales diminuent en fonction de la durée d'exposition.

F. vulgare et *E. globulus* ont été les larvicides les plus efficaces prenons en compte leurs valeurs CL₅₀ après 72h d'exposition (29.43 et 32.79 µl respectivement), suivie par *P. halepensis* avec 35.85 µl. Le test de Tukey représenté par des graphiques de type boîtes à moustaches, nous a permis de visualiser d'une façon simplifiée la dispersion des données en deux groupes. Ces graphiques ont révélé une distribution homogène entre les variations de mortalité de l'HE de *F. vulgare* et l'HE d'*E. globulus* dans un premier groupe d'une part, et une autre distribution homogène dans le deuxième groupe qui rassemble les plantes : *P. halepensis* ; *O. vulgare* ; *R. officinalis* et *M. pulegium* d'autre part.

De nombreux chercheurs se sont intéressés à l'évaluation de l'effet insecticide de la plante médicinale *F. vulgare* (Zoubiri et al., 2014 ; Pavela et al., 2016 ; Al-Mekhlafi et al., 2021). L'effet larvicide de l'huile essentielle de cette espèce a été montré contre le genre *Aedes*, par les travaux de Sedaghat et al. (2011) et Chantawee et Soonwera (2018). Des études rapportées par Zoubiri et al. (2014) montrent clairement que l'activité larvicide de cette huile végétale, peut être due à la présence de trans-anéthol comme composé principal et que l'HE de graines de *F. vulgare* peut être suggéré comme larvicide naturel pour contrôler le moustique *Cx. pipiens*. Ainsi, *F. vulgare* peut servir d'agent larvicide naturel avec d'autres études antérieures qui ont rapporté une toxicité significative de l'HE de fenouil contre différentes espèces d'arthropodes (Amizadeh et al., 2013 ; Pavela et al., 2016 ; Aboelhadid et al., 2021). La littérature a cité l'efficacité de certains composants d'HE comme le camphre et la fenchone, ces derniers ont été caractérisés par des teneurs élevées, dans l'HE *F. vulgare* extraite dans notre étude (Tableau 21). L'évaluation de l'effet insecticide du camphre comme constituant majeur d'une variété de basilic (*Ocimum kilimandsharicum*) sur plusieurs espèces des coléoptères a été confirmée dans les travaux de Bekele et Hassanali (2001). De même, les travaux d'Aboelhadid et al. (2021) ont confirmés l'activité acaricides de l'HE de *F. vulgare* et ces constituants majeurs (trans-anethole et fenchone) contre les larves et les adultes de *Rhipicephalus annulatus*.

L'activité larvicide d'*E. globulus* à l'égard d'*Ae. caspius* sont reliées à l'action des constituants majoritaires de cette huile représentés par les teneurs de cis-Sabinene hydrate

(36.02%), α -Pinene (19.71%) et p-Cymene (17.16%). Ce qui a été également montré dans les travaux de Lucia et al. (2007) par l'utilisation d'une autre variété d'*Eucalyptus grandis* contre le 4eme stade larvaire d'*Ae. aegypti*, s'est avéré être l' α -pinène. Les travaux de Sheikh et al. (2021) sur l'efficacité répulsive des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et de *Syzygium aromaticum* ; En basant sur la dose efficace minimale ($\leq 1\%$ de piqûre), 10 % (v/v), ont montré une forte répulsion d'atterrissage (77.78 %) contre le vecteur du paludisme, *Anopheles stephensi*. Cette toxicité est également rapportée sur d'autres diptères dans les travaux de Kumar et al. (2012) : l'activité insecticide de l'huile d'*E. globulus* a été évaluée aussi contre les larves et les nymphes de mouche domestique, par deux essais biologiques différents : la toxicité par contact et la fumigation. Le test de toxicité par contact avec la larve a montré une concentration létale, CL₅₀, entre 2.73 et 0.60 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ pour différents jours d'observation, tandis que le temps létal, LT₅₀, variait entre 6.0 et 1,7 jours. Dans le test de fumigation pour les larves de mouches domestiques, des valeurs de CL₅₀ de 66.1 et 50.1 $\mu\text{l}/\text{l}$ ont été obtenues en 24 h et 48 h respectivement.

La troisième HE classée en termes de toxicité est l'HE de *P. halepensis* qui affiche des valeurs de CL₅₀ de 35.85 μl et CL₉₀ de 202.19 μl après 72h d'exposition. Les Travaux de Mitića et al. (2019), faite sur d'autres espèces d'insectes, ont démontré que la toxicité de l'huile de *P.heldreichii* vis-à-vis du développement des larves de *Drosophila melanogaster* était faible. Bien que la forte toxicité a été rapportée par Ejjabraoui et al. (2021) que les huiles essentielles de *Pinus halepensis* et *Pinus pinaster* contre une espèce de petit coléoptère *Bruchus signaticornis* (coléoptère de la lentille) était probablement due la présence d' α -pinene 88.62%, α -terpineol 1.43% et Myrcène 1.16%, qui sont parmi les principaux composants retrouvés dans les deux variétés de *Pinus*.

L'HE d'*O.vulgare* avec ces principaux constituants γ -Terpinene (38.08%), Thymol (37.1%) et Limonene (8.31%), montrent une activité larvicide importante après 72h d'exposition confirmés par la valeur de CL₅₀ (50.87 μl). Les propriétés insecticides de ces constituants, ont été confirmées sur le vecteur du paludisme ; nous citons à cet effet les travaux de Govindarajan et al. (2016), dans cette étude, l'activité larvicide de l'HE des feuilles d'*Origanum vulgare* (Lamiaceae) et de ses principaux constituants chimiques, le carvacrol et le terpinen-4-ol, ont un effet toxique significatif contre les larves du troisième stade d'*An. stephensi*, *An. subpictus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Cx. tritaeniorhynchus*, avec des valeurs de CL₅₀ de 67.00, 74.14, 80.35 et 84.93 $\mu\text{g}/\text{ml}$. En dehors des moustiques l'origan et ces principaux constituants a été identifiés pour son effet toxique sur d'autres

insectes, citons comme exemple les larves d'*H. armigera*. D'après Gong & Ren, 2020, l'activité larvicide des trois principaux constituants de l'HE d'*O. vulgare* : le carvacrol, le p-cymène et le γ -terpinène semblaient être les plus efficaces contre *H. armigera*, avec des valeurs de CL₅₀ de 51.53, 121.32 et 150.15 $\mu\text{g/ml}$, respectivement.

Le romarin, présenté dans cette étude par les effets létaux : CL₂₅, CL₅₀ et CL₉₀ (33.93, 57.87 et 168.29 μl respectivement) après 72h, montre une activité larvicide contre les larves d'*Ae. caspius*. Restant dans le genre *Aedes*, des niveaux de mortalité potentielle ont été observés après 24 h (80 \pm 10 %) et 48 h (90 \pm 10 %) chez les larves d'*Ae. aegypti* à une concentration de 250 ppm, par rapport à l'huile essentielle de *R. officinalis* dans une étude réalisée par Jonatas et al. (2015). Les travaux de Ramzi et al. (2022) réalisés sur l'espèce *Cx. pipiens*, ont montré que les taux de mortalité enregistrés pour *R. officinalis* ont été calculés à 56.14% et 75.94%, respectivement. Hossam El-Din et al. (2017) rapportent que les huiles d'*Artemisia mono sperma*, *S. terebinthifolius* et *Origanum vulgare* ont une activité insecticide contre *Cx. pipiens*, la plus élevée avec des valeurs de CL₅₀ de 7.73, 8.14 et 8.40 mg/l après 24h de traitement et 2.63, 3.46 et 6.74mg/l après 48h de traitement; Au contraire, les huiles de *Schinus molle* et de *Rosmarinus officinalis* ont été les moins efficaces. En effet la faible toxicité de *Rosmarinus officinalis* comparativement aux autres HEs testées a été signalée dans notre étude, des résultats similaires ont été obtenus par Conti et al. (2010) à l'égard des moustiques montrent que toutes les huiles testées avaient une activité insecticide, avec des différences dans les taux de mortalité en fonction à la fois de l'huile et du dosage. À la dose la plus élevée (300 ppm), les HE de *H. italicum*, *A. millefolium* et *F. vulgare* ont causé une mortalité plus élevée que *M. communis*, *R. officinalis* et *L. angustifolia* avec des taux de mortalité allant de 98.3 % à 100% ; Tandis qu'à la même dose (300ppm) les HEs de *M. communis*, *R. officinalis* et *L. angustifolia* n'ont induit que 36.7%, 51.7% et 55% respectivement.

Nos résultats montrent que l'HE de *M. pulegium* présente un effet toxique contre les larves du 4eme stade d'*Ae. caspius*. Dans ce contexte, Les travaux de Guenez et al. (2018) ont montré que l'huile essentielle de la partie aérienne de *M. pulegium* a un effet larvicide contre deux espèces de moustiques, et que les larves d'*Ae. caspius* sont plus sensible que les larves de *Cx. pipiens*, avec les doses létales CL₅₀ et CL₉₀ : 38.75 et 28.16 ppm, 85.91 et 53.75 ppm pour *Cx. pipiens* et *Ae. caspius* respectivement, ceci a été notée 24 heures après le traitement. Ramzi et al. 2022 ont rapporté aussi que les taux de mortalité enregistrés de

L'HE de *M. pulegium* ont 78.94% et 97.71% après 24 h et 48 h de traitement, respectivement, à l'égard des moustiques de *Culex pipiens*. Le test de fumigation de Ncibi et al. (2021) a montré la toxicité des deux huiles *Thymbra capitata* et *Mentha pulegium* sur les stades larvaires de *Galleria mellonella* ; De plus, *M. pulegium* était plus toxique contre le 2^{ème} stade larvaire que *T. capitata* avec une CL₅₀ à 48h de 41.82 et 456.27 µl/L d'air, respectivement. Cette action a été également affichée contre les ravageurs des dattes stockées *E. kuehniella* et *E. ceratoniae* par les huiles essentielles de *M. pulegium*, *Ruta graveolens* et d'*Ocimum basilicum* (Ben-chaaban et al., 2019). De même la composition chimique des huiles essentielles, extraites de différentes plantes médicinales de la famille des lamiacées au cours de cette étude, montre que le limonène est parmi les composants majeurs au sein de cette famille : Les travaux de jian et al. (2022) révèlent une puissante activité larvicide du limonène contre les larves *Aedes albopictus* avec une valeur CL₅₀ de 39.7 ppm. Aussi, les huiles essentielles de *Conyza canadensis* et *Conyza sumatrensis*, qui sont riches en limonène (41.5 % et 25.5 %, respectivement), ont montré des activités larvicides remarquables contre *Ae. aegypti* (CL₅₀ sur 24 h = 9.80 et 21.7 µg/mL, respectivement) et *Ae. albopictus* (CL₅₀ sur 24 h = 18.0 et 19.1 µg/mL, respectivement) (Hoi et al., 2020).

4.3. Effet d'HE de *F. vulgare* sur le poids corporel des larves d'*Ae. caspius*

L'examen des effets létaux (CL₂₅, CL₅₀) de *F. vulgare* contre le moustique *Ae. caspius* sur les paramètres biochimiques sont la principale forme de stockage d'énergie dans le corps des insectes, jouent un rôle essentiel dans la reproduction et le développement, et sont impliqués dans des événements physiologiques et biochimiques (Sayada et al., 2021). En général, une réduction significative du poids corporel des larves traitées d'*Ae. caspius* avec (CL₂₅ et CL₅₀) par rapport aux témoins à différents moments (24, 48 et 72h) du développement larvaire. Ces résultats sont en accord avec Dris et Bouabida (2020) qui a noté une réduction du poids corporel des larves de *Culex pipiens* traitées avec l'HE de *Ruta graveolens*. Le traitement avec les concentrations létales (CL₂₅ et CL₅₀) de l'HE de *F.vulgare* contre *Ae. caspius* dans la présente étude provoque une réduction du poids corporel et des niveaux de paramètres biochimiques (glucides, lipides et protéines). Bouguerra et al. (2018) ont également montré que le traitement avec l'HE de *Thymus*

vulgaris affectait le contenu calorique des principaux constituants du quatrième stade larvaire de *C. pipiens*.

4.4. Effet d'HE de *F. vulgare* sur la composition biochimique des larves d'*Ae. caspius*

Les résultats du dosage des métabolites des larves traitées ont révélé une diminution des taux de protéines, dans l'ensemble de l'organisme des larves traitées avec l'HE de *F. vulgare* par rapport au témoin. La synthèse des protéines est dépendante et nécessaire pour la dégradation, le maintien de la croissance corporelle, la reproduction, le mouvement de l'eau entre les tissus et l'hémolymphe (Bouguerra et al., 2018). Une tendance similaire a été signalée, où la teneur totale en protéines des larves est considérablement réduite, quel que soit le venin testé ou le stade larvaire de *Galleria mellonella* (Tanani et al., 2021). La diminution de la teneur en protéines de la réserve a été attribuée pour détoxifier les principes actifs présents dans les huiles essentielles pour compenser les faibles niveaux d'énergie causés par le stress (Vijayaraghavan et al., 2010). La réduction de la teneur totale en protéines après infection par des nématodes entomopathogènes, pourrait également être attribuée à la stimulation du catabolisme des protéines chez le corps adipeux de l'hôte - le principal organe pour métabolisme, stockage et synthèse des nutriments de la vitellogénine (Ghoneim et al., 2022). Les glucides, en tant qu'éléments énergétiques, qui jouent un rôle crucial dans la croissance et le développement, peuvent être utilisés par le corps de l'insecte pour la transformation et la conversion en lipides (Visser et al., 2017). Les analyses biochimiques de la présente étude révèlent une diminution des glucides. Des résultats similaires ont été obtenus ailleurs (Farang et al., 2021) et ont rapporté que les activités des enzymes, ainsi que les glucides totaux des larves du quatrième stade de *Culex pipiens* traitées avec l'extrait de pelure de grenade, étaient significativement réduites par rapport aux non traitées. Les niveaux significatifs de réduction pourraient s'expliquer par une demande accrue d'énergie et un métabolisme intense dû à l'effet de l'huile lors des conditions de stress des insectes. Les lipides sont les molécules essentielles à la formation de la structure cellulaire et de la cuticule. Ils fournissent une bonne source d'énergie et ils facilitent la conservation de l'eau en développant une membrane cuticulaire imperméable et en fournissant de l'eau métabolique après oxydation (Farang et al., 2021). La baisse de la teneur en lipides dans la présente étude peut être due à l'utilisation des réserves lipidiques pour la réparation des cellules endommagées. De plus, les problèmes hormonaux affectent

la régulation du métabolisme des lipides (Sak et al., 2006). Les présents résultats sont en accord avec ceux de Sayada et al. (2021) qui ont observé que les teneurs en lipides des adultes de *Rhyzopertha dominica* traités avec *Lavandula angustifolia* étaient considérablement réduites. Au contraire, Askar et al. 2016 ont rapporté que l'application de l'huile de girofle sur les adultes des trois espèces de *Sitophilus* a augmenté les niveaux de lipides totaux et de protéines.

4.5. Effet histologique sur l'intestin moyen d'*Ae. caspius*

Les changements histologiques de l'intestin moyen des larves de quatrième stade, témoin et traité d'*Ae. caspius* après application de la concentration létale CL₅₀ de l'HE de *F. vulgare* ont été examinés à différents temps (2, 4, 6, 12 et 24 heures). L'étude microscopique montre une dégradation progressive et révèle que *F. vulgare* EO agit par hypertrophie et destruction cellulaire. Les dommages au niveau du tube digestif dus à divers changements dans les fonctions telles que l'osmorégulation, la digestion, le transport des ions et l'absorption nutritionnelle des aliments. Aussi, dans la défense chimique et mécanique contre les agents pathogènes dans cette région (Rohmah et al., 2020). Dans le même contexte, les résultats rapportés par Aswin-Jeno et Nakkeeran (2022), sur l'effet de l'huile de neem contre les larves du quatrième stade d'*Aedes aegypti*, révèlent qu'il y avait une désintégration dans les régions de l'intestin moyen et de l'intestin postérieur en raison des dommages aux corps gras, ce qui empêchait les fonctions métaboliques et entraînant la mort. Ces changements observés sont similaires à ceux rapportés par Al-Mekhlafi et al. (2021), lors de l'utilisation d'un extrait combiné de *F. vulgare* et de *Matricaria chamomilla* sur des larves de moustiques *Culex pipiens*, aussi ils ont supposé que ce traitement entraîne des changements histopathologiques tels que la dégénérescence des cellules épithéliales et la destruction des microvillosités sur les cellules épithéliales. De plus, Basker et al. (2020) a rapporté que l'effet des extraits fongiques endophytes d'*Aspergillus tammarii* contre *Aedes aegypti* et *Culex quinquefasciatus* provoque des altérations histopathologiques dans les tissus corporels, en particulier la cuticule, les cellules adipeuses et la région de l'intestin moyen.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans ces dernières années, et face à une législation de plus en plus restrictive sur l'application des pesticides de synthèse, la recherche de nombreux travaux sur phytoinsecticides s'inscrit dans une stratégie de lutte contre les insectes nuisant tout en préservant la santé humaine et l'environnement. Les expérimentations conduites dans cette étude avec les bioinsecticides, suggèrent la possibilité de leur utilisation comme une alternative prometteuse dans la lutte contre les moustiques. Le travail réalisé, nous a permis d'évaluer chez le moustique *Ae. caspius*, l'effet de six bioinsecticides : *F. vulgare* ; *E. globulus* ; *P. halepensis* ; *O. vulgare* ; *R. officinalis* et *M. pulegium*, sur la mortalité; Les essais toxicologiques ont permis de déterminer les concentrations létales (CL₂₅, CL₅₀ et CL₉₀) de ces huiles à l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuviées d'*Ae. caspius*. Ils révèlent un effet insecticide avec une relation dose-réponse. Les HEs des espèces végétales étudiées *F. vulgare* ; *E. globulus* ; *P. halepensis* ; *O. vulgare* ; *R. officinalis* et *M. pulegium* présentent des rendements qui varient entre 0.58 et 1.40% de la matière sèche. L'analyse chimique par CG-SM/SM de l'HE extraite de *F. vulgare* a permis de recenser 14 composés, avec l'abondance des composés : Camphre (38.2%), Fenchone (28.24%) et l'O-cymène (11.44%). La détermination de l'HE d'*E. globulus* a révélé la présence de cis-Sabinene hydrate (36.02%), 2-Pinene (19.71%) et p-Cymene (17.16%) comme composés majoritaires. Par ailleurs, l'HE de *P. halepensis* est caractérisée par la présence de Melilotal (28.26%), α -Phellandrene (25.09%) et β -Phellandrene (10.64%). Le γ -Terpinene (38.08%), Thymol (37.1%) et Limonene (8.31%) étaient les constituants prédominants dans l'huile d'*O. vulgare*. Tandis que les trois composés les plus abondants obtenus dans l'HE de *R. officinalis* étaient : Limonene (47.28%), 2-Pinene (11.82%) et (+)-3-Carene (8.96%). Les principaux composants de l'huile essentielle de *M. pulegium* sont principalement : Pulegone, Pulespenone, l-Menthone, D-Limonene et P-Menthone avec les pourcentages de 60.8%, 14.58%, 8.39%, 5% et 2.71% respectivement.

Du point de vue toxicité, L'HE de *F. vulgare* présente un pouvoir larvicide très élevé à l'égard d'*Aedes*. L'évaluation de l'effet de ce bioinsecticide par les concentrations létales (CL₂₅ et CL₅₀) sur les paramètres biochimiques et l'aspect histologique au niveau de l'intestin moyen des larves de quatrième stade, indique que ce dernier induit une perturbation de la composition biochimique en réduisant le contenu en protéines, en glucides et en lipides dans le corps entier des larves L4. Enfin, les résultats de l'examen

histologique et la coupe longitudinale de l'intestin moyen des larves témoins L4 d'*Ae. caspius* a montré une déformation, une hypertrophie et un détachement des cellules épithéliales de la membrane basale après 12 heures d'exposition à l'HE de *F. vulgare*. Les 24 heures post traitement par le *F. vulgare* montre, une lyse de toutes les cellules épithéliales intestinales comparativement aux témoins. Cette étude offre une opportunité intéressante de développer des bio-insecticides pour une nouvelle stratégie dans le programme de lutte contre les moustiques. Elle ouvre de larges perspectives dans le domaine des connaissances fondamentales d'une part et dans le domaine appliqué d'autre part.

Les effets de l'huile essentielle de *F. vulgare* peuvent être dus à une action singulière d'un des composants majeurs, dominé par le camphre, ou à un effet synergique entre plusieurs composés vis-à-vis des larves de l'espèce de moustique *Aedes caspius*. De ce fait, l'évaluation de l'effet des principes actifs (composants majoritaires) de l'huile de différentes espèces végétales s'avère indispensable. A l'avenir, il serait intéressant de compléter le présent travail par l'évaluation de l'effet des HEs sur d'autres mécanismes de résistance essentiellement les enzymes de détoxification tels que les estérases en dosant le biomarqueur de neurotoxicité l'AChE et le GST. De plus, l'effet de ces biopesticides sur le potentiel reproducteur.

REFERENCES

- Abdelali, S.K., Souttou, K., Elhassani, M.K., Aissaoui, L., & Bendachou, H. (2023).** Chemical composition of *Artemisia herba alba* essential oil and its larvicidal and pupicidal effects against *Culex pipiens* (Diptera; Culicidae). *Actualidades Biologicas*, 45(118), 1-12
- Abdel-Massih, R.M., & El Beyrouthy, M. (2022).** Chapter 2 - Plants used in Lebanon and the Middle East as Antimicrobials Medicinal Plants as Anti-Infectives. *Current Knowledge and New Perspectives*, Academic press, 59-101.
- Abdel-Meguid, A.D. (2021).** Effect of physicochemical factors of breeding sites on larval density and detoxification enzymes activities of *Culex pipiens* (L.) (Diptera: Culicidae) in Qalyubia governorate, Egypt. *International Journal of Tropical Insect Science*, 42(1), 235-244.
- Abi-Ayad, M., Abi-Ayad, F.Z., Lazzouni, H.A., Rebiahi, S.A., Ziani, Ch, & Bessiere. (2011).** Chemical composition and antifungal activity of Aleppo pine essential oil, *Journal of Medicinal Plants Research* 5(22), 5433-5436.
- Abisha, V.J.V.S., & Raj, S.J. (2020).** Therapeutic properties and applications of *Tecoma stans* Linn. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 63(1), 111-115.
- Aboelhadid, S.M., Arafa, W.M., Abdel-Baki, A.A., Sokmen, A., Al-Quraishy, S., & Hassan, A.O. (2021).** Acaricidal activity of *Foeniculum vulgare* against *Rhipicephalus annulatus* is mainly dependent on its constituent from trans-anethone. *PLOS ONE*, 16(12), 1-15.
- Ahmed, A.F., Shi, M., Liub, C., & Kang, W. (2019).** Comparative analysis of antioxidant activities of essential oils and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Egypt and China. *Food Science and Human Wellness*, (8), 67-72.
- Aissaoui, L. (2014).** Etude écophysiologique et systématique des Culicidae dans la région de Tébessa et lutte biologique. Thèse de Doctorat en sciences, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie, 167p.

- Aissaoui, L., & Boudjelida, H. (2014).** Larvicidal activity and influence of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac G) on longevity and fecundity of mosquito species. *European journal of experimental biology*, 4(1), 104-109.
- Aissaoui, L., & Boudjelida, H. (2017).** Diversity and distribution of Culicinae fauna in Tebessa district (North-East of Algeria). *International Journal of Mosquito Research*, 4(1), 07-12.
- Aissaoui, L., Bouaziz, A., & Boudjelida, H. (2022)a.** Toxic effect of a certain medicinal plant extracts against larvae of mosquito species *Culiseta longiareolata* (Maquart, 1838). *Uttar Pradesh Journal of Zoology*, 43(6), 19-25.
- Aissaoui, L., Bouaziz, A., Boudjelida, H., & Nazli, A. (2022)b.** Phytochemical screening and biological effects of *Laurus nobilis* (Lauraceae) Essential oil against mosquito larvae *Culex pipiens* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Culicidae) species. *Applied ecology and environmental research*, 21(1), 287-300.
- Al-Mekhlafi, F.A., Abutahaa, N., Al-Doaiss, A.A., Al-Keridis, L.A., Alsayadi, A.I., El-Hadi Mohamed, R.A., Wadaana, M.A., Ibrahim, K.E., & Al-Khalifa, M.S. (2021).** Target and non-target effects of *Foeniculum vulgare* and *Matricaria chamomilla* combined extract on *Culex pipiens* mosquitoes. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(10), 573-578.
- Amizadeh, M., Hejazi, M.J., & Saryazdi, G.A. (2013).** Fumigant toxicity of some essential oils on *Tetranychusurticae* (Acari: Tetranychidae). *International Journal of Acarology*, (39), 285-289.
- Aroussi, D.E.R., Bouaziz, A., & Boudjelida, H. (2021).** Mosquito survey reveals the first record of *Aedes* (Diptera: Culicidae) species in urban area, Annaba district north eastern Algeria. *Polish journal of entomology*, 90(1), 14-26.
- Askar, S.I., Al-Assaal, M.S., & Nassar, A.M.K. (2016).** Efficiency of some essential oils and insecticides in the control of some Sitophilus insects (Coleoptera: Curculionidae). *Egyptian Journal of Plant Protection Research*, 4(2), 39-55.
- Aswin-Jeno, J.G., & Nakkeeran, E. (2022).** Histological changes in the Dengue vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae treated with neem oil loaded niosomes. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 25 (3), 101943.
- Ayhan, N., Hachid, A., Thirion, L., Benallal, K.D., Pezzi, L., Khardine, F.A., Benbetka, C., Benbetka, S., Harrat, Z., & Charrel, R. (2022).** Viruses Communication Detection and

Isolation of Sindbis Virus from Field Collected Mosquitoes in Timimoun. Algeria Viruses 14(5),894. doi: 10.3390/v14050894.

Bahmani, K., Darbandi, A.I., Ramshini, H.A., Moradi, N., & Akbari, A. (2015). Agromorphological and phytochemical diversity of various Iranian fennel landraces. Industrial Crops Products, (77), 282-294.

Bakr, R.O., Fayed, M.A.A., Salem, M.A., & Hussein, A.S. (2019). *Tecoma stans*: Alkaloid profile and antimicrobial activity. Journal of Pharmacy & Bio-allied Sciences 11(4), 341-347.

Bancroft, J.D., & Stevens, A. (1996). Theory and practice of histological techniques. Edinburgh, Churchill Livingstone.

Barrientos-Rolan, M.J., Abella-Medrano, C.A., Ibaez-Bernal, S., & Sandoval-Ruiz, C.A. (2021). Landscape Anthropization Affects Mosquito Diversity in a Deciduous Forest in Southeastern Mexico. Journal of Medical Entomology,59(1), 248–256.

Barros, L., Carvalho, A.M., & Ferreira, C.F.R. (2010). The nutritional composition of fennel (*Foeniculum vulgare*): shoots, leaves, stems and inflorescences. LWT-Food Science and Technology, 43, 814-818.

Baskar, K., Chinnasamy, R., Pandey, K., Venkatesan, M., Sebastian, P.J., Subban, M., Thomas, A., Kweka, E.J., & Devarajan, N. (2020). Larvicidal and histopathology effect of endophytic fungal extracts of *Aspergillus tamarii* against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. Heliyon, (6), 05331.

Bawin, T., Seye, F., Boukraa, S., Zimmer, J.Y., Delvigne, F., & Francis, F. (2014). La lutte contre les moustiques (Diptera: Culicidae): Diversité des approches et application du contrôle biologique. Entomological Society of Canada, 1-25.

Baz, M.M., Selim, A., Radwan, I.T., Alkhaibari, A.M., & Khater, H.F. (2022). Scientific reports. 12, 1-19.

Becker, N., Petric, D., Boase, C., Lane, J., Zgomba, M., Dahl, C., & Kaiser, A. (2003). Mosquitoes and their Control. Kluwer Academic/Plenum Publishers, London, 227-230.

Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Dahl, C., Boase, C., Lane, J., & Kaiser, A. (2010). Mosquitoes and their control. 2 e. Heidelberg: Springer, 577.

- Bekele, J., & Hassanali, A. (2001).** Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post-harvest insect pests. *Phytochemistry*, (57), 385-391.
- Belabdeli, F., Piras, A., Bekhti, N., Falconieri, D., Belmokhtar, Z., & Merad, Y. (2020).** Chemical Composition and Antifungal Activity of *Foeniculum vulgare* Mill. *Chemistry Africa*, (3), 323-328.
- Beloued, A. (2005).** Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires Alger. 284p.
- Beloued, A. (2009).** Plantes médicinales d'Algérie (5^{ème} édition). Alger.
- Ben-Chaaban, S., Haouel-Hamdi, S., Mahjoubi, K., & Ben-Jemâa, J.M. (2019).** Composition and insecticidal activity of essential oil from *Ruta graveolens*, *Mentha pulegium* and *Ocimum basilicum* against *Ectomyeloisceratoniae* Zeller and *Ephesiakuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, (126), 237-246.
- Benabdesslem, Y., Hachem, K., & Mebarki, M. (2020).** Chemical Composition of the Essential Oil from the Leaves of *Eucalyptus globulus* Labill. Growing in Southwest Algeria, *23(5)*, 1154 -1160.
- Benallal, K.E., Allal-Ikhlef, A., Benhamouda, K., Schaffner, F., & Harrat, Z. (2016).** First report of *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Diptera: Culicidae) in Oran, West of Algeria. *Acta tropica*, 164, 411- 413.
- Benbetka, S., Hachid, A., Benallal, K.E., Benbetka., C., Khaldi, A., Bitam, I & Harrat, Z. (2018).** First field evidence infection of *Culex perexiguus* by West Nile virus in Sahara Oasis of Algeria. *Journal of Vector Borne Diseases*, (55), 305–309.
- Bendali, F., Djebbar, F., & Soltani, N. (2001).** Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire. *Parasitica*, 57, 255-265.
- Bendali-Saoudi, F. (2006).** Etude bioécologique, Systématique et Biochimique des Culicidae (Diptera- Nematocera) de la région d'Annaba. Lutte biologique anticulicidienne. Thèse de Doctorat d'Etat en science Naturelle. Universiré Badji Mokhtar Annaba, Algérie. 255p.

- Benelli, G., & Pavela, R. (2018).** Beyond mosquitoes-essential oil toxicity and repellency against bloodsucking insects. *Industrial Crops and Products*, 117, 382-392.
- Benelli, G., Pavela, R., Iannarelli, R., Petrelli, R., Cappellacci, L., Cianfaglione, K., & Maggi, F. (2017).** Synergized mixtures of Apiaceae essential oils and related plant-borne compounds: larvicidal effectiveness on the filariasis vector *Culex quinquefasciatus* Say. *Industrial Crops and Products*, 96, 186-195.
- Benhissen, S., Hedjouli, Z., Habbachi, W., Asloum, A.Y., & Belkhiri, N. (2022).** Characterization of the sites and population dynamics of aedes group (Diptera: Culicidae) in the oases of Biskra, Algeria. *Journal of Biodiversity Conservation and Bioresource Management*, 8(1), 23-32.
- Benmalek, L., Bendali-Saoudi, F., & Soltani, N. (2018).** Inventory and distribution of mosquitoes (Diptera; Culicidae) of the Burgas lakes (Northeast Algeria). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(1), 838-843.
- Benserradj, O. (2014).** Evaluation de *Metarhizium anisopliae* a titre d'agent de lutte biologique contre les larves de moustiques. 208p.
- Berchi, S. (2000).** Bioécologie de *Culex pipiens* L. (Diptera : Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de lutte. Thèse Doctorat en sciences. Faculté Des sciences. Université Mentouri, Constantine. 133p.
- Berramdane, T., & Chelgoum, Ch. (2005).** Chemical composition of essential oil of *Pinus halepensis* Miller growing in Algeria Tahar Dob. *Comptes Rendus Chimie*, (8), 1939-1945.
- Boubidi, S.C., Gassen, I., Khechache, Y., Lamali, K., Tchicha, B., Brengues, C., Menegon, M., Severini, C., Fontenille, D., & Harrat, Z. (2010).** Plasmodium falciparum malaria, southern Algeria, 2007. *Emerging Infectious Diseases*, 16(2), 301-303.
- Boudjelida, H., Bouaziz, A., Soin, T., Smaghe, G., Soltani, N. (2005).** Effects of ecdysone agonist halofenozide against *Culex pipiens*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 83(23), 115-123.
- Bouguerra, A. (2012).** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum valugare* Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire de Majister, Université Mentouri Constantine, 120 p.

- Bouguerra, N., & Boukoucha, M. (2021).** GC–MS and GC-FID analyses, antimicrobial and insecticidal activities of *Origanum glandulosum* essential oil and their effect on biochemical content of *Cx pipiens* larvae. *International Journal of Tropical Insect Science*, 41(4), 3173-3186.
- 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*, 1(4), 1082 -1095.
- Bouguerra, N., Tine-Djebbar, F., & Soltani, N. (2019).** Oregano Essential Oil as Potential Mosquito Larvicides. *Transylvanian Review*, 27(39), 9612-9619.
- Bouhaddouda, N., Aouadi, S., & Labiod, R. (2016).** Evaluation of Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil and Methanolic Extract of *Origanum vulgare* L. ssp. *glandulosum* (Desf.) swart from Algeria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(1),104-112.
- 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 Skikdas, 190p.
- Boutabia, L., Telailia, S., Guenadil, F., & Chefrou, A. (2020).** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Mentha pulegium* L and *Mentha suaveolens* ehrh. growing in north-east of Algeria. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*, (2),143-148.
- Bouzidi, O., Tine, S., Hamaidia, K., Tine-djebbar, F., & Soltani, N. (2020).** Chemical Composition and Bioefficacy of Essential Oil from *Bay Laurel Shrub* (Laurales: Lauraceae) against *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera: Culicidae) Larvae. *Journal of Entomological Science*, 55(2), 262-272.
- Bradford, M.M., (1976).** A rapid and sensitive method of the quantitation microgram quantities of protein utilising the principale dye binding. *analytic. The Biochemist*, (72), 248-254.

- Brunhes, J., Rhaim, A., Geoffroy, & Hervy, J.P. (2000).** Les moustiques de l'Afrique méditerranéenne. Logiciel d'identification et d'enseignement Montpellier, France, IRD & IPT, CD-Rom collection didactique Éditions IRD.
- Brunhes, J., Rhaim A., Geoffroy, B., Angel, G., & Hervy, J.P. (1999).** Les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne, logiciel d'identification et d'enseignement, IRD (France).
- Brunhes, J., Schaffner, F., Angel, G., Geoffroy, B., Hervy, J.P & Rhaim, A. (2001).** Moustiques d'Europe, logiciel d'identification. Institut de recherche pour le développement. IRD France.
- Burkett-Cadena, N.D. (2013).** Mosquitoes of the Southeastern United States. Tuscaloosa: The University of Alabama Press, 202 p.
- Caillaud, M. (2013).** Etude de l'espèce *Origanum vulgare* L. Thèse de doctorat. Spécialité Pharmacie. UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Université de Nantes.
- Calo, J.R., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., & Ricke, S.C. (2015).** Essential oils as antimicrobials in food systems-A review. *Food Control*, (54), 111-119.
- Chahed, S., Brahmi, K., & Djouaher, T. (2021).** Étude sur la faune Culicidienne (Diptera:Culicidae) de la région de Tizi-Ouzou (Nord d'Algérie) : Biodiversité, abondance et répartition. *Faunistic Entomology*, (74), 66-72.
- Chandrasegaran, K., Lahondere, C., Escobar, L.E & Vinauger, C. (2020).** Linking mosquito ecology, traits, behavior, and disease transmission. *Trends in Parasitology*. 36(4), 393-403.
- Chansang, A., Champakaew, D., Junkum, A., Jitpakdi, A., Amornlerdpison, D., Kongdee, A.A., Riyong, D., Wannasan, A., Intirach, J., Muangmoon, R., & Pitasawat, B. (2018).** Synergy in the adulticidal efficacy of essential oils for the improvement of permethrin toxicity against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Parasites Vectors*, 11(417), 1-16.
- Chantawee, A., & Soonwera, M. (2018).** Efficacies of four plant essential oils as larvicide, pupicide and oviposition deterrent agents against dengue fever mosquito, *Aedes aegypti* Linn. (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, (8), 217-225.
- Chellappandian, M., Thanigaivel, A., Vasantha-Srinivasan, P., Edwin, E.S., Ponsankar, A., Selin-Rani, S., Kalaivani, K., Senthil-Nathan, S., & Benelli, G. (2018).**

Toxicological effects of *Sphaeranthus indicus* L. (Asteraceae) leaf essential oil against human disease vectors, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* L., and impacts on a beneficial mosquito predator. *Environmental Science and Pollution Research International*, 25(11), 10294-10306.

Cleff, M.B., Meinerz, A.R., Xavier, M., Schuch, L.F., Meireles, M.C.A., Rodrigues, M.R.A., & Braga, J.R. (2010). In vitro activity of *Origanum vulgare* essential oil against candida species. *Brazilian journal of microbiology*, (41), 116-123.

Clements, A.N. (1999). *The Biology of Mosquitoes: Sensory Reception and Behavior*. CAB International Publishing, 576 p.

Conti, B., Canale, A., Bertoli, A., & Pistelli, F.G.L. (2010). Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, (107), 1455-1461.

Damtie, D., & Mekonnen, Y. (2021). Toxicity and oviposition deterrent activities of thyme essential oils against *Anopheles arabiensis*. *Journal of Entomology*, (2021), 7p.

Darriet, F. (2014). *Des moustiques et des hommes. Chronique d'une pullulation annoncée*. IRD Éditions. Collection Didactiques, Marseille, France.

Delille, L. 2007. *Les plantes médicinales d'Algérie*. Berti éditions Alger, 240p.

Demir, E., Kaya, B., Marco, R., Cenkci, S.K., & Çetin, H. (2013). Investigation of the genotoxic and antigenotoxic properties of essential oils obtained from two *Origanum* species by *Drosophila* wing SMART assay. *Turkish Journal of Biology*, (37), 129-138.

Derwich, E., Benzyane, Z., Mnar, A., Boukir, A., & Taouil, R. (2010). Phytochemical analysis and in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* from Morocco. *American Eurasian Journal of Scientific Research*, 5(2), 120-129.

Djeddar, H., Boudjelida, H., & Arroussi, D.E.R. (2021). New alternative for culicid fauna control using *Borago officinalis* and *Drimia maritima* plant extracts. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, (22), 5688-5694.

Djeddi, S., Bouchenah, N., Settar, I., & Skaltsa, H.D. (2007). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* from Algeria chemistry of natural compounds, 43(4), 487-490.

- Djeghader, N., Aïssaoui, L., Amira, K., & Boudjelida, H. (2018).** Toxicity evaluation and effects on the development of a plant extract, the Saponin, on the domestic mosquito, *Culex pipiens*. *International Journal of Mosquito Research*, 5(1), 01-05.
- Djeghader, N. (2013).** Impact d'un régulateur de croissance des insectes, novaluron sur *Culex pipiens*, aspects : développemental, structural et hormonal, 100p.
- Draouet, C., Hamaidia, K., Brakni, A., Boutmedjet, S., & Soltani, N. (2020).** Ethanolic extracts of *Borago officinalis* L. affect growth, development and energy reserve profile in the mosquito *Culex pipiens*. *Journal of Entomological Research*, 44(2), 203-210.
- Dris, D., & Bouabida, H. (2020).** Larvicidal Activity of an Algerian *Ruta Graveolens* Essential Oil on Mosquito Species *Culex pipiens*. *Transylvanian Review*, 27(47),14717-14723.
- Dubois, J., Mitterand, H., & Dauzat, A. (2006).** Dictionnaire étymologique et historique du français, Éditions Larousse.
- Duchateau, G., & Florkin, M. (1959).** Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, (67), 306-314.
- Duvallet, G., Fontenille, D., & Robert, V. (2017).** Entomologie médicale et vétérinaire. New Edition. Marseille : IRD éditions.
- Ejjabraoui, M., Mohamed, A.L., Eddabbeh, F.E.F., Ainane, A., Shybat, Z.L., & Ainane, T. (2021).** Chemical study and insecticidal activity of two species of moroccan pinus: *Pinus halepensis* mill and *Pinus pinaster* sol. *pharmacology on line*, (2), 508-517.
- Emam, M., Abdel-Haleem, D.R., Farag, S.M., El-Ansari, M.A., & Sobeh, M. (2021).** Larvicidal Activity of Pentagalloyl Glucose and Mangiferin Isolated from the Waste of Mango Kernel Against *Culex pipiens* L. *Waste and Biomass Valorization*, 13(1), 83-93.
- EPA. (2016).** Success in mosquito control: an integrated approach. United States Environmental Agency.
- Farag, S.M., Hussein, M.A., Hafez, S.E., Khaled, A.S., Kamel, O.M., & Zyaan, O.H. (2021).** Larvicidal, biological, and histopathological alterations induced by pomegranate peel extract, *Punica granatum* against *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*, 25(2),139-161.

- Ferraguti, M., Magallanes, S., & Ibanez-justicia, A. (2022).** Implication of human landscape transformation on mosquito populations. Ecology of diseases transmitted by mosquitoes to wildlife. Ecology and control of vector borne diseases, 7, 143-160.
- Ferhat, Z., Houacine, S., Yessad, M. (2018).** Huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill : Composition chimique et activités antimicrobienne et antioxydante. Algerian Annals of Agronomy. ex. Annales de l'Institut National Agronomique El-Harrach, 30(1-2),19-30.
- Ferraguti, M., Heesterbeek, H., Martínez-de la Puente, J., Jiménez-Clavero, M.A., Vázquez, A., & Ruiz, S. (2021).** The role of different Culex mosquito species in the transmission of West Nile virus and avian malaria parasites in Mediterranean areas. Transboundary and Emerging Diseases, 68(2), 920–930.
- Ferraguti, M., Martinez-de la Puente, J., Muñoz, J. (2013).** Avian Plasmodium in *Culex* and *Ochlerotatus* Mosquitoes from Southern Spain: Effects of season and host-feeding source on parasite dynamics. PLOS ONE, 8 (6), e66237.
- George, A.M., & Bockarie, M.J. (2022).** Local scientists should lead the research to fight vector-borne diseases in Africa. Medical and Veterinary Entomology, 36, 233-234.
- Ghoneim, K., Tanani, M., Hassan, H.A., & Bakr, N.A. (2022).** Comparative Efficiency of The Entomopathogenic Nematodes, *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis bacteriophora*, against the Main Body Metabolites of *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae). Egyptian Academic Journal of Biology Sciences, 14(2), 57-72.
- Goldsworthy, A.C., Mordue, W., & Guthkelch, J. (1972).** Studies on insect adipokinetic hormone. General and Comparative Endocrinology, 18, 306-314.
- Gong, X., & Ren, Y. (2020).** Larvicidal and ovicidal activity of carvacrol, p-cymene, and γ -terpinene from *Origanum vulgare* essential oil against the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). Environmental Science and Pollution Research.
<https://doi.org/10.1007/s11356-020-08391-2>
- Govindarajan, M., Rajeswary, M., Hoti, S., Bhattacharyya, A., & Benelli, G. (2016).** Eugenol, α -pinene and β -caryophyllene from *Plectranthus barbatus* essential oil as eco-friendly larvicides against malaria, dengue and Japanese encephalitis mosquito vectors. Parasitology Research, 115, 807-815.

- 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.
- Guenno, B., Bougesmouh, A., Azzam, T., & Bouakaz, R. (1996).** West Nile: A deadly virus. The lancet, 348-1315.
- Guettal, S., Tine, S., Hamaidia, K., Tine-Djebbar, F., & Soltani, N. (2021).** Effect of *Citrus limonum* essential oil against granary weevil, *Sitophilus granarius* and its chemical composition, biological activities and energy reserves. International Journal of Tropical Insect Science, 41(2), 1531-1541.
- Guillaume, A. (2018).** Sortie du rapport du GIEC sur le réchauffement planétaire de 1,5 °C. La Météorologie, 103,6-8.
- Gupta, D.K., & Gupta, R.A. (2020).** Development of poly herbal mosquito repellent. Research Journal of Pharmacy and Technology, 13(10), 4871-4874.
- Hachid, A., Beloufa, M.A., Seghier, M., Bahoura, N., Dia, M., & Fall, G. (2019).** Evidence of West Nile virus circulation among humans in central northern Algeria. New Microbes New Infect, (29), 100-512.
- Hafsi, N.E.H., Hamaidia, K., Barour, C., & Soltani, N. (2021).** A survey of Culicidae (Insecta Diptera) in some habitats in Souk-Ahras province (Northeast Algeria). Biodiversity Journal, 12(1), 3-16.
- Hamaidia, K., & Soltani, N. (2021).** New report of *Aedes albopictus* in Souk Ahras, Northeast Algeria. Biodiversitas Journal of Biological Diversity, 22(7), 2901-2906.
- Hassain, K. (2002).** Biogéographie et biotypologie des Culicides (Diptera -Nematocera), de l'Afrique méditerranéenne. Bioécologie des espèces les plus vulnérantes (*Aedes Caspius*, *Aedes détritius*, *Aedes mariae* et *Culex pipiens*) de la région occidentale d'Algérie. Thèse de Doctorat en sciences. Université Tlemcen, 191p.
- Heath, K. (2020).** Mathematical and behavioural ecology of mosquitoes in response to environmental change (Doctoral dissertation, University of Oxford).
- Hendawy, S.F., Ezz El-Din, & Azza, A. (2010).** Growth and yield of *Foeniculum vulgare* var. *azoricum* as influenced by some vitamins and amino acids. Ozean Journal of Applied Sciences, 3(1), 113-122.

- Himmi, O. (2007).** Les culicides (Insectes, Diptères) au Maroc : Systématique. Ecologique et études épidémiologiques. These doctorat. Université Mohammed V- Agdal : Faculté des Sciences de Rabat.
- Hoi, T.M., Huong, L.T., Tai, T.A., Dai, D.N., Setzer, W.N., Chinh, H.V., Hau, D.V., Satyal, P., Hung, N.H., & Hien, V.T. (2020).** Essential Oil Compositions of Three Invasive *Conyza* Species Collected in Vietnam and Their Larvicidal Activities against *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Culex quinquefasciatus*. *Molecules*, 25(19), 4576.
- Hossam El-Din, Z., Hamdy, K.A., & Samir, A.M. (2017).** Adulticidal, larvicidal and biochemical properties of essential oils against *Culex pipiens* L. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, (20),133–139.
- Ilardi, V., Badalamenti, N., & Bruno, M. (2021).** Chemical composition of the essential oil from different vegetative parts of *Foeniculum vulgare* subsp. *piperitum* (Ucria) Coutinho (Umbelliferae) growing wild in Sicily, *Natural Product Research*, 36(1), 1-11.
- Isman, M.B. (2006).** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51, 45–66.
- Isoe, J., Koch, L.E., Isoe, Y.E., Rascón, A.A., Brown, H.E., & Massani, B.B. (2019).** Identification and characterization of a mosquito-specific eggshell organizing factor in *Aedes aegypti* mosquitoes. *PLOS Biology*, 17(1), e3000068.
- Izri, A., Bitam, I., & Charrel, R.N. (2011).** First entomological documentation of *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) in Algeria. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(7), 1116-1118.
- Jian, R., Lin, Y., Li, Y., Wu, W., Ren, X., Liang, Z., Kong, L., Cai, J., Lao, C., Wu, M., Chen, W., Chen, J., Hong, W.D., & Sheng, Z. (2022).** Larvicidal Activity of Two Rutaceae Plant Essential Oils and Their Constituents Against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Multiple Formulations. *Journal of Medical Entomology*, 59 (5), 1669 -1677.
- Jonatas, L.D., Jesús, R.R.A., Anna, E.M.F.M.O., Rodrigo, A.S.C., Adriana, M.F., Raimundo, N.P.S., Deborah, Q.F., José, C.T.C., & Caio, P.F. (2015).** Evaluation of larvicidal activity of a nanoemulsion of *Rosmarinus officinalis* essential oil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25,189–192.

- Joubert, L., Üudar, J., Mouchet, J., & Hannoun, C.I. (1967).** Transmission de l'omyxomatose par les moustiques en Camargue Rôle prééminent de *Aedes caspius* et des Anopheles du groupe *maculipennis*. Bulletin de l'Académie vétérinaire de France, 40(7), 315-322.
- Kalleli, F., Rabey, I.B., Wannas, W.A., Boughalleb, F., Hammami, M., Tounsi, M.S., & M'hamdi, M. (2019).** Chemical composition and antioxidant potential of essential oil and methanol extract from Tunisian and French fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds. Journal of Food Biochemistry, 2019, e12935. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12935>
- Kamkara, A., Javana, A.J., Asadib, F., & Kamalinejad, M. (2010).** The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. Food and Chemical Toxicology, 48(7), 1796-1800.
- Keffous, B.S & Aissaoui, L. (2022).** Chemical characterization of *Foeniculum vulgare* Mill essential oil composition and its toxicological effects against mosquito: *Aedes caspius* (PALLAS, 1771) species. Uttar pradesh journal of zoology, 43(21), 66-73. DOI: 10.56557/UPJOZ/2022/v43i213214
- Kesatebrhan, H.A., & Tesfahun, K.T. (2014).** Chemical and antimicrobial investigations on essential oil of *Rosmarinus officinalis* leaves grown in Ethiopia and comparison with other countries. Journal of Applied Pharmacy, 6 (2), 132-142.
- Kettle, D.S. (1995).** Medical and veterinary entomology. 2ème édition. Wallingford : CAB international. 725p.
- Khan, N., & Mukhtar, H., (2013).** Tea and health: Studies in humans. Current Pharmaceutical, 19, 6141–6147.
- Kharoubi, R., Rehim, N., & Soltani, N. (2020).** Essential oil from *Mentha rotundifolia* harvested in Northeast Algeria: Chemical composition, larvicidal and enzymatic activities on *Culex pipiens* larvae. Transylvanian review, 27(47), 14724-14732.
- Khater, H., & Geden, C. (2018).** Potential of essential oils to prevent fly strike by *Lucilia sericata*, and effects of oils on longevity of adult flies. Journal of Vector Ecology, 43, 261-270.
- Khater, H.F. (2013).** Bioactivity of essential oils as green biopesticides: Recent global scenario. Recent Progress in Medicinal Plants, 37, 151-218.

- Kim, B.J., Choi, C.H., Lee, C.H., Jeong, S.Y., Kim, S., Kim, B.Y., Yim, H.S., & Kang, S.O. (2005).** Glutathione is required for growth and perspire cell differentiation in *Dictyostelium*. *Developmental biology*, (284), 387-398.
- Kraemer, M.U., Reiner, R.C., Brady, O.J., Messina, J.P., Gilbert, M., Pigott, D.M, ... & Shirude, S. (2019).** Past and future spread of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Nature Microbiology*, 4(5), 854-863.
- Kramer, L.D., Styer, L.M., & Ebel, G.D. (2008).** A global perspective on the epidemiology of West Nile Virus. *Annual Review of Entomology*, 153, 61-81.
- Kumar, P., Mishra, S., Malik, A., & Satya, S. (2012).** Compositional analysis and insecticidal activity of *Eucalyptus globulus* (Family: Myrtaceae) essential oil against housefly (*Musca domestica*). *Acta Tropica*, 122(2), 212– 218.
- Lafri, I., Bita, I., Beneldjouzi, A., & Ben Mahdi, M.H. (2014).** An inventory of mosquitoes (Diptera:Culicidae) in Algeria. *Bulletin de la Société zoologique de France*, 139 (4), 255-261.
- Lafri, I., Hachid, A., & Bitam, I. (2019).** West Nile virus in Algeria: A comprehensive overview. *New Microbes New Infect*, (27), 9-13.
- Lafri, I., Prat, C.M., Bitam, I., Gravier, P., Besbaci, M., Zeroual, F., & Leparç-Goffart, I. (2017).** Seroprevalence of West Nile virus antibodies in equids in the North-East of Algeria and detection of virus circulation in 2014. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, (50), 8-12.
- Lahrech, K. (2010).** “Extraction et analyses des huiles essentielles de *Mentha pulegium* L. et de *Saccocalyx satureioides*. Tests d’activités antibacteriennes et antifongiques,” Thèse, Université d'Oran Es-Senia, Oran, 121p.
- Larbie, C., Owusu Nyarkoh, C., & Owusu-Adjei, C. (2019).** Phytochemical and safety evaluation of hydroethanolic leaf extract of *Tecoma stans* (L.) jus. ex kunth. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 1-12.
- Lucia, A., Audino, P.G., Seccacini, E., Licastro, S., Zerba, E., & Masuh, H. (2007).** Larvicidal effect of *Eucalyptus grandis* essential oil and turpentine and their major components on *Aedes aegypti* larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(3), 299-303.

- Lukas, B., Schmiderer, C., & Novak, J. (2015).** Essential oil diversity of European *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae). *Phytochemistry*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.09.008>
- Ma, X.X., Wang, F.F., Wub, T.T., Li, Y., Sun, D.X.J., Wang, R., & Chang, Q. (2022).** First description of the mitogenome and phylogeny: *Aedes vexans* and *Ochlerotatus caspius* of the Tribe Aedini (Diptera: Culicidae). *Infection, Genetics and Evolution*, 102(2022), 105311.
- Martínez-de la Puente, J., Dunn, J.C., & Gangoso, L. (2021).** Factors Affecting Host Selection by Mosquitoes: Implications for the Transmission of Vector-Borne Pathogens, (9), 739258.
- Martoja, M., & Matoja-Pierson, M. (1970).** Técnicas de Histología animal. Toray-Masson, Barcelona, 345p.
- Masso, A. (2007).** L'aromathérapie et les huiles essentielles précaution d'emploi, 33p.
- Mechergui, K., Coelho, J.A., Serra, M.C., Lamine, S.B., 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.
- Merabet, G.A., Belkhiri, A., Abdeslam, M., Lalaouna, A., Khalfaoui, Z., Mosbah, B. (2018).** Chemical composition, toxicity, and acaricidal activity of *Eucalyptus globulus* essential oil from Algeria. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 31(2), 89-93.
- Mitića, Z.S., Jovanović, B., Jovanović, S.Č., Stojanović-Radić, Z.Z., Mihajilov-Krsteva, T., Jovanovića, N.M., Nikolića, B.M., Marine, P.D., Zlatkovića, B.K., & Stojanović, G.S. (2019).** Essential oils of *Pinus halepensis* and *P. heldreichii*: Chemical composition, antimicrobial and insect larvicidal activity. *Industrial Crops & Products*, (140), 111702.
- Mohamed, M.B., Abdelfattah, S., Ibrahim, T.R., Abeer, M.A., Hanem, F.K. (2022).** Larvicidal and adulticidal effects of some Egyptian oils against *Culex pipiens*. *Scientific Reports*, 2022(12), 4406.
- Mohammedi, H., Mecherara-Idjeri, S., & Hassani, A. (2020).** Variability in essential oil composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Rutamontana* L.collected from different geographical regions in Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, (32), 88-101.

- Murugan, R., Buchauer, L., Triller, G., Kreschel, C., Costa, G., Martí, G.P., & Hoffman, S.L. (2018).** Clonal selection drives protective memory B cell responses in controlled human malaria infection. *Science immunology*, 3(20), 8029.
- NamavarJahromi, B., Tartifizadeh, A., & Khabnadideh, S. (2002).** « Comparison of fennel and mefenamic acid for treatment of primary dysmenorea». *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 80(2),153-157.
- Naqqash, M.N., Gökc, A., Bakhsh, A., & Salim, M. (2016).** Insecticide resistance and its molecular basis in urban insect pests. *Parasitology Research*, 115 (4), 1363-1373.
- Ncibi, S., Ben-Amor, A., & Ben-abdelkader, F. (2021).** Efficacy of essential oils of *Thymbra capitata* L. and *Mentha pulegium* L. collected in Tunisia on larvae of *Galleria mellonella* L. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 21(1), 31-38.
- Ojianwuna, C.C., Omotayo, A.I., Enwemiwe, V.N., Adetoro, F.A., Eyeboka, D.N., Adesalu, K., Egedegbe, A., Esiwo, E., & Oyeniya, T.A. (2022).** Pyrethroid Susceptibility in *Culex quinquefasciatus* Say. (Diptera: Culicidae) Populations from Delta State, Niger-Delta Region, Nigeria. *Journal of Medical Entomology* , 59(2),758-763.
- Olivar, J., Rais, A., Pretzsch, H., Bravo, F. (2022).** The Impact of Climate and Adaptive Forest Management on the Intra-Annual Growth of *Pinus halepensis* Based on Long-Term Dendrometer Recordings. *Forests* ,13(6), 935.
- OMS. (2003).** Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs : Guide du stagiaire. Provisoire, Genève, 102p.
- Outammassine, A., Zouhair, S., & Loqman, S. (2021).** Global potential distribution of three underappreciated arboviruses vectors (*Aedes japonicus*, *Ae. vexans*, and *Ae. vittatus*) under current and future climate conditions. *Transboundary and Emerging Diseases* ,69(4), 1160-1171.
- Ozdemir, N., Ozgen, Y., Kiralan, M., Bayrak, A., Arslan, N., & Ramadan, M.F. (2017).** Effect of different drying methods on the essential oil yield, composition and antioxidant activity of *Origanum vulgare* L. and *Origanum onites* L. *Journal of Food Measurement and Characterization*, (12), 820-825.

- Pavela, R., Zabka, M., Bednar, J., Triska, J., & Vrchotova, N. (2016).** New knowledge for yield, composition and insecticidal activity of essential oils obtained from the aerial parts or seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill), *Industrial Crops and Products*, (83), 275-282.
- Perrier, A., & Perrier, J. (2014).** Guide des arbres et arbustes de France. Edition sud-ouest.169p.
- Perumalsamy, H., Kim, N.J., & Ahn, Y.J. (2009).** Larvicidal activity of compounds isolated from *Asarum heterotropoides* against *Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti*, and *Ochlerotatus togoi* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 46, 1420-1423.
- Porreta, D., Canestrelli, D., Bellini, R., Celli, G., & Urbanelli, S. (2007).** Improving insect pest management through population genetic data: a case study of the mosquito *Ochlerotatus caspius* (Pallas). *Journal of Applied Ecology*, (44), 682-691.
- Punetha, D., Tewari, G., Pande, C., & Bhatt, S. (2019).** Effect of Climatic Conditions on the Volatile Compounds of the Aerial Parts of *Foeniculum vulgare* Mill. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 22(4).
- Raji, J.I., & Potter, C.J. (2022).** Chemosensory Ionotropic Receptors in Human Host-Seeking Mosquitoes. *Current Opinion in Insect Science*, 54,100967
- Ramkumar, G., & Shivakumar, M.S. (2015).** Laboratory development of permethrin resistance and cross-resistance pattern of *Culex quinquefasciatus* to other insecticides. *Parasitology research*. 114(7), 2553-2560.
- Ramzi, A., El OualiLalami, A., Ezzoubi, Y., Assouguem, A., Almeer ,R., Najda, A., Ullah ,R., Ercisli ,S., & Farah, A. (2022).** Insecticidal Effect of Wild-Grown *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oils and Their Main Monoterpenes against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Plants*, (11),11-93.
- Rao, P., Goswami, D., & Rawal, R.M. (2021).** Revealing the molecular interplay of curcumin as *Culex pipiens* Acetylcholine esterase 1 (AChE1) inhibitor. *Scientific Reports*, 11(1),1-18.
- Rasmussen, C., Alonso, P., & Ringwald, P. (2022).** Current and emerging strategies to combat antimalarial resistance. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 20(3), 353-372,

- Rathy, M.C., Sajith, U., & Harilal, C.C. (2015).** Larvicidal efficacy of medicinal plant extracts against the vector mosquito *Aedes albopictus*. *International Journal of Mosquito Research*, 2(2),80-82.
- Reis, A.C., Silva, B.M., de Moura, H.M.M., Pereira, G.R., & Brandão, G.C. (2020).** Anti-Zika virus activity and chemical characterization by ultra-high performance liquid chromatography (UPLC-DAD-UV-MS) of ethanol extracts in *Tecoma* species. *BMC complementary medicine and therapies*, 20(1), 1-15.
- Ripert, C. (2007).** *Epidémiologie des maladies parasitaires, tome 4, affections provoquées ou transmises par les arthropodes*. Cachan: EM inter. 581 p.
- Robert, V. (1998).** *Biologie des Anophèles vecteurs du paludisme en Afrique centrale*. Bulletin Liaison Doc OCEAC, 89-90, 71-75.
- Rodhain, F. (1996).** Les insectes ne connaissant pas nos frontières. *Medecine et Maladies Infectieuses*, (26), 804- 814.
- Rohmah, E.A., Subekti, S., & Rudyanto, M. (2020).** Larvicidal Activity and Histopathological Effect of *Averrhoa bilimbi* Fruit Extract on *Aedes aegypti* from Surabaya, Indonesia. *Journal of Parasitology Research*, 8866373, 5.
- Sabzi-Nojadeh, M., Pouresmaeil, M., Younessi- Hamzekhanlu, M., Venditti, A. (2020).** Phytochemical profile of fennel essential oils and possible applications for natural antioxidant and controlling *Convolvulus arvensis* L, *Natural Product Research*, (35) ,4164-4168.
- Sadou, N., Seridi, R., Djahoudi, A., & Hadeif, Y. (2015).** Chemical composition and antibacterial activity of the needles essential oil of *Pinus halepensis* Mill. from north east of Algeria. *Syntheses: Review of Sciences and Technology*, (30), 33-39.
- Saika, T., Saira, W., Waseem, R., Khushbo, S., Muzzaffar, A.B., Anil, P., Aabid, H.S., & Manzoor, A.R. (2019).** A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial pathogenesis*, 134, 103-580.
- Sak, O., Uçkan, 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(1), 53-58.

- Saleh, N.A., Ezzat, S.M., El-Kashoury, E.S., & Taha, K.F. (2019).** Chemical and biological assessment of *Tecoma x Smithii* Hort. *FABAD Journal of Pharmacologic Science*, 44(2),107-118.
- Saviuc, C.M., Drumea, V., Olariu, L., Chifiriuc, M.C., Bezirtzoglou, E., & Lazar, V. (2015).** Essential Oils with Microbicidal and Antibiofilm Activity. Bentham Science Publishers: *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 16,137-151.
- Saxena, S.N., Agarwal, D., John, S., Dubey, P.N., & Lal, G. (2018).** Analysis of fennel (*Foeniculum vulgare*) essential oil extracted from green leaves, seeds and dry straw. *International Journal of Seed Spices* 8(1),60-64.
- Sayada, N., Tine, S., & Soltani, N. (2021).** Toxicity and physiological effects of essential oil from *Lavandula angustifolia* (M.) against *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) adults. *Journal of Entomological Research*, (45), 929-936.
- Schmidt, M., Hrabcova, V., Jun, D., Kuca, K., & Musilek, K. (2018).** Vector control and insecticidal resistance in the African malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Chemical Research in Toxicology*, 31, 534-547.
- Scholte, E.J. (2005).** An Entomopathogenic Fungus for Control of Adult African Malaria Mosquitoes. *Science*, 308(5728), 1641–1642.
- Sedaghat, M.M., Sanei Dehkordi, A., Abai, M.R., Khanavi, M., Mohtarami, F., Salim Abadi, Y., Rafi, F., & Vatandoost, H. (2011).** Larvicidal Activity of Essential Oils of Apiaceae Plants against Malaria Vector, *Anopheles stephensi*. *Iranian Journal of Arthropod Borne Diseases*, 5(2),51-59.
- Seghier, H., Tine-Djebbar, F., Loucif-Ayad, W., & Soltani, N. (2020).** Larvicidal and pupicidal activities of *Petroselinum crispum* seed essential oil on *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata* mosquitoes. *Transylvanian Review*, 27(47),14696-14677.
- Senevet, G., & Andarelli, L. (1960).** Contributions à l'étude de la biologie des moustiques en Algérie et dans le Sahara Algérien. *Archive de l'Institut Pasteur, Algérie*, (2),305 - 326.
- Shalan, E.A.S., & Canyon, D.V. (2009).** Aquatic insect predators and mosquito control. *Tropical Biomedicine*, 26, 223-261.

- Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J., & Sukprakarn, C. (1997).** Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, (33), 7-15.
- Shaffner. (2001).** Moustique d'Europe. Institut de recherche pour le développement. IRD. Logiciel d'identification.169p.
- Sheikh, Z., Amani, A., Basseri, H.R., Kazemi, S.H.M., Sedaghat, M.M., Azam, K., Azizi, M., & Mohammadi, F.A. (2021).** Repellent Efficacy of *Eucalyptus globulus* and *Syzygium aromaticum* Essential Oils against Malaria Vector, *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Iran J Public Health*, 8 (50),1668-1677.
- 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.
- Shoba, V. (2018).** Biochemical status and histological changes of *Catharanthus roseus* ethanolic leaves extract against mosquito larvae *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *International Journal of Zoology and Applied Biosciences*, 3 (2), 352-358.
- Siengre, G. (1974).** Contribution à l'étude physiologique d'*Aedes (Ochlerotatus) caspius* (pallas, 1771) (Nematocera, Culicidae). Eclosion, dormance, développement, fertilité, thèse d'état en sciences. Université du Languedoc, 285p.
- Sinka, M.E., Bangs, M.J., Manguin, S., Coetzee, M., Mbogo, C.M., Hemingway, J., & Hay, S.I. (2010).** The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in Africa, Europe and the Middle East: occurrence data, distribution maps and bionomic précis. *Parasites and Vectors*, 3(1) ,1-34.
- Smith, C.J., & Perfetti, T.A. (2020).** A comparison of the persistence, toxicity, and exposure to high-volume natural plant-derived and synthetic pesticides. *Toxicology Research and Application*, 4, 1-15.

- Snow, R.W., Amratia, P., Kabaria, C.W., Noor, A.M., & Marsh, K. (2012).** The changing limits and incidence of malaria in Africa: 1939–2009. *Advances in parasitology*, 78, 169-262.
- Sotomayor, J.A., Jordan, M.J., & Bouzid, S. (2013).** Chemical Composition of the Essential Oil of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) of Tunisian Origin K. HCINI. *Asian Journal of Chemistry*, (25)5, 2601-2603.
- Subramaniam, J., Kovendan, K., Kumar, P.M., Murugan, K., & Walton, W. (2012).** Mosquito larvicidal activity of Aloe vera (Family: Liliaceae) leaf extract and *Bacillus sphaericus*, against Chikungunya vector, *Aedes aegypti*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19(4) ,503-509.
- Sutour, S. (2011).** “Etude de la composition chimique des huiles essentielles et des extraits de menthe de Corse et de Kumquats,” Université de Corse, 213p.
- Tanani, M., Ghoneim, K., Hamadah, K., & Emam, D. (2021).** Comparative impairing effects of selected arthropod venoms on the main body metabolites of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *African Journal of Biological Sciences*, 3(3), 64-79.
- Tine-Djebbar, F., Dris, D., Guenez, R., Tine, S., & Soltani, N. (2021).** Larvicidal Activity of Lamiaceae and Lauraceae Essential Oils and Their Effects on Enzyme Activities of *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *Environmental Science and Engineering*, 709-716.
- Trari, B., Dakki, M., & Harbach, R.E. (2017).** An updated checklist of the Culicidae (Diptera) of Morocco, with notes on species of historical and current medical importance. *Journal of Vector Ecology*, 42(1), 94-104.
- Trewin, B.J., Parry, H.R., Pagendam, D.E., Devine, G.J., Zalucki, M.P., Darbro, J.M., Jansen, C.C., & Nancy, A. (2021).** Simulating an invasion: unsealed water storage (rainwater tanks) and urban block design facilitate the spread of the dengue fever mosquito, *Aedes aegypti*, in Brisbane, Australia: Schellhorn. *Biological Invasions*, 23, 3891-3906.
- Tudi, M., Daniel Ruan, H., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., Chu, C., & Phung, T.D. (2021).** Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(3),1112.

- Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M., & Jennings, F.W. (1996).** Veterinary parasitology. 2nd edition. Oxford : Blackwell science, 307 p.
- Venditti, A., Frezza, C., Rossi, G., Di Cecco, M., Ciaschetti, G., Serafini, M., & Bianco, A. (2016).** Secondary metabolites with ecologic and medicinal implications in *Anthemis cretica* subsp. *petraea* from Majella National Park. *AIMS Molecular Science*, 3(4), 648-660.
- Vijayaraghavan, C., Sivakumar, C., Zadda, K.M., & Sivasubramanian, P. (2010).** Effect of plant extracts on biochemical components of cabbage leaf Webber, *Crociodolomia binotalis* Zeller. *Journal of Biopesticides*, 3 (1), 275-277.
- Visser, B., Willett, D., Harvey, J., & Alborn, H. (2017).** Concurrence in the ability for lipid synthesis between life stages in insects. *Royal Society Publishing*, 4, 160815-160823.
- Wang, T., Fan, Z.W., Yang, J., Chen, J.J., Zhao, G.P., Zhang, W.H., Zhang, H.Y., Jiang, B.G., XuQ, L.L., Zhang, X.A., Li, H., Yang, Y., Fang, L.Q., & Liu, W. (2020).** Mapping the Distributions of Mosquitoes and Mosquito-Borne Arboviruses in China. *Viruses*, 2022, 14-691.
- Wassim, N.M., Soliman, B.A., & Yamani, D.F. (2013).** Rapid assay to differentiate the two forms of Egyptian *Aedes caspius* (Diptera: Culicidae) using acetylcholinesterase gene. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 66 (1), 12-17.
- Wayne, J. (2004).** A classification system for mosquito life cycles: life cycle types for mosquitoes of the northeastern United States. *Journal of Vector Ecology*, 29 (1),1-10.
- WHO. (2005).** Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. Geneva: World Health Organization.
- WHO. (2017).** Conditions for deployment of mosquito nets treated with a pyrethroid and piperonyl butoxide. Global Malaria Programme. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/258939/WHO-HTM-GMP-2017.17-eng.pdf>
- WHO. 2021.** World malaria report 2021.
- Wilkerson, RC., Linton, YM., Fonseca, DM., Schultz, TR., Price, DC., & Strickman, D.A. (2015).** Making Mosquito Taxonomy Useful: A Stable Classification of Tribe Aedini that Balances Utility with Current Knowledge of Evolutionary Relationships. *PLOS ONE* 10(7): e0133602. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133602>

- Wilson, A.L., Courtenay, O., Kelly-Hope, L.A., Scott, T.W., Takken, W., & Torr, S.J. (2020).** The importance of vector control for the control and elimination of vector-borne diseases. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 14, 0007831.
- Zeroual, A., Sakar, E.H., Mahjoubi, F., Chaouch, M., Chaqroune, A., & Taleb, M. (2022).** Effects of Extraction Technique and Solvent on Phytochemicals, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of Cultivated and Wild Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) from Taounate Region (Northern Morocco). *Bio-interface Research in Applied Chemistry*, 12 (6), 8441 - 8452.
- Zerroug, S., Aouati, A., & Berchi, S. (2017).** Histopathology of *Culex pipiens* (Linée, 1753) (Diptera, Culicidae) larvae exposed to the aqueous extract of *Eucalyptus globulus* l'Hér, 1789 (Myrtaceae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(3), 759-765.
- Zientara, S., Murgue, B., Zeller, H., Dufour, B., Murri, S., & Labi, J. (2001).** Maladie a virus 'West Nile' en France. *Epidémie et santé animale*, 39, 113-120.
- Zoubiri, S., Baaliouamer, A., Seba, N., & Chamouni, N. (2014).** Chemical composition and larvicidal activity of Algerian *Foeniculum vulgare* seed essential oil. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(4), 480-485.

PUBLICATIONS

- 1- **KEFFOUS, B.S., & AISSAOUI, L. (2022).** Chemical characterization of *Foeniculum vulgare* Mill essential oil composition and its toxicological effects against mosquito: *Aedes caspius* (PALLAS, 1771) species. Uttar pradesh journal of zoology, 43(21), 66-73. DOI: 10.56557/UPJOZ/2022/v43i213214
- 2- **KEFFOUS, B.S., & AISSAOUI, L. (2023).** Determination of chemical characterization of *Foeniculum vulgare* Mill Essential Oil composition and its Toxicological Effects against mosquito (*Aedes caspius* PALLAS, 1771). Cutting Edge Research in Biology, Chapter 5, vol (3). DOI: 10.9734/bpi/cerb/v3/4117B

COMMUNICATIONS INTERNATIONNALES

1. **KEFFOUS, B.S., AISSAOUI, L., & BOUAOUD, L. (2021).** Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of *Laurus nobilis* L. against *Culex pipiens*, vector of West Nile virus. Poster. International Seminar on Biodiversity, Valorization and Conservation of Urban and Forest Ecosystems: (In support of sustainable development). Mohamed Boudiaf University of M'sila Faculty of Sciences. 28-29 /04/2021.

COMMUNICATIONS NATIONALES

1. **KEFFOUS, B.S., & AISSAOUI, L. (2021).** Assessment of larvicidal properties of aqueous extracts of *Eucalyptus globulus* against *Culex pipiens* larvae. Communication orale. 1er Séminaire National sur les ressources Naturelles face aux Contraintes d'Usage et du changement climatique (SENACUC, 2021), organisé à l'université Abdelhafid Boussouf- Mila le 04 juillet 2021.
2. **KEFFOUS, B.S., & AISSAOUI, L. (2022).** Larvicidal activity and morphological abnormalities induced by *Origanum vulgare* essential oil against *Aedes caspius* pallas, 1771. Communication orale. Séminaire national : Environnement et Développement Durable des Ecosystème (Gestion et valorisation) des Zones Semi Arides, organisé à l'université Larbi Tebessi. Tébessa (Algérie) le 20 et 21 novembre 2022.



**CHEMICAL CHARACTERIZATION of *Foeniculum vulgare*
MILL ESSENTIAL OIL COMPOSITION AND ITS
TOXICOLOGICAL EFFECTS AGAINST MOSQUITO:
Aedes caspius (PALLAS, 1771) SPECIES**

BESMA SAFA KEFFOUS^a AND LYNDA AISSAOUI^{a*}

^aResearch Laboratory of Improvement and Development of Animal and Plant Production, Department of Biology and Animal Physiology, Ferhat Abbas University, Setif-19000, Algeria.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

This work was carried out in collaboration between both authors. Both authors read and approved the final manuscript.

Article Information

DOI: 10.56557/UPJOZ/2022/v43i213214

Editor(s):

(1) Dr. Ana Cláudia Correia Coelho, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, Portugal.

Reviewers:

(1) Dzulsuhaimi Daud, Universiti Teknologi MARA, Malaysia.

(2) Nicola Basso, Sapienza University of Rome, Italy.

(3) Rim Timoumi, University of Monastir, Tunisia.

(4) Marta Regina Magalhães, Catholic University of Goiás, Brazil.

Received: 06 September 2022

Accepted: 12 November 2022

Published: 16 November 2022

Original Research Article

ABSTRACT

In this study, the essential oil (EO) of the aerial parts of *Foeniculum vulgare* Mill (Umbelliferae: Apiaceae) was extracted by hydro-distillation and subsequently, its chemical composition was analyzed using gas chromatography (GC) and the profile was identified by gas chromatography-mass spectrometry (MS). Then, its larvicidal potential was evaluated against the larvae of *Aedes caspius* (Pallas, 1771). Using the CPG-MS analyses fourteen volatile compounds representing 99.22% of the essential oil were identified; namely are: Camphor (38.2%), Fenchone (28.24%) and o-Cymene (11.44%) which were predominant in the EO of *F. vulgare*. The toxicity of the EO was evaluated, after 24h of exposure time, against the fourth instar larvae of *Aedes caspius* and the sublethal and lethal concentrations, LC₂₅, LC₅₀ and LC₉₀ values were estimated with their confidence limits and their values are 27.65, 37.76 and 70.40 µl respectively. The obtained bioassay results showed that *F. vulgare* EO exhibited a toxic effect against *Ae. caspius* larvae with a dose-response relationship. Based on the results of the toxicity of *F. vulgare* EO, it can be concluded that, the present aromatic plant species showed a significant toxicological effect and could be used as a promising alternative for the mosquito control. This result opens interesting perspectives for its application in the production of a new source of various larvicidal active compounds for controlling mosquito vectors.

Keywords: Essential oil; *Aedes caspius*; toxicity; mosquito control; insecticide.

*Corresponding author: Email: lynda.aissaoui@univ-setif.dz, Linda.ask12@gmail.com;

1. INTRODUCTION

Mosquitoes are one of the major causative agents of devastating diseases like dengue, chikungunya, malaria, yellow fever, filariasis, Japanese encephalitis, Zika and lyme which result in millions of deaths each year [1,2]. These arthropod disease vectors are generally controlled by conventional neurotoxic insecticides, that their misuse can cause serious problems such as insecticide resistance [3,4], environmental pollution and toxicity to human and non-target organisms [5,]. Such problems have accentuated the need for newer strategies, using new alternatives, for mosquito control. The proposition of a new potential insecticides from plant extracts such as essential oils (EOs), are relatively cost-effective, without environmental secondary effects and has therapeutic benefits [7]. Consequently, the scientific community was highly interested to valorize the natural bioactive chemicals, as potential substitutes for manufactured compounds for insect vector control. Since they were found a variety of bioactive chemicals that are highly toxic to mosquitoes but safe to non-target organisms and the environment [8, 9, 1]. subsequently, the utilization of EOs from aromatic plants could be particularly significant, when used against mosquito control, because they are more potent, secure, and environmentally friendly. In addition, observed physiological changes in neuroendocrine system function, influencing insect behavior, growth, molting, histological aberrations, and metamorphosis, EOs have been studied to explain their mode of action [10-14]. In this regard it has been reported that Fennel EO is used as a cure for pediatric colic and some respiratory disorders [15] analgesic, anti-inflammatory [16,17], hepato-protective [18] and neuroprotective [19]. *F. vulgare* Mill, from the Apiaceae family, is an aromatic plant widespread in Algeria and its seeds are widely utilized in herbal medicine [20, 21]. The plant has several traditional uses, and they interestingly have an impact against insects [22, 23, 20]. The EO profile of different sources of fennel might be different, so it is necessary to characterize its chemical composition, by GC-MS/MS analyses. Following go-green conceptions, this study proceeded to the extraction of EO from *F. vulgare* grown in Setif, investigating its chemical analysis and its potential larvicidal effects against fourth instar larvae of *Aedes caspius*.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Plant Materials and Oil Extraction

Foeniculum vulgare Mill, known as fennel, is one of the Apiaceae family members. This plant is native but not limited to Mediterranean areas. The plant is

widely used by local people as a source of spice and medicinal uses [24, 25]. The aerial parts of *F. vulgare* were collected in the month of October from Hammam Guergour, high-plains region (Setif, Northeast Algeria; 36°34'77'' N, 5°06'26''E). The collected plant has been identified by the botany department, Ferhat Abbes University, Algeria. The Completely dried samples were subjected to grinding with a commercial blender. A sample of 100g of plant powder was hydrodistilled for 3h using a Clevenger-type apparatus. The obtained EO was stored in dark vials at 4°C until the insecticidal bioassays and chemical analyses. The EO yield was estimated according to dry mass, which is estimated by the ratio between the weight of extracted oil and that of the treated plant. It is expressed as a percentage; using the following equation: Oil yield=oil content (g) / dried weight of the sample ×100.

2.2 Essential Oil Analysis using GC-MS

The plant EO of *F. vulgare* was analyzed by gas chromatography-mass spectrophotometry GC / FID and GC-MS/MS. The volume of the solution was adjusted to 1 ml with hexane before being transferred into a GC vial for analysis. All used solvents (Fisher Scientific, Loughborough, United Kingdom) are highly performance liquid chromatography grade. The quantification of the components of EO was carried out by chromatogram gas type Agilent 7890A Gas Chromatograph, equipped with a FID detector. An auto-sampler and air-cooling multimode inlet were implemented through the used GC device. The vaporizer temperature is set at 280 °C. The injection volume is 1 µl in split mode and the split ratio was set at 10:1. The concentration of the injected oil is 1% in hexane. A HP-5MS capillary column (30 m length; 0.25 mm inner diameter; 0.25 µm film thickness) is used. Helium of high purity (N60) was used as a carrier gas at a 1 mL/min flow rate. The temperature of the oven was kept at 50 °C for 1 min, increased by 9 °C/min up to 280 °C. The final temperature was kept for 5 min. Under the same chromatographic conditions as GC-FID, the identification of the EO components are determined using Gas Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry (GC/MS-MS) using an Agilent 7000 Triple Quadrupole instrument, which combines a GC 7890A for the separation and a triple quadrupole mass spectrometer (QqQ) that operated at 70V to perform tandem mass spectrometry. Constituent identification was found with MassHunter (MH) Workstation Software Qualitative Analysis Workflows (version B.10.00, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA). It was operated with the following parameters: compounds were discovered by chromatogram deconvolution with the default settings; substances

were identified using an MS library (NIST17) search.

2.3 Toxicological Assays

Aedes caspius eggs were obtained from the untreated breeding sites and there were maintained in controlled laboratory conditions; at a temperature of 26 ± 3 °C and 12/12 h (light: dark) photoperiods. Each larval stage was kept separately in storage jars containing 500 ml of stored tap water, they were daily fed with fish food and the water was changed every two days. The 4th instar larvae of *Ae. caspius* were used for the bioassay using *F. vulgare* EO. The larvicidal bioassays were carried out following the World Health Organization (OMS) standard protocol recommendations [26]. 1ml of EO was dissolved in ethanol to obtain 1% and 10% and stored as a stock solution. From the stock solution, 0,1-1 ml were added to 100 ml of tap water. Through this process, the following concentrations were obtained: 10, 20, 40, 50, 60, 80, 100, 200 and 400 μ l. The positive controls were exposed to 1ml ethanol, while the negative controls were exposed to water only. The toxicological tests were performed with three repetitions of 25 larvae for each used concentration. The toxicity effect was estimated by recording the larval mortality during the period of 24, 48 and 72 h, after the treatment period. Larvae that showed no movement were recorded as being dead.

2.4 Statistical Analysis

Statistical analysis of the experimental data was performed with R 3.6.3 (packages drc) to determine LC₂₅, LC₅₀ and LC₉₀ values and their 95% FL. Comparison between the different series was presented as mean & SD, and made using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test, using (packages ggplot2).

3. RESULTS

3.1 Yield and Chemical Composition of *F. vulgare* Essential Oil

Hydrodistillation of the fennel areal part provided a pale yellow-colored EO with a $1.40 \pm 0.13\%$ (w/w) yield. Phytochemical screening of EO of *F. vulgare* by GC-MS/MS showed the presence of fourteen phyto-constituents representing 99.22% of the total identified compounds (Tab.1, Fig. 1). The percentage of the compounds in the EO was calculated according to the area of the chromatographic peaks (Fig. 1) and the retention index relative to n-alkanes of the components, using the chromatograms resulting from the analysis by GC-FID among which Camphor

(38.2%), Fench one (28.24%) and o-Cymene (11.44%), were the predominant components in the oil of *F. vulgare*, while the other components exhibit lower percentages like Limonene (3.87%), alpha-Phellandrene (2.18%) and Estragole (1.80%), in addition to others that exist in traces with less than 1%.

3.2 Larvicidal Activity of *F. vulgare* EO against *Ae. caspius*

The results of the larvicidal activity, of *F. vulgare* against *Ae. caspius* larvae are shown in (Fig. 2). After treatment, the observed mortality, which is recorded at different periods during the treated developmental stage increased accordingly with the concentrations in function of time (Fig. 2). Concentration-response relationship was determined against the 4th instar larvae of *Ae. caspius*. The recorded mortality of the treated 4th instar larvae varies between 1.33% and 100%, where *F. vulgare* EO in a concentration of 80 μ l was the most effective and with the highest toxicity, while a concentration of 10 μ l showed the lowest toxicity. The data shows that 100% mortality rate was observed at 100, 200 and 400 μ l of concentrations. Yet no significant effect against *Ae. caspius* larvae was noted for the positive controls.

The statistical analyses reveal the existence of very highly significant differences between the concentrations used for the same period ($P = 0.000$). As far as the time factor is concerned, there are no significant differences ($P = 0.693$). Statistical analyses using Fisher's LSD test of obtained results indicated that different *F. vulgare* EO concentrations demonstrated meaningful statistical differences in relation to the larvicidal efficacy as a dependent variable ($P = 0.000$ for $P \leq 0.001$). However, the time intervals were not statistically significant ($P = 0.693$ for $P > 0.05$) (Table 2).

The regression equation of the mosquito mortality rate for the EO of the present study is illustrated in the graph and the table as below (Fig.4) and (Table 3) indicating the lethal estimated concentrations with their fiducial limits (95 %) from the linear regression curves, expressed by the mortality probits and the logarithm of *F. vulgare* oil doses.

The results of regression analysis of used oil showed that *F. vulgare* EO possessed a high larvicidal efficiency against *Ae. caspius* larvae with LC₂₅ value of 27.65, 22.87 and 19.28 μ l and LC₅₀ value of 37.76, 33.14 and 29.43 μ l and LC₉₀ value of 70.40, 69.56 and 68.60 μ l for the fourth instar larvae after 24,48 and 72 h of exposure respectively.

Table 1. Chemical composition of *F. vulgare* essential oil

N°	RT (mn)	Compound	Formule	RI	Area %
1	7.100	α -Pinene	C10 H16	876.2628977	4.06
2	7.394	2(10)-Pinene	C10 H16	882.9306595	0.37
3	7.825	Nopinene	C10 H16	891.9950901	0.3
4	7.921	Melilotal	C9 H10 O	893.9112696	0.45
5	8.086	.alpha.-Phellandrene	C10 H16	897.1247334	2.18
6	8.429	o-Cymene	C10 H14	1006.619323	11.44
7	8.793	Limonene	C10 H16	1018.650488	3.87
8	8.886	Tricyclo[5.2.1.0(2,5)]dec-5(6)ene	C10 H14	1021.610225	6.65
9	9.428	gamma.-Terpinene	C10 H16	1038.028249	0.96
10	10.102	Fenchone	C10 H16 O	1056.705717	28.24
11	11.136	Fenchone	C10 H16 O	1082.309243	0.55
12	12.115	Camphor	C10 H16 O	1402.951373	38.2
13	13.568	Estragole	C10 H12 O	1450.809246	1.8
14	16.876	Anise camphor	C10 H12 O	1539.515138	0.15
Total identified					99.22%

RT: Retention time; RI: Retention index: Kovats retention index relative to n-alkanes on column; Area %: Value expressed as relative area percentages to total identified compounds.

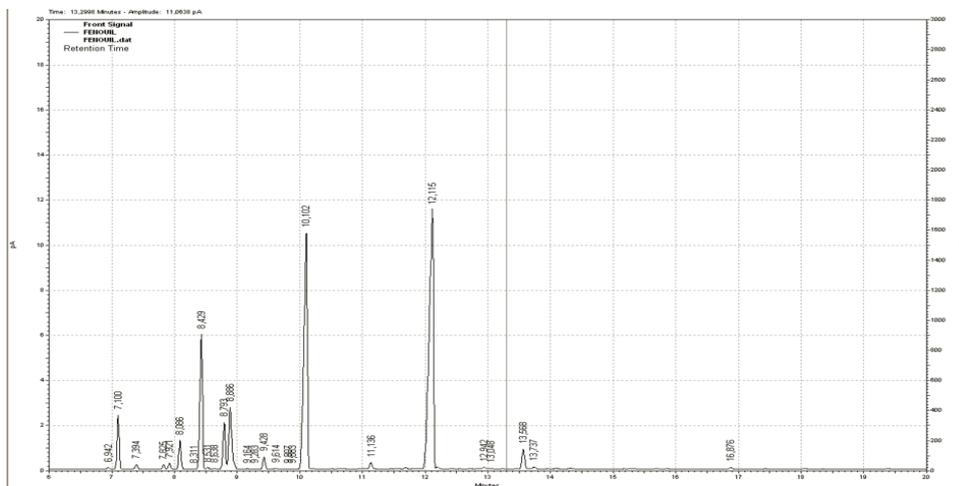


Fig. 1. GC-FID chromatogram for essential oil of *F. vulgare*

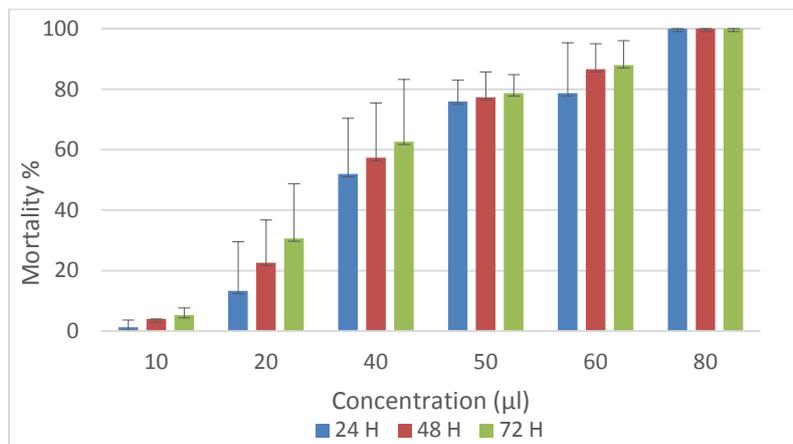


Fig. 2. Concentration-response relationship of the treatment of EO of *F. vulgare* applied to the newly exuviated fourth instar larvae of *Ae. caspius*

Table 2. The results of the Fisher's LSD post-hoc test (concentrations and exposure times: 24, 48 and 72 hours)

	Time (df=2)		Concentration (df=9)
<i>P</i> value	Observation	<i>P</i> value	Observation
0.693	ns	0.000	***

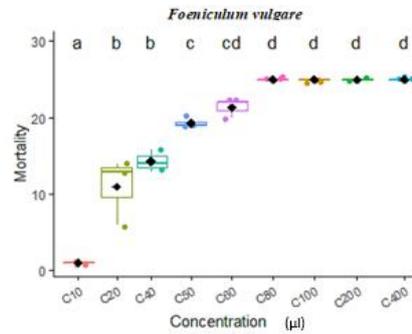


Fig. 3. Larvicidal efficacy of EO of *F. vulgare* applied on fourth instar of larvae of *Ae. caspius* depending on different concentrations (a, b and c) indicate that the variation is significant at $p < 0.05$, using Tukey's test. Boxplots labeled with the same letter are not significantly different at $p > 0.05$. The boundaries of the central box show the interquartile range (IQR) with the first quartile (lower bound) and the third quartile (upper bound). Outliers are indicated by small circles

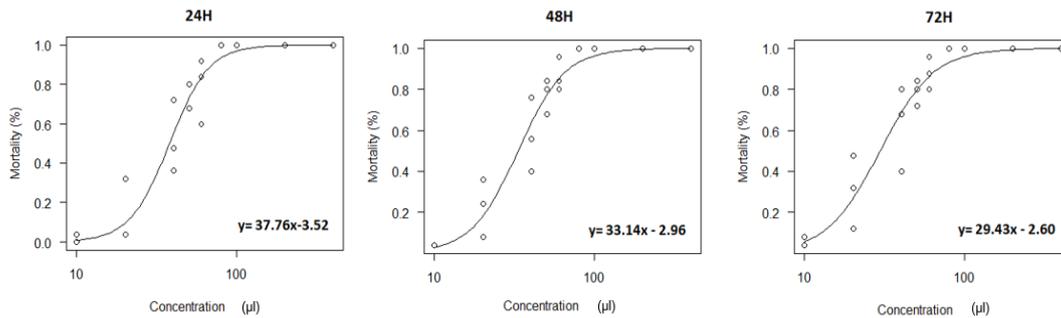


Fig. 4. Probit transformed responses with equation regression for *F. vulgare* EO tested on 4th instars larvae of *Ae. caspius* for 24, 48 and 72 h

Table 3. The sublethal and lethal concentrations, LC₂₅, LC₅₀ and LC₉₀ values of *F. vulgare* EO against the late 4th instar larvae of *Ae. caspius*, after 24, 48 and 72 hours of exposure time; with regression equations

Time	Equation regression	LCL>LC ₂₅ >UCL(µl) Confidence limit (95%)	LCL>LC ₅₀ >UCL(µl) Confidence limit (95%)	LCL>LC ₉₀ >UCL (µl) Confidence limit (95%)
24 h	37.76x-3.52	22.46<27.65<32.85	33.66<37.76<41.87	58.86<70.40<81.93
48 h	33.14x-2.96	18.87<22.87<26.87	29.48<33.14<36.80	59.24<69.56<79.87
72 h	29.43x-2.60	15.56<19.28<22.99	25.65< 29.43< 29.44	56.14<68.60<81.07

4. DISCUSSION

4.1 Yield and Chemical Composition of Essential Oil

The yield of EO extraction of *F. vulgare* was 1.40 % ± 0.13. The EO yield of fennel herbage was between 0.69 % and 4.60 % [27, 28]. The obtained yield in this

experiment is higher than the EOs extracted from the same species; collected in Pithoragarh (0.6 %) and Didihat (0.9 %) of North India [29]. However, EO yield in the seeds of *F. vulgare* cultivated in the same region (Setif) collected during May was lower than studied yield (0.93 ± 0.07%) [20]. The EO yield varies, whether the extraction method is different or

the same. Its variety could be affected by the quality of the used plant material in addition to other factors, such as the growth stage, soil quality, climate conditions, time of harvest and drying period [30]. For the present study, it was noted that the main constituents of the EO from the dry aerial parts of *F. vulgare* are Camphor (38.2%), Fenchone (28.24%) and o-Cymene (11.44%). While, Belabdelli [21] found that major components were Estragole (84.8%), limonene (7.8%), Fenchone (3.1%) and α -pinene (1.3%) in the *F. vulgare* EO of Algerian seeds. Chemical analysis of *F. vulgare* by other authors [31, 32, 25] also showed that the main constituents of this oil are trans-anethole, estragole, fenchone and limonene. Variation in chemical composition of EOs may be caused by several factors such as the method of extraction, period of plant collection. It is also influenced by both internal and external factors affecting the plant, such as genetic structures and environmental conditions [33, 34].

4.2 Insecticidal Activity

In this study, the results indicate that the *F. vulgare* EO exhibited a larvicidal activity against *Ae. caspius* larvae; while Zoubiri [20] showed the insecticidal activity of *F. vulgare* EO against larvae of *Cx. pipiens*. In the other study [35] the larvicidal activity, of the same species of plant EO, was the most effective against *Aedes stephensi* with LC₅₀ and LC₉₀. Chantawee and Soonwera [36] found 100% mortality in the larvae of *Aedes aegypti* treated with *F. vulgare* EO at a concentration of 10% with LT₅₀ achieved at a concentration of 5%. Studies reported by Zoubiri [20] show clearly that the activity of this plant seed oil may be due to the presence of trans-anethol as the main compound. *F. vulgare* seed EO can be suggested as natural larvicidal for controlling *Cx. pipiens* mosquito. Thus, *F. vulgare* can serve as a natural larvicidal agent along with other previous studies which reported significant toxicity of the fennel EO against different arthropod species [37, 38, 39, 40].

5. CONCLUSION

Plant-based pesticides are promising alternatives to synthetic insecticides. *F. vulgare* essential oil exhibited larvicidal activity and the identified components support the future development of novel pesticides from EOs as potential natural sources for the pest control programs.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank the National Institute of Criminalistics and Criminology of Algeria for their collaboration and for providing essential oils analysis.

COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

REFERENCES

1. Rathy M C, Sajith U, Harilal C C. Larvicidal efficacy of medicinal plant extracts against the vector mosquito *Aedes albopictus*. International Journal of Mosquito Research. 2015; 2(2):80-82.
2. Nwabor O F, Nnamonu E I, Martins P E, Odiachi O. Synthetic insecticides, phytochemicals and mosquito resistance. Academia Journal of Biotechnology. 2019;5: 118-25.
3. Pavlidi N, Vontas J, Van Leeuwen T. The role of glutathione S-transferases (GSTs) in insecticide resistance in crop pests and disease vectors. Current Opinion in Insect Science. 2018; 27:97-102.
4. Richard S L, Byrd B D, Reiskind MH, White A V. Assessing Insecticide Resistance in Adult Mosquitoes: Perspectives on Current Methods. Environmental Health Insights. 2020; 14:1-7.
5. Sarwar M, Ahmad N, Toufiq M. Host plant resistance relationships in chickpea (*Cicer arietinum* L.) against gram pod borer (*Helicoverpa armigera* Hubner. Pakistan Journal of Botany. 2009;41(6):3047-3052.
6. Smith C J, Perfetti, T A. A comparison of the persistence, toxicity, and exposure to high-volume natural plant-derived and synthetic pesticides. Toxicology Research and Application. 2020; 4:1-15.
7. Dadalioğlu I, Evrendilek G A. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. Journal of agricultural and food chemistry. 2004;52:8255-8260.
8. Aissaoui L, Bouaziz A, Boudjelida H. Toxic effect of a certain medicinal plant extracts against larvae of mosquito species *Culiseta longiareolata* (Maquart, 1838). Uttar Pradesh Journal of Zoology. 2022;43(6):19 -25.
9. Djeddar H, Boudjelida H, Arroussi, D E R. New alternative for culicid fauna control using *Borago officinalis* and *Drimia maritima* plant extracts. Biodiversitas Journal of Biological Diversity. 2021;22:5688-5694.
10. Pavela R, Maggi F, Ngahang Kamte S L, Rakotosaona R, Rasoanaivo P, Nicoletti M, Canale A, Benelli, G. Chemical composition of

- Cinnamosma madagascariensis* (Cannelaceae) essential oil and its larvicidal potential against the filariasis vector *Culex quinquefasciatus* Say. South African Journal of Botany. 2017; 108:359-363.
11. Djeghader N, Aïssaoui L, Amira K, Boudjelida H, Toxicity evaluation and effects on the development of a plant extract, the Saponin, on the domestic mosquito, *Culex pipiens*. International Journal of Mosquito Research. 2018;5(1):01-05.
 12. Shoba V. Biochemical status and histological changes of *Catharanthus roseus* ethanolic leaves extract against mosquito larvae *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). International Journal of Zoology and Applied Biosciences. 2018;3(2):352-358.
 13. Corzo F L, Traverso L, Sterkel M, Benavente A, Ajmat M T, Ons S. *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae): Intoxication with essential oils isolated from *Lippia turbinata* (Griseb.) and analysis of neuropeptides and neuropeptide receptors, putative targets for pest control. Archives of insect biochemistry and physiology. 2020; 104, 21684-21697.
 14. Dris D, Bouabida H. Larvicidal activity of an Algerian *Ruta graveolens* Essential oil on Mosquito Species *Culex pipiens*. Transylvanian Review. 2020; 47:14717-14728.
 15. Liu J, Luo JG, Ye H, Sun Y, Lu ZX, Zeng X. Medium optimization and structural characterization of exopolysaccharides from endophytic bacterium *Paenibacillus polymyxa* EJS-3. Carbohydrate Polymer. 2010;79:206-213.
 16. Choi E M, Hwang J K. Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare*. Fitoterapia. 2004;75:557-565.
 17. Lee H S, Kang P, Kim K Y, Seol G H. *Foeniculum vulgare* Mill. protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice through ERK-dependent NF- κ B activation. Korean Journal of Physiology and Pharmacology. 2015;19:183-189.
 18. Ozbek H, Ugras S, Dulger H, Bayram I, Tuncer I, Ozturk G, Ozturk A. Hepatoprotective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil. Fitoterapia. 2003;74:317-319.
 19. Sheharbano B, Syed A A S, Touqeer A, Saadia Z. Neuroprotective effects of *Foeniculum vulgare* seeds extract on lead induced neurotoxicity in mice brain. Drug Chemical Toxicology. 2018;41(4):399-407.
 20. Zoubiri S, Baaliouamer A, Seba N, Chamouni N. Chemical composition and larvicidal activity of Algerian *Foeniculum vulgare* seed essential oil, Arabian Journal of Chemistry. 2014;7(4):480-485.
 21. Belabdelli F, Piras A, Bekhti N, Falconieri D, Belmokhtar Z, Merad Y. Chemical Composition and Antifungal Activity of *Foeniculum vulgare* Mill. Chemistry Africa. 2020;3:323-328.
 22. Mendonca F A C, da Silva K F S, dos Santos K K, Junior K A L R, Ana A E G S. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. Fitoterapia. 2005;76:629-636.
 23. Conti B, Canale A, Bertoli A, Gozzini F, Pistelli L. Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). Parasitology Research. 2010;107:1455-1461.
 24. Hendawy S F, Ezz El-Din A A. Growth and yield of *Foeniculum vulgare* var.azoricum as influenced by some vitamins and amino acids. Ozean Journal of Applied Sciences. 2010; 3(1).
 25. Bahmani K, Darbandi A I, Ramshini H A, Moradi N, Akbari A. Agro-morphological and phytochemical diversity of various Iranian fennel landraces. Industrial Crops and Products. 2015; 77, 282-294.
 26. WHO. Guidelines for laboratory and field-testing of mosquito larvicides. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP. 2005; 13.
 27. Marotti M, Piccaglia R, Giovannelli E, Effects of variety and ontogenetic stage on the essential oil composition and biological activity of fennel (*Foeniculum vulgare* Miller). Journal of Essential Oil Research.1994;6:57-62.
 28. Garcia-Jimenez N, Perez-Alonso M J, Velasco-Negueruela A. Chemical composition of fennel oil, *Foeniculum vulgare* Miller, from Spain. Journal of Essential Oil Research. 2000;12:159-162.
 29. Punetha D, Tewari G, Pande C, Bhatt S. Effect of Climatic Conditions on the Volatile Compounds of the Aerial Parts of *Foeniculum vulgare* Mill. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 2019;22(4).
 30. Mohammedi H, Mecherara-Idjeri S, Hassani A. Variability in essential oil composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Ruta montana* L. collected from different geographical regions in Algeria. Journal of Essential Oil Research. 2020;32:88-101.
 31. Ahmed A F, Shi M, Liub C, Kang W. Comparative analysis of antioxidant activities of essential oils and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Egypt

- and China. Food Science and Human Wellness. 2019; 8, 67-72.
32. Sabzi Nojadeh M, Pouresmaeil M, Younessi-Hamzekhanlu M, Venditti A. Phytochemical profile of fennel essential oils and possible applications for natural antioxidant and controlling *Convolvulus arvensis* L, Natural Product Research. 2020; 35, 4164-4168.
 33. Saxena S N, Agarwal D, John S, Dubey P N, Lal G. Analysis of fennel (*Foeniculum vulgare*) essential oil extracted from green leaves, seeds and dry straw. International Journal of Seed Spices. 2018; 8(1), 60-64.
 34. Venditti A, Frezza C, Rossi G, Di Cecco M, Ciaschetti G, Serafini M, Bianco A. Secondary metabolites with ecologic and medicinal implications in *Anthemis cretica* subsp. *petraea* from Majella National Park. Aims Molecular Science. 2016; 3(4), 648-660.
 35. Sedaghat M M, Sanei Dehkordi A, Abai M R, Khanavi M, Mohtarami F, Salim Abadi Y, Rafi F, Vatandoost H. Larvicidal Activity of Essential Oils of Apiaceae Plants against Malaria Vector, *Anopheles stephensi*. Iran Journal of Arthropod-Borne Diseases. 2011; 5(2), 51-59.
 36. Chantawee A, Soonwera M. Efficacies of four plant essential oils as larvicide, pupicide and oviposition deterrent agents against dengue fever mosquito, *Aedes aegypti* Linn. (Diptera: Culicidae). Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2018;8:217-225.
 37. Amizadeh M, Hejazi M J, Saryazdi G A. Fumigant toxicity of some essential oils on *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae). International Journal of Acarology. 2013; 39, 285-289.
 38. Gameda A, Sendi J, Aliakbar A, Razmjou J. Chemical Composition and acaricidal effects of essential oils of *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiales: Apiaceae) and *Lavandula angustifolia* Miller (Lamiales: Lamiaceae) against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Psyche. 2014;42:67-78.
 39. Pavela R, Zabka M, Bednar J, Triska J, Vrchotova N. New knowledge for yield, composition and insecticidal activity of essential oils obtained from the aerial parts or seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). Industrial Crops and Products. 2016;83:275-282.
 40. Aboelhadid S M, Arafa W M, Abdel-Baki A A, Sokmen A, Al-Quraishy S, Hassan A O. Acaricidal activity of *Foeniculum vulgare* against *Rhipicephalus annulatus* is mainly dependent on its constituent from trans-anethone. PLOS ONE. 2021;16(12): 1-15.

ملخص

يهدف هذا العمل إلى المساهمة في تعزيز دور بعض الزيوت الأساسية في مكافحة البعوض. حيث كشفت اختبارات السمية التي أجريت بتركيز مختلف على يرقات البعوض *Aedes caspius* الطور الرابع حديثة الانسلاخ في ظروف مخبرية وفقاً لتوصيات منظمة الصحة العالمية، عن خصائص مبيدات الحشرات للزيوت الأساسية التي تم الحصول عليها عن طريق التقطير المائي لأنواع النباتات: الأكليل الجبلي *Rosmarinus officinalis*، الزعتر *Origanum vulgare*، الكالينوس *Eucalyptus globulus*، الصنوبر الحلبي *Pinus halepensis*، النعناع *Mentha pulegium* والشمر البري *Foeniculum vulgare* والتي تم جمعها من منطقة الهضاب العليا سطيف (شمال شرق الجزائر)؛ أظهر مردود الزيوت الأساسية المستخلصة من الأنواع النباتية المذكورة أعلاه القيم: 0.86، 1.51، 1.08، 0.58، 1.36 و 1.40% على التوالي. من جهة أخرى كشفت نتائج التحليل الكيميائي لهذه الزيوت عن النسب المئوية للمكونات الرئيسية: Limonene 47.28%، Terpinene 38.08%، cis-Sabinene hydrate 36.02%، Melilotal 28.26%، Pulegone 60.8% و Camphor 38.2%؛ للإكليل الجبلي *Rosmarinus officinalis*، الزعتر *Origanum vulgare*، الكالينوس *Eucalyptus globulus*، الصنوبر الحلبي *Pinus halepensis*، النعناع *Mentha pulegium* والشمر البري *Foeniculum vulgare* على التوالي. تم تقييم سمية الزيوت المختبرة وتقدير التراكيز المميئة LC_{25} ، LC_{50} و LC_{90} مع حدود مجالات الثقة الخاصة بها لفترات التعرض الثلاث (24، 48 و 72 ساعة)؛ حيث بينت النتائج المتحصل عليها إلى حساسية يرقات *Aedes caspius* للأنواع النباتية الستة، مع علاقة الاستجابة للجرعة. أظهر العلاج بنفس التراكيز أن لجميع الزيوت الأساسية المدروسة تأثيراً ساماً، في حين أظهر الزيت العطري للشمر البري *Foeniculum vulgare* قدرة عالية جداً على إبادة اليرقات ضد *Aedes caspius* مقارنة بالأنواع النباتية الأخرى. وبناء عليه تم فحص تأثير هذا الأخير على التراكيب البيوكيميائية (البروتينات، الكربوهيدرات والدهون) وعلى أنسجة المعى المتوسط ليرقات الطور الرابع *Aedes caspius*. يمكن لتطويع هذه الاختبارات السمية باستخدام المستخلصات الأساسية للأنواع النباتية الأصلية بالحصول على بدائل آمنة لمكافحة البعوض.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، السمية، *Aedes caspius*، التراكيب البيوكيميائية، الأنسجة.

RESUME

Le présent travail est une contribution à la valorisation des huiles essentielles des espèces végétales autochtones dans la lutte des moustiques. Les essais toxicologiques effectués à différentes concentrations sur les larves de 4^{ème} stade, nouvellement exuviées d'*Aedes caspius* dans les conditions du laboratoire selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé, ont révélé les propriétés insecticides des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des espèces végétales : *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare*, *Eucalyptus globulus*, *Pinus halepensis*, *Mentha pulegium* et *Foeniculum vulgare* récoltées sur les hauts plateaux de la région de Sétif (Nord-Est de l'Algérie). Le rendement des HEs : *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare*, *Eucalyptus globulus*, *Pinus halepensis*, *Mentha pulegium* et *Foeniculum vulgare*, affiche des valeurs de : 0.86, 1.51, 1.08, 0.58, 1.36 et 1.40% respectivement. D'autre part, une analyse chimique de ces extraits a révélé les composants majoritaires dans les huiles essentielles susmentionnées : Limonene 47.28%, Terpinene 38.08%, cis-Sabinene hydrate 36.02%, Melilotal 28.26%, Pulegone 60.8% et Camphre 38.2% respectivement. La toxicité des huiles testées a été évaluée et les concentrations létales, les valeurs CL_{25} , CL_{50} et CL_{90} ont été estimées pour les trois temps d'exposition (24, 48 et 72 heures) ; les résultats obtenus ont indiqué une sensibilité des larves d'*Aedes caspius* aux six espèces végétales, avec relation dose-réponse. Les concentrations létales ont été calculées avec leurs limites de confiance. Après traitement avec les mêmes concentrations, toutes les HEs présentent un effet toxique. L'HE de *Foeniculum vulgare* présente un pouvoir larvicide très élevé à l'égard d'*Aedes caspius* par rapport aux autres plantes. Les effets de l'huile essentielle de *Foeniculum vulgare* ont été examinés sur la composition biochimique (protéines, carbohydrates et lipides) et l'histologie de l'intestin moyen des larves L4 d'*Aedes caspius*. Ces essais toxicologiques, utilisant ces extraits de plantes autochtones pourraient être développés comme composé alternatif sûr pour le programme de lutte contre les moustiques.

Mots clés : Huiles essentielles, Toxicité, *Aedes caspius*, Composition biochimique, Histologie.

Abstract

This work is a contribution to the enhancement of essential oils of botanical species role in the control against mosquitoes. The toxicological tests carried out at different concentrations on the newly exuviated larvae of *Aedes caspius* under laboratory conditions according to the recommendations of the World Health Organization, revealed the insecticidal properties of the essential oils obtained by hydrodistillation of: *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare*, *Eucalyptus globulus*, *Pinus halepensis*, *Mentha pulegium* and *Foeniculum vulgare* harvested on the high plateaus of the Setif region (North-East of Algeria). The yield and hydrodistillation of the aforementioned EOs obtained by display the values 0.86, 1.51, 1.08, 0.58, 1.36 and 1.40% respectively. The percent composition of major components has been identified, namely Limonene 47.28%, Terpinene 38.08%, cis-Sabinene hydrate 36.02%, Melilotal 28.26%, Pulegone 60.8% and Camphor 38.2%, respectively. The toxicity of the oils tested was evaluated and lethal concentrations, LC_{25} , LC_{50} and LC_{90} values were estimated for the three exposure times (24, 48 and 72 hours); the results obtained indicated a sensitivity of the larvae of *Aedes caspius* to the six plant species, with dose-response relationship. Lethal concentrations were calculated with their confidence limits. After treatment with the same concentrations, all EOs show a toxic effect. The EO of *Foeniculum vulgare* has a very high larvicidal power against *Aedes caspius* compared to other plants. The effects of *Foeniculum vulgare* essential oil were examined on the biochemical composition (proteins, carbohydrates and lipids) and midgut histology of L4 larvae of *Aedes caspius*. These toxicological tests, using these native plant extracts, could be developed as a safer alternative compound for the mosquito control program.

Keywords: Essential oils, Toxicity, *Aedes caspius*, Biochemical composition, Histology.