

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR-
ANNABA

جامعة باجي مختار -
عنابة



FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE D'EXCELLENCE DE BIOLOGIE ANIMALE
APPLIQUÉE

Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat LMD
Domaine : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES
Spécialité : BIOLOGIE ANIMALE
Intitulé

**Activités biologiques et physiologiques des huiles essentielles des
plantes à l'égard des adultes des moustiques.**

Présentée par : M^{lle}. Amina YEZLI

Directeur de thèse : Pr. Hamid BOUDJELIDA Université Badji Mokhtar- Annaba

Devant un jury composé de :

Pr. Hinda BERGHICHE	Présidente	(UBMA)	Annaba
Pr. Waffa HABBACHI	Examinatrice	(UBMA)	Annaba
Pr. Kaouther HAMAIDIA	Examinatrice	(UMCM)	Souk-Ahras
Pr. Lynda AISSAOUI	Examinatrice	(UFA)	Setif

Année universitaire : 2023-2024

Remerciements

Au nom de Dieu le clément et miséricordieux, le grand remerciement revient au créateur tout puissant de m'avoir donné la force, le courage et la volonté d'élaborer ce travail.

*Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à Madame **BERGHICHE Hinda** Professeure au Département de Biologie de l'Université Badji Mokhtar - Annaba, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider ce jury. J'aimerais aussi exprimer ma gratitude pour son engagement dans le domaine académique.*

*Ma profonde et sincère gratitude et reconnaissance s'adresse à mon directeur de thèse Monsieur **BOUDJELIDA Hamid** (Professeur et Directeur du Laboratoire d'excellence de Biologie Animale Appliquée, Université Badji-Mokhtar Annaba). Pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant d'encadrer ce travail doctoral, en mettant à ma disposition ses compétences dans le domaine de la recherche scientifique, je ne saurai le remercier pour sa patience, sa disponibilité permanente et surtout pour ses conseils judicieux, qui ont contribué à alimenter ma réflexion pour mener à bien ce travail.*

*J'exprime ma sincère gratitude envers Madame **Habbachi Waffa**, Professeur à l'Université Badji Mokhtar - Annaba, pour sa participation précieuse en tant que membre du jury.*

*Je suis très reconnaissante envers Madame **Aissaoui Lynda**, Professeur à l'Université de Setif, pour avoir acceptée de juger cette thèse. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.*

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

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Monsieur le Professeur **SOLTANI Nouredine**, ancien enseignant et chercheur à l'Université de Badji Mokhtar d'Annaba*

Je suis très reconnaissant envers tous les enseignants qui ont joué un rôle crucial dans mon parcours universitaire. Leur engagement, leur expertise et leur soutien constant ont été une source d'inspiration et de motivation.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également aux ingénieurs du laboratoire de Biologie Animale appliquée pour leur aide et leur disponibilité.

Je remercie chaleureusement mes collègues du Laboratoire d'excellence de Biologie Animale Appliquée, Université Badji-Mokhtar Annaba qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, Merci à chacun d'entre vous pour votre engagement constant et votre collaboration précieuse.

*Je suis profondément reconnaissant envers M. **Sevki ADEM**, professeur à l'université de Çankırı, Turquie, et M. **Zeyad Adil Hameed**, doctorant au même établissement, pour leur accueil chaleureux et leur précieux accompagnement tout au long de mon stage au sein de leurs laboratoires.*

Enfin, je remercie tous ceux qui m'ont apporté leur aide, de près ou de loin, par leurs conseils, leur soutien moral et leur encouragement. Votre contribution a été précieuse et je vous en suis profondément reconnaissante.

Dédicace

À ma chère mère

Tu es la lumière qui a guidé chaque pas de mon parcours académique. Tes encouragements constants, ta sagesse infinie et ton amour inconditionnel ont été les piliers sur lesquels j'ai bâti ma thèse de doctorat. Chaque ligne, chaque découverte, chaque réussite, je te les dédie avec tout mon cœur. Merci pour tout ce que tu as fait et continues de faire pour moi. Je suis qui je suis grâce à toi.

À mon cher père

Ton soutien et ton appui sans faille ont été la boussole de mon parcours. Grâce à toi, chaque pas était sûr, chaque obstacle surmontable. Cette réussite, je la partage avec toi de tout cœur.

À mon cher frère Mohamed

Ta présence aimante et ton soutien sans réserve ont été mes forces invisibles. Cette réussite est aussi la tienne, un témoignage de notre lien indéfectible.

À ma chère tante Hassina

Ta bienveillance et ton soutien sans faille ont été les piliers de mon parcours. Chaque succès porte l'empreinte de ton amour et de ton encouragement. Merci d'avoir été ma source d'inspiration constante.

A ma Chère grand-mère, Et à la mémoire de mes chers grands parents.



Sommaire

1. INTRODUCTION.....	1
2. MATERIEL ET METHODES	6
2.1 Présentation de <i>Culex pipiens</i>	6
2.2 Cycle de développement	6
2.3 Méthode d'échantillonnage	8
2.4 Elevage au laboratoire	8
2.5 Présentation de l'espèce végétale (<i>Myrtus communis L.</i>).....	9
2.6 Extraction de l'huile essentielle.....	11
2.7 Calcul du rendement	12
2.8 Analyse de la composition chimique de l'HE	12
2.9 Effet larvicide	13
2.10 Essai Adulticide	14
2.11 Test de répulsion	14
2.12 Extraction et dosage des métabolites	14
2.12.1 Dosage des glucides.....	15
2.12.2 Dosage des lipides	15
2.12.3 Dosage des protéines.....	16
2.13 Analyse des Biomarqueurs.....	16
2.13.1 Evaluation de l'activité de l'acétylcholinestérase.....	17
2.13.2 Dosage des glutathion S-transférases	18
2.13.3 Evaluation de la peroxydation lipidique Malondialdéhyde (MDA)	19
2.14 Dosage des Protéines	20
2.15 Détermination de l'indice d'épuisement des réserves nutritives	20
2.16 Effet de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> sur de la capacité de reproduction de <i>Culex pipiens</i>	20
2.17 Traitement statistique des résultats	21
3. RESULTATS	22
3.1 Rendement de l'huile essentielle du <i>Myrtus communis L.</i>	22
3.2 Analyse chimique de l'HE extraite du <i>Myrtus communis L</i> par CPG-SM.....	22
3.3 Evaluation de l'effet toxique de l'huile essentielle de <i>M. communis</i> a l'égard des larves	25
3.4 Bio essai Adulticide	28
3.5 Répulsion	31
3.6 Effets de l'HE du <i>Myrtus communis</i> sur le développement de <i>Culex pipiens</i>	33
3.7. Effet de l'HE de <i>M. communis</i> sur les aspects morphologiques induits	36
3.8 Effets de l'HE du <i>Myrtus communis</i> sur les métabolites.....	38



3.8.1 Effet de l'HE du <i>Myrtus communis</i> sur le taux de glucides	38
3.8.2 Effet de l'HE du <i>Myrtus communis</i> sur le taux de lipides	40
3.8.3 Effet de l'HE du <i>Myrtus communis</i> sur le taux de protéines	43
3.9 Effets de l'HE du <i>Myrtus communis</i> sur l'analyse des biomarqueurs chez <i>Cx. pipiens</i>	45
3.9.1 Effets de l'HE du <i>Myrtus communis</i> sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE).....	45
3.9.2 Effets de l'HE du <i>Myrtus communis</i> sur l'activité spécifique des Glutathion S-Transférases (GSTs).....	46
3.9.3 Effets de l'HE du <i>Myrtus communis</i> sur le taux du malondialdéhyde (MDA)	48
3.10 Effet de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> sur le potentiel de la reproduction de <i>Culex pipiens</i>	49
4. DISCUSSION.....	51
4.1. Rendement de l'huile essentielle de la plante du Myrte	51
4.2 Composition Chimique de l'huile essentielle du <i>Myrtus communis</i>	51
4.3 Effet larvicides.....	52
4.4 Effet adulticide	53
4.5 Effet répulsif.....	53
4.6 Effets de l'HE du <i>Myrtus communis</i> sur le développement de <i>Culex pipiens</i>	54
4.7 Effet de l'huile essentielle du <i>Myrtus communis</i> sur les aspects morphologiques induits....	55
4.8 Effets de l'HE du <i>Myrtus communis</i> sur les taux des métabolites	56
4.9 Effets de l'HE du <i>Myrtus communis</i> sur les réponses des biomarqueurs.....	57
4.9.1 Effet sur l'acétylcholinestérase (AChE)	58
4.9.2 Effets sur Les glutathion S-transférases (GSTs).....	58
4.9.3 Effets sur le malondialdéhyde MDA	59
4.10. Effet de l'huile essentielle du <i>Myrtus communis</i> sur le potentiel reproducteur	60
5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	62
6. RÉSUMÉS.....	64
6.1 RÉSUMÉ	64
6. 2 ABSTART	66
المخلص 3.6.....	68
7. REFERNCES BIBLIOGRAPHIQUE	69
ANNEXE : PRODUCTION SCIENTIFIQUE.....	92



Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Cycle de vie du moustique <i>Culex pipiens</i> (Photographie personnelle)	7
2	Adultes <i>Culex pipiens</i> (×8) (Photographie personnelle)	8
3	Elevage au laboratoire (Photographie personnelle)	9
4	<i>Myrtus communis</i> (Myrtacea) (Photographie personnelle)	10
5	Géographie de la zone de récolte du <i>Myrtus communis</i> (Photographie personnelle)	11
6	Appareil utilisé pour l'hydro-distillation (Photographie personnelle)	12
7	Conditions Opératoires de l'analyse par la Chromatographie Gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Photographie personnelle)	13
8	Chromatogramme CPG-SM de l'huile essentielle extraite des feuilles de <i>Myrtus communis</i> (abondance en fonction du temps de rétention en minutes)	22
9	Structure chimique de quelques composés majoritaires de l'HE de <i>M. communis</i>	24
10	Répartition (%) des familles de molécules présentes dans la plante <i>M. communis</i>	25
11	Toxicité de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> à l'égard des larves de quatrième stade nouvellement exuviées de <i>Cx. pipiens</i> à différentes concentrations ($\mu\text{l/ml}$). Mortalité observée (%) ($m \pm \text{SD}$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 larves). Les valeurs indiquées par la même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes selon le test HSD à $P > 0,05$)	26
12	Toxicité de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> à l'égard des larves de quatrième stade nouvellement exuvées de <i>Cx. pipiens</i> à différentes concentrations ($\mu\text{l/ml}$). Mortalité corrigée en (%) : courbe concentration-réponse exprimant la mortalité corrigée et le logarithme des concentrations	27
13	Effet adulticide (%) de l'HE de <i>Myrtus communis</i> appliquée par fumigation à différentes concentrations ($\mu\text{l/ml}$) durant 60 minutes chez les femelles adultes de <i>Culex pipiens</i> ,. ($m \pm \text{SD}$; $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 adultes femelles) : La courbe concentration-réponse représente le taux de mortalité observé en fonction de la concentration logarithmique de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i>	29
14	Effet adulticide de l'HE de <i>Myrtus communis</i> appliqué par fumigation à différentes concentrations ($\mu\text{l/ml}$) durant 60 minutes chez les femelles adultes de <i>Culex pipiens</i> : Évaluation des taux de mortalité chez les adultes femelles et classification des concentrations à l'aide de l'analyse de HSD de Tukey	30
15	Activité répulsive de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> à différentes concentrations contre le moustique <i>Culex pipiens</i> . ($M \pm \text{SD}$, $n = 4$: contenant 40 adultes). Les différentes lettres minuscules au-dessus du même temps d'exposition indique une différence significative, et les différentes lettres majuscules au-dessus du même traitement d'exposition indique une différence significative ($p < 0.05$)	32
16	Effet de l'HE de <i>M. communis</i> sur la durée du développement du 4 ^{ème} stade larvaire (jours) de <i>Culex pipiens</i> ; après traitement avec les concentrations	34



	létales (CL ₅₀ =329,5 µl/ml et CL ₉₀ =737,6 µl/ml) : suivies de la même lettre indiquent une différence significative (P<0.05) (n = 10-35)	
17	Effet de l'HE de <i>M. communis</i> sur la durée du développement nymphal (jours) ; après traitement avec les concentrations létales (LC ₅₀ =329,5 µl/ml et LC ₉₀ =737,6 µl/ml) des larves du 4 ^{ème} stade de <i>Culex pipiens</i> (m ± SD ; n = 3 répétitions contenant chacune de 10-35). Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes p <0,05	35
18	Effet de l'HE de <i>M. communis</i> sur la durée du développement des adultes (jours) ; après traitement avec les concentrations létales (CL ₅₀ =329,5 µl/ml et CL ₉₀ =737,6 µl/ml) des larves du 4 ^{ème} stade de <i>Culex pipiens</i> (m ± SD ; n = 3 répétitions contenant chacune de 10-35). Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes à p <0,05	35
19	Aspects morphologiques après traitement avec l'HE du <i>M. communis</i> chez <i>Cx. pipiens</i> (A : Augmentation de la taille du thorax ; B : malformation faciale de la nymphe ; C : démyélinisation et blocage de mue chez la nymphe ; D : Noircissement de la puppe ; E : Noircissement de la puppe et blocage de l'exuviation F, G : Blocage de la mue imaginale ; H : Augmentation de la taille de l'abdomen et blocage de la ponte (Photographie personnelles)	37
20	Dosage des protéines : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumines (µg) (R ² coefficient de détermination)	38
21	Effet de l'HE de <i>M. communis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur les taux de protéines (µg/mg de tissu) chez les larves du 4 ^{ème} de <i>Cx. pipiens</i> au cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6). Les différentes lettres minuscules au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative, et les différentes lettres majuscules au-dessus du même traitement d'exposition indiquent une différence significative (p < 0,05)	39
22	Dosage des glucides : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de glucose (µg) (R ² coefficient de détermination)	40
23	Effet de l'HE de <i>M. communis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le taux de glucides (µg/mg de tissu) chez les larves 4 ^{ème} de <i>Cx. pipiens</i> au cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6 pour chaque temps)	41
24	Dosage des lipides : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipides (µg) (R ² : coefficient de détermination)	42
25	Effet de l'HE de <i>M. communis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le taux de lipides (µg/mg de tissu) chez les larves 4 ^{ème} de <i>Cx. pipiens</i> au cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6)	43
26	Effet de l'HE de <i>M. communis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le taux d'épuisement des réserves énergétiques (%) chez les larves 4 ^{ème} de <i>Cx. pipiens</i> au cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6)	44
27	Effet de l'HE de <i>M. communis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur l'ACHE (µM/mg de protéines) chez les larves 4 ^{ème} de <i>Cx. pipiens</i> au cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6).	46
28	Effet de l'HE de <i>M. communis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur la GSTs (µM/mn/mg of protéine) chez les larves du 4 ^{ème} de <i>Cx. pipiens</i> au cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6 ; pour chaque durée d'exposition)	47
29	Effet de l'HE de <i>M. communis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le taux de la MDA (µM/mg de protéines) chez les larves du 4 ^{ème} de <i>Cx. pipiens</i> aux cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6 pour chaque temps)	49



30	Effet de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> sur la fécondité (Nombre d'œufs pondus par les femelles) des femelles émergées de larves au quatrième stade traitées de <i>Cx. pipiens</i> (n = 10 femelles ; durée =30 jours).* = p<0.05	50
----	--	----



Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour le dosage des glucides.	10
2	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour le dosage des lipides	11
3	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour le dosage des protéines.	11
4	Rendement et propriétés organoleptiques de l'huile essentielle extraite de <i>Myrtus communis</i>	22
5	Analyse chimique de l'huile essentielle des feuilles de <i>Myrtus communis</i> identifiée par CPG/SM	23
6	Toxicité de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> à l'égard des larves de quatrième stade nouvellement exuvées de <i>Cx. pipiens</i> à différentes concentrations ($\mu\text{l/ml}$). Mortalité observée (%) ($m \pm \text{SD}$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 larves)	26
7	Détermination des concentrations léthales ($\mu\text{l/ml}$) et leurs intervalles de confiance 95% de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> à l'égard des larves de quatrième stade nouvellement exuvées de <i>Cx. pipiens</i>	27
8	Analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm \text{SD}$; $n = 3$ répétitions contenant chacune 25 larves stade 4 nouvellement exuvées) : Toxicité de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> à l'égard des larves de quatrième stade nouvellement exuvées de <i>Cx. pipiens</i> à différentes concentrations ($\mu\text{l/ml}$)	28
9	Effet adulticide de l'HE de <i>Myrtus communis</i> appliquée par fumigation à différentes concentrations ($\mu\text{l/ml}$) durant 60 minutes chez les femelles adultes de <i>Culex pipiens</i> , Mortalité observer en (%) des adultes. ($m \pm \text{SD}$; $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 adultes femelles)	29
10	Effet adulticide de l'HE de <i>Myrtus communis</i> appliqué par fumigation à différentes concentrations ($\mu\text{l/ml}$) durant 60 minutes chez les femelles adultes de <i>Culex pipiens</i> : Évaluation des taux de mortalité et classification des concentrations de mortalité des adultes (CL en $\mu\text{l/ml}$ d'air) et leurs intervalles de confiance à 97%	30
11	Toxicité de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> à l'égard des adultes femelles de <i>Cx. pipiens</i> à différentes concentrations ($\mu\text{l/ml}$) : Analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm \text{SD}$; $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 Adulte femelle)	31
12	Activité répulsive de l'huile essentielle (HE) de <i>Myrtus communis</i> à différentes concentrations contre le moustique <i>Culex pipiens</i> . ($m \% \pm \text{SD}$, $n = 4$: contenant 40 adultes). Les différentes lettres minuscules au-dessus du même temps d'exposition indique une différence significative, et les différentes lettres majuscules au-dessus du même traitement d'exposition indique une différence significative ($p < 0.05$)	32
13	Analyse de la variance à deux critère de classification ($m \pm \text{SD}$; $n = 4$ répétitions contenant chacune 40 Adulte femelle) : Activité répulsive de l'huile essentielle (HE) de <i>Myrtus communis</i> à différentes concentrations à l'égard de <i>Culex pipiens</i>	33



14	Effet de l'HE de <i>M. communis</i> sur la longévité des stades de développement (jour) après traitement (CL 50 et CL90) des larves du 4ème stade de <i>Culex pipiens</i> ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions contenant chacune de 10-35). Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes à $p < 0,05$	34
15	Analyse de la variance à deux critères de classification : Effet de l'HE de <i>M. communis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le taux de protéines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les larves 4 ^{ème} de <i>Cx. pipiens</i> au cours du temps (Heures) ($m \pm SD$, $n = 6$)	39
16	Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur le taux de glucides ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les larves 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> au cours du temps (Heures) ($m \pm SD$, $n = 6$) durant le traitement par l'HE de <i>M. communis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀).	41
17	Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur le taux de lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les larves 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> au cours du temps (Heures) ($m \pm SD$, $n = 6$) durant le traitement par l'HE de <i>M. communis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀)	43
18	Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) le taux d'épuisement des réserves énergétiques (%) chez les larves 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> au cours du temps (Heures) ($m \pm SD$, $n = 6$) durant le traitement par l'HE de <i>M. communis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀).	45
19	Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Chez les larves 4 de <i>Cx. pipiens</i> au cours du temps (Heures) ($m \pm SD$, $n = 6$) durant le traitement par l'HE de <i>M. communis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀)	46
20	Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de la glutathion s transférase chez les larves 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> au cours du temps (Heures) durant le traitement par l'HE de <i>M. communis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀)	48
21	Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de la molandialdheyde ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> au cours du temps (Heures) durant le traitement par l'HE de <i>M. communis</i> (CL ₅₀ et CL ₉₀)	49
22	Effet de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> sur certains paramètres de reproduction chez les femelles adultes issues des larves du quatrième stade traitées de <i>Cx. pipiens</i> ($m \pm SD$, $n = 3$ comportant chaque une 10 femelles)	50

INTRODUCTION



1. INTRODUCTION

Les moustiques, l'un des insectes hématophages les plus dangereux au monde sont reconnus comme des insectes médicalement pertinents, qui transmettent de nombreuses maladies infectieuses aux humains et autres animaux par le biais de pathogènes et de parasites (Ragavendran *et al.*, 2024). Les maladies transmises par les moustiques sont responsables d'environ d'un million de décès chaque année dans le monde, notamment dans les régions endémiques (Yang *et al.*, 2020; Sangeetha *et al.*, 2021 ; OMS 2023). Il est estimé que chaque année, environ 50 millions d'infections par la dengue se produisent (Huang *et al.*, 2020). Selon l'OMS ces maladies, pourraient toucher plus de 40 % de la population mondiale d'ici 2050, dont la moitié seront exposés à la transmission d'arbovirus (Shaw et Catteruccia, 2019 ; Jone *et al.*, 2021). En raison du manque de vaccins et l'absence de traitement pour ces maladies, les mesures de prévention se focalisent sur la lutte contre les populations de moustiques larvaires et adultes à l'aide d'insecticides et de répulsifs qui ont été jugés les plus efficaces pour limiter leurs prolifération (Jone *et al.*, 2021).

Culex pipiens est le moustique domestique le plus répandu en Algérie, avec une forte répartition dans les zones urbaines. Une étude systématique des culicidés, dans le nord-est de l'Algérie (région d'Annaba), a révélé une abondance de 55,83 % de cette espèce et sa présence a été enregistrée toute l'année en raison de l'augmentation de la température due aux changements climatiques (Arroussi *et al.*, 2021). L'élévation potentielle de la température mondiale de l'ordre de 3,5°C accroît les probabilités de survie de diverses maladies, en particulier celles transmises par ces derniers (Wong et Jim, 2016).

Les moustiques sont parmi les insectes les plus adaptables, opportunistes, anthropophiles et domestiques, ayant une activité hématophage quotidienne, et leurs succès adaptatif est lié à des environnements domestiques ou péri-domestiques favorables, incluant des zones de



reproduction dans l'eau, une croissance rapide et des œufs qui résistent à la déshydratation (Ma *et al.*, 2023). Les facteurs tels que le mauvais assainissement, les méthodes agricoles, l'urbanisation rapide, la gestion de l'eau et la déforestation jouent un rôle crucial dans la résistance des moustiques (Choudhury et Gupta, 2017). Ces caractéristiques posent des obstacles à la bonne gestion de cet insecte.

Les insecticides synthétiques et neurotoxiques sont couramment utilisés pour contrôler les moustiques (Ioannou *et al.*, 2021). Cependant, l'utilisation intensive et répétée des pesticides conventionnels pour le contrôle des moustiques a eu un impact négatif sur les organismes non ciblés et sur l'environnement. Ces derniers causent une accumulation de ces composés dans l'environnement qui pourrait causer des dommages à l'écosystème en affectant les plantes aquatiques et les animaux (Hashimi *et al.*, 2020), sans oublier le coût opérationnel élevé de la prévention de la contamination environnementale lors de l'utilisation d'insecticides synthétiques pour le contrôle des vecteurs (Sgheir *et al.*, 2023).

Les produits synthétiques sont utilisés depuis 1950 et sont efficaces à faible dose. Cependant, en raison des préoccupations concernant les effets secondaires, la toxicité écologique et l'apparition de résistances dans certains secteurs, il y a eu un regain d'intérêt pour les répulsifs naturels et respectueux de l'environnement à base de plantes (Iovinella *et al.*, 2022).

Dans ce contexte de lutte intégrée contre les ravageurs et les vecteurs de maladies, en raison du développement rapide de la résistance des insectes et de l'augmentation de la pollution environnementale, l'utilisation des insecticides conventionnels n'est plus encouragée (Sanei-Dehkordi *et al.*, 2022).

De ce fait l'usage des organochlorés a considérablement diminué à partir des années 1970 dans différentes régions du monde, ce qui a conduit au retrait de plusieurs de ces composés du marché mondial des pesticides (Sanei-Dehkordi *et al.*, 2021). Depuis, les entreprises agrochimiques ont développé et commercialisé des substances synthétiques à faible impact environnemental pour remplacer les pesticides conventionnels (Ma *et al.*, 2023).

En même temps que ces avancées, l'intérêt pour l'utilisation de substances naturelles a renoué avec le devant de la scène. Ces dernières sont soit d'origine animale, végétale ou encore microbienne (Pavela *et al.*, 2016). Les huiles essentielles (HEs) sont testés contre différents ordres d'insectes (Yang *et al.*, 2020). Selon des constats récents, les insecticides



d'origine botanique sont de plus en plus utilisés comme alternatives sûres aux insecticides chimiques et synthétiques conventionnels pour le contrôle des moustiques dans le secteur de la santé publique, de manière durable et écologiquement responsable (Zahoor *et al.*, 2020). Les produits naturels sont économiques, respectueux de l'environnement, disponible dans les pays en développement (Benelli *et al.*, 2018).

Les huiles essentielles végétales sont des composés organiques odorants volatils (COV) avec des constituants à saveur/parfum et immédiatement sublimant ou évaporant provenant de différentes parties des plantes (Mun et Townley, 2021). Ces mélanges complexes sont généralement riche en monoterpènes/sesquiterpènes et se caractérisent par leurs composants majeurs, qui influencent principalement leurs propriétés biologiques (Pavela *et al.*, 2017).

Diverses familles de plantes ont montré une activité insecticide, en raison de la présence notable d'huiles essentielles et de leurs composés principaux, contre les insectes vecteurs (Bendjedid *et al.*, 2022). Les dérivés de plantes ont été testés et utilisés comme agents ovicides, larvicides, adulticides et répulsifs contre les insectes et les résultats ont montrés des alternatives prometteuses (Đuki' *et al.*, 2023). En outre, il a été démontré que l'exposition à des mélanges divers de composés biosynthétiques différents présents dans les extraits de plantes peut retarder la résistance. (Isman, 2000). En raison du mélange d'ingrédients actifs avec des modes d'action multiples, la résistance aux HEs peut se développer plus lentement que celle envers les insecticides synthétiques (Park et Tak, 2016).

Ainsi, les HEs pourraient éventuellement remplacer les insecticides chimiques dans le contrôle des arthropodes d'importance médicale et agricole (Campos *et al.*, 2019), Les composés allélochimiques issus d'extraits de plantes ont un effet significatif sur les insectes, et sont souvent employés comme une approche alternative et complémentaire aux insecticides organiques (Dubey, 2011).

Les HEs aux propriétés répulsives contiennent souvent du citronellal, du limonène et de l' α -pinène, des recherches récentes ont démontré que certains d'entre eux entraînent l'activation des récepteurs olfactifs dans les sensilles antennaires des moustiques. La plateforme de criblage des répulsifs basée sur la détection des odeurs pourrait offrir une nouvelle approche pour créer des répulsifs avec des mécanismes d'action uniques contre les arthropodes (Sritabutra et Soonwera 2013; Ahmadi *et al.*, 2017).



Par conséquent, les huiles essentielles (HEs) d'origine végétale, qui possèdent de fortes qualités répulsives et une toxicité minimale pour l'environnement et l'homme, ont été explorées comme substitut aux insecticides synthétiques traditionnels (Nerio *et al.*, 2010 ; Khanikor *et al.*, 2013). Après avoir examiné plus de trois mille HEs provenant de différentes plantes, environ dix pour cent d'entre elles sont commercialisées comme insecticides et répulsifs potentiels (Mihajilov *et al.*, 2014).

D'après Haubruge et Amichot (1998), En contact avec les insectes, les huiles essentielles pénètrent dans leur organisme et perturbent le fonctionnement biologique en atteignant rapidement ou non le niveau cellulaire des enzymes et des protéines concernées. La présence des lipides amplifie leur impact sur les fonctions métaboliques, biochimiques, physiologiques et comportementales cruciales des insectes (Nishimura, 2001 ; Aouadi *et al.*, 2020).

Néanmoins, l'efficacité des insecticides biologiques peut être affectée par divers facteurs, notamment les conditions environnementales, la forme physique des moustiques, leur résistance à l'insecticide, les composants de la plante utilisée, les solvants employés lors des étapes d'extraction, la dose d'insecticide et la durée d'exposition. Un taux de mortalité inférieur à 98 % peut indiquer une résistance, qui devrait être confirmée par des analyses biochimiques et moléculaires (Deletre *et al.*, 2019).

La famille des Myrtaceae, a été évaluée pour ses propriétés médicinales et aromatiques (Tuberoso *et al.*, 2010), elle est composée de nombreuses espèces, peut être explorée pour son potentiel bioinsecticides (Pratiwi et Nurlaeni 2021). L'établissement des propriétés insecticides, associé à une sécurité toxicologique démontrée et à une biodégradabilité facilitée par les mécanismes naturels des écosystèmes (Silv'erio *et al.*, 2020), impose la nécessité de recherches plus approfondies sur les huiles essentielles pour le développement d'insecticides/répulsifs (Silva *et al.*, 2022).

Myrtus communis, est une espèce médicinale et aromatique qui est endémique de la région méditerranéenne (Tuberoso *et al.*, 2010). Des études précédentes ont confirmé que *M. communis* possède des propriétés antibactériennes, antifongiques (Aissaoui *et al.*, 2024 ; Hayani *et al.*, 2024), anti-inflammatoire (Belahcene *et al.*, 2023), Anti-protazoaires (Belmimoun *et al.*, 2016), antiparasitaires et antispasmodiques (Shaapan *et al.*, 2021). Anti-génotoxiques et antimutagènes (Hayder *et al.*, 2003 ; Hassan *et al.*, 2020), anti-oxydantes (Hennia *et al.*, 2019) et Hypoglycémiques (Tas *et al.*, 2018 ; Talebianpoor *et al.*, 2019), ainsi



que d'autres utilisations médicales (Roozitalab *et al.*, 2022 ; Benddine *et al.*, 2023 ; Giuliani *et al.*, 2023).

C'est dans cette optique que se situe l'intérêt de cette étude, de découvrir et de saisir le mécanisme d'action de l'huile essentielle d'une plante aromatique endémique *myrtus communis*, valoriser son activité insecticide et évaluer son effet comme produit alternatif aux pesticides conventionnels dans le contrôle d'un insecte à intérêt médicale *Culex pipiens* dont les objectifs principaux se résument dans les volets suivants :

- Caractérisation quantitative et qualitative de la composition chimique d'huile essentielle de *Myrtus communis* par (CG-SM)
- L'activité insecticide (larvicide et adulticide) a permis de déterminer les concentrations de mortalités létales et sublétales.
- Effet répulsif de l'huile essentielle de *Myrtus communis*.
- Développement et aspects morphologique induit
- Analyse des réponses biochimiques de différents biomarqueurs de neurotoxicité acétylcholinestérase (AChE), de détoxification des Glutathion S-Transférases (GSTs) et de la peroxydation lipidique malondialdéhyde (MDA).
- Evaluation des effets de l'huile essentielle sur les variations des réserves d'énergie (glucides, lipides et protéines) indiquent une altération l'indice d'épuisement énergétique.
- La capacité de reproduction.

MATERIEL ET METHODES



2. MATERIEL ET METHODES

2.1 Présentation de *Culex pipiens*

Les moustiques, sont des insectes hématophages. La famille des Culicidés renferme approximativement 3500 espèces et 41 genres décrits à travers le monde (Berchi *et al.*, 2012). Ils sont largement dans les zones urbaines représentés par le moustique domestique *Culex pipiens* (Arroussi *et al.*, 2021). La classification taxonomique selon Linné (1758) :

- **Règne :** Animalia
- **Embranchement :** Arthropoda
- **Sous-embranchement :** Hexapoda
- **Classe :** Insecta
- **Ordre :** Diptera
- **Sous-ordre :** Nématocera
- **Famille :** Culicidae
- **Sous famille :** Culicinae
- **Genre :** Culex
- **Espèce :** *pipiens* (Linné, 1758)

2.2 Cycle de développement

La vie du moustique s'étend de 12 à 20 jours (Carnevale *et al.*, 2009), et passe par de nombreux stades de développement, divisés en deux stades (Yeed *et al.*, 2004). Les œufs, les larves et les nymphes sont aquatiques alors que l'adulte a une vie aérienne (Bendali *et al.*, 2001) (Fig. 1).

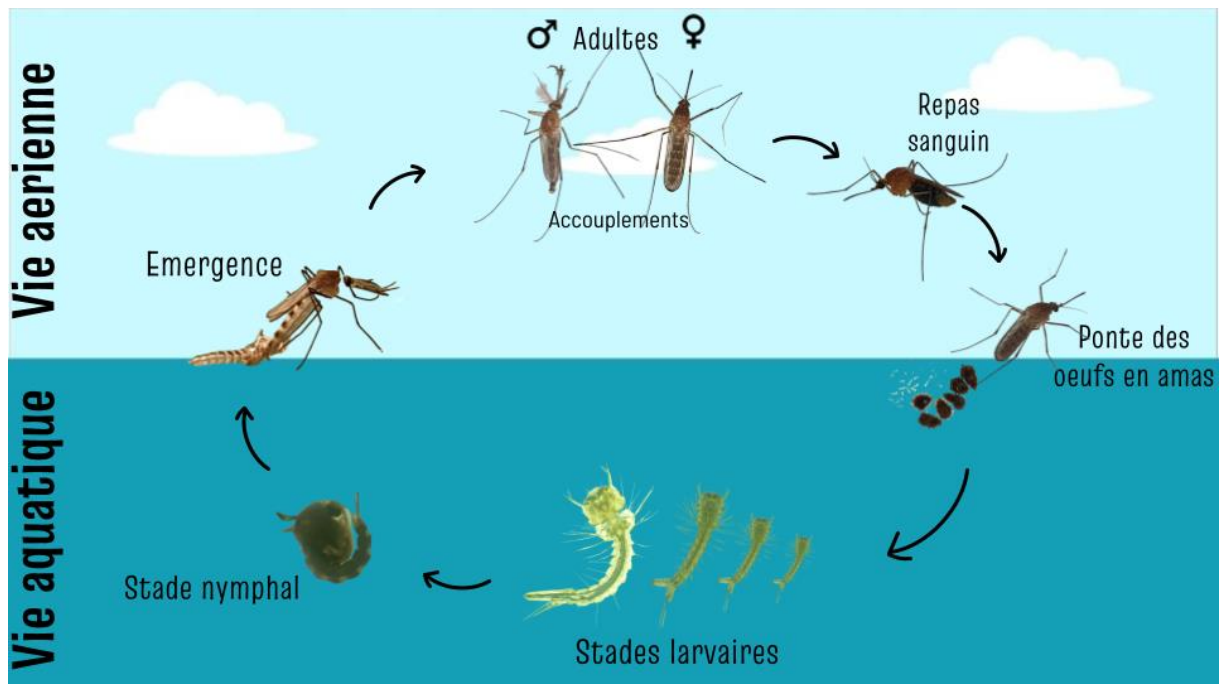


Figure 1. Cycle de vie du moustique *Culex pipiens* (Photographie personnelle)

Œufs : La femelle s'accouple une seule fois durant sa vie, (Schaffner *et al.*, 1992), suite à l'accouplement, qui a lieu peu après l'émergence, les femelles fécondées déposent (pondent) les œufs (Bendali, 1989) à la surface de l'eau en nacelle (Urquhart *et al.*, 1996). Les œufs de forme cylindriques nouvellement pondus sont de couleurs blanchâtres mais deviennent gris ou noirs avec le temps (Rhodain et Perez, 1985).

Stade larvaire : Le stade larvaire dure environ 10 jours et l'évolution de la larve passe par 4 stades de développement, séparés par une mue qui lui permet de passer de 2 à 12 mm (Lenormand, 1998).

Stade nymphal : Le stade nymphal est un stade de transition au métabolisme extrêmement actif, au cours duquel l'insecte subit de très profondes transformations morphologiques et physiologiques qui l'amènent du stade larvaire, aquatique et saprophyte, à la forme adulte, aérienne et habituellement hématophage chez les femelles (Alayat, 2012).

Stade adulte : La forme adulte, ou imago, du moustique mesure entre 3 et 10 mm de longueur selon l'espèce. Les femelles se distinguent facilement des mâles qui présentent des antennes plumeuses au niveau de la tête (Fig. 2). Les femelles possèdent de plus, de longues pièces buccales caractéristiques de type piqueur suceur (Harbach, 2007).

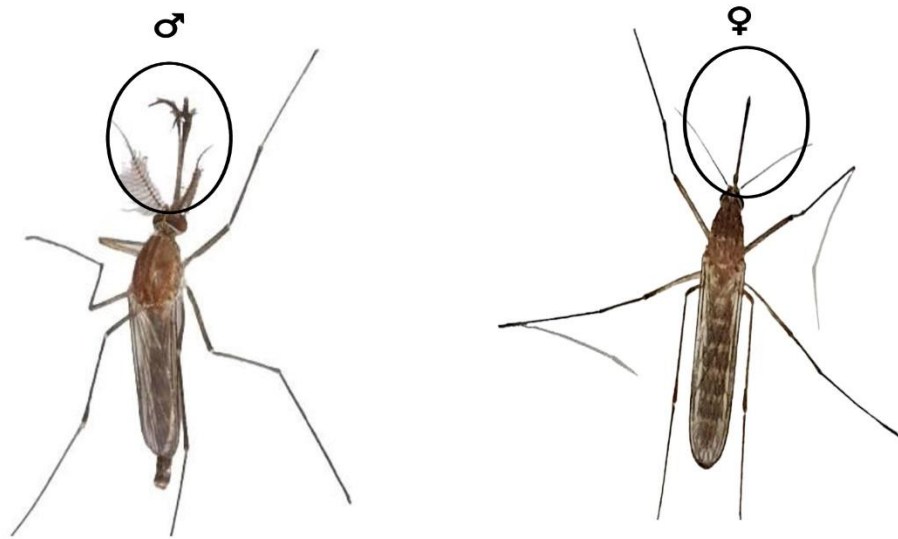


Figure 2. Adultes *Culex pipiens* (×8) (Photographie personnelle).

2.3 Méthode d'échantillonnage

Les récoltes des larves sont réalisées dans des gîtes situés dans la commune de Sidi Ammar. Le prélèvement des larves a été réalisé à l'aide d'une louche plongée dans l'eau du gîte, on déplace la louche d'un mouvement uniforme en évitant les remous, basé sur la méthode de dipping pour la collecte (Croset et Silver, 2008). La récolte des larves est faite dans des bacs en plastique puis transvasées dans des bouteilles en plastiques de cinq litre remplies d'eau de gîte. Une fois au laboratoire, les larves sont placées dans des récipients.

2.4 Elevage au laboratoire

L'élevage de moustiques a été effectué selon les conditions de laboratoire (Fig .3). Une température moyenne de $24,25 \pm 1,47$ °C (Kirby et Lindsay, 2004), une photopériode quotidienne de 14 à 10 heures et une humidité relative de 55 %. L'eau est renouvelée deux fois par semaine (Bendali *et al.*, 2001).



Figure 3. Elevage au laboratoire (Photographie personnelle).

2.5 Présentation de l'espèce végétale (*Myrtus communis* L.)

Myrtus communis, également connu sous le nom de Myrte ou « A'Rihène » en Algérie, est un type de plante à fleurs appartenant à la famille des Myrtaceae, elle englobe 145 genres et plus de 5500 espèces (Mir *et al.*, 2024). Le genre *Myrtus* comprend des plantes à fleurs qui regroupent environ 16 espèces (Bugarin *et al.*, 2024).

Le Myrte est décrit par Linnaeus en 1753, sa classification taxonomique botanique est la suivante :

- **Règne** : Plantae
- **Sous règne** : Tracheobionta
- **Embranchement** : Mangnoliophyta
- **Sous embranchement** : Magnomiophyta
- **Sous classe** : Rosidea
- **Ordre** : Myrtales
- **Famille** : Myrtaceae
- **Genre** : *Myrtus*
- **Espèce** : *communis* L.

C'est un arbuste ou petit arbre sclérophylle, mesurant de 1,8 à 2,4 mètres de hauteur, avec un feuillage étroit et une écorce profondément fissurée (Matsehorova et Odyntsova, 2024). Les branches d'un myrte authentique se distinguent par leurs formes pleines et serrées, recouverte d'une épaisse couche de feuilles persistantes, qu'elles soient ovales ou lancéolées (Mourra *et al.*, 2023). Cette espèce est une plante très aromatique en raison de la forte teneur en huile essentielle dans ses glandes foliaires, florales et fruitières (Aissaoui *et al.*, 2024). Elle possède des fleurs solitaires axillaires blanches ou rosées, suivies d'une baie noire à plusieurs graines, de forme sphérique et de couleur rouge foncé à violette (El Hamadi *et al.*, 2024) (Fig. 4).



Figure 4. *Myrtus communis* (Myrtaceae) (Photographie personnelle).

Le myrte (*M. communis* L.) est une plante médicinale endémique de la flore méditerranéenne. La plante pousse abondamment du nord-ouest à l'est de la Méditerranée, y compris dans les pays limitrophes et en Asie occidentale, ainsi que dans les régions égéennes (Baytop 1997). Cette plante est également distribuée en Amérique du Sud, dans le nord-ouest de l'Himalaya et en Australie (Romani *et al.*, 1999). En Algérie, on peut trouver le Myrte dans les forêts de chêne et de pin d'Alep, du Tell et la côte (Mohammadi *et al.*, 2021). On peut le trouver en grande quantité dans la région d'Annaba, notamment à Séraïdi. Dans le Hoggar et le Tassili, on trouve une autre espèce (*Myrtus nivellei* L.), dont les feuilles sont très prisées par les Touaregs (Bouzabata, 2015). Cependant, plusieurs botanistes ne considèrent pas *M. nivellei* suffisamment distinct pour être considéré comme une espèce à part entière. Il est répertorié comme une espèce en danger (Ebrahimabadi *et al.*, 2016).

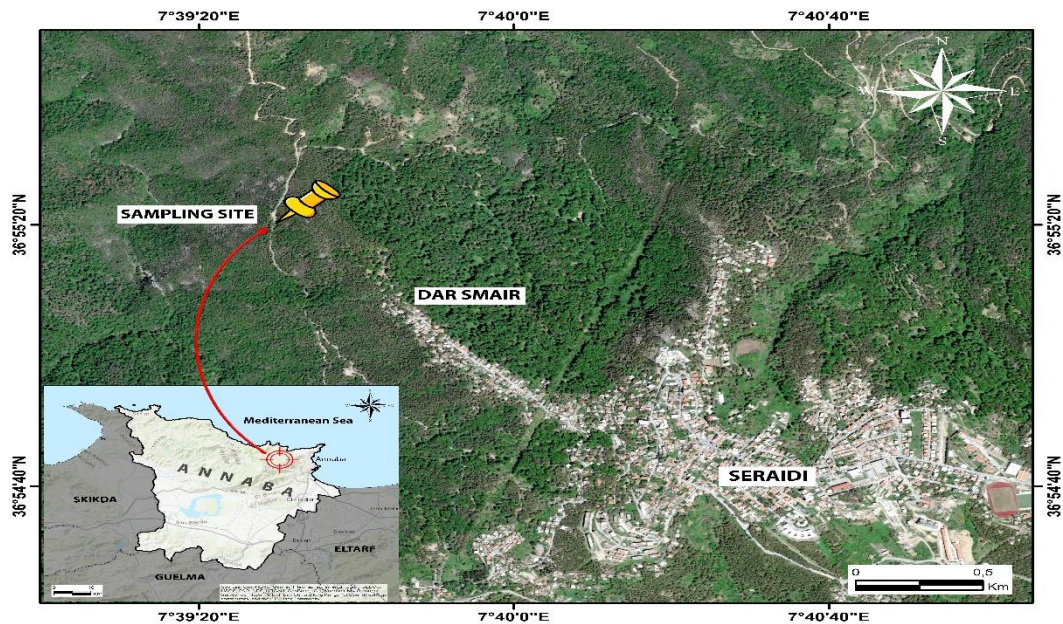


Figure 5. Géographie de la zone de récolte du *Myrtus communis* (Photographie personnelle).

Les vertus du Myrte vont bien au-delà de la simple odeur plaisante qu'il dégage par ses feuilles. Il a de multiples vertus thérapeutiques et il est couramment employé dans le domaine du cosmétique (Mir *et al.*, 2024).

En Algérie il est utilisé pour soigner les problèmes respiratoires tels que la bronchite, la sinusite, l'otite moyenne et les hémorroïdes. Le myrte est également réputé en Algérie pour ses vertus anti-inflammatoires et hypoglycémiantes (Beloued *et al.*, 1998). En Grèce, le myrte joue un rôle crucial en tant que traitement, antiseptique, pour traiter les problèmes gastro-intestinaux (Blerot *et al.*, 1999).

2.6 Extraction de l'huile essentielle

La plante a été récoltée aux alentours de la région de Séraïdi, Annaba ($36^{\circ} 55' 20.2''$ N $7^{\circ} 39' 29.8''$ E) (Fig. 6). Les feuilles ont été triées au laboratoire et utilisées fraîches le jour même de la récolte, l'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydro-distillation de type cleverger.



Figure 6. Appareil utilisé pour l'hydro-distillation (Photographie personnelle).

2.7 Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle des feuilles fraîche du myrte est calculé selon cette équation :

$$\text{Rendement en pourcentage} = \text{Poids de feuilles fraîche (g)} / \text{Poids de l'extrait de l'HE} \times 100$$

2.8 Analyse de la composition chimique de l'HE

L'analyse chimique de l'huile essentielle a été effectuée en utilisant la chromatographie en phase gazeuse associée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (Fig. 7).

Le spectromètre de masse a été utilisé pour réaliser l'analyse qualitative et quantitative CPG-Spectrométrie de masse (SM) "Quadrupolaire" qui opérait à une tension de 70V. Selon [Jennings et Shibamoto \(1980\)](#), la détection des composants se fait en comparant les temps de rétention avec ceux des normes de référence correspondantes, en utilisant la bibliothèque NISTE02 et WILEY 7n.



L'identification des constituants est réalisée en comparant leurs indices de rétention (IR) calculés par rapport à une série d'alcane (C8-C28) avec interpolation linéaire sur les deux colonnes, avec ceux des composés de référence présents dans la table d'ADAMS (Adams, 2007). Le pourcentage des composés a été déterminé en se basant sur la surface des pics chromatographiques.

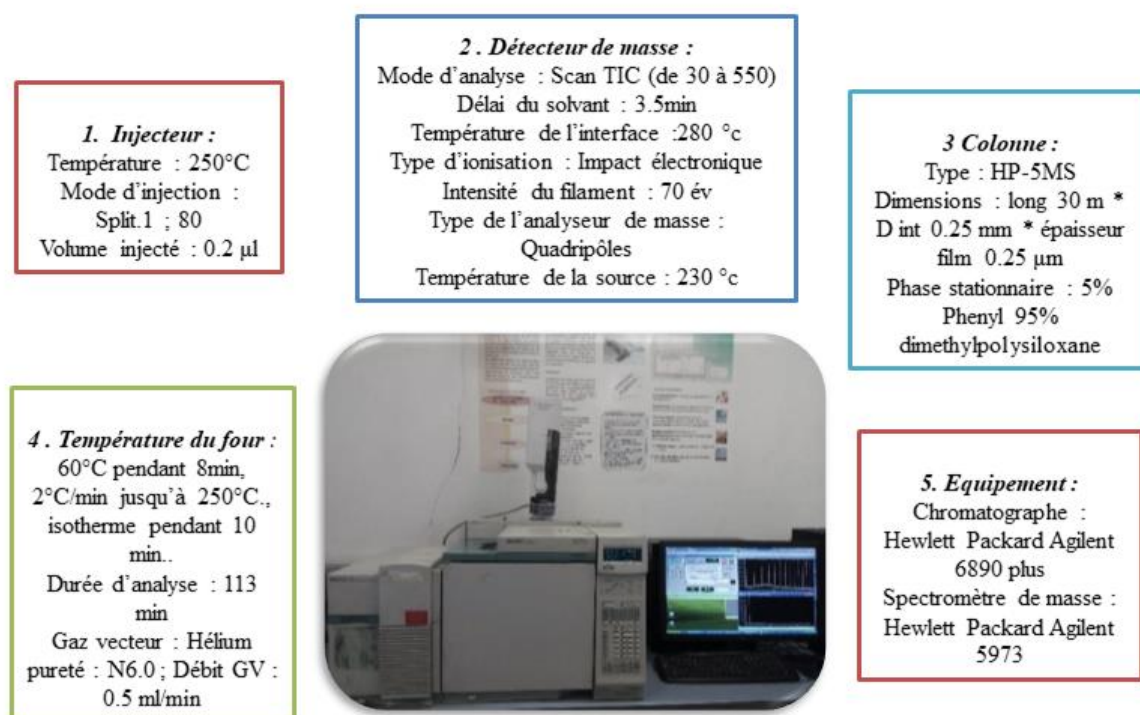


Figure 7. Conditions opératoires de l'analyse par la Chromatographie Gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Photographie personnelle).

2.9 Effet larvicide

Dans 1 ml de solvant, selon les recommandations de la WHO, (2005), l'HE a été testé à différentes concentrations (100, 200, 400, 600, 700 µl/ml d'éthanol), trois répétitions de 25 larves du 4^{ème} stade larvaire, ont été effectuées pour chaque concentration. Les larves sont rincées puis placées dans de nouveaux récipients après 24h d'exposition à l'HE. Les mortalités ont été enregistrées jusqu'à la fin du 4^{ème} stade larvaire.



2.10 Essai Adulticide

Après un screening préalable, l'HE de *Myrtus communis L.* a été appliquée à différentes concentrations : 0,15 ; 0,25 ; 0,5 ; 0,75, 1 et 1,25 µl/ml d'air sur papier filtre collé à l'intérieur du couvercle.

Une fois les femelles de *Cx. pipiens* sont dans des bouteilles de 250 ml, trois répétitions de 10 individus ont été utilisées pour chaque concentration. Une série témoin est conduite en parallèle. Après une heure de traitement les mortalités sont prélevées.

2.11 Test de répulsion

Des femelles nullipares de *Culex pipiens* sont misent dans des cages afin d'examiner l'effet répulsif du Myrte selon la méthode de [Zhu et Zeng \(2006\)](#). Différentes concentrations de l'huile essentielle 20, 10, 7, 4 µl (diluées dans 1 ml d'acétone), ont été appliquées sur la zone de traitement (3×3 cm) sur le bras des bénévoles. Après avoir appliqué l'HE sur la peau de la main, on a laissé sécher pendant une durée de 30 secondes. La même quantité d'acétone sans répulsif a été appliquée sur l'autre main selon la même méthode, servant de contrôle.

La peau des bénévoles a été exposée dans une cage (30×40×40 cm) contenant 40 moustiques femelles nullipares (âgées de 4 à 6 jours) pendant 3 minutes, (3 minutes à des intervalles de 5, 15, 30, 60 et 90 minutes), la main a été insérée à l'intérieur de la cage. Le nombre de moustiques testés mordant la peau a été enregistré. Quatre volontaires humains ont participé aux tests de répulsion de l'huile essentielle. La répulsion a été calculée en utilisant la formule de [Zhu et Zeng \(2006\)](#).

$$(R) (\%) = [(Rc - Rt)] \times 100$$

Rc : nombre de moustiques dans le groupe témoin.

Rt : nombre de moustiques dans le groupe traité.

2.12 Extraction et dosage des métabolites

Les principaux composés biochimiques des larves du 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* ont été extraits en utilisant la méthode de [Shibko et al. \(1966\)](#). Une fois que le broyage aux ultrasons (Sonifier B-30) et la centrifugation (5000 tours/min pendant 10 mn) ont été effectuées, le surnageant I est récupéré et sera utilisé pour mesurer les glucides totaux. Après avoir ajouté 1



ml d'un mélange éther/chloroforme (1V/1V) au culot I, on procède à une seconde centrifugation (5000 tours/min pendant 10 min). Le surnageant II sera utilisé pour mesurer les lipides (Goldsworthy *et al.*, 1972), tandis que le culot II dissout dans la soude (0,1 N) sera utilisé pour mesurer les protéines (Bradford, 1976).

2.12.1 Dosage des glucides

Les glucides sont dosés selon la méthode de Duchateau et Florkin, (1959). Cette méthode utilise l'anthrone comme réactif (150 mg d'anthrone, 75ml d'acide sulfurique et 25 ml d'eau distillée), 4 ml de réactif d'anthrone sont additionnés à 100 µl du surnageant I contenu dans un tube à essai et de chauffer le mélange à 80 °C pendant 10 mn, une coloration verte se développe dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des glucides présents dans l'échantillon. L'absorbance est lue à 620 nm contre un blanc de gamme. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (Sigma-Aldrich, USA) (1 mg/ml d'eau distillée) comme standard (Tableau 1).

Tableau 1 : Réalisation de la gamme d'étalonnage pour le dosage des glucides.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Glucose (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillé (µl)	100	80	60	40	20	0
Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

2.12.2 Dosage des lipides

Les lipides ont été déterminés selon la méthode Goldsworthy *et al.* (1972), en utilisant la vanilline comme réactif (0,38 g vanilline, 55 ml eau distillée, 195 ml acide orthophosphorique 85%) et une solution mère des lipides (2,5 mg d'huile de tournesol (Cevital, Algérie), 99 % de triglycérides dans 1 ml de solvant éther /chloroforme V/V) comme standard (Tableau 2). Le dosage est réalisé sur des prises aliquotes de 100 µl des extraits lipidiques auxquelles on ajoute 1 ml d'acide sulfurique (96 %). Après agitation et chauffage dans un bain à sable à 100 °C pendant 10 mn, puis refroidissement, 200 µl sont repris dans 2,5 ml du réactif de la vanilline. Après 30 minutes dans l'obscurité, une coloration rose se développe. Les absorbances ont été lues à une longueur d'onde de 530 nm contre un blanc de gamme.

**Tableau 2** : Réalisation de la gamme d'étalonnage pour le dosage des lipides.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Ether/Chloroforme (µl)	100	80	60	40	20	0
Quantité de lipides (µg)	0	50	100	150	200	250
Réactif de vanilline (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

2.12.3 Dosage des protéines

Les protéines ont été mesurées en utilisant la méthode de [Bardford, \(1976\)](#) sur une fraction aliquote de 0,1 ml de l'homogénat avec 4 ml de bleu brillant de Coomassie (BBC) (G 250, Merk) comme réactif (50 mg de bleu brillant de Coomassie, 25 ml d'éthanol (95%), 50 ml d'acide orthophosphorique (85%) et compléter avec 500 ml d'eau distillée). Les absorbances sont mesurées à une longueur d'onde de 595 nm, et la gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution l'albumine de bœuf (Sigma, France) (1 mg/ml) comme standard conformément aux instructions suivantes ([Tableau 3](#)) :

Tableau 3 : Réalisation de la gamme d'étalonnage pour le dosage des protéines.

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

2.13 Analyse des Biomarqueurs

On a évalué l'influence de l'huile essentielle de *M. communis* sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE), des GSTs et du Malondialdéhyde (MDA) sur les larves du quatrième stade des séries témoins et traitées à deux concentrations létales : CL₅₀ et CL₉₀, à des heures d'expositions couvrant les périodes de 24, 48, 72 et 96 heures. Afin d'évaluer l'activité spécifique, on a préalablement calculé la concentration en protéines totales des différents échantillons en utilisant la méthode de [Bradford, \(1976\)](#),



2.13.1 Evaluation de l'activité de l'acétylcholinestérase

Une enzyme essentielle du système nerveux des insectes, l'acétylcholinestérase, assure la réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine en choline et acide éthanoïque (acétique). Le bon fonctionnement des synapses cholinergiques nécessite l'utilisation de cette enzyme (Haubruge et Amichot, 1998).

On évalue l'acétylcholinestérase (AChE), selon la méthode d'Ellman *et al.* (1961), en fournissant à l'enzyme un substrat, l'acéthylthiocholine (ASCh), dont l'hydrolyse produit de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. En présence de 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acide DTNB (réactif d'Elman), la thiocholine se transforme en un complexe jaune dont l'intensité est mesurée à une longueur d'onde de 412 nm.

Les larves du quatrième stade de *Cx. pipiens* témoins et traitées (CL₅₀ et CL₉₀) prélevées à différentes périodes (24, 48, 72 et 96 heures), sont homogénéisées dans 1 ml d'une solution détergente D [38,03 mg EGTA (éthylène glycol-tris, β-aminoéthyl éther NNN'N'), 1ml Triton X 100, 5,845 g NaCl (chlorure de sodium), 80 ml tampon tris (10mM, pH 7)]. Après centrifugation (5000 trs / min pendant 5 min), le surnageant est récupéré et servira comme source d'enzyme. L'essai est conduit avec 6 répétitions comportant chacune un pool de 15 individus pour chaque concentration et la série des témoins.

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

$$X = \Delta Do / mn \cdot 1,36 \times 10^2 \times VtVs / \text{mg de protéines}$$

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



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

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

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

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

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

2.13.2 Dosage des glutathion S-transférases

On évalue l'activité des glutathion S-transférases (GSTs) en utilisant la méthode de [Habig et al. \(1974\)](#). Elle repose sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4 dinitrobenzène), en présence d'un cofacteur, le glutathion (GSH).

Les larves du quatrième stade de *Cx. pipiens* témoins et traitées, prélevées à différentes périodes sont broyées dans 1 ml de tampon phosphate de sodium (0,1 M, pH 6). L'homogénat obtenu est centrifugé à une vitesse de 14000 trs/min à une température de 4°C pendant 30 minutes, et le surnageant récupéré sera utilisé pour évaluer l'activité des GSTs. Le dosage consiste de mélanger 200 μl de surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1mM)/GSH (5mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1 ml d'éthanol, 100 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 6)]. La mesure des absorbances est réalisée chaque minute pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm à l'aide d'un spectrophotomètre visible/UV, en utilisant un blanc contenant 200 μl d'eau distillée pour remplacer la quantité du surnageant. L'essai est conduit avec 6 répétitions comportant chacune 15 individus avec une série témoin. L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante :

$$X = \Delta Do \times 9,6 \times V_t V_s \text{ mg de protéines}$$

X : millimoles de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines ($\text{mM}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

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

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

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

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

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.



2.13.3 Evaluation de la peroxydation lipidique Malondialdéhyde (MDA)

Les larves du quatrième stade, témoins et traitées de *Cx. pipiens* sont prélevées à différentes périodes (24, 48, 72 et 96 heures). L'essai est conduit avec 6 répétitions comportant chacune 15 individus. Les larves sont broyées aux ultrasons dans 1 ml de tampon tris-HCl (50 mM, pH 7,5) [1,5137g tris, 0,0730 g EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique), 42,78 g sucrose, 250 ml eau distillée]. Une fois l'homogénéisation réalisée, une centrifugation est effectuée pendant 10 min à 10000 tours/min et le surnageant récupéré servira au dosage du malondialdéhyde (MDA). Le dosage est réalisé avec 500 µl du surnageant, additionné de 2,5 ml de TCA (acide trichloroacétique) (100 g TCA et compléter a 1000 ml avec de d'eau distillée). Après chauffage au bain marie a 100°C pendant 15 min et refroidissement dans de la glace, une deuxième centrifugation est effectuée à 10 000 tours/min pendant 10 min. Une fraction aliquote de 2 ml du surnageant est alors prélevée à laquelle on ajoute 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) [6,7 g TBA, 1000 ml eau distillée].

Après un second chauffage (100 °C, 15 min) et refroidissement, 1,5 ml de butanol sont rajoutés. Après agitation, une dernière centrifugation (10000 tours/min, 10 min) est réalisée et le surnageant constitué de 1 ml de butanol renfermant le complexe ATB (acide thiobarbiturique) /MDA est récupéré. Le MDA est dosé selon la méthode de [Draper et Hadley, \(1990\)](#). La méthode est basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre ATB avec le MDA, composé issu de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires, donnant un produit rouge brun dont l'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 532 nm contre un blanc (tampon tris-HCl). Le taux de MDA est déterminé selon la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta DO \times 156 \times V_t V_s}{\text{mg de protéines}}$$

X : Taux du MDA (mM/mg de protéines).

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

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

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

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

mg de protéines : Quantité de protéines exprimée en mg.



2.14 Dosage des Protéines

Les protéines ont été mesurées en utilisant la méthode de [Bardford, \(1976\)](#), décrite précédemment (2.13.3).

2.15 Détermination de l'indice d'épuisement des réserves nutritives

Les valeurs du contenu en glucides, lipides et protéines ($\mu\text{g}/\text{individu}$) sont converties en joules ([Clements, 1992](#)).

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

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

$$\text{Indice d'épuisement des réserves nutritives (\%)} = \frac{[\text{Réserves nutritives témoin (C)} - \text{Réserves nutritives traités (T)}]}{\text{C} + \text{T}} \times 100$$

2.16 Effet de l'huile essentielle de *Myrtus communis* sur de la capacité de reproduction de *Culex pipiens*

Des expériences sur la capacité de reproduction ont été réalisées après la ponte des femelles.

Un effectif égal des adultes mâles et femelles (20 adultes témoins et traitées) ont été gardés dans des cages d'élevage distinctes pour chaque concentration létale. Le nombre d'œufs pondus pour chaque série a été compté et transféré dans un nouveau récipient contenant 1000 ml d'eau d'élevage pour l'éclosion des larves.

Le nombre d'œufs a été déterminé en les comptants sous un microscope binoculaire. La fécondité a été calculée en divisant le nombre d'œufs pondus par les femelles accouplé (en tenant compte des décès d'adultes pendant l'expérience). Les formules utilisées pour calculer la fécondité (F), la réduction de la fécondité (RF), le pourcentage d'éclosion (PE) et la réduction de l'éclosion (RE), sont les suivantes :

**La fécondité (F) :**

$$F = \frac{\text{Nombre total des oeufs pondus}}{\text{Nombre total des femelles}}$$

La réduction de la fécondité (RF) :

$$RF = \frac{\text{Nombre des oeufs pondus chez les témoins} - \text{Nombre des oeufs pondus chez les traitées}}{\text{Nombre des oeufs pondus chez les témoins}} \times 100$$

Le pourcentage d'éclosion (PE) :

$$PE = \frac{\text{Nombre des oeufs eclos}}{\text{Nombre des oeufs pondus}} \times 100$$

La réduction du pourcentage d'éclosion (RE) :

$$RE = \frac{\text{Nombre des oeufs eclos chez les témoin} - \text{Nombre des oeufs eclos chez les traitées}}{\text{Nombre des oeufs eclos chez les témoin}} \times 100$$

2.17 Traitement statistique des résultats

Les résultats obtenus sont exprimés par la moyenne plus ou moins l'écart type pour chaque groupe d'expérience ($m \pm SD$). Avant d'utiliser les tests paramétriques, l'égalité des variances a été vérifiée pour toutes les séries de données à l'aide des tests de Bartlett et de Brown-Forsythe. La régression linéaire et non linéaire, l'analyse de variance (un et deux critères de classification) et le test HSD (Honest Significant Difference) de Tukey ont été employés afin de mettre en évidence les différences entre les échantillons, ainsi que pour définir des groupes ou des classes en fonction de leurs effets (classification des concentrations).

Les calculs ont été réalisés avec le logiciel GraphPad Prism d'analyse et de traitement statistique des données version 6.01 pour Windows XP.

RESULTATS



3. RESULTATS

3.1. Rendement de l'huile essentielle du *Myrtus communis* L.

La partie aérienne du *Myrtus communis* L a été utilisée et le rendement moyen en huile essentielle a été calculé en fonction de la matière végétale fraîche. Le rendement et les propriétés organoleptiques de l'huile essentielle obtenue sont présentés dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Rendement et propriétés organoleptiques de l'huile essentielle extraite de *Myrtus communis*.

Plante	Rendement	Couleur	Saveur	Odeur
<i>Myrtus communis</i>	0,63 ± 0,07	Blanchâtre	Légèrement fruité	Agréable

3.2. Analyse chimique de l'HE extraite du *Myrtus communis* L par CPG-SM

L'huile essentielle isolée, des feuilles fraîches de *M. communis*, a été analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). Un total de 36 composants chimiques a été identifié dans l'huile essentielle, ce qui représente 99,03 % de la teneur totale (Tableau 5, Fig. 8).

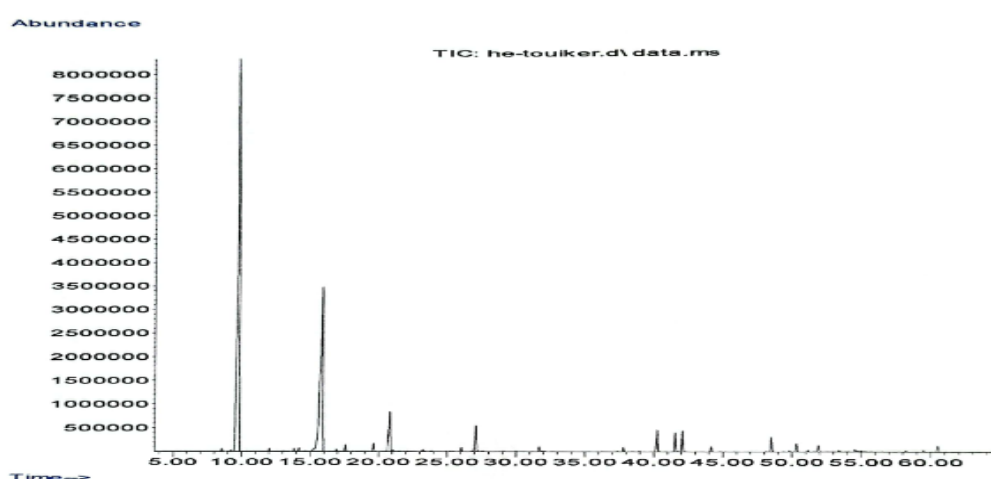


Figure 8. Chromatogramme CPG-SM de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Myrtus communis* (abondance en fonction du temps de rétention en minutes)

**Tableau 5** : Analyse chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Myrtus communis* identifiée par CPG/SM.

No.	Composants	Concentration (%)	TR (Min)	RI ^{lit}	RI ^{exp}
1	n-Butyl isobutyrate	0,190	8,56	911	912
2	α -Thujene	0,135	9,23	930	924
3	α-Pinene	50,817	9,84	939	934
4	Sabinene	0,213	12,04	975	972
5	β -Pinene	0,062	13,05	979	989
6	α -Phellandrene	0,287	13,84	1002	1002
7	δ -3-Carene	0,332	14,2	1011	1007
8	α -Terpinene	0,088	14,67	1017	1014
9	para- cymene	0,425	15,3	1024	1023
10	D-Limonene	8,135	15,75	1029	1029
11	1,8-Cineole	18,982	15,93	1031	1032
12	(E)- β -Ocimene	0,161	16,95	1050	1046
13	γ -Terpinene	0,505	17,59	1059	1056
14	Terpinolene	0,620	19,65	1088	1085
15	Linalool	4,871	20,86	1096	1102
16	Hotrienol	0,158	21,05	-	1105
17	Endo-Fenchol	0,032	21,52	1116	1111
18	Trans-Pinocarveol	0,189	23,25	1139	1136
19	Trans-Sabinol	0,058	23,86	1188	1190
20	Terpin-4-ol	0,336	26,02	1117	1175
21	α -Terpineol	2,620	27,12	1188	1190
22	Methyl Chavicol	0,082	27,58	1188	1190
23	Trans-Sabinene acetate	0,490	31,68	1256	1256
24	α -Terpinyl acetate	0,337	37,81	1349	1347
25	Geranyl acetate	1,870	40,26	1381	1385
26	Methyl eugenol	1,571	41,55	1403	1405
27	(E)-Caryophyllene	1,714	42,09	1419	1414
28	α -Humulene	0,387	44,17	1454	1448
29	Neryl propanoate	0,030	48,16	1454	1458
30	Durohydroquinone	1,117	48,53	-	1520
31	Flavesone	0,093	49,83	1547	1542
32	Germacrene B	0,697	50,35	1561	1551
33	Geranyl butanoate	0,128	51,17	1564	1565
34	Caryophyllene oxide	0,630	51,92	1583	1578
35	Humulene epoxide II	0,136	53,41	1608	1604
36	Tasmanone	0,538	60,52	1727	1734
	Total identifiés	99,034			

TR (Min) : Temps de rétention en minute

IR (lit) : Indice de rétention en littérature

IR (exp) : Indice de rétention expérimental



Le profil chromatographique de l'huile essentielle est caractérisé par une quantité élevée d' α -Pinène (50,817%), suivie de 1,8-Cineole (18,982%), puis de D-Limonène (8,135%) (Fig. 10), d'autres composés tels que Linalool (4,871%), α -Terpineol (2,620%), et l'acétate de géraniol (1,870%) ont été identifiés comme des composés mineurs de la totalité des constituants détectés appartenant à quatre différentes familles.

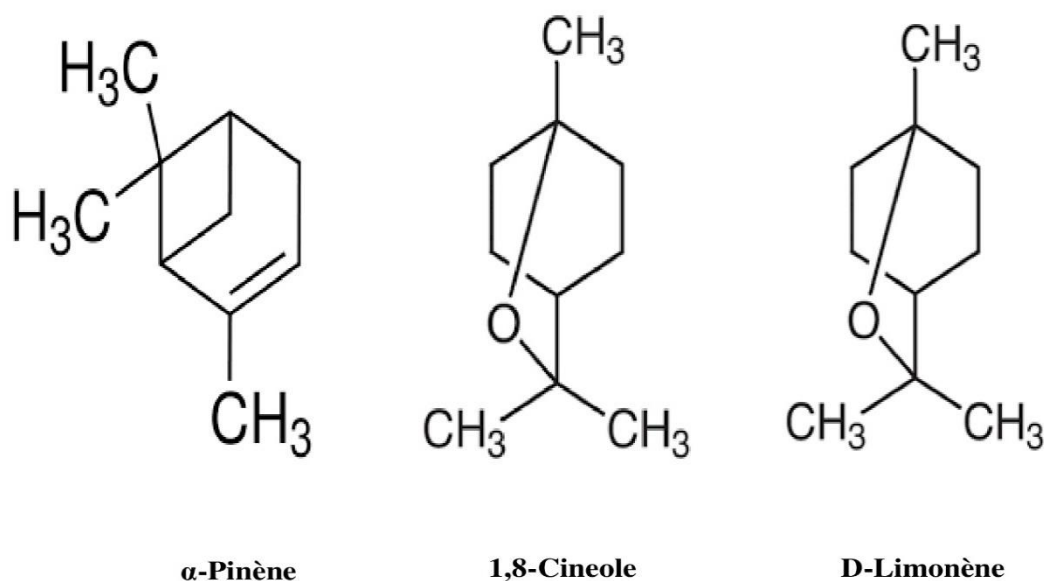


Figure 9. Structure chimique de quelques composés majoritaires de l'HE de *M. communis*.

L'huile essentielle de *M. communis* est constituée de 99,03% de dérivés terpéniques, correspondant à 88,55% de monoterpènes et 16,66% de sesquiterpènes. Les monoterpènes oxygénés représentent 44,44% tandis que les monoterpènes hydrocarbonés représentent 36,11% de l'huile totale. Par ailleurs, les sesquiterpènes hydrocarbonés représentent 11,11% de la totalité de l'huile et 5,55 % pour les composés oxygénés (Fig. 10).

Total 99,03%

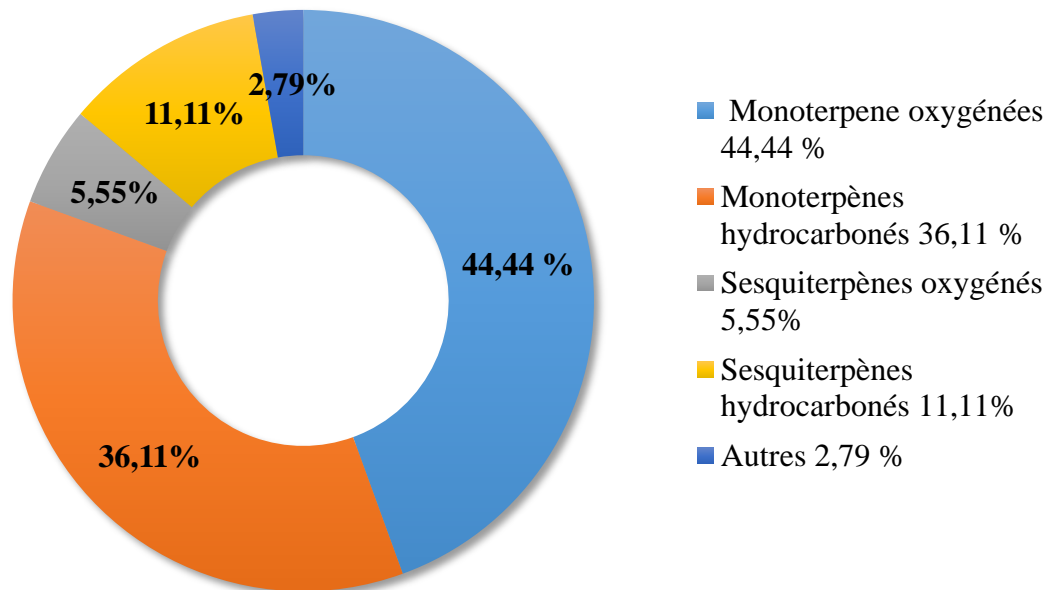


Figure 10. Répartition (%) des familles de molécules présentes dans l'HE de *M. communis*.

3.3 Evaluation de l'effet toxique de l'huile essentielle de *M. communis* a l'égard des larves

L'huile essentielle de *M. communis* a été appliquée aux larves de moustiques de quatrième stade nouvellement exuviées de *Cx. pipiens*, avec différentes concentrations (100, 200, 400, 600, 700 $\mu\text{l/ml}$). Des séries témoins ont été réalisées en parallèle. L'HE a induit une mortalité des larves dont les pourcentages sont précisés dans le Tableau 6 et la Figure 11. La mortalité des larves (%) chez les témoins était insignifiante avec $0,33 \pm 0,05$ %. Elle augmente de manière significative chez les séries traitées avec une relation concentration-réponse ; ainsi, il est noté que pour la concentration la plus faible (100 $\mu\text{l/ml}$), la mortalité observée des larves est de $13,04 \pm 2,30$ % et augmente graduellement pour atteindre $89,29 \pm 6,14$ % pour la concentration la plus élevée (700 $\mu\text{l/ml}$).



Tableau 6 : Toxicité de l'huile essentielle de *Myrtus communis* à l'égard des larves de quatrième stade nouvellement exuvées de *Cx. pipiens* à différentes concentrations ($\mu\text{l/ml}$). Mortalité observée (%) ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 larves).

Répétitions	100	200	400	600	700
R1	13,76	23,08	51,87	95,98	98
R2	12,43	23,63	51,75	83,91	98,01
R3	12,95	24,52	51,87	87,96	98
M\pmSD	13,04 \pm 0,67	23,74 \pm 0,72	51,84 \pm 0,06	89,29 \pm 6,14	98 \pm 0,005

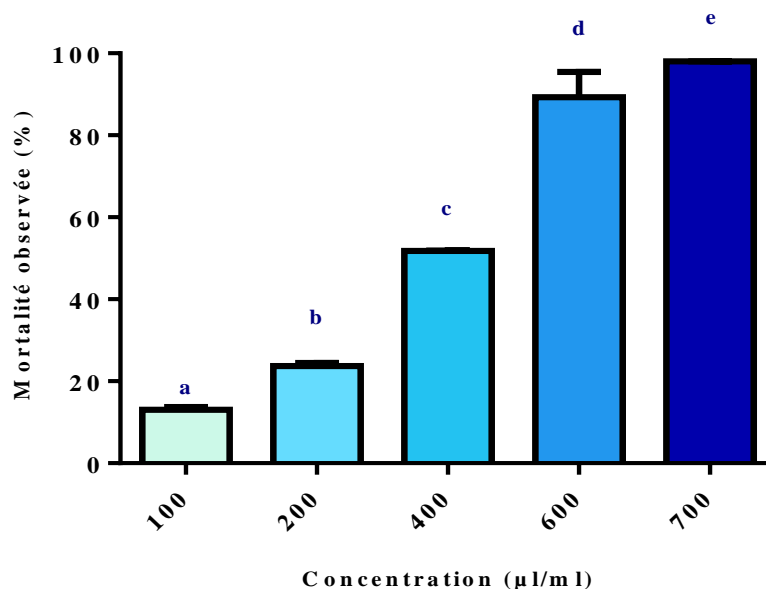


Figure 11. Toxicité de l'huile essentielle de *Myrtus communis* à l'égard des larves de quatrième stade nouvellement exuvées de *Cx. pipiens* à différentes concentrations ($\mu\text{l/ml}$). Mortalité observée (%) ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 larves). Les valeurs indiquées par la même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes selon le test HSD à $p > 0,05$).

La régression non linéaire a permis d'obtenir la courbe concentration-réponse chez les larves de quatrième stade nouvellement exuvées de *Cx. pipiens* (Fig. 12); cette courbe, exprimant le pourcentage de mortalité observée en fonction du logarithme de la concentration de l'HE du *M. communis* présente un coefficient de détermination élevé ($R^2 = 0,94$). Cette valeur révèle une liaison très forte entre le pourcentage de mortalité observée et le logarithme de la



concentration (Fig. 12). Les concentrations de mortalité (CL) et la pente de Hill enregistrées avec leurs limites de fiducie (95 %) ont été répertoriées dans le tableau 7.

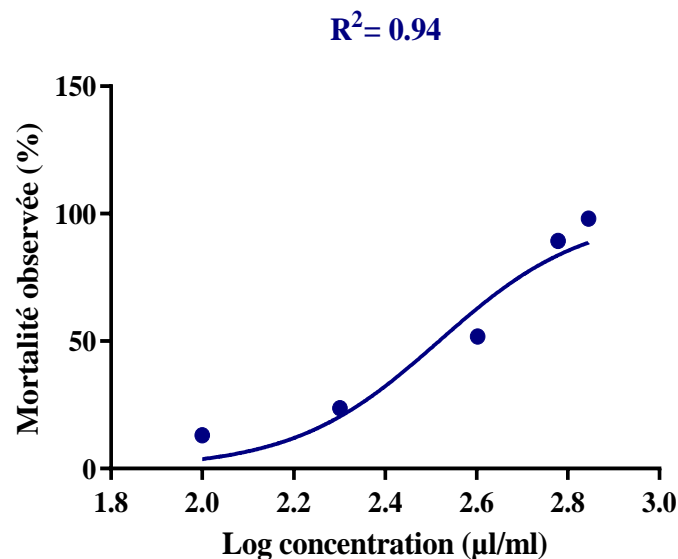


Figure 12. Toxicité de l'huile essentielle de *Myrtus communis* à l'égard des larves de quatrième stade nouvellement exuvées de *Cx. pipiens* à différentes concentrations (µl/ml). Mortalité observée en (%): courbe concentration-réponse exprimant la mortalité observée et le logarithme des concentrations

Tableau 7: Détermination des concentrations léthales (µl/ml) et leurs intervalles de confiance 95% de l'huile essentielle de *Myrtus communis* à l'égard des larves de quatrième stade nouvellement exuvées de *Cx. pipiens*

Concentrations	Valeurs (µl/ml)	Fiducial limits (95%)	R ²
CL ₁₀	147,2	60,63 – 357,2	0,948
CL ₂₅	220,2	121,9 – 397,8	
CL ₅₀	329,5	223,1 – 486,5	
CL ₉₀	737,6	370,9 – 1467	
Hill Slope	0,734	0,388 – 5,064	

L'analyse statistique a révélé un effet de concentration significatif ($F_{4, 10} = 559,0$; $p < 0,0001$) et le test HSD de Tukey a montré une augmentation significative de la mortalité avec l'augmentation de la concentration. De plus, une différence significative a été observée entre les concentrations (Tableau 8).



Tableau 8 : Analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions contenant chacune 25 larves stade 4 nouvellement exuviées) : Toxicité de l'huile essentielle de *Myrtus communis* à l'égard des larves de quatrième stade nouvellement exuviées de *Cx. pipiens* à différentes concentrations ($\mu\text{l/ml}$) :

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	p
Traitement	17315	4	4329	F (4, 10)=559,0	<0,0001***
Erreur résiduelle	77,43	10	7,743		
Total	17392	14			

*** : hautement significatif ($p < 0,0001$) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

3.4 Bio essai Adulticide

Après avoir effectué un test de screening, diverses concentrations d'huile essentielle de *M. communis* ont été appliquées par fumigation sur les adultes femelles de *Cx. pipiens* (0,15 ; 0,25 ; 0,5 ; 0,75 ; 1 et 1,25 $\mu\text{l/ml}$ d'air). Concernant les séries témoins aucune mortalité n'a été observée.

Les mortalités observées enregistrées augmentent de façon significative en fonction des concentrations appliquées chez *Cx. pipiens*. Elles enregistrent des taux variant de 10% pour la concentration de 0,15 $\mu\text{l/ml}$, et 100 % pour la concentration la plus élevée (1,25 $\mu\text{l/ml}$) (Tableau, 9). Le classement des concentrations par le test HSD de Tukey permet de classer les concentrations en fonction de leurs toxicités, les résultats révèlent l'existence de 6 groupes présentant des effets différents de l'huile essentielle sur les pourcentages de mortalités (Figure. 13).

La courbe concentration-réponse chez les adultes de *Cx. pipiens* a été obtenue grâce à la régression non linéaire. Cette courbe, qui représente le pourcentage de mortalité observée en fonction du logarithme de la concentration de l'huile essentielle de *M. communis*, présente un coefficient de détermination élevé ($R^2 = 0,97$). Cette valeur met en évidence une forte corrélation entre le taux de mortalité des adultes corrigée et le logarithme de la concentration. Les différentes concentrations de la mortalité de l'adulte et leur intervalle de confiance ont été également déterminées par cette analyse (Tableau 10), l'Analyse de la variance à un critère de classification révèle un effet concentration (Tableau 11).



Tableau 9 : Effet adulticide de l'HE de *Myrtus communis* appliquée par fumigation à différentes concentrations ($\mu\text{l/ml}$) durant 60 minutes chez les femelles adultes de *Culex pipiens*, Mortalité observée en (%) des adultes. ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 adultes femelles).

Répétitions	Témoin	0,15	0,25	0,5	0,75	1	1,25
R1	00	10	20	50	70	100	100
R2	00	10	20	50	70	90	100
R3	00	10	20	40	70	90	100
m\pmSD	00	10 \pm 00	20 \pm 00	46,66 \pm 5,77	70 \pm 00	93,33 \pm 5,77	100 \pm 00

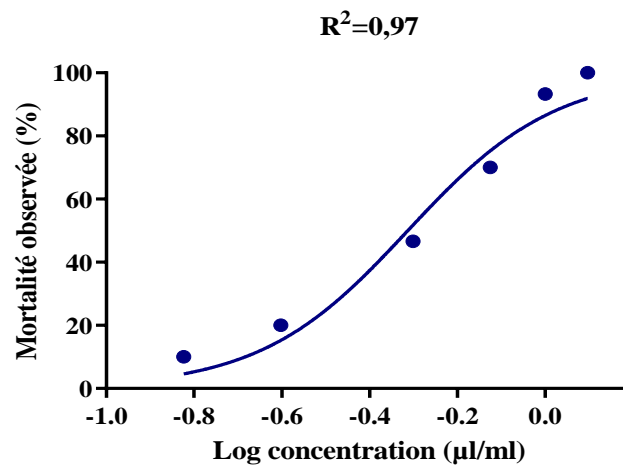


Figure 13. Effet adulticide (%) de l'HE de *Myrtus communis* appliquée par fumigation à différentes concentrations ($\mu\text{l/ml}$) durant 60 minutes chez les femelles adultes de *Culex pipiens*. ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 adultes femelles) : La courbe concentration-réponse représente le taux de mortalité observé en fonction de la concentration logarithmique de l'huile essentielle de *Myrtus communis*.

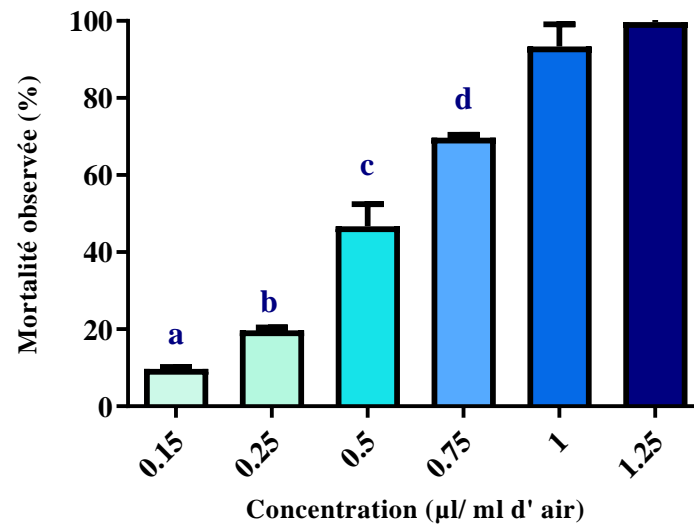


Figure 14. Effet adulticide de l’HE de *Myrtus communis* appliqué par fumigation à différentes concentrations (µl/ml) durant 60 minutes chez les femelles adultes de *Culex pipiens*: Évaluation des taux de mortalité chez les adultes femelles et classification des concentrations à l’aide de l’analyse de HSD de Tukey

Tableau 10 : Effet adulticide de l’HE de *Myrtus communis* appliqué par fumigation à différentes concentrations (µl/ml) durant 60 minutes chez les femelles adultes de *Culex pipiens*: Évaluation des taux de mortalité et classification des concentrations de mortalité des adultes (CL en µl/ml d’air) et leurs intervalles de confiance à 97%

Concentrations	Valeurs (µl /ml d’air)	Intervalles de confiance	R ²
CL ₁₀	0,1972	0,1196-0,3250	0,97%
CL ₂₅	0,3052	0,2193-0,4247	
CL ₅₀	0,4724	0,3800-0,5858	
CL ₉₀	1,1300	0,76540-1,673	
Hill Slope	2,5150	1,38200-3,6480	



Tableau 11 : Analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 Adulte femelle) : Toxicité de l'huile essentielle de *Myrtus communis* à l'égard des adultes femelles de *Cx. pipiens* à différentes concentrations ($\mu\text{l/ml}$).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	21067	5	4213	379,2	<0,0001***
Erreur résiduelle	133,3	12	11,11		
Total	21200	17			

*** : hautement significatif ($p < 0,0001$) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité. Non significatif ($p > 0,05$) ; * significatif ($p < 0,05$) ; ** très significatif ($p < 0,01$)

3.5 Répulsion

L'huile essentielle de myrte a montré une répulsion de 100 % contre les moustiques femelles de *Cx. pipiens* immédiatement après l'application de toutes les concentrations. Cependant, l'effet répulsif a diminué avec le temps. Ainsi, la concentration la plus élevée a présenté une répulsion de 100 % pendant plus de 30 minutes (Tableau 12, Fig. 15), mais son efficacité répulsive a considérablement diminué après 60 minutes. L'effet répulsif de la petite concentration a duré 30 minutes. L'analyse de variance à deux facteurs a indiqué un effet significatif du temps ($F(5, 72) = 5196$; $p < 0,0001$), du traitement ($F(3, 72) = 1054$; $p < 0,0001$) et de l'interaction temps-traitement $F(15, 72) = 184,7$; $p < 0,0001$) (Tableau 13).



Tableau 12 : Activité répulsive de l'huile essentielle (HE) de *Myrtus communis* à différentes concentrations à l'égard de *Culex pipiens*. (M % \pm SD, n = 4 : contenant 40 adultes). Les différentes lettres minuscules au-dessus du même temps d'exposition indique une différence significative, et les différentes lettres majuscules au-dessus du même traitement d'exposition indique une différence significative (p<0.05)

Concentrations $\mu\text{l/ml}$	Activités répulsives (M %) \pm SD					
	5 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
20	100 \pm 00aA	100 \pm 00aA	100 \pm 00aA	47,5 \pm 5,3bA	18 \pm 2,21cA	00 \pm 00dA
10	100 \pm 00aA	90,25 \pm 3,30bB	46,75 \pm 3,5cB	20 \pm 1,18dB	7 \pm 1,82eB	00 \pm 00fA
7	100 \pm 00aA	70,75 \pm 4,03bC	26 \pm 2,58cC	00 \pm 00dC	00 \pm 00dC	00 \pm 00dA
4	100 \pm 00aA	39,25 \pm 3,77bD	12,75 \pm 2,21cD	00 \pm 00dC	00 \pm 00dC	00 \pm 00dA

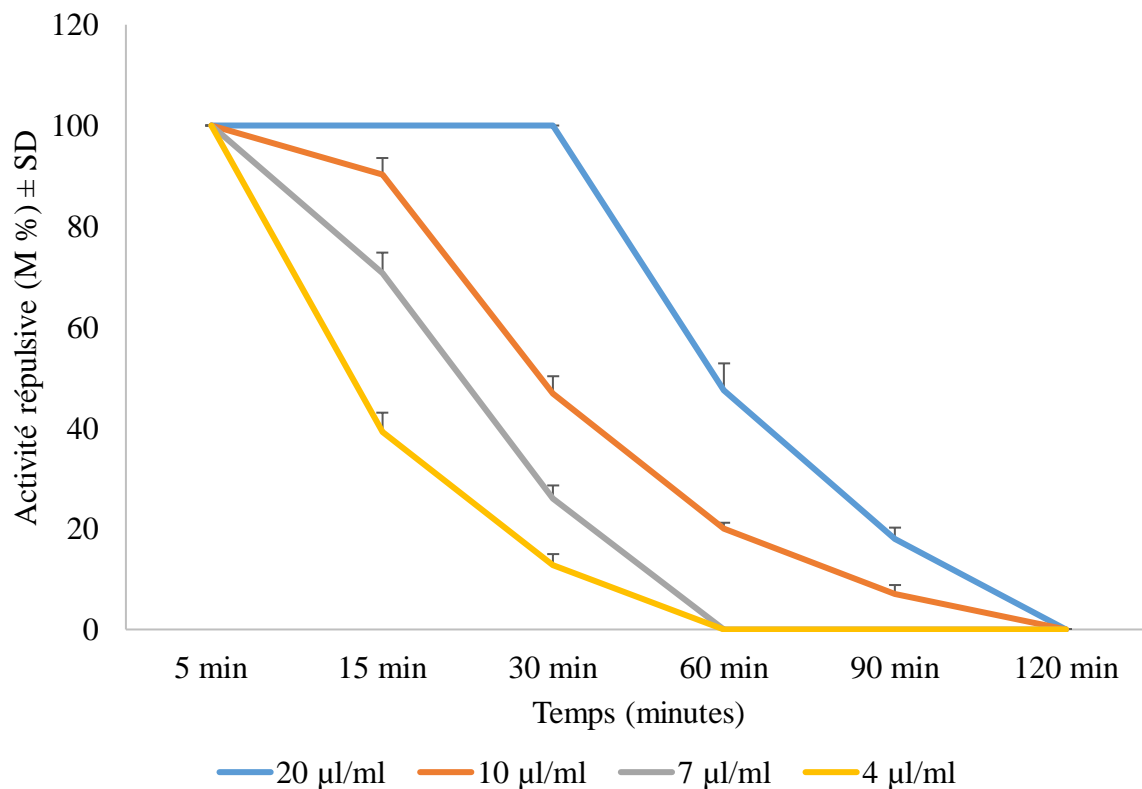


Figure 15. Activité répulsive de l'huile essentielle de *Myrtus communis* à différentes concentrations à l'égard de *Culex pipiens*. (M \pm SD, n = 4 : contenant 40 adultes).



Tableau 13 : Analyse de la variance à deux critères de classification ($m \pm SD$; $n = 4$ répétitions contenant chacune 40 Adulte femelle) : Activité répulsive de l'huile essentielle (HE) de *Myrtus communis* à différentes concentrations à l'égard de *Culex pipiens*.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	15828	3	5276	F (3, 72) = 1054	<0,0001
Temps	129985	5	25997	F (5, 72) = 5196	<0,0001
Interaction	13862	15	924,1	F (15, 72) = 184,7	<0,0001
Erreur résiduelle	360,3	72	5,003		

*** : hautement significatif ($p < 0,0001$) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

3.6 Effets de l'HE du *Myrtus communis* sur le développement de *Culex pipiens*

L'effet de l'HE de *M. communis* sur la durée des différents stades de développement de *Cx. pipiens* après traitement des larves du quatrième stade avec des concentrations létales ($CL_{50} = 329,5 \mu\text{l/ml}$ et $CL_{90} = 737,6 \mu\text{l/ml}$) est représenté dans le tableau 14. L'exposition des larves nouvellement éxuvées à cette HE a entraîné une augmentation significative dans la durée du quatrième stade larvaire de la série traitée, pour les deux concentrations létales, par rapport aux larves témoins (F 2, 6 = 1,147; $P < 0,0001$) (Fig. 17). Une augmentation significative de la durée du stade nymphal a été enregistrée pour les deux concentrations létales (F 2, 6 = 1,1333; $P < 0,0003$) (Fig. 18). Cependant, la longévité des adultes de l'espèce de moustique *Cx. pipiens* a été considérablement réduite par le traitement à l'HE de *M. communis* jusqu'à 20 et 17 jours pour la CL_{50} et la CL_{90} respectivement, alors qu'elle était de 27 jours pour les témoins (F 2, 6 = 0,3631; $p < 0,0001$) (Fig. 19). L'HE de *M. communis* a augmenté la durée larvaire, ainsi que la durée pupale.



Tableau 14 : Effet de l'HE de *M. communis* sur la longévité des stades de développement (jour) après traitement (CL₅₀ et CL₉₀) des larves du 4^{ème} stade de *Culex pipiens* (m ± SD ; n = 3 répétitions contenant chacune de 10-35). Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes à p < 0,05.

Stades	La durée des stades de développement de <i>Culex pipiens</i> (jours) après traitement avec les concentrations létales (CL ₅₀ , CL ₉₀)		
	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
L4	7,35 ± 0,23a	12,00 ± 1,00b	15,00 ± 1,00c
Nymphe	2,33 ± 0,30a	4,23 ± 0,30b	5,33 ± 0,33c
Adulte	27,00 ± 1,00a	20,33 ± 1,46b	17,16 ± 0,75c

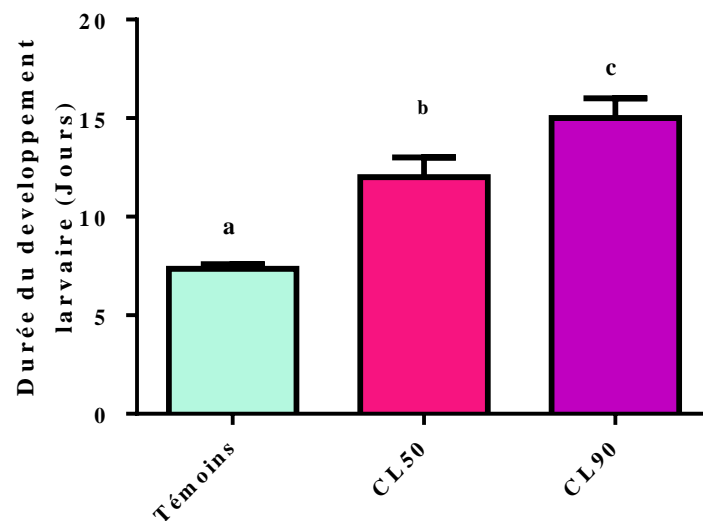


Figure 16. Effet de l'HE de *M. communis* sur la durée du développement du 4^{ème} stade larvaire (jours) de *Culex pipiens* ; après traitement avec les concentrations létales (CL₅₀=329,5 µl/ml et CL₉₀=737,6 µl/ml) : suivies de la même lettre indiquent une différence significative (p<0.05) (n = 10-35).

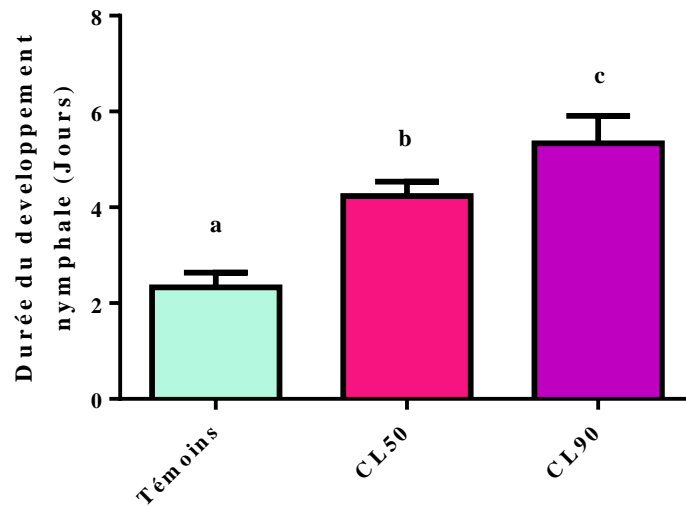


Figure 17. Effet de l'HE de *M. communis* sur la durée du développement nymphal (jours) ; après traitement avec les concentrations létales ($LC_{50}=329,5 \mu\text{l/ml}$ et $LC_{90}=737,6 \mu\text{l/ml}$) des larves du 4^{ème} stade de *Culex pipiens* ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions contenant chacune de 10-35). Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes $p < 0,05$.

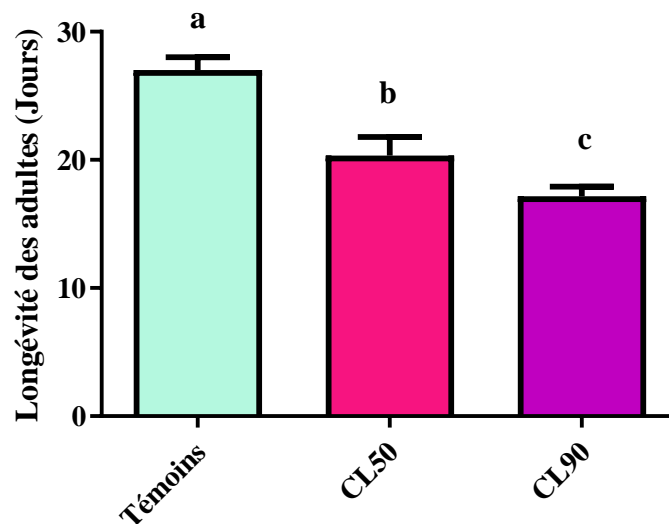


Figure 18. Effet de l'HE de *M. communis* sur la longévité des adultes (jours) ; après traitement avec les concentrations létales ($CL_{50}=329,5 \mu\text{l/ml}$ et $CL_{90}=737,6 \mu\text{l/ml}$) des larves du 4^{ème} stade de *Culex pipiens* ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions contenant chacune de 10-35). Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes à $p < 0,05$.



3.7. Effet de l'HE de *M. communis* sur les aspects morphologiques induits

Après traitement, les larves du 4^{ème} de *Cx. pipiens* présentent divers aspects morphologiques concernant les larves, les nymphes et les adultes, le suivie des larves durant notre expérimentation a montré, une augmentation dans le volume du thorax. La métamorphose des nymphes a été interrompue. De plus, l'utilisation de l'huile essentielle de myrte a provoqué une couleur brune ainsi qu'une démyélinisation chez les pupes, accompagnés de malformations faciales. On a noté un blocage de l'émergence des adultes, caractérisé par l'incapacité des adultes à détacher leurs pattes et leurs ailes de l'exuvie nymphale, ainsi qu'une augmentation de la taille de leur abdomen. Occasionnellement, seules la tête et le thorax émergeaient du puparium (Fig. 19).





Figure 19. Aspects morphologiques après traitement avec l'HE du *M. communis* chez *Cx. pipiens* (**A** : Augmentation de la taille du thorax (x11) ; **B** : malformation faciale de la nymphe (x9,1) ; **C** : démyélinisation et blocage de mue chez la nymphe (x8) ; **D** : Noircissement de la puppe (x6) ; **E** : Noircissement de la puppe et blocage de l'exuviation (x7) **F, G** : Blocage de la mue imaginale; **H** : Augmentation de la taille de l'abdomen et blocage de la ponte (x7 ,6) (Photographie personnelles).



3.8 Effets de l'HE du *Myrtus communis* sur les métabolites

Le contenu en protéines, glucides et lipides a été déterminé chez les larves du quatrième stade de *Cx. pipiens* témoins et traitées aux concentrations létales (CL₅₀ et la CL₉₀) de l'huile essentielle de *Myrtus communis* au cours du temps 24, 48, 72 et 96 heures.

3.8.1 Effet de l'HE du *Myrtus communis* sur le taux de protéines

Le taux de protéines a été calculé grâce à une courbe de référence (Fig. 20). Comme le montre la Figure 21, dans des conditions expérimentale, concernant le taux de protéines les résultats ont montré une diminution significative des quantités en protéines dans la série traitée par rapport au témoin à 24 et 96 heures. L'analyse statistique des résultats a indiqué un effet significatif du temps ($F(3, 24) = 131,1$; $p < 0,0001$), du traitement ($F(2, 24) = 298,7$; $p < 0,0001$) et de l'interaction temps-traitement $F(6, 24) = 8,82$; $p < 0,0001$). L'analyse des métabolites des corps des larves traitées de *Cx. pipiens* avec les concentrations létales a montré que l'HE de *M. communis* a significativement réduit le contenu en protéines dans la série traitée par rapport aux témoins (Tableau 15).

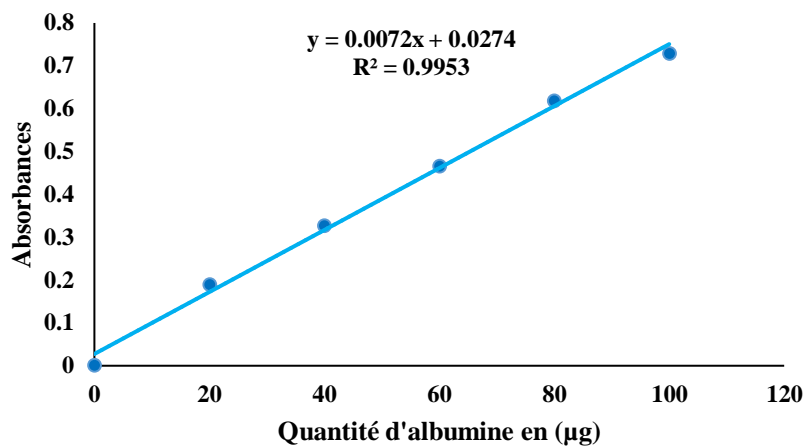


Figure 20. Dosage des protéines : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumines (µg) (R^2 coefficient de détermination).

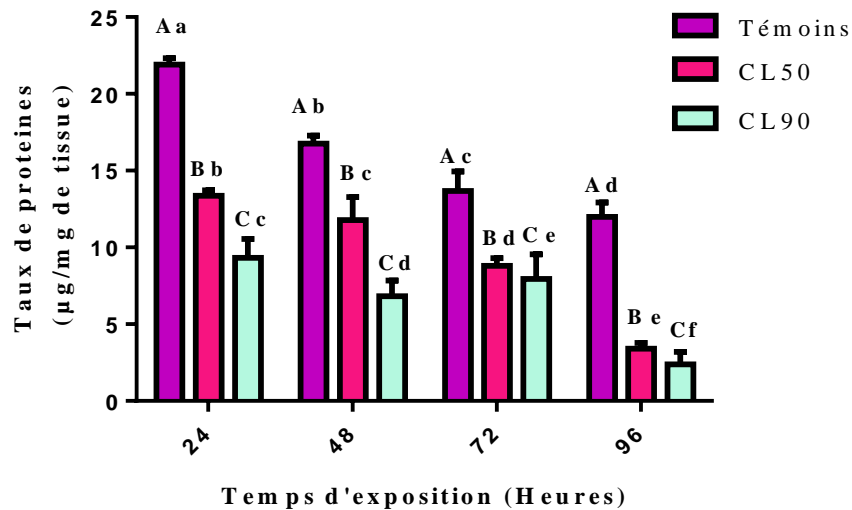


Figure 21. Effet de l'HE de *M. communis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le taux des protéines (µg/mg de tissu) chez les larves 4^{ème} de *Cx. pipiens* au cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6). Les différentes lettres minuscules au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative, et les différentes lettres majuscules au-dessus du même traitement d'exposition indiquent une différence significative (p < 0,05).

Tableau 15 : Analyse de la variance à deux critères de classification : Effet de l'HE de *M. communis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le taux de protéines (µg/mg de tissu) chez les larves 4^{ème} de *Cx. pipiens* au cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	568,7	2	284,3	F (2, 24) = 298,7	p < 0,0001
Temps	374,4	3	124,8	F (3, 24) = 131,1	p < 0,0001
Interaction	50,40	6	8,400	F (6, 24) = 8,823	p < 0,0001
Erreur résiduelle	22,85	24	0,9520		

*** : hautement significatif (p < 0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.



3.8.2 Effet de l'HE du *Myrtus communis* sur le taux de glucides

On a calculé le taux de glucides en utilisant une courbe de référence (Fig. 22). L'huile essentielle de *M. communis* a entraîné une augmentation significative des niveaux de glucides par rapport à la série témoin à 24 heures ($58,86 \pm 8,82$ pour CL_{50} et $23,30 \pm 3,72$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu pour CL_{90}). On observe également une augmentation au fil du temps jusqu'à 96 heures ($7,55 \pm 0,05$ pour CL_{50} et $5,54 \pm 0,1$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu pour CL_{90}) après traitement par rapport aux témoins (Fig. 23). Une analyse ANOVA à deux facteurs confirme ces résultats et indique un effet significatif du traitement ($F\ 2, 24 = 193,3$; $p < 0,0001$), du temps ($F\ 3, 24 = 213,3$; $p < 0,0001$) et de l'interaction concentrations-temps ($F\ 6, 24 = 24,88$; $p < 0,0001$).

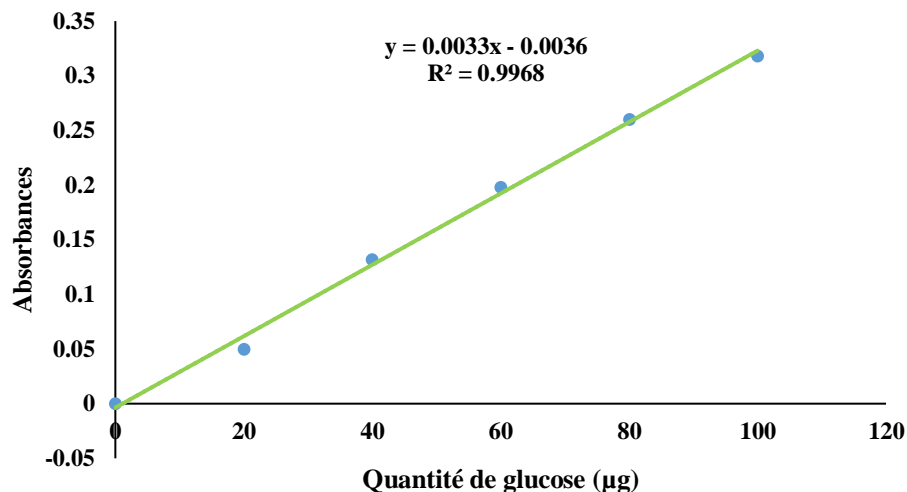


Figure 22. Dosage des glucides : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de glucose (μg) (R^2 coefficient de détermination).

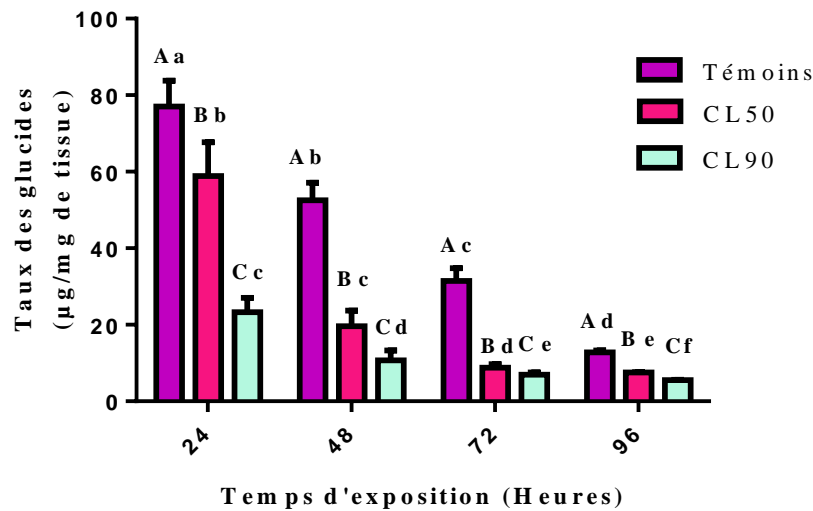


Figure 23. Effet de l’HE de *M. communis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le taux de glucides (µg/mg de tissu) chez les larves 4^{ème} de *Cx. pipiens* au cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6 pour chaque temps). Les différentes lettres minuscules au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative, et les différentes lettres majuscules au-dessus du même traitement d'exposition indiquent une différence significative (p < 0,05).

Tableau 16 : Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur le taux de glucides (µg/mg de tissu) chez les larves 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* au cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6) durant le traitement par l’HE de *M. communis* (CL₅₀ et CL₉₀).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	p
Traitement	6207	2	3104	F (2, 24) = 193,3	p < 0,0001
Temps	10274	3	3425	F (3, 24) = 213,3	p < 0,0001
Interaction	2397	6	399,5	F (6, 24) = 24,88	p < 0,0001
Erreur résiduelle	385,4	24	16,06		

*** : hautement significatif (p < 0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.



3.8.3 Effet de l'HE du *Myrtus communis* sur le taux de lipides

Le taux de glucides a été déterminé en utilisant une courbe de référence (Fig. 24). Une diminution importante a été observée à partir de 24 heures de traitement avec l'huile essentielle de myrte, avec une réduction maximale à 96 heures du traitement. (Fig. 25). L'analyse statistique a indiqué un effet significatif du temps ($F(3, 24) = 535,8$; $p < 0,0001$), du traitement ($F(2, 24) = 590,7$; $p < 0,0001$) et de l'interaction temps-traitement $F(6, 24) = 12,31$; $p < 0,0001$). L'huile essentielle a réduit le contenu en lipides chez les larves de *Cx. pipiens* traitées aux concentrations létales (CL_{50} et CL_{90}).

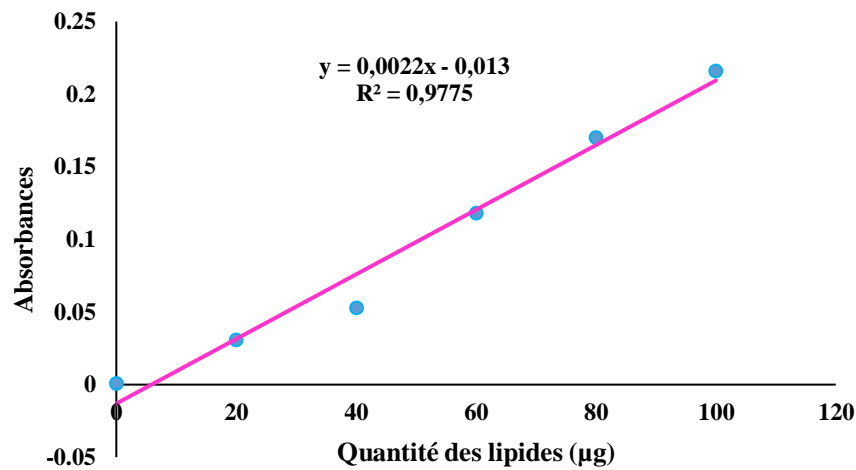


Figure 24. Dosage des lipides : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipides (µg) (R^2 : coefficient de détermination).

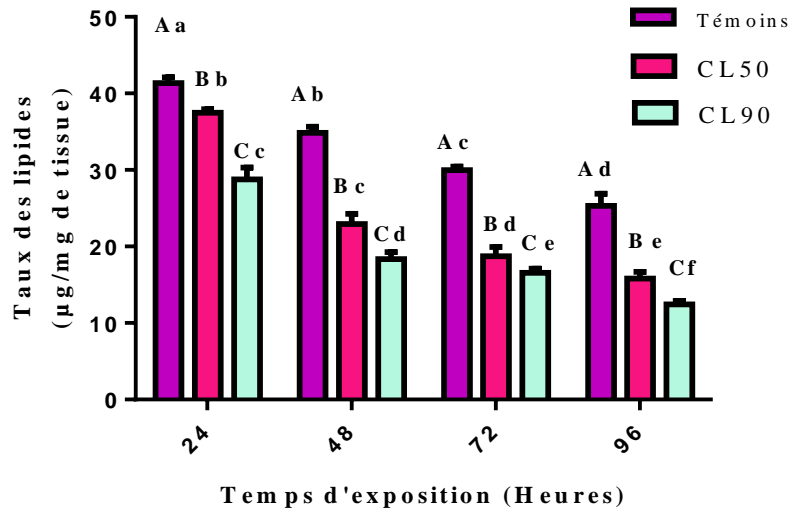


Figure 25. Effet de l'HE de *M. communis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le taux de lipides (µg/mg de tissu) chez les larves 4^{ème} de *Cx. pipiens* au cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6). Les différentes lettres minuscules au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative, et les différentes lettres majuscules au-dessus du même traitement d'exposition indiquent une différence significative (p < 0,05).

Tableau 17 : Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur le taux de lipides (µg/mg de tissu) chez les larves 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* au cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6) durant le traitement par l'HE de *M. communis* (CL₅₀ et CL₉₀).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	p
Traitement	1190	2	595,0	F (2, 24) = 590,7	p < 0,0001
Temps	1619	3	539,8	F (3, 24) = 535,8	p < 0,0001
Interaction	74,40	6	12,40	F (6, 24) = 12,31	p < 0,0001
Erreur résiduelle	24,18	24	1,007		

*** : hautement significatif (p < 0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.



3.10 Effet de l'HE du *Myrtus communis* sur le taux d'épuisement des réserves énergétiques chez *Culex pipiens*

Les résultats mentionnés dans la figure 26 indiquent les taux d'épuisement nutritionnel calculés chez les traités à la CL₅₀ et la CL₉₀ par rapport aux témoins à différentes périodes chez *Cx. pipiens*. Le taux d'épuisement marque une augmentation significative à tous les temps testés chez les traitées avec les deux concentrations létales, avec un effet plus marqué chez *Cx. pipiens* traité à la CL₉₀.

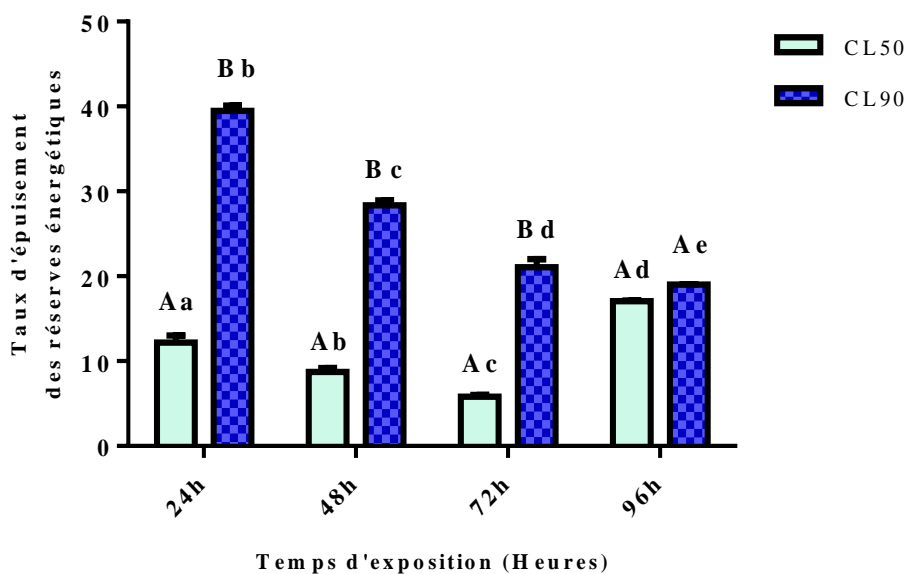


Figure 26. Effet de l'HE de *M. communis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le taux d'épuisement des réserves énergétiques (%) chez les larves 4^{ème} de *Cx. pipiens* au cours du temps (Heures) ($m \pm SD$, $n = 6$). Les différentes lettres minuscules au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative, et les différentes lettres majuscules au-dessus du même traitement d'exposition indiquent une différence significative ($p < 0,05$).



Tableau 18 : Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) le taux d'épuisement des réserves énergétiques (%) chez les larves 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* au cours du temps (Heures) ($m \pm SD$, $n = 6$) durant le traitement par l'HE de *M. communis* (CL₅₀ et CL₉₀).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	p
Traitement	1542	1	1542	F (1, 16) = 4709	p < 0,0001
Temps	473,9	3	158,0	F (3, 16) = 482,4	p < 0,0001
Interaction	507,0	3	169,0	F (3, 16) = 516,1	p < 0,0001
Erreur résiduelle	5,239	16	0,3274		

*** : hautement significatif ($p < 0,0001$) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

3.9 Effets de l'HE du *Myrtus communis* sur l'analyse des biomarqueurs chez *Cx. pipiens*

L'effet de l'HE du *Myrtus communis* sur les différents biomarqueurs AChE, GST, MDA et les taux des lipides ont été déterminés chez *Cx. pipiens* durant le temps 24 ; 48 ; 72 et 96 heures aux différentes concentrations létales CL₅₀ et la CL₉₀ de l'HE du *Myrtus communis*. Les résultats sont exprimés en micromoles par minutes et par milligramme de protéines ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) pour l'AChE et GSTs et en micromoles par milligramme de protéines ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) pour le MDA.

3.9.1 Effets de l'HE du *Myrtus communis* sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE)

L'activité de l'acétylcholinestérase a été déterminée dans la série témoin et traitée. Cette activité enzymatique augmente avec le temps chez les témoins. L'huile a entraîné une inhibition significative de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase à partir de 24 heures de traitement jusqu'à 96 h, avec une inhibition maximale observée à 96 heures de traitement (Fig. 27). Une ANOVA à deux facteurs a indiqué un effet significatif du temps ($F(3, 24) = 683,6$; $p < 0,0001$), du traitement ($F(2, 24) = 265$; $p < 0,0001$) et de l'interaction temps-traitement $F(6, 24) = 39,78$; $p < 0,0001$) (Tableau 19).

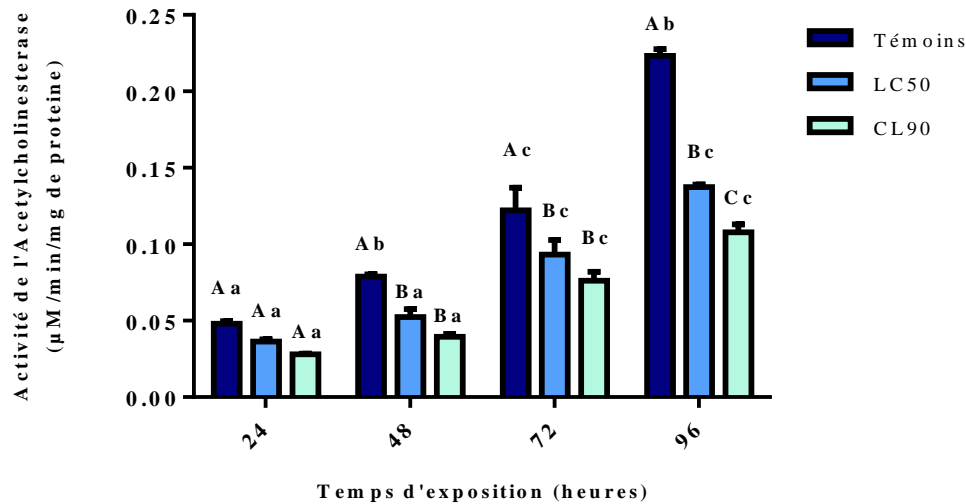


Figure 27. Effet de l'HE de *M. communis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur l'ACHE (μM/mg de protéines) chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6). Les différentes lettres minuscules au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative, et les différentes lettres majuscules au-dessus du même traitement d'exposition indiquent une différence significative (p < 0,05).

Tableau 19 : Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Chez les larves 4 de *Cx. pipiens* au cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6) durant le traitement par l'HE de *M. communis* (CL₅₀ et CL₉₀).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	p
Traitement	0,01920	2	0,009599	F (2, 24) = 265,5	p < 0,0001
Temps	0,07415	3	0,02472	F (3, 24) = 683,6	p < 0,0001
Interaction	0,008630	6	0,0001543	F (6, 24) = 39,78	p < 0,0001
Erreur résiduelle	0,0008678	24	3,616e-005		

*** : hautement significatif (p < 0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

3.9.2 Effets de l'HE du *Myrtus communis* sur l'activité spécifique des Glutathion S-Transférases (GSTs)

Une augmentation significative de l'activité enzymatique de la GSTs a été observée pour la série traiter avec l'huile essentielle de *M. communis* par rapport à la série témoin, à 24 heures



($0,139609 \pm 0,0026$ pour CL_{50} et $0,252121 \pm 0,007$ $\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine pour CL_{90}) et se poursuit jusqu'à 96 heures ($0,28965 \pm 0,011$ pour CL_{50} et $0,441818 \pm 0,001$ $\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine pour CL_{90}) (Fig. 28). Une ANOVA à deux facteurs confirme ces résultats et indique un effet significatif des concentrations ($F_{2, 24} = 6890$; $p < 0,0001$), temps ($F_{3, 24} = 1703$; $p < 0,0001$) et de l'interaction concentrations-temps ($F_{3, 24} = 74,58$; $p < 0,0001$).

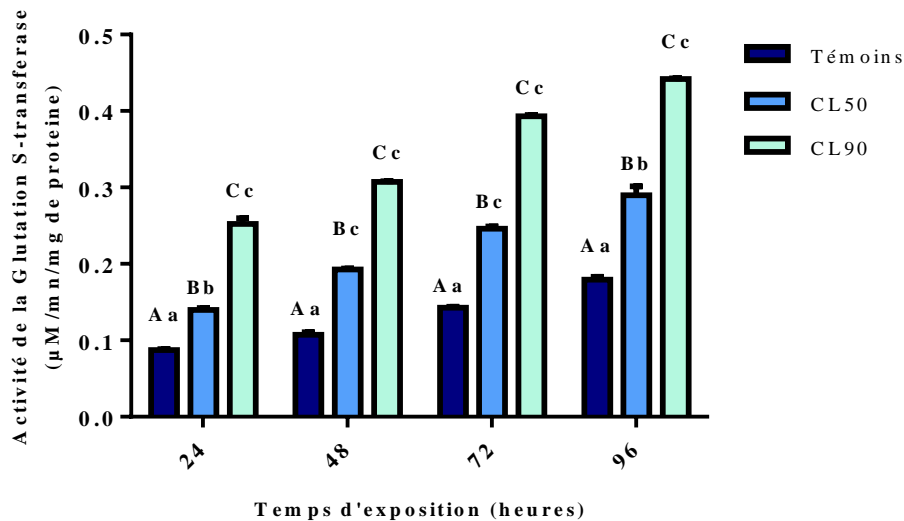


Figure 28. Effet de l'HE de *M. communis* (CL_{50} et CL_{90}) sur la GSTs ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ of protéine) chez les larves 4^{ème} de *Cx. pipiens* au cours du temps (Heures) ($m \pm SD$, $n = 6$; pour chaque durée d'exposition). Les différentes lettres minuscules au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative, et les différentes lettres majuscules au-dessus du même traitement d'exposition indiquent une différence significative ($p < 0,05$).



Tableau 20 : Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de la glutathion s transférase chez les larves 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* au cours du temps (Heures) durant le traitement par l'HE de *M. communis* (CL₅₀ et CL₉₀).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	p
Traitement	0,2927	2	0,1464	F (2, 24) = 6890	p < 0,0001
Temps	0,1085	3	0,03617	F (3, 24) = 1703	p < 0,0001
Interaction	0,009505	6	0,001584	F (6, 24) = 74,58	p < 0,0001
Erreur résiduelle	0,0005098	24	2,124e-005		

*** : hautement significatif (p < 0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

3.9.3 Effets de l'HE du *Myrtus communis* sur le taux du malondialdéhyde (MDA)

Le taux du Malondialdéhyde a été estimé chez les larves du 4^{ème} stade de *Cx. pipiens*, témoins et traitées avec les concentrations létales CL₅₀ et la CL₉₀ de l'huile essentielle de *Myrtus communis*.

Les résultats exprimés en µM/mg de protéines aux cours du temps 24, 48, 72, 96 heures chez les témoins et après traitement (Fig. 29), chez les larves de *Cx. pipiens*, l'analyse de variance à deux critères de classification montre une augmentation significative du malondialdéhyde (MDA) durant les temps testés, avec un effet traitement hautement significatif p < 0,0001 (relation concentration-réponse) et un effet temps : (p < 0,0001), avec une interaction traitement temps hautement significatif (p < 0,0001).

La comparaison entre les séries témoins et traités montre que l'huile essentielle du *M. communis* induit, activation hautement significative du processus de peroxydation lipidique chez les larves de *Cx. pipiens* (p < 0,0001 ; p < 0,0001) dès le premier jour après traitement (Tableau 21).

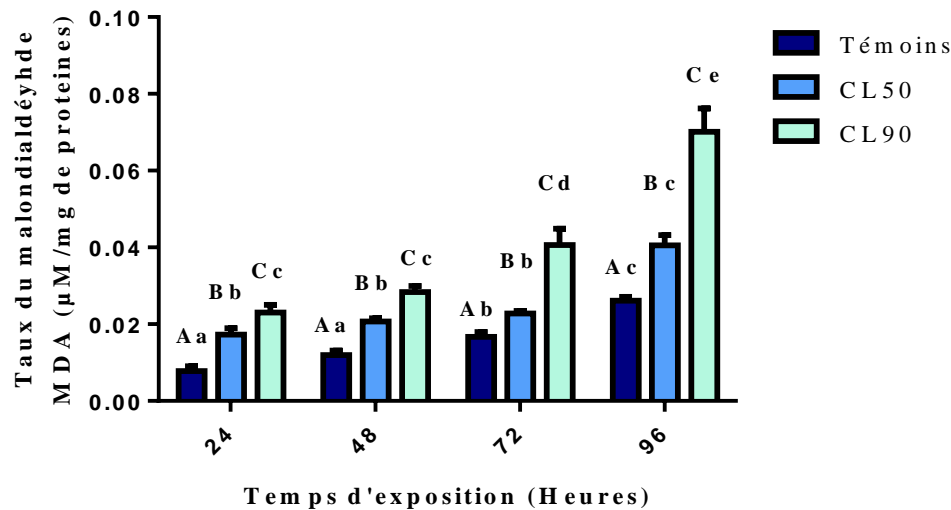


Figure 29. Effet de l'HE de *M. communis* (CL₅₀ et CL₉₀) sur le taux de la MDA (µM/mg de protéines) chez les larves du 4^{ème} de *Cx. pipiens* aux cours du temps (Heures) (m ± SD, n = 6 pour chaque temps). Les différentes lettres minuscules au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative, et les différentes lettres majuscules au-dessus du même traitement d'exposition indiquent une différence significative (p < 0,05).

Tableau 21 : Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de la malondialdéhyde (µM/ mg de protéines) chez les larves du 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* au cours du temps (Heures) durant le traitement par l'HE de *M. communis* (CL₅₀ et CL₉₀).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	p
Traitement	0,003784	2	0,0007780	F (2, 24) = 292,4	p < 0,0001
Temps	0,004594	3	0,0002590	F (3, 24) = 236,7	p < 0,0001
Interaction	0,0009259	6	0,0001543	F (6, 24) = 23,85	p < 0,0001
Erreur résiduelle	0,0001553	24	6,469e-006		

*** : hautement significatif (p < 0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

3.10 Effet de l'huile essentielle de *Myrtus communis* sur le potentiel de la reproduction de *Culex pipiens*

Le nombre d'œufs pondus par les femelles témoins est de 710 œufs, une baisse significative



($p < 0,0001^{***}$) du nombre d'œufs pondus par les femelles provenant des larves exposées à la CL₅₀ et CL₉₀ de l'huile essentielle de *Myrtus communis*. La fécondité est également impactée par le myrte, ce qui entraîne une diminution significative chez les groupes traités avec la CL₅₀ et CL₉₀ par rapport aux témoins.

L'utilisation de l'HE de *Myrtus communis* a entraîné une diminution hautement significative ($p < 0,001^{***}$) du pourcentage d'éclosion des œufs à 56, 50 % et 35,25 % respectivement pour les groupes traités CL₅₀ et CL₉₀. Le myrte affecte également la fécondité il entraîne une réduction hautement significative chez les groupes traités avec la CL₅₀ et CL₉₀ par rapport aux témoins (Tableau. 22 ; Fig. 30).

Tableau 22 : Effet de l'huile essentielle de *Myrtus communis* sur certains paramètres de reproduction chez les femelles adultes issues des larves du quatrième stade traitées de *Cx. pipiens* (($m \pm SD$, $n = 3$ comportant chaque une 10 femelles)

	Nombre d'œufs pondus	PE (%)	RF (%)	RE (%)
Témoin	710±22 a	97,18 a	/	/
CL50	584 ±16b	56,50 b	17,74 a	52,17 a
CL90	295±14 c	35,25 c	58,45 b	84,92 b

PE: Pourcentage d'éclosion; RF: Réduction de la fécondité; RE : Réduction d'éclosion

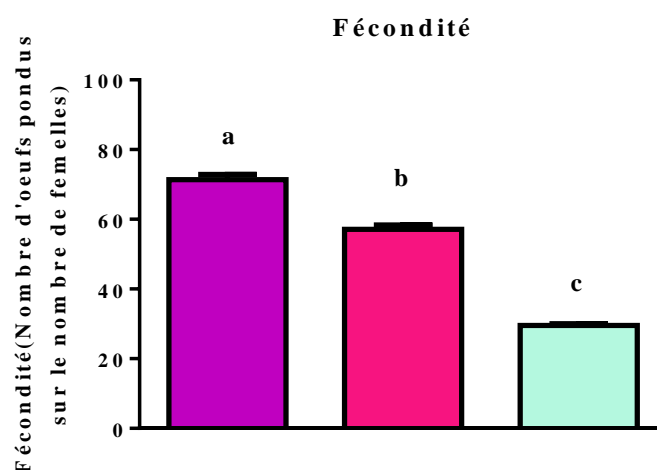


Figure 30. Effet de l'huile essentielle de *Myrtus communis* sur la fécondité (Nombre d'œufs pondus par les femelles) des femelles émergées de larves du quatrième stade traitées de *Cx. pipiens* ($n = 10$ femelles ; durée = 30 jours). * = $p < 0,05$.

DISCUSSION

4. DISCUSSION

4.1. Rendement de l'huile essentielle de la plante du Myrte

Le rendement en huile essentielle extraite des parties aériennes fraîches de *M. communis* cultivée à Annaba (Algérie), par hydro-distillation, était de $0,62\% \pm 0,05\%$ (v/w). Un rendement en huile essentielle du myrte moindre a été enregistré dans la région de Tizi-Ouzou $0,3\%$ (Aissaoui *et al.*, 2024). Les études sur le myrte dans les pays voisins ont montré des rendements similaires. En Tunisie, Aidi *et al.* (2010) ont obtenu en moyenne $0,61\%$ (v/w), au Maroc, un rendement de $0,9\%$ (v/w) en huile essentielle a été obtenu sur une base de poids sec (Brahimi *et al.*, 2022 ; Hayani *et al.*, 2024). Le rendement du myrte iranien varie de $0,8$ à $2,2\%$ (v/w) (Salimi-Beni *et al.*, 2017). En Italie le rendement est de $0,33\%$ (v/w) (Caputo *et al.*, 2022).

Le rendement de l'huile essentielle de *M. communis* est directement liée à l'altitude (Mohamadi *et al.*, 2021). La saison de la récolte, le climat, la localisation, ainsi que les méthodes d'extraction qui ont un impact sur le rendement (Dadazadeh et Nourafcan, 2021). La partie de la plante soumise à l'extraction et les facteurs climatiques (vitesse du vents et température) interviennent directement sur le pourcentage du rendement (Ainane *et al.*, 2018). On peut également supposer que les différences peuvent être liées aux poches glandulaires différentes de sous-espèce à autres (Bendif *et al.*, 2017).

4.2 Composition Chimique de l'huile essentielle du *Myrtus communis*

Nos résultats ont révélé que les principaux composés de cette huile essentielle est l' α -pinène ($50,817\%$), suivi du 1,8-Cinéole ($18,982\%$). La famille des monoterpènes oxygénés et les hydrocarbures monoterpènes sont les principales familles avec un taux élevé de ($44,44\%$), et ($36,11\%$) respectivement. En Tunisie, il a été rapporté que l'huile essentielle de *M. communis* contenait $58,1\%$ d' α -pinène et il est considéré comme un composant majoritaire (Aidi *et al.*, 2010). Selon Hayani *et al.* (2024) et contrairement à nos résultats les composés principaux de l'huile essentielle du myrte du Maroc sont le Myrcène ($27,38\%$), le limonène ($16,51\%$) et l' α -pinène ($7,32\%$). En Italie, les deux composés majoritaires sont l'acétate de géranyle ($16,36\%$) et le 1,8-Cinéole ($16,36\%$) (Barac *et al.*, 2018). Le myrte espagnole est composé majoritairement par l'acétate de myrtenyle ($>30,0\%$) et une teneur plus faible en α -pinène ($< 8,50\%$) (Albano *et al.*, 2012). L'analyse chromatographique de l'huile essentielle de *M.*

communis collectée dans différentes régions de Grèce a montré que les principaux composés identifiés étaient l' α -pinène, le 1,8-Cinéole, le linalol et le limonène (Koutsavitia *et al.*, 2015).

Des facteurs environnementaux tels que l'humidité relative, la température, la durée d'exposition au soleil, l'altitude et d'autres facteurs influencent directement le pourcentage des différents constituants de l'huile essentielle (Joshi *et al.*, 2016). Le processus et temps d'isolement ainsi que d'autres facteurs tels que les traitements préliminaires (conditions de transport, temps de séchage et de stockage du matériel végétal, etc.) peuvent entraîner une grande variabilité dans la composition de l'huile essentielle, suite à une dégradation enzymatique (Bendif *et al.*, 2017). De plus, il est essentiel de prendre en compte les influences des facteurs génétiques sur les variations chimiques des huiles essentielles (HEs) (Riahi *et al.*, 2019).

4.3 Effet larvicides

Les bioessais de toxicité montrent une activité larvicide de l'huile essentielle (HE) de *Myrtus communis* avec une relation concentration-réponse à l'égard de *C. pipiens*. L'efficacité insecticide des HEs est déterminée non seulement par leur profil chimique spécifique et leur contenu total en composés majeurs, mais aussi par les ratios mutuels des composés majeurs, qui peuvent entraîner à la fois des effets synergiques et antagonistes (Pavela, 2015).

Des études précédentes sur la toxicité des HEs ont été menées (Djeghadar *et al.*, 2018 ; Kharoubi *et al.*, 2021 ; Djeddar *et al.*, 2021 ; Aissaoui *et al.*, 2022 ; Khaldi *et al.*, 2022 ; Fertas *et al.*, 2024), notamment l'étude de Bouguerra *et al.* (2019) qui a testé l'effet de *Origanum vulgare* sur les larves de *Cx. pipiens*; les résultats indiquent une très forte toxicité. Des bioessais ont montré les activités larvicides des huiles essentielles de *Lavandula angustifolia*, *Mentha x piperita*, *Rosmarinus officinalis* chez *Culex pipiens*, parmi lesquelles le romarin a présenté une activité larvicide plus puissante (Abo El-kasem Bosly, 2022).

Récemment, des essais larvicides ont montré une activité insecticide potentielle de l'huile essentielle de *Bocageopsis multiflora* avec des valeurs CL₅₀ significatives de 40,8 et 39,4 $\mu\text{g}/\text{mm}$ à 24 et 48 h respectivement à l'égard d'*Aedes aegypti* (Silva *et al.*, 2024). Parveen *et al.* (2024) ont également trouvé un effet insecticide de l'huile essentielle d'*Artemisia scoparia* contre la même espèce de moustique. Les activités larvicides et adulticides de l'huile essentielle



de graines de *Helianthus annuus* (L.) ont montré un effet hautement significatif à l'égard des moustique (Omoniwa *et al.*, 2024).

4.4 Effet adulticide

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent que l'HE testée a présenté une forte toxicité fumigène envers les adultes de *Cx. pipiens*. La toxicité de l'huile essentielle a augmenté de manière significative durant le temps d'exposition en corrélation avec l'augmentation des concentrations de l'HE de *M. communis* appliquée. Zahran *et al.* (2017) ont rapporté que les HE d'*Origanum vulgare* ont une forte activité adulticide contre les adultes de *Culex pipiens*. De plus, divers auteurs ont signalé une activité adulticide contre une autre espèce de moustiques avec des huiles essentielles de différentes espèces végétales, telles que *Eucalyptus maculata* (Myrtaceae), *Callistemon linearis* (Myrtaceae), *Cymbopogon citratus* (Poaceae), *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae) et *Zanthoxylum limonella* (Rutaceae), avec des CL₅₀ allant de 23 à 85,5 mg/ml (Sarma *et al.*, 2019 ; Soonwera et Sittichok, 2020). Même si le composé est d'origine naturelle, la sélectivité est un problème clé. La toxicité fumigène de l'huile essentielle peut être attribuée à ses principaux monoterpènes. De plus, c'est le premier travail qui montre l'activité adulticide de l'huile essentielle de *M. communis* contre *Cx pipiens* (Yezli *et al.*, 2024). La différence de sensibilité peut être attribuée principalement à la résistance phénotypique (modifications au niveau du site cible), à la résistance métabolique (capacité de détoxifier les insecticides) ou à la modification du comportement. Les changements de comportement qui minimisent le contact entre l'insecte et l'insecticide peuvent avoir un impact sévère sur l'efficacité de l'application de l'insecticide, surtout si des caractéristiques physiologiques favorisent la résistance (Martins *et al.*, 2012).

4.5 Effet répulsif

L'huile essentielle de Myrte a montré un effet répulsif contre les moustiques femelles de *Cx. pipiens*. La forte et persistante action répulsive de l'huile essentielle peut être due à la prédominance de l' α -pinène et de l'eucalyptol parmi ses constituants majeurs (De Souza *et al.*, 2019 ; Yezli *et al.*, 2024). Ces résultats sont confirmés par le travail de Benelli *et al.* (2020) qui ont démontré une protection complète (> 80%) pendant 30 minutes avec l'huile essentielle de l'écorce fraîche de *Hazomalania voyronii* avec trois concentrations différentes, à l'égard de *Ae. aegypti* et *Culex quinquefasciatus*. Il a également été rapporté que les huiles essentielles de

Mentha spicata, *Echinococcus canadensis* et *Parthenium hysterophorus* ont montré un effet répulsif significatif contre les moustiques (Azeem *et al.*, 2019). L'huile essentielle de *Mentha spicata* a montré une répulsion de 100% pendant plus de 45 minutes, en revanche, l'effet répulsif d'*Echinococcus canadensis* a duré seulement 30 minutes, tandis que *Parthenium hysterophorus* s'est terminé après 15 minutes.

Les propriétés répulsives des HEs sont liées à la présence de monoterpénoïdes et de sesquiterpènes (Benelli et Pavela, 2018). Ces composés sont les principaux éléments présents dans l'HE de *M. communis* selon notre analyse (Yezli *et al.*, 2024). De plus, les composés naturels et les dérivés de plantes contribuent à une autre bioactivité significative dans la répulsion des moustiques. Les plantes contenant des monoterpènes peuvent altérer les activités biochimiques et physiologiques des insectes (Waliwitiya *et al.*, 2009). Les actions répulsives de ces composés offrent des alternatives prometteuses pour le contrôle et la protection contre ces moustiques (De Souza *et al.*, 2019).

4.6 Effets de l'HE du *Myrtus communis* sur le développement de *Culex pipiens*

Les composés chimiques produits par de nombreuses plantes ont un impact sur la croissance et le développement des différents stades de vie des insectes, entraînant divers effets tels que la mortalité, des anomalies dans la forme, le blocage de la mue, un retard dans le développement des nymphes et une prolongation de la durée des stades larvaires (Al-Mekhlafi *et al.*, 2020).

Nos résultats montrent que l'application de l'huile essentielle du *Myrtus communis* aux deux concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) sur les larves du 4^{ème} stade de *Culex pipiens*, perturbe le développement en prolongeant la durée du développement larvaire suivis d'un taux de survie des adultes plus faible. De nombreux insectes ont présenté des anomalies de développement après avoir été traités avec des HEs et des extraits de plantes (Shazad *et al.*, 2018 ; Taffar *et al.*, 2021). Notamment Aissaoui *et al.* (2022) ou l'huile essentielle de *Laurus nobilis* a causé une augmentation significative de la durée du développement des larves de *Cx pipiens*, tandis que la longévité des adultes a considérablement diminué jusqu'à 19 jours avec la CL₉₀ et 21 jours pour la CL₅₀, alors qu'elle a été prolongé chez les témoins jusqu'à 25 jours. Plusieurs études ont observé des résultats similaires chez la même espèce après traitement avec les huiles essentielles (Bouguerra, 2019 ; Bouzidi, 2021). El-Sabrou *et al.* (2020) ont observé des résultats similaires, démontrant que les huiles essentielles de *Cupressus macrocarpa* et de *Callistemon viminalis*



ont significativement prolongé la période de développement des larves à 19,70 et 16,26 jours respectivement par rapport aux témoins 10,63 jours, ainsi que celle des nymphes de *Cx pipiens*, tandis que la durée de vie des adultes a considérablement diminué.

De nombreuses recherches ont mis en évidence que la durée de développement et la longévité des adultes sont influencées par des facteurs de stress environnementaux tels que l'exposition aux insecticides (Mayer et Baker, 1984 ; Zwaan *et al.*, 1995). Par conséquent, la réduction de la durée des stades de développement peut être expliquée par la diminution des réserves énergétiques nécessaires à la croissance et au développement (Reim *et al.*, 2006). Cette perturbation de la croissance des insectes peut probablement résulter de l'impact des xénobiotiques sur le métabolisme des écdystéroïdes (Yezli-Touiker *et al.*, 2016). Diverses études ont démontré que les métabolites phénoliques des plantes affectent négativement le comportement alimentaire des insectes, leur croissance, leur développement et leur reproduction, et qu'ils peuvent avoir des effets létaux sur certains insectes (Divekar *et al.*, 2022 ; Mattar *et al.*, 2022). Une diminution de la digestibilité des aliments a été observée dans les fractions de tanins de *Schinus terebinthifolius* par les larves de *Spodoptera frugiperda* (Hussein *et al.*, 2023).

4.7 Effet de l'huile essentielle du *Myrtus communis* sur les aspects morphologiques induits

Le traitement des larves du 4^{ème} stade de *Culex pipiens* avec les concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀), a provoqué huit types d'aspects morphologiques chez les larves, pupes et les adultes. Ces aspects peuvent aider à expliquer les mécanismes d'action des huiles essentielles (Araújo *et al.*, 2018). Les moustiques peuvent présenter une aberration morphologique en raison d'un déséquilibre endocrinien perturbé par les huiles essentielles (Fallatah et Khater, 2010). Plusieurs recherches ont signalé une inhibition de la production d'ecdystéroïdes par des huiles (Min-Li et Shin-Foon, 1987 ; Feder *et al.*, 1988).

En outre, certaines huiles essentielles ont un impact sur le déplacement des larves vers la surface de l'eau pour respirer, tandis que d'autres peuvent provoquer une neurotoxicité par différents mécanismes, perturbant ainsi le processus normal de morphogénèse et entraînant une alimentation anormale, une perturbation du développement des moustiques adultes, ainsi que leur capacité de voler (Silv-erio *et al.*, 2020).



Chantawee et Soonwera (2018) ont signalé des effets similaires ou une mortalité a été observée chez les larves de *Musca domestica* exposées à l'huile essentielle de *Foeniculum vulgare* avec des anomalies telles qu'une pigmentation plus prononcée, une cuticule foncée, rétrécie ou un corps tordu. L'huile essentielle a la capacité de pénétrer à travers la cuticule des larves, ce qui entraîne une inhibition des activités de leur système nerveux et perturbe leur métamorphose (Pavela et Benelli, 2016). L'abdomen des larves d'*Aedes albopictus* et *Aedes Aegypti* devient noir après une exposition à l'extrait d'*Ipomoea cairica* (AhbiRami et al., 2014). Des effets similaires ont été rapportés par Soonwera et al. (2022) ou la combinaison des huiles essentielles végétales *Illicium verum* et *Zanthoxylum limonella* et de leurs composants majeures limonène et trans-anethole respectivement, induit 9 anomalies morphologiques chez *A. aegypti* et *A. albopictus*. Les mêmes effets ont été constatés chez un lépidoptère traité par les extraits des feuilles de *Magnolia grandiflora* (Magnoliaceae), du bois de *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae), et des feuilles de *Salix babylonica* (Salicaceae) (Hussein et al., 2023).

4.8 Effets de l'HE du *Myrtus communis* sur les taux des métabolites

Les glucides sont une source majeure d'énergie chez les insectes, convertis en graisses et participant à la production de protéines (Chapman 1998). Les glucides, tels que les sucres et le glycogène, constituent le carburant du vol des moustiques, et la distance parcourue par ces insectes dépend de la disponibilité des sucres (Clements, 1999). L'analyse des métabolites chez les larves traitées de *Cx. pipiens* avec les concentrations létales montre que l'HE de *M. communis* perturbe significativement les contenus métaboliques. Les résultats actuels montrent une diminution significative des niveaux de glucides dans la série traitée des larves de *Cx. pipiens*. Des résultats similaires ont été rapportés avec l'huile essentielle d'*Artemisia annua* qui a été utilisée contre les larves de pyrale du mûrier *Glyphodes pyloalis*, entraînant une réduction des niveaux des protéines, glucides et des lipides chez les larves traitées (Oftadeh et al., 2020). La diminution des glucides peut être attribuée à l'augmentation du métabolisme des sucres pour couvrir les dépenses énergétiques pendant les conditions de stress (Yezli-Touiker et al., 2016).

Les lipides sont des composants importants qui forment des acides gras, des phospholipides et des stérols, qui sont des parties intégrantes des parois cellulaires des insectes et contribuent à d'autres fonctions (Chapman, 1998). L'huile essentielle de *M. communis* a réduit la teneur en lipides des larves de *Cx. pipiens* traitées. Un résultat similaire de réduction des lipides totaux a été observé chez la même espèce de moustiques traitée avec l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* (Bouguerra et al., 2018). D'autres travaux ont rapporté une diminution de



la teneur en lipides chez les larves d'Anophelinés et de Culicinés de 28,57 % et 25,0 %, respectivement, après traitement avec un extrait d'*Artemisia annua* (Sharma *et al.*, 2011). La diminution des lipides peut être due à la peroxydation des lipides, ainsi qu'à un changement dans le métabolisme énergétique vers le catabolisme des lipides induit par le stress provoqué par l'huile essentielle. Les triglycérides se décomposent en glycérol et en acides gras, libérant de l'ATP et d'autres intermédiaires métaboliques dans le processus (Chakroun *et al.*, 2007).

L'huile essentielle de *M. communis* a significativement réduit la teneur en protéines dans la série traitée par rapport aux témoins. Ces résultats concordent avec un travail antérieur (Bouguerra *et al.*, 2018), qui a montré une diminution de la teneur en protéines totales dans les larves de *Cx. pipiens* traitées avec l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*. De plus, il est rapporté que l'expression des protéines dans les larves et les pupes de *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* a été significativement modifiée après traitement avec l'huile essentielle de *Petroselinum crispum* (Seghier *et al.*, 2020) et avec les huiles essentielles de *Cinnamomum aromaticum*, *Elettaria cardamomum* et *Myristica fragrans* chez *Ribolium castaneum* (Tarigan et Harahap, 2016). Il a été confirmé que la réduction des protéines pourrait être due à divers facteurs, notamment la dégradation des protéines à des fins métaboliques, l'incorporation altérée des acides aminés dans les chaînes polypeptidiques, l'inhibition de la synthèse des protéines ou la dégradation de ces protéines en acides aminés utilisés dans le mécanisme compensatoire comme source d'énergie pour compenser le stress (Bouaziz *et al.*, 2017). De plus, il est suggéré que cette réduction pourrait également être attribuée à l'inhibition de la synthèse de l'ADN et de l'ARN (Chintalchere *et al.*, 2020).

4.9 Effets de l'HE du *Myrtus communis* sur les réponses des biomarqueurs

Un biomarqueur est défini comme un changement mesurable dans une réponse biologique ou biochimique (Joshi *et al.*, 2016) et mesure l'interaction entre un système biologique et un agent environnemental, pouvant être chimique, physique ou biologique (Winfield *et al.*, 2012). L'inhibition ou l'induction des biomarqueurs dépend de l'évaluation du niveau d'exposition et des effets toxiques des xénobiotiques sur l'organisme (Varo *et al.*, 2002).

4.9.1 Effet sur l'acétylcholinestérase (AChE)

L'acétylcholinestérase (AChE) est l'une des enzymes hydrolytiques les plus importantes dans le système nerveux des insectes, équilibrant la transmission du signal neuronal en hydrolysant rapidement le signal d'acétylcholine dans la fente synaptique (Jacob et Mason, 2005). Les monoterpènes abondamment présents dans les huiles essentielles (HEs) sont de nature lipophile et peuvent interférer avec les fonctions métaboliques, biochimiques, physiologiques et comportementales des insectes (Mann et Kaufman, 2012). En raison de leurs constituants chimiques bioactifs, les HEs de plantes aromatiques agissent sur le système nerveux des insectes (Abdullah *et al.*, 2015). Le niveau élevé d'estérases dans diverses espèces d'insectes, y compris les moustiques, a été principalement associé au phénomène de résistance aux composés insecticides (Polson *et al.*, 2011). L'application de certaines HEs ou de leurs constituants purifiés a induit des symptômes tels qu'une hyperactivité, des convulsions et des tremblements suivis de paralysie, ce qui démontre leur mode d'action neurotoxique. Les symptômes observés sont similaires à ceux produits par les organophosphates et les carbamates (Chintalchere *et al.*, 2020). Plusieurs monoterpènes présents dans les huiles essentielles agissent comme des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (Ryan et Byrne, 1988).

Les résultats obtenus montrent que l'HE de *M. communis* a significativement réduit l'activité de l'AChE dans la série traitée par rapport aux témoins. Cette diminution de l'activité est probablement due à l'inhibition de l'enzyme par l'huile essentielle. Ces résultats sont cohérents avec ceux de Dris *et al.* (2017), qui ont montré que l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* inhibait l'activité de l'AChE chez les larves de quatrième stade de *Cx. pipiens*, et avec les résultats présentés par Kharoubi *et al.* (2021), qui ont constaté que l'HE de *Mentha x piperita* a réduit significativement l'activité de l'AChE dans le groupe traité par rapport au témoin. Les résultats de Khaldi *et al.* (2022) ont montré une réduction dans l'activité de chez la même espèce traitée avec un extrait de plante de Neem. Chez un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehnielle* l'HE de *T. munbyanus* a un effet neurotoxique (Bendjedid *et al.*, 2022).

4.9.2 Effets sur Les glutathion S-transférases (GSTs)

Les glutathion-S-transférases (GSTs, EC 2.5.1.18) sont des enzymes multifonctionnelles impliquées dans de nombreuses activités physiologiques cellulaires, telles que la détoxification des composés endogènes et xénobiotiques, la biosynthèse des hormones et la protection contre



le stress oxydatif (Adeyi *et al.*, 2015). Elles ont été reconnues pour leur rôle important dans la détoxification des xénobiotiques (Tang *et al.*, 2020). Les résultats obtenus avec *Cx. pipiens* après traitement avec l'HE de *M. communis* ont montré une augmentation très significative des niveaux enzymatiques dans la série traitée par rapport à la série témoin à tous les temps testés, 24, 48, 72 et 96 heures, respectivement.

Ce résultat pourrait s'expliquer par l'induction du processus de détoxification, une réaction de l'organisme contre l'entrée des huiles essentielles. Des études antérieures ont démontré une augmentation de l'activité des GSTs après traitement des larves de *Cx. pipiens* avec l'HE de *Rosmarinus officinalis* (Zeghib *et al.*, 2020). Des observations similaires ont également été rapportées après l'utilisation de l'huile essentielle dérivée de *Piper betle* chez *Ae. aegypti* (Vasantha-Srinivasan *et al.*, 2017). De plus, Shahriari *et al.* (2018) ont enregistré des activités significativement élevées des glutathion-S-transférases dans les larves traitées d'*Ephestia kuehniella* avec de l' α -pinène, du trans-anéthole et du thymol. L'activité spécifique significative de ces enzymes indique leur grande capacité de détoxification, attribuée à plusieurs mécanismes physiologiques. Ces mécanismes incluent la sensibilité réduite du site cible et la production accrue d'enzymes détoxifiantes, cela fonctionne pour protéger les voies de biosynthèse contre toute inhibition par des substances toxiques (Shahat *et al.*, 2020). Le mécanisme moléculaire responsable de l'activité élevée des GSTs est principalement dû à des changements régulateurs associés à une augmentation des niveaux de l'ARN messager des GSTs, indiquant une synthèse de l'enzyme (Zahran *et al.*, 2017).

4.9.3 Effets sur le malondialdéhyde MDA

La peroxydation lipidique est fréquemment observée en faveur d'une réaction au stress oxydatif, lorsque les espèces réactives de l'oxygène (ROS) oxydent les lipides présentant des liaisons carbone-carbone doubles dans les bicouches lipidiques membranaires (Sies, 2020). On peut définir les ROS comme des "produits de l'oxygène moléculaire qui se produisent comme une caractéristique normale de la vie aérobie" (Mas-Bargues *et al.*, 2021). Le processus de peroxydation lipidique se déroule en trois étapes principales : l'apparition, la diffusion de la chaîne et la fin. Une seule réaction d'initiation provoquera 200 à 400 cycles de propagation, avec des aldéhydes insaturés (4-hydroxy-2-nonenal et acroléine), des dialdéhydes (malondialdéhyde et glyoxal) et des cétdaldéhydes (4-oxo-2-nonenal et isokétales). Certaines

sont extrêmement réactives et sont perçues comme des seconds messagers toxiques, qui propagent et amplifient les dégâts oxydatifs.

La teneur en MDA a été mesurée à 24, 48, 72 et 96 heures chez les larves du 4^{ème} stade nouvellement exuviées de *Culex pipiens* après traitement avec l'huile essentielle du myrte. Les résultats obtenus montrent une augmentation très significative après traitement comparativement aux témoins. Cela met en lumière que l'huile essentielle provoque un stress oxydatif qui entraîne la peroxydation des lipides. L'augmentation du niveau de MDA, qui reflète le stress oxydatif, pourrait être associée à une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes.

Nos résultats correspondent à la littérature où des effets similaires ont également été observés chez *Cx. pipiens*, traité avec l'huile essentielle de *Laurus nobilis* (Bouzidi, 2021) et l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* (Segheir *et al.*, 2023) ainsi que les éléments majoritaires, α -pinène, le trans-anéthole et le thymol (Shahriari *et al.*, 2018). Divers huiles essentielles ont entraîné une augmentation du taux de MDA chez différents insectes notamment les huiles essentielles provenant des plants de citronnelle, d'arbre à thé et de laurier à l'égard de *Musca domestica* (Chintalchere *et al.*, 2020), le thymol chez *Acanthoscelides obtectus* (Lazarevic *et al.*, 2020).

4.10. Effet de l'huile essentielle du *Myrtus communis* sur le potentiel reproducteur

Le potentiel reproducteur des insectes reste l'un des éléments clés de leur incontestable prolifération et l'analyse de la reproduction est essentielle pour toute approche rationnelle visant à réduire de manière significative les dommages causés par les insectes (Yezli-Touiker *et al.*, 2018). Chez les insectes, les écdystéroïdes, hormones stéroïdiennes de la mue, ainsi que l'hormone juvénile sesquiterpénoïde, contrôlent divers aspects des processus de croissance, de développement et de reproduction (Yamanaka, 2021). L'écdysone (sous sa forme active 20-hydroxyécdysone ou 20E et d'autres écdystéroïdes associés), une fois libérée dans l'hémolymphe, pénètre dans ses cellules cibles pour se lier à un récepteur nucléaire nommé le récepteur de l'écdysone (EcR), qui forme un hétérodimère avec un autre récepteur nucléaire, l'ultraspiracle, et induit l'expression génique (Hun *et al.*, 2022).

Nos résultats montrent que l'HE de *Myrtus communis* administré aux larves L4 de *Culex pipiens* affecte significativement le potentiel reproducteur des femelles en inhibant leur fécondité et la viabilité de leurs œufs.

Une étude antérieure a révélé que les adultes issus des larves de *Culex pipiens* traitées avec l'HE de *Laurus nobilis* a montré une forte réduction de fécondité (Aissaoui *et al.*, 2022). Des résultats similaires ont été mentionnés après le traitement à la saponine ou la fertilité et le nombre d'œufs pondus ont été considérablement diminué chez *Cx. pipiens* (Djghader *et al.*, 2017). Chez certains insectes les extraits éthanoliques de la plante de *Schinus terebinthifolius* ont eu un impact négatif sur tous les paramètres biologiques évalués chez *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae), en prolongeant la durée du stade larvaire, ce qui a conduit à une réduction de la masse pupale et de la période d'oviposition (Hussein *et al.*, 2023). Par ailleurs, Selon Sabbour et Abd El-Aziz, (2019), une inhibition de la ponte a été observé, une diminution du nombre d'œufs pondus chez *E. kuehniella* et *E. cautella*.

On suppose que l'HE du *M. communis* a perturbé l'ovogenèse et la vitellogenèse ainsi que les diverses étapes de la reproduction et du développement. Par conséquent, la réduction dans le contenu de différentes réserves énergétiques chez les L4 et l'effet neurotoxique de l'HE, conduisant probablement à des effets secondaires sur les processus de régulation neuroendocrine *via* les neuropeptides (allatostatines, allatotropines, PTTH...) qui contrôlent la régulation hormonale de la reproduction peuvent être expliquées par l'interférence de l'HE avec les principales hormones de la reproduction (hormone juvénile et ecdystéroïdes), vue l'activité neurotoxique de l'HE enregistré, ou encore avec d'autre neuropeptides qui sont impliqués dans le contrôle endocrine de ce processus. Plusieurs auteurs ont montré une corrélation positive entre les réserves énergétiques et le succès reproducteur des organismes (De Coen et Janssen, 2003 ; Hamida, 2021).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES



5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude s'inscrit dans les activités de recherches de l'équipe du Laboratoire d'excellence de Biologie animale appliquée, qui travaille dans le cadre d'un développement durable pour développer des pesticides non polluants. Ces molécules, alternatives aux pesticides conventionnels, sont représentées les pesticides d'origine naturelle (biopesticides).

Les pesticides d'origine naturelle, qui sont des alternatives aux pesticides conventionnels. En Algérie, le moustique présente une préoccupation majeure en raison de sa large répartition géographique, de son abondance et de sa nuisance réelle, dans ce contexte cette étude vise à évaluer les effets létaux des huiles essentielles extraites d'une plante *Myrtus communis* chez *Cules pipiens*.

Cette thèse se présente comme suit :

- En premier temps une présentation du matériel biologique (animale et végétale), technique d'échantillonnage
- Une deuxième partie consacré à l'extraction de huile essentielle de *Myrtus communis* ainsi que l'analyse chimique par CPG /SM.
- L'activité insecticide (larvicide et adulticide) a permis de déterminer les concentrations de mortalités CI_{50} et CI_{90} ,
- Effet répulsif de l'huile essentielle de *Myrtus communis*
- Les activités de différents biomarqueurs, de neurotoxicité (acétylcholinestérase (AChE), de détoxification des Glutathion S-Transférases (GSTs) et de la peroxydation lipidique malondialdéhyde (MDA).
- Effets sur le taux des métabolites dans le corps (protéines, glucides et lipides), les taux d'épuisement des réserves énergétiques (NDI).
- Le potentiel reproducteur
- la fécondité la viabilité des œufs, le taux d'éclosion et la fécondité

Tous ces résultats pourraient être expliqués par le fait que l'HE pourrait avoir effet sur les différentes hormones qui régulent et modulent les processus physiologiques de développement et de la reproduction.



A l'avenir, il serait intéressant d'envisager des expériences complémentaires pour obtenir des informations plus précises sur l'impact de l'HE sur d'autres paramètres chez *Culex pipiens*:

- Tester les éléments majoritaires de L' HE sur les différents stades de développement de *culex pipiens*
- Pour élaborer le répulsif afin d'améliorer la durée de protection en encapsulant l'huile essentielle.
- Analyse des micronoyaux pour évaluer les dommages génétiques (génotoxicité).
- Etudier le comportement sexuel et alimentaire des adultes.
- Une analyse des hydrocarbures cuticulaires.
- Evaluation de l'impact des variations saisonnières sur le rendement, la composition chimique et l'efficacité de ces huiles essentielles.

RESUMES



6. RÉSUMÉS

6.1 RÉSUMÉ

Myrtus communis L. « A'Rihène » est une plante médicinale endémique de la région méditerranéenne, utilisée par les populations locales pour ses propriétés culinaires et médicinales depuis l'Antiquité. Néanmoins, même si l'intérêt scientifique s'accroît dans ce domaine, plusieurs données sur la composition des plantes médicinales, leurs utilisations thérapeutiques et les dangers associés à leur consommation sont insuffisantes. Par conséquent, cette étude résume les résultats concernant la composition chimique et les activités biologiques de *M. communis* à l'égard de *Culex pipiens*.

L'huile essentielle isolée, des feuilles fraîches de *M. communis*, a été analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). Un total de 36 composants chimiques a été identifié dans l'huile essentielle, ce qui représente 99,03 % de la teneur totale. Le profil chromatographique de l'huile essentielle est caractérisé par une quantité élevée d' α -Pinène (50,817%), suivie de 1,8-Cineole (18,982%), puis de D-Limonène (8,135%), d'autres composés tels que Linalool (4,871%), α -Terpineol (2,620%), et l'acétate de géraniol (1,870%) ont été identifiés comme des composés mineurs de la totalité des constituants détectés appartenant à quatre différentes familles.

En seconde partie l'huile essentielle a été testée sur des larves de quatrième stade et des adultes femelles pour évaluation de la toxicité de cette huile à l'égard de *Culex pipiens*. Les résultats obtenus montrent que l'HE entraîne une forte mortalité chez les larves et des adultes avec une relation concentration-réponse. Les concentrations létales (CL) CL₅₀ et CL₉₀ déterminées, grâce à une régression non linéaire, sont de l'ordre de 329,50 μ l/ml et 737,60, 22 μ l/ml respectivement pour les larves et de 0,47 μ l/ml d'air et 1,13 47 μ l/ml d'air pour les adultes.

L'huile essentielle du myrte a montré une répulsion de 100 % contre les moustiques femelles *Cx. pipiens* immédiatement après l'application de toutes les concentrations; cependant, l'effet répulsif a diminué avec le temps. Ainsi, la concentration la plus élevée a présenté une répulsion de 100 % pendant plus de 30 minutes, concernant le développement des différents stades de vie (larvaire, pupale et adultes) ce dernier a été affecté durant les différents stades avec l'apparition de plusieurs aspects morphologiques.



En troisième partie a été consacrée à l'analyse des constituants biochimiques qui a montré une diminution dans tous ces derniers, protéines, glucides, lipides et une augmentation de l'indice d'épuisement énergétique. Les activités enzymatiques ont été mesurées pour quantifier l'AChE, GSTs et le MDA, suivie d'une quantification des lipides durant le temps (24, 48, 72 et 96 heures). Les résultats obtenus indiquent une augmentation de l'activité spécifique des Glutathion STransférases (GSTs) et une diminution de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) ainsi qu'une augmentation des taux du Malondialdéhyde (MDA).

Une dernière partie de la thèse a été consacrée au potentiel reproducteur ou ces paramètres ont été affectés de manière significative (nombre d'œufs pondus, réduction de la fécondité; réduction d'éclosion).

Tous ces résultats montrent que l'HE peut être utilisé comme bio pesticide car elle présente des activités neurotoxiques, reprotoxiques et insecticides en général.

Mots clés : *Culex pipiens*, huile essentielle, *Myrtus communis*, lutte biologique

6. 2 ABSTRACT

Myrtus communis L. "A'Rihène" is an endemic medicinal plant of the Mediterranean region, used by local populations for its culinary and medicinal properties since ancient times. However, despite increasing scientific interest in this field, several data regarding the composition of medicinal plants, their therapeutic uses, and the risks associated with their consumption are insufficient. Therefore, this study summarizes the results concerning the chemical composition and biological activities of *M. communis* against *Culex pipiens*.

The isolated essential oil from fresh leaves of *M. communis* was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). A total of 36 chemical components were identified in the essential oil, representing 99.03% of the total content. The chromatographic profile of the essential oil is characterized by a high quantity of α -Pinene (50.817%), followed by 1,8-Cineole (18.982%), and D-Limonene (8.135%). Other compounds such as Linalool (4.871%), α -Terpineol (2.620%), and geranyl acetate (1.870%) were identified as minor compounds among the detected constituents belonging to four different families.

In the second part, the essential oil was tested on fourth-stage larvae and adult females to evaluate its toxicity against *Culex pipiens*. The results showed that the essential oil caused high larval mortality and affected adults with a concentration-response relationship. The lethal concentrations (LC) LC50 and LC90 determined through non-linear regression were approximately 329.50 μ l/ml and 737.60, 22 μ l/ml, respectively, for larvae and 0.47 μ l/ml of air and 1.1347 μ l/ml of air for adults.

The myrtle essential oil exhibited 100% repellency against female *Cx. pipiens* mosquitoes immediately after application of all concentrations; however, the repellent effect decreased over time. The highest concentration showed 100% repellency for over 30 minutes, affecting the development of different life stages (larval, pupal, and adult) with the appearance of several morphological aberrations.

In the third part, a biochemical analysis of the constituents showed a decrease in proteins, carbohydrates, lipids, and an increase in the energy depletion index. Enzymatic activities were measured to quantify the activity of AChE, GSTs, and MDA, followed by lipid quantification



over time (24, 48, 72, and 96 hours). The results indicated an increase in the specific activity of Glutathione S-Transferases (GSTs), a decrease in the specific activity of acetylcholinesterase (AChE), and an increase in Malondialdehyde (MDA) levels.

A final part of the thesis was dedicated to the reproductive potential, where these parameters were significantly affected (number of eggs laid, fertility reduction, hatching reduction). All these results indicate that the essential oil can be used as a biopesticide due to its neurotoxic, reprotoxic, and insecticidal activities in general.

Keywords: *Culex pipiens*, Essential oil, *Myrtus communis*, Biological control.



3.6 الملخص

نبته الريحان نبات طبي غني بالموارد والذي ينتمي إلى المنطقة البحرية الأبيض المتوسط ويُستخدم منذ العصور القديمة من قبل السكان المحليين لخصائصه الطبية والطهور. ومع ذلك، على الرغم من زيادة الاهتمام العلمي في هذا المجال، إلا أن العديد من البيانات حول تركيب النباتات الطبية واستخداماتها العلاجية والمخاطر المرتبطة بتناولها غير كافية. وبناءً عليه، فيما يتعلق بـ *Myrtus communis* تلخص هذه الدراسة النتائج المتعلقة بالتركيب الكيميائي والأنشطة البيولوجية لـ *Culex pipiens*.

الطازجة باستخدام الكروماتوغرافيا الغازية المرتبطة *Myrtus communis* تم تحليل الزيت العطري المعزول من أوراق تم تحديد مجموعة من العناصر الكيميائية البالغ عددها 36 في الزيت العطري، والذي يمثل 99.03% (GC-MS). بالكتلة من المحتوى الكلي. يُميز ملف الكروماتوغرافيا للزيت العطري بوجود كمية كبيرة من الألفا-بينين (50.817%)، تليها 1،8-ليمونين (8.135%)، وتم تحديد مركبات أخرى مثل اللينالول (4.871%)، الألفا-تيربينول-D-سينيول (18.982%)، ثم (2.620%)، وأسيتات الجيرانبول (1.870%) كمركبات فرعية من محتويات الزيت العطري بالكامل التي تنتمي إلى أربع عائلات مختلفة.

Culex pipiens. تم اختبار الزيت العطري على يرقات المرحلة الرابعة والإناث البالغات لتقييم سمية هذا الزيت لـ أظهرت النتائج الحصول على نسبة عالية من الوفيات لليرقات والبالغات مع علاقة تتناسب مع التركيز. تم تحديد التراكيز و 737.60، 90 µl/ml، باستخدام تحليل غير خطي، وكانت على التوالي تقدر بحوالي CL329.50 و CL50 (CL) القاتلة من الهواء للبالغين µl/ml من الهواء و 47 1،13 µl/ml لليرقات، و 22 µl/ml 0،47.

فوراً بعد تطبيق جميع التراكيز؛ ومع ذلك، *Cx. pipiens* أظهر زيت البلوط نسبة 100% من الابتعاد عن البعوض الإناث تناقصت فعالية الابتعاد مع مرور الوقت. بالتالي، أظهرت التركيزات الأعلى نسبة ابتعاد بنسبة 100% لأكثر من 30 دقيقة، وهو ما يتعلق بتطور مختلف مراحل الحياة (اليرقية، العذرية والبالغة) التي تم تأثيرها بظهور عيوب شكلية عديدة.

في الجزء الثالث، أظهر التحليل الكيميائي للمكونات البيوكيميائية انخفاضاً في جميع هذه المكونات (البروتينات، الكربوهيدرات، الدهون) وزيادة في مؤشر الاستنزاف الطاقوي، بالإضافة إلى قياس نشاط الإنزيمات لتحديد نشاط الأستيل، تليها قياس الدهون على مدار الزمن (24، 48، 72 و 96 ساعة). أشارت MDA، و GSTs، (AChE) كولين إستيراز وانخفاض في النشاط (Glutathion S-Transferases (GSTs) النتائج المتحصل عليها إلى زيادة في النشاط الخاص لـ (MDA)، بالإضافة إلى زيادة في مستويات مالونديالدهيد (AChE) الخاص للأستيل كولين إستيراز.

تم تخصيص الجزء الأخير من الأطروحة للتركيز على القدرة التناسلية حيث تأثرت هذه المعايير بشكل ملحوظ (عدد البيض المفرز، انخفاض الخصوبة، انخفاض الفقس) جميع هذه النتائج تشير إلى أن الزيت العطري يمكن استخدامه كمبيد حيوي لأنه يظهر نشاطات عصبية سمية، وتأثيرات على التكاثر، وفعالية في قتل الحشرات بشكل عام.

مكافحة حيوية *Myrtus communis*، زيت عطري، *Culex pipiens*: الكلمات المفتاحية

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUE



7. REFERNCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Abdullah, F., Subramanian, P., Ibrahim, H., Abdul Malek, S. N., Lee, G. S., Hong, S. L. (2015).** Chemical composition, antifeedant, repellent, and toxicity activities of the rhizomes of galangal, *Alpinia galanga* against Asian subterranean termites, *Coptotermes gestroi* and *Coptotermes curvignathus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Insect Science*. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieu175>.
- Abo El-Kasem Bosly, H. (2022).** Larvicidal and adulticidal activity of essential oils from plants of the Lamiaceae family against the West Nile virus vector, *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Saudi Journal of Biological Sciences* 29: 103350. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103350>.
- Adams, R.P. (2007).** Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing. Carol Stream, USA.
- Adeyi, A. O., Akozi, G. O., Adeleke, M. A., Agbaogun, B. K. O., Idowu, A. B. (2015).** Induction and activity of glutathione S-transferases extracted from *Zonocerus variegatus* (Orthoptera: Pyrgomorphidae) exposed to insecticides. *Journal of Tropical Insect Science*, 35(1): 27–33.
- AFNOR. (2000).** French Standards Compilation: Essential Oils. Tome 2. Piolat, France, 2000. Belahcene, S ; Kbsa,W.;
- Omoboyowa, D.A., Alshihri, A.A., Alelyani, M., Bakkour, Y., Leghouchi, E. (2023).** Unveiling the Chemical Profiling Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Algerian *Myrtus communis* L. Essential Oils, and Exploring Molecular Docking to Predict the Inhibitory Compounds against Cyclooxygenase-2. *Pharmaceuticals*, 16 :1343. <https://doi.org/10.3390/ph16101343>.
- AhbiRami, R., Zuharah, W. F., Thiagaletchumi, M., Subramaniam, S., Sundarasekar, J. (2014).** Larvicidal efficacy of different plant parts of railway creeper, *Ipomoea cairica* extract against dengue vector mosquitoes, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Insect Science*, 14(1): 180.



- Aidi, W., Mhamdi, B., Sriti, J., Ben Jemia, M., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., Kchouk, ME., Marzouk, B. (2010).** Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. *Food and Chemical Toxicology*, 48(5): 1362–1370.
- Aissaoui, L., Dif, M.M., Ayache, A., Benchohra Hadria, A., Benkhamallah, Z. (2024).** Investigating the antimicrobial and Therapeutic properties of *Myrtus communis* essential oil from beni-ghobri forest, algeria. *Fresenius Environmental Bulletin*, 33(1) : 2–8.
- Aissaoui, L., Bouaziz, A., Boudjelida, H., Nazli, A. (2022).** Phytochemical screening and biological effects of *Laurus nobilis* (lauraceae) essential oil against mosquito larvae, *Culex pipiens* (linneaus, 1758) (diptera: culicidae) species. *Applied Ecology and Environmental Research*, 21(1):287–300.
- Aïssaoui, 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.
- Alayat, MS. (2012).** Bio-écologie, position taxonomique et compétence vectorielle du complexe *Culex pipiens* (Diptera ; Culicidae) responsable de la transmission du virus West Nile et du virus de la fièvre de la vallée du Rift en Algérie. Mémoire de Magistère en Biologie environnementale, option de Biologie et écologie animale. Université Annaba .67p.
- Al-Hashimi, A., Ammar, A. B., Cacciola, F., Lakhssassi, N. (2020).** Development of a millet starch edible film containing clove essential oil. *Foods*, 9(2): 184.
- Al-Mekhlafi, F. A., Alajmi, R. A., Almusawi, Z., Abd Al GALil, F. M., Kaur, P., Al-Wadaan, M., Al-Khalifa, M. S. (2020).** A study of insect succession of forensic importance: Dipteran flies (diptera) in two different habitats of small rodents in Riyadh City, Saudi Arabia. *Journal of King Saud University-Science*, 32(7): 3111–3118.
- Alouani, A.O., Ababsia, T., Rahal, I., Rehim, N., Boudjelida, H. (2017).** Activity evaluation of botanical essential oils against immature mosquitoes of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(4): 829–834.



- Amira, S., Dade, M., Schinella, G., Ríos, J.L. (2012).** Anti-inflammatory, antioxidant, and apoptotic activities of four plant species used in folk medicine in the Mediterranean basin. *Pak Journal of Pharmaceutical Sciences*, 25(1): 65–72.
- Amraoui, F., Ben Ayed, W., Madec, Y., Faraj, C., Himmi, O., Btissam, A., Sarih, M., Failloux, AB. (2019).** Potential of *Aedes albopictus* to cause the emergence of arboviruses in Morocco. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(2): 69–9.
- Andreo, S. (2003).** L'effet anti-gorgement sur chien d'un shampoing a 0,07% de Itamethrine sur un moustique du complexe *Culex pipiens*. Thèse en Medecine Veterinaire. Université Toulouse, France. 28 p.
- Aouadi, G., Haouel, S., Soltani, A., Ben Abada, M., Boushah, E., Elkahoui, S., Taibi, F., Mediouni- Ben Jemâa, Bennadja, S. (2020).** Screening for insecticidal efficacy of two Algerian essential oils with special concern to their impact on biological parameters of *Ephesia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). *JPDP*: 1861–3829.
- Araújo, I.F., Araújo, P.H.F., Ferreira, R.M.A., Sena, I.D.S., Lima, A.L., Carvalho, J.C.T., Ferreira, I.M., Souto, R.N.P. (2018).** Larvicidal effect of hydroethanolic extract from the leaves of *Acmella oleracea* L. R. K. Jansen in *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *South African Journal of Botany*, 117: 134–140.
- Arroussi, DE.R., Bouaziz, A., Boudjelida, H. (2021).** Mosquito survey reveals the first record of *Aedes* (Diptera: Culicidae) species in urban area, Annaba district, Northeastern Algeria. *Polish Journal of Entomology*, 90(1): 14–26.
- Azeem, M., Zamana, T., Tahirb, M., Harisb, A., Iqbala, A., Binyameen, M., Abdul Nazire, A., Sarfraz, S.A., Shahid, M., Mozūraitis, R. (2019).** Chemical composition and repellent activity of native plants essential oils against dengue mosquito, *Aedes aegypti*. *Industrial Crops & Products*, 140 : 111609.
- Balenghien, T. (2007).** Les moustiques vecteurs de la Fièvre du Nil occidental en Camargu. *In. Insectes*, 146(3): 13–17.
- Barac, A., Donadu, M., Usai, D., Spiric, V. T., Mazzarello, V., Zanetti, S., Aleksic, E., Stevanovic, G., Natasa, N., Rubino, S. (2018).** Antifungal activity of *Myrtus communis*



- against *Malassezia sp.* Isolated from the skin of patients with pityriasis versicolor. *Infection*, 46: 253–257.
- Baytop, T. (1984).** *Plant remedies in Turkey*. Istanbul University, Faculty of Medicine. Press No: 3255 (p. 444).
- Belmimoun, A., Meddah, B., Meddah, A. T. T., Gabaldon, J., Sonnet, P. (2020).** Antifungal activity of *Myrtus communis* and *Zygophyllum album* extracts against human pathogenic fungi. *European Journal of Biological Research*, 10(2): 45–56.
- Belmimoun, A., Meddah, B., Meddah, ATT., Sonnet, P. (2016).** Antibacterial and antioxidant activities of the essential oils and phenolic extracts of *Myrtus communis* and *Zygophyllum album* from Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 8(2): 510–524.
- Caputo, L., Capozzolo, F., Amato, G., De Feo, V., Fratianni, F., Vivenzio, G., Nazzaro, F. (2022).** Chemical composition, antibiofilm, cytotoxic, and anti-acetylcholinesterase activities of *Myrtus communis* L. leaves essential oil. *BMC complementary medicine and therapies*, 22(1) : 142.
- Albano, S., Lima, AS., Miguel, MG., Pedro, LG., Barroso, JG., Figueiredo, AC. (2012).** Antioxidant, anti-5-lipoxygenase and antiacetylcholinesterase activities of essential oils and decoction waters of some aromatic plants. *Rec Nat Prod*, 6:35–48.
- Bendali, F. (1989).** Etude de *Culex pipiens pipiens* anautogène, Systématique et lutte bactériologique (*Bacillus thuringiensis israeliensis* serotype H14. *B. sphaericus* 1953) et deux espèces d'hydracariens. Thèse de magister en Arthropodologie. Université d'Annaba, Algérie.
- Bendali, F., Djebbar, F., Soltani, N. (2001).** Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire. *Parasitica*, 57(4) : 255–265.
- Bendali-Saoudi, F. (2006).** Etude bioécologique, systématique, et biochimique des Culicidae (Diptera-Nematocera) de la région d'Annaba. Lutte biologique anti-Culicidienne. Thèse de Doctorat d'Etat en science naturelle. Université Annaba.



- Benddine, H., Zaid, R., Babaali, D., & Daoudi-Hacini, S. (2023).** Biological activity of essential oils of *Myrtus communis* (Myrtaceae, Family) and *Foeniculum vulgare* (Apiaceae, Family) on open fields conditions against corn aphids *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) in western Algeria. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 22(2): 78–88.
- Bendif, H., Boudjeniba, M., Miara, M.D., Biqiku, L., Bramucci, M., Lupidi, G., Quassinti, L., Vitali, L.A., Maggi, F. (2017).** Essential oil of *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* from Algeria: Chemotypification and in vitro biological activities. *Chemistry and Biodiversity*, 14: 1600299. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600299>.
- Bendjedid, H., Yezli-touiker, S., Taffar, A., Soltani, N. (2021).** Phytochemical Composition and Insecticidal Activities of Essential oil of *Thymus munbyanus* (Lamiales: Lamiaceae) Aerial Parts and its Properties Against Biomarkers of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 24(4): 792–807.
- Benelli, G., Pavela, R. (2018).** Repellence of essential oils and selected compounds against ticks-A systematic review. *Acta Tropica*, 179: 47–54.
- Benelli, G., Pavela, R., Rakotosaonad, R., Nzekouee, F.K., Canalea, A., Nicolettif, M. Magg, F. (2020).** Insecticidal and mosquito repellent efficacy of the essential oils from stem bark and wood of *Hazomalania voyronii*. *Journal of Ethnopharmacology*, 248, 112333.
- Berka-Zougali, B., Hassani, A., Besombes, C., Allaf, K. (2010).** Extraction of essential oils from Algerian myrtle leaves using instant controlled pressure drop technology. *Journal of Chromatography*, 1217: 6134–6142.
- Bishnu, P., Chapagain, A., Zeev, W. (2005).** Larvicidal activity of the fruit mesocarp extract of *Balanites aegyptiaca* and its Saponin Fractions against *Aedes aegypti*. *Dengue Bulletin*, 29 :203–207.
- Blerot, P. (1999).** Le grand livre de la forêt marocaine. *mardaga*. Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. Alger. Association.1 : 207p.



- Bouaziz, A., Amira, K., Djeghader, N., Aïssaoui, L., Boudjelida, H. (2017).** Impact of an insect growth regulator on the development and the reproduction potency of mosquito. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(3): 1662–1667.
- Boudjelida, H., Bouaziz, A., Thomas, S., Smagghe, G. Soltani, N. (2005).** Effects of ecdysone agonist halofenozide against *Culex pipiens*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 83:115–123.
- Bouguerra, N. (2019).** Efficacité comparée des extraits de deux plantes, *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culex pipiens*: Composition chimique, Toxicité, Biochimie et Biomarqueurs. 2019. Thèse de doctorat.
- Bouguerra, N., Tine-Djebbar, F., Soltani, N. (2019).** Oregano Essential Oil as Potential Mosquito Larvicides. *Transylvanian Review*, 39: 9612–9619.
- Bouguerra, N., Tine-Djebbar, F., Soltani, N. (2018).** Effect of *Thymus vulgaris* L. (Lamiales: Lamiaceae) Essential Oil on Energy Reserves and Biomarkers in *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) from Tebessa Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(4): 1082–1095.
- Bouzabataa, A., Cabral, C., Gonçalves, M., Cruz, M., Bighellia, A., Cavaleiro, C., Casanova, J., Tomi, F., Salgueiro, L. (2015).** *Myrtus communis* L. a source of bioactive and safe essential oil. *Food and Chemical Toxicology*, 9: 701–702.
- Bouzidi, O. (2021).** Efficacité comparée d'une plante médicinale, *Laurus nobilis* à l'égard de deux espèces de moustiques, *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*. 2021. Thèse de doctorat.
- Bradford, M.M. (1976).** A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities on protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.
- Brahimi, A., El Ouardi, M., Kaouachi, A., Boudboud, A., Hajji, L., Hajjaj, M. (2022).** Characterization of the Biochemical Potential of Moroccan Onions (*Allium cepa* L.). *International Journal of Food Science* <https://doi.org/10.1155/2022/2103151>.



- Bugarin, D., Mitić-Ćulafić, D., Svirčev, E., Šundić, M., Mimica-Dukić, N. M. (2024).** Bioactivity of *Myrtus communis* from the Montenegro coastline. *Latin American and Caribbean Bulletin of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(1): 61–74.
- Chakroun A., Jemmali A., Ben Hamed K., Abdelli C. Druart P. (2007).** Effet du nitrate d'ammonium sur le développement et l'activité des enzymes anti-oxydantes du fraisier (*Fragaria x ananassa* L.) micropropagé. *BASE*, 11(2): 89–95.
- Chantawee, A., Soonwera, M. (2018).** Efficacies of four plant essential oils as larvicide, pupicide and oviposition deterrent agents against dengue fever mosquito, *Aedes aegypti* Linn.(Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 8(4), 217–225.
- Chapman, R.F. (1998).** *The insects structure and function* fourth ed. Cambridge University Press, Cambridge, p 782.
- Chintalchere, JM., Dar, M.A., ChaitaliShaha, C., Pandit, R.S. (2020).** Impact of essential oils on *Musca domestica* larvae: oxidative stress and antioxidant responses. *International Journal of Tropical Insect Science*, 41 (1): 821–830. DOI: 10.1007/s42690-020-00272-y.
- Clements, A.N. (1999).** *The biology of mosquitoes: development, nutrition and reproduction.* CAB International Publishing, Eastbourne, 1999.
- Croset, H., Papierok, B., Rioux, J.A., Gabinaud, A., Cousserans, J., Arnaud, D. (1976).** Absolute estimates of larval populations of culicid mosquitoes: comparison of «capture-recapture», «removal» and «dipping» methods. *Ecological entomology*, 1:251–256.
- De Coen, WM. ; Janssen CR., (2003).** The missing biomarker link : Relationships between effects on the cellular energy allocation biomarker of toxicant-stressed *Daphnia magna* and corresponding population characteristics. *Environmental Toxicology International Journal*, 22(7) : 1632–1641.
- Dadazadeh, A., Nourafcan, H. (2021).** The Effect of Different Essential Oil Extraction Methods on the Efficiency and Antibacterial Properties of *Myrtus communis* L. Leaves. *International Journal of Modern Agriculture*, 10(2): 4762–4775.



- De Souza, M.A., Da Silva, L., Macêdo, M.J.F., Lacerda-Neto, L.J., Dos Santos, M.A.C., Coutinho, H.D.M., Cunha, F.A.B. (2019).** Adulticide and repellent activity of essential oils against *Aedes aegypti*. (Diptera: Culicidae). A review. South African Journal of Botany, 124:160–165. DOI: 10.1016/j.sajb.2019.05.007
- Deore, S.L., Khadabadi, S.S. (2009).** Larvicidal activity of the saponin fractions of *Chlorophytum borivilianum santapau* and *Fernandes*. Journal of Entomology and Nematology, 1(5): 064–066.
- Deravel, J., Krier, F., Jacques P. (2014).** Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 18 (2): 220–232.
- Divekar, P. A., Narayana, S., Divekar, B. A., Kumar, R., Gadratagi, B. G., Ray, A., Behera, T. K. (2022).** Plant secondary metabolites as defense tools against herbivores for sustainable crop protection. International journal of molecular sciences, 23(5): 2690.
- Djeddar, H., Boudjelida, H., Arroussi, DE.R. (2021).** New alternative for culicidian fauna control using *Borago officinalis* and *Drimia maritima* plant extracts. Biodiversitas, 22(12): 5688–5694.
- Djeghader, N. E., 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: 1–5.
- Draper, H.H., Hadley, M. (1990).** Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. *Meth. in enzymo*, 186 : 421–431.
- Dris, D., Bouabida, H. (2023).** Assesment of larvicidal and pupicidal activities of *Mentha piperita* essential oil and effects in biomarkers and morphometric aspects against two mosquito species (*Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens*). International Journal of Tropical Insect Science. DOI: 10.1007/s42690-023-01067-7.
- Dris, D., Tine-Djebbar, F., Bouabida, H., Soltani, N. (2017).** Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: Toxicological, biometrical and biochemical aspects. S. Afr. Journal of Botany, 113: 362–369.



- Duchateau, G., Florkin, M. (1959).** Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. Archives of Physiology and Biochemistry, 67 (2):306–314.
- Đukić, N., Marković, T., Mikić, S., Ćutović, N. (2023).** Repellent activity of basil, clary sage and celery essential oils on *Tribolium castaneum* (Herbst). Journal of Stored Products Research, 103:102150.
- Ebrahimabadi, E. H., Ghoreishi, S. M., Masoum, S., Ebrahimabadi, A. H. (2016).** Combination of GC/FID/Mass spectrometry fingerprints and multivariate calibration techniques for recognition of antimicrobial constituents of *Myrtus communis* L. essential oil. Journal of Chromatography B, 1008: 50–57.
- El Hammadi, N., Almajano, M. P., Pastor, M. V., Codina-Torrella, I. (2024).** Evaluating the Incorporation of *Myrtus communis* L. Leaves Infusion in Alginate-Based Films and Spheres to Enhance the Oxidative Stability of Oil-in-Water Emulsions. Polymers, 16(5): 649.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M. (1961).** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochemical Pharmacology, 7: 88–95.
- El-Sabrouh, A. M., Zoghroban, A. A., Abdelgaleil, S. A. (2020).** Chemical composition and effects of four essential oils on mortality, development and physiology of the West Nile virus vector, *Culex pipiens*. International Journal of Tropical Insect Science, 1-11.
- El-Wakeil, N.E. (2013).** Retracted article: botanical pesticides and their mode of action. Gesunde Pflanzen, (65): 125–149.
- Fallatah, S.A., Khater, E.I. (2010).** Potential of medicinal plants in mosquito control. J. Egypt. Soc. Parasitol, 115, 1–26.
- Feder, G., Onchan, T., Chalamwong, Y., Hongladarom, C. (1988).** Land policies and farm productivity in Thailand 165pp.
- Fartas, A., Bendali-Saoudi, F., Saoudi, H., Soltani, N. (2024).** Essential oil of *Lavandula dentata* L.(Lamiaceae) as a potential larvicidal agent against *Aedes aegypti* (Diptera:



Culicidae), an invasive species from the coasts of Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 27(1) : 211–229.

Franceschini, P. (2016). *Myrtus communis* L. en corse et en méditerranée de sa composition chimique jusqu'à ses utilisation thérapeutique thèse de doctorat en pharmacie. Université de Victor Segalen; bordeaux.

Giuliani, C., Moretti, R. M., Bottoni, M., Santagostini, L., Fico, G., & Montagnani Marelli, M. (2023). The Leaf Essential Oil of *Myrtus communis* subsp. tarentina (L.) Nyman: From Phytochemical Characterization to Cytotoxic and Antimigratory Activity in Human Prostate Cancer Cells. *Plants*, 12(6): 1293.

Goldsworthy, G.J., Mordue, W., Guthkelch, J. (1972). Studies on insect adipokinetic hormones. *General and Comparative Endocrinology*, 18: 545–551.

Gryc, M.I. (1985). Contribution à l'étude botanique et chimique de *Myrtus communis* L. (Myrtacées). Thèse pour le diplôme d'état de docteur en Pharmacie, Faculté de Pharmacie, Université de Claude Bernard Lyon I.

Gwynne-Evans, D., Richardson, D. M., McKenzie, R. (2024). *Myrtus communis* (Myrtaceae) as an alien species in South Africa: Status and prognosis. *South African Journal of Botany*, 166: 550–560.

Habig, W.H., Pabst, M.J., Jackoby, W.B. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249(22): 7130–7139.

Hamama, H. M., Zyaan, O. H., Ali, O.A., Saleh, D. I., El-Akkad, H. A., El-Saadony, M.T., and Farag, S. M. (2022). Virulence of entomopathogenic fungi against *Culex pipiens*: impact on biomolecules availability and life table parameters. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(1): 385–393.

Hamilton Jamora A., Wada-Katsumata Ayako., Ko Alexandre., Schal Coby. (2020). Effets de l'ingestion et de l'application topique de novaluron sur le développement et la reproduction de blattes allemandes (*Blattella germanica*). *Pest Manag Sci*, 77 (2):877–885.



- Harbach, R.f. (2007).** The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny. *Zootaxa*, 1668:591–638.
- Hassan, A. A., Abd-Elaziz, G. O. (2020).** Genotoxicity and antimicrobial activity of *Myrtus communis* L., *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd and *Cassia angustifolia* Vahl extracts. *Bangladesh Journal of Botany*, 49(3) : 557–566.
- Haubruge É., Amichot M. (1998).** Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. *Biotechnol. Agron. Soc*, 2(3) : 161–174.
- Hayani, M., Benabbouha, T., Naceiri Mrabti, N., Eljebri, S., Sabiri, M., Zair, T. (2024).** Bioactive Profiling, Antibacterial Efficacy and Computational Modelling of *Myrtus Communis* Essential Oil (Morocco). *Chemistry & Biodiversity*, e202302114.
- Hennia, A., Graça Miguel, M., Nemmiche, S. (2018).** Antioxidant activity of *Myrtus communis* L. and *Myrtus nivellei* Batt. & Trab. Extracts : a brief review. *Medicines*, 5(89): 1–68.
- Hennia, A., Nemmiche, S., Dandlen, S., Miguel, M.G. (2019).** *Myrtus communis* essential oils : insecticidal, antioxidant and antimicrobial activities: a review. *Journal of Essential Oil Research* 31(6) : 487–545.
- Huang, S. W., Tsai, H. P., Hung, S. J., Ko, W. C., Wang, J. R. (2020).** Assessing the risk of dengue severity using demographic information and laboratory test results with machine learning. *PLoS neglected tropical diseases*, 14(12): e0008960.
- Hun, L. V., Okamoto, N., Imura, E., Maxson, R., Bittar, R., Yamanaka, N. (2022).** Essential functions of mosquito ecdysone importers in development and reproduction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(25): e2202932119.
- Hussein, H. S., Salem, M. Z., Soliman, A. M., Eldsouky, S. E. (2023).** Comparative study of three plant-derived extracts as new management strategies against *Spodoptera littoralis* (Boisd.)(Lepidoptera: Noctuidae). *Scientific Reports*, 13(1): 3542.
- Ioannou, C.S., Hadjichristodoulou, C., Kyritsi, M.A., Papadopoulos, N.T. (2021).** Short-term selection to diflubenzuron and *Bacillus thuringiensis* Var. *Israelensis* differentially



- affects the winter survival of *Culex pipiens f. Pipiens* and *Culex pipiens f. Molestus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Insects*, 12: 527–543.
- Isman, M. B. (2000).** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop protection*, 19(8-10): 603–608.
- Jacob, R. F., Mason, R. P. (2005).** Lipid peroxidation induces cholesterol domain formation in model membranes. *Journal of Biological Chemistry*, 280(47): 39380–39387.
- Jennings, W., Shibamoto, T. (1980).** Qualitative analysis of flavour and fragrance volatile by glass capillary gas chromatography. New York: Academic Press.
- Johnson, E.J., McComic, S.E., Rault, L.C., Swale, D.R., Anderson, T.D. (2023).** Bioinsecticidal activity of cajeput oil to pyrethroid-susceptible and-resistant mosquitoes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 193: 105458. Doi: 10.1016/j.pestbp.2023.105458.
- Jone, R.T., Ant, T.H., Cameron, M.M., Logan, J.G. (2021).** Novel control strategies for mosquito-borne diseases. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 376: 20190802. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0802>.
- Joshi, R., Wani, SH., Singh, B., Bohra, A., Dar, Z.A., Lone, A.A., Singla-Pareek, S.L. (2016).** Transcription factors and plants response to drought stress: current understanding and future directions. *Front. Frontiers in Plant Science*, 7: 1029. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01029>.
- Kettle, A. (1995).** Evaluation du potentiel larvicide des extraits organiques d'*Artemisia campestris* à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire de master en biochimie appliquée. Département de la biologie appliquée. Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Larbi Tébéssi.
- Khaldi, R., Rehim, N., Kharoubi, R., Soltani, N. 2022.** Phytochemical composition of almond oil from *Melia azedarach L.* and its larvicidal, ovicidal, repellent and enzyme activities in *Culex pipiens L.* *Tropical Biomedicine*, 39(4): 531-538.
- Khani, A., Basavand, F. (2012).** Chemical Composition and Insecticidal Activity of Myrtle (*Myrtus communis L.*) Essential Oil against Two Stored-Product Pests. *Journal of Medicinal Plants and By-products*, 2: 83–89.



- Kharoubi, R., Rehim, N., Khaldi, R., Haouari-Abderrahim, J., Soltani, N. (2021).** Phytochemical Screening and Insecticidal Activities of Essential oil of *Mentha x piperita* L. (Lamiales: Lamiaceae) and their Enzymatic Properties against Mosquito *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 24: 134–146.
- Koutsavitia, A., Lignou, I., Bazos, I., Koliopoulou, G., Michaelakidis, A., Giatropoulou, A., Tzakou, O. (2015).** Chemical Composition and Larvicidal Activity of Greek Myrtle Essential Oils against *Culex pipiens* biotype molestus. *Natural Product Communications*, 10(10):1759–1762.
- Krishnappa, k., Pandiyan, j., Elumalai, k., Baranitharan, M., Jayakumar S., Gokulakrishnan, J. (2019).** GC-MS analysis and mosquitocidal properties of *Loranthus pentandrus* L. (Loranthaceae) against human vector mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Academia Journal of Medicinal Plants*, 7(12): 261–268.
- Kumar, A., Singh, A., Sheikh, J. (2023).** Boric acid crosslinked chitosan microcapsules loaded with frankincense oil for the development of mosquito-repellent, antibacterial, antioxidant, and flame-retardant cotton. *International Journal of Biological Macromolecules*, 248:125874.
- Lazarević, J., Jevremović, S., Kostić, I., Kostić, M., Vuleta, A., Manitašević Jovanović, S., Šešlija Jovanović, D. (2020).** Toxic, oviposition deterrent and oxidative stress effects of *Thymus vulgaris* essential oil against *Acanthoscelides obtectus*. *Insects*, 11(9) : 563.
- Lenormand, T. (1998).** Dynamique de l'adaptation locale. Résistance aux insecticides chez *Culex pipiens*. Dynamics of local adaptation. Resistance to insecticides in *Culex pipiens*. [Note(s): [50 p.]] (bibl.: 201 refs).
- Linné, C. (1758).** *Systema naturae per regna tria naturae*. Edition 10. Holmia, 1: 82.
- Ma, W.B., Feng, J.T., Jiang, Z.L., Wu, H., Ma, Z.Q., Zhang, X. (2014).** Fumigant activity of eleven essential oil compounds and their selected binary mixtures against *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 113: 3631–3637.
- Ma, X., Hu, J., Ding, C., Portieles, R., Xu, H., Gao, J., Du, L., Gao, X., Yue, Q., Zhao, L., Borrás-Hidalgo, O. (2023).** New native *Bacillus thuringiensis* strains induce high



- insecticidal action against *Culex pipiens pallens* larvae and adults. BMC Microbiology, 23:100. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02842-9>
- Mann, R.S., Kaufman, P.E. (2012).** Natural product pesticides: their development, delivery and use against insect vectors. Mini-reviews in Organic Chemistry, 9(2): 185–202.
- Martins, A.J., Valle, D. (2012).** The Pyrethroid Knockdown Resistance. Soloneski S, Larramendy M (editors). Insecticides-Basic and Other Applications, Croatia.
- Mas-Bargues, C., Escriva, C., Dromant, M., Borrás, C., Vina, J. (2021).** Lipid peroxidation as measured by chromatographic determination of malondialdehyde. Human plasma reference values in health and disease. Archives of biochemistry and biophysics, 709: 108941.
- Matsehorova, O. Y., Odyntsova, V. M. (2024).** Prospects for the creation of new phytochemical medicinal products based on *Myrtus communis* L. (a review).
- Mattar, V. T., Borioni, J. L., Hollmann, A. & Rodriguez, S. A. (2022).** Insecticidal activity of the essential oil of *Schinus areira* against *Rhipibruchus picturatus* (F.) (Coleoptera: Bruchinae), and its inhibitory effects on acetylcholinesterase. Pesticide Biochemistry and Physiology, 185: 105134.
- Mayer, P. J., Baker III, G. T. (1984).** Developmental time and adult longevity in two strains of *Drosophila melanogaster* in a constant low-stress environment. Mechanisms of ageing and development, 26(2-3) : 283–298.
- Min-Li, Z., Shin-Foon, C. (1987).** The effects of azadirachtin on the ecdysteroid titre in the larvae of *Ostrinia furnacalis* Guenee. Journal of Applied Entomology, 103(1-5): 355–359.
- Mir, M.A. (2024).** *Myrtus communis* leaves: source of bio-actives, traditional use, their biological properties, and prospects. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 23(4) : 487–515.
- Mohamadi, Y., Lograda, T., Ramdani, M., Figueredo, G., Chalard, P. (2021).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Myrtus communis* essential oils from Algeria. Biodiversitas, 2(22): 933–946. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220249>.



- Moura, D., Vilela, J., Saraiva, S., Monteiro-Silva, F., De Almeida, J. M., Saraiva, C. (2023).** Antimicrobial Effects and Antioxidant Activity of *Myrtus communis* L. Essential Oil in Beef Stored under Different Packaging Conditions. *Foods*, 12(18): 3390.
- Mun, H., Townley, H.E. (2021).** Nanoencapsulation of plant volatile organic compounds to improve their biological activities. *Planta Medica*, 87: 236–251.
- Nenaah, G.E., Almadiy, A.A., Al-Assiuty, B.A., Mahnashi, M.H. (2022).** The essential oil of *Schinus terebinthifolius* and its nanoemulsion and isolated monoterpenes: investigation of their activity against *Culex pipiens* with insights into the adverse effects on non-target organisms. *Pest Management Science*, (78): 1035–1047.
- Oftadeh, M., Sendi, J.J. Ebadollahi, A. (2020).** Toxicity and deleterious effects of *Artemisia annua* essential oil extracts on mulberry pyralid (*Glyphodespyloalis*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 170: 104702. Doi: 10.1016/j.pestbp.2020.104702.
- Omoniwa, B. P., Johnson, T. O., Acho, M. A., Nwonuma, C. O., Soji-Omoniwa, O., Oluwafemi, A. G., Oludipe, E. O. (2024).** Larvicidal and adulticidal activities of essential oil of *Helianthus annuus* (L.) seed and molecular docking of its GCMS constituents against *Aedes aegypti* acetylcholinesterase. *Informatics in Medicine Unlocked*, 45: 101446.
- Onal, S., Timur, S., Okutucu, B., Zihnioğlu, F. (2005).** Inhibition of alpha-glucosidase by aqueous extracts of some potent antidiabetic medicinal herbs. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 35(1): 29–36.
- Parveen, A., Abbas, M. G., Keefover-Ring, K., Binyameen, M., Mozūraitis, R., Azeem, M. (2024).** Chemical Composition of Essential Oils from Natural Populations of *Artemisia scoparia* Collected at Different Altitudes: Antibacterial, Mosquito Repellent, and Larvicidal Effects. *Molecules*, 29(6) : 1359.
- Park, C. G., Jang, M., Yoon, K. A., & Kim, J. (2016).** Insecticidal and acetylcholinesterase inhibitory activities of Lamiaceae plant essential oils and their major components against *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Industrial crops and products*, 89: 507–513.



- Paul, S., Dubey, R. C., Maheswari, D. K., Kang, S. C. (2011).** *Trachyspermum ammi* (L.) fruit essential oil influencing on membrane permeability and surface characteristics in inhibiting food-borne pathogens. *Food Control*, 22(5): 725–731.
- Pavela, R. (2015).** Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review. *Industrial Crops and Products*, 76:174–187. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.06.050.
- Pavela, R., Benelli, G. (2016).** Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints, *Trends in plant science*, 21, (12):1000–1007.
- Polson, K. A., Brogdon, W. G., Rawlins, S. C., Chadee, D. D. (2011).** Characterization of insecticide resistance in Trinidadian strains of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Acta tropica*, 117(1) : 31–38.
- Pratiwi, R. A., Nurlaeni, Y. (2021).** The potency of Myrtaceae family from cibodas botanic gardens (cianjur, Indonesia) as botanical pesticide. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(10): 4648–4664.
- Ragavendran, K., Selvakumaran, J., Muthukanagavel, M., Alharbi, N.S., Muthu Thiruvengadam, M., Mutheeswaran, S., Ignacimuthu, S. Ganesan, P. (2024).** Chemical composition and mosquitocidal properties of essential oil from Indian indigenous plants *Ocimum tenuiflorum* L. and *Ocimum americanum* L. against three vector mosquitoes. *Experimental Parasitology*, 258: 108709.
- Rehimi, N., Soltani, N. (1999).** Laboratory evaluation of Alsystin, a chitin synthesis inhibitor, against *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae): effects on development and cuticle secretion. *Journal of Applied Entomology*, 123(7): 437–441.
- Reim, C., Teuschl, Y., Blanckenhorn, W. U. (2006).** Size-dependent effects of larval and adult food availability on reproductive energy allocation in the yellow dung fly. *Functional Ecology*, 20(6): 1012–1021.
- Rhodain, F., Perez, C. (1985).** Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Maloine .SA Editeur 27, Rue de l'école médecine 75006, Paris .443.
- Riahi, L., Chograni, H., Masmoudi, A. S., Cherif, A. (2019).** Genetic resources of Tunisian *Artemisia arborescens* L.(Asteraceae), pattern of volatile metabolites concentration and



- bioactivity and implication for conservation. *Biochemical Systematics and Ecology*, 87, 103952.
- Rochín-Medina, J. J., Mendoza-López, I. A., Castro-del Campo, N., Bastidas-Bastidas, P. J., Ramírez, K. (2023).** Activity of plant essential oils against clinically and environmentally isolated *Salmonella enterica* serotypes: In vitro assays and molecular docking. *Letters in Applied Microbiology*, 76(4): ovad045.
- Rocklöv, J., Dubrow, R. (2020).** Climate change: an enduring challenge for vector-borne disease prevention and control. *Nature Immunology*, 21, pp. 479–483.
- Roozitalab, G., Yousefpoor, Y., Abdollahi, A., Safari, M., Rasti, F., & Osanloo, M. (2022).** Antioxidative, anticancer, and antibacterial activities of a nanoemulsion-based gel containing *Myrtus communis* L. essential oil. *Chemical Papers*, 76(7): 4261–4271.
- Ryan, M.F., Byrne, O. (1988).** Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Chemical Ecology*, 14(10): 1965–1975.
- Sabbour, M. M., & Abd El-Aziz, S. E. S. (2019).** Impact of certain nano oils against *Ephestia kuehniella* and *Ephestia cutella* (Lepidoptera-Pyralidae) under laboratory and store conditions. *Bulletin of the national research Centre*, 43:1–7.
- Salameh, P., Baldi, I., Brochard, P., Raheison, C., Saleh, B.A., Salamon, R. (2003).** Respiratory symptoms in children and exposure to pesticides. *European Respiratory Society*, 22: 507–512.
- Salimi-Beni, A., Kocheiki-Shahmokhtar, M., Masoumias, A., Khajehsharifi, H. (2017).** Phytochemical and biological studies of some *Myrtus (Myrtus communis* L.) populations of southwest region of Zagros (Iran). *Natural Products Chemistry & Research*, 5(7): 290.
- Sanei-Dehkordi, A., Heiran, R., Moemenbellah-Fard, M.D., Sayah, S., Osanloo, M. (2022).** Nanoliposomes containing carvacrol and carvacrol-rich essential oils as effective mosquitoes larvicides. *Journal of Bionanoscience*, 12: 359–369. DOI: 10.1007/s12668-022-00971-5.
- Sanei-Dehkordi, A., Moemenbellah-Fard, M.D., Sereshti, H., Shahriari-Namadi, M., Zarenezhad, E. Osanloo, M. (2021).** Chitosan nanoparticles containing *Elettaria*



cardamomum and *Cinnamomum zeylanicum* essential oils; repellent and larvicidal effects against a malaria mosquito vector, and cytotoxic effects on a human skin normal cell line. *Chemical Papers*, 75: 6545–6556. DOI: 10.1007/s11696-021-01829-y.

Sangeetha, M., Manigandan, S., Ashok, B., Brindhadevi, K., Pugazhendhi, A. (2021). Experimental investigation of nanofluid based photovoltaic thermal (PV/T) system for superior electrical efficiency and hydrogen production. *Fuel*, 286, 119422.

Santos dos, S.M., de Oliveira Junior, P.C., de Matos Balsalobre, N., Kassuya, C.A.L., Cardoso, C.A.L., Pereira, Z.V., Silva, R.M.M.F. Formagio, A.S.N. (2021). Variation in essential oil components and anti-inflammatory activity of *Allophylus edulis* leaves collected in central-western Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 267, pp. 113495267 DOI: 10.1016/j.jep.2020.113495.

Sarma, R., Adhikari, K., Mahanta, S., Khanikor, B. (2019). Insecticidal activities of *Citrus aurantifolia* essential oil against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Toxicology Reports*, 6: 1091–1096.

Schaffner, F. (1992). Les Moustiques de Haute-Alsace. I Systématique. Retirage de thèse D.R.S., Conseil Général du Haut-Rhin, 295p.

Schaffner, F., Angel, G., Geoffroy, B., Hevry, J.P., Rhaiem, A., Brunhes, J. (2001). Moustiques d'Europe. Institut de recherche pour le développement IRD. Logiciel d'identification.

Seghier, H., Dris, D., Bouabida, H. (2023). Insecticidal activity of *Ocimum basilicum* essential oils against a species of mosquitoes *Culiseta longiareolata* (Diptera: Culicidae). *Journal of Entomological Research*, 47(4): 632–636.

Seghier, H., Tine- Djebbar, F., Loucif-Ayad, W., Soltani, N. (2020). Lavicidal and pupicidal activities of *Petroselinum crispum* seed essential oil on *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata* mosquitoes. *Transylvanian Review*, 27: 47.

Senthil-Nathan, S. (2020). A review of resistance mechanisms of synthetic insecticides and botanicals, phytochemicals, and essential oils as alternative larvicidal agents against mosquitoes. *Front. Physiol*, 10: 1591.



- Shaapan, R. M., Al-Abodi, H. R., Alanazi, A. D., Abdel-Shafy, S., Rashidipour, M., Shater, A. F., Mahmoudvand, H. (2021).** *Myrtus communis* essential oil; anti-parasitic effects and induction of the innate immune system in mice with *Toxoplasma gondii* infection. *Molecules*, 26(4): 819.
- Shahat, M.A.M., El-Sheikh, T.M.Y., Hammad, K.M., Hasaballah, M.I., Shehata, A.Z.I. (2020).** Effect of Some Plant Extracts on The Biochemical Parameters, AChE and GST Activities of The Mosquito, *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *Journal of Biological Sciences*, 12(2): 69–80.
- Shahriari, M., Zibae, A., Sahebzadeh, N., Shamakhi, L. (2018).** Effects of α -pinene, trans anethole, and thymol as the essential oil constituents on antioxidant system and acetylcholine esterase of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Pest Science*, 150: 40–47.
- Sharma, P., Mohan, L., Dua, K.K., Srivastava, C.N. (2011).** Status of carbohydrate, protein and lipid profile in the mosquito larvae treated with certain phytoextracts. *Asian Pacific Journal of Tropical*, 301–304.
- Shaw, W. R., Catteruccia, F. (2019).** Vector biology meets disease control: using basic research to fight vector-borne diseases. *Nature microbiology*, 4(1): 20–34.
- Shazad, M., Gupta, K. K., Kayesth, S., Kumar, S. (2018).** Sublethal effects of ethanol extract of *Ocimum sanctum* on laboratory-bred population of dengue mosquito *Aedes aegypti* L. *Diptera: Culicidae*, 1–7.
- Shibko, S., Koivistoinen, P., Trapinec, C., Newhall, A., Friedman, L. (1966).** A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from subcellular fraction. *Analytical Biochemistry*, 19: 415–528.
- Sies, H. (2020).** Oxidative stress: Concept and some practical aspects. *Antioxidants*, 9(9): 852.
- Silv'erio, M.R.S., Espindola, L.S., Lopes, N.P., Vieira, P.C. (2020).** Plant Nat. Prod. Control *Aedes aegypti*: Main. Vector Important Arboviruses, 25: 1–45. DOI: 10.3390/molecules25153484.



- Silva, R., Mello, T. R-B., Sousa, J.P.B., Albernaz, L.C., Magalhães, N.M.G., Morais, L.S., Fransisco, L.R., Leal, W.S. Espindola, L.S. (2022).** Brazilian Cerrado biome essential oils to control the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Industrial Crops & Products*, 178: 114568.
- Silva, J. R. D. A., Oliveira, A. A. D., França, L. P., da Cruz, J. D., & Amaral, A. C. F. (2024).** Exploring the Larvicidal and Adulticidal Activity against *Aedes aegypti* of Essential Oil from *Bocageopsis multiflora*. *Molecules*, 29(10) : 2240.
- Snow, N., McFadden, J., M. Evans, T., Salywon, A.M., Wojciechowski, M.F., Wilson, P.G. (2011).** Morphological and Molecular Evidence of Polyphyly in *Rhodomyrtus* (Myrtaceae: Myrteae). *Systematic Botany*, 36(2): 390–404.
- Soonwera, M., Sittichok, S. (2020).** Adulticidal activities of *Cymbopogon citratus* (Stapf.) and *Eucalyptus globulus* (Labill.) essential oils and of their synergistic combinations against *Aedes aegypti* (L.), *Aedes albopictus* (Skuse), and *Musca domestica* (L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 27: 20201–20214.
- Suman, L.N., De, S., Sharma, G., Mandal, U., Bhattacharjee, R., Banerjee, D. Suman, D.S. (2022).** Field larvicidal and oviposition repellent efficacy of three essential oil formulations for the control of filaria vector mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae): A kill and push concept. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 25: 101963
- Taffar, A., Yezli-Touiker, S., Bendjedid, H., Soltani N. (2021).** Evaluation of azadirachtin, a biopesticides, on growth, development and cuticle secretion of Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. *Journal of Entomology*, Res 45 (3): 436–443.
- Talebianpoor, M. S., Talebianpoor, M. S., Mansourian, M., Vafaiee-Nejad, T. (2019).** Antidiabetic Activity of Hydroalcoholic Extract of *Myrtus communis* (Myrtle) Fruits in Streptozotocin-Induced and Dexamethasone-Induced Diabetic Rats. *Pharmacognosy Research*, 11(2).
- Tang, F., Tu, H., Shang, Q., Gao, X., Liang, P. (2020).** Molecular cloning and characterization of five glutathione S-transferase genes and promoters from *Micromelalopha troglodyta* (Graeser) (Lepidoptera: Notodontidae) and their response to tannic acid stress. *Insects*, 11(6): 339–355.



- Tarigan, S. I., Harahap, I. S. (2016).** Toxicological and physiological effects of essential oils against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Biopesticides*, 9 (2): 135–147.
- Tas, S., Tas, B., Bassalat, N., Jaradat, N. (2018).** In-vivo, hypoglycemic, hypolipidemic and oxidative stress inhibitory activities of *Myrtus communis* L. fruits hydroalcoholic extract in normoglycemic and streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomedical Research (0970-938X)*, 29(13).
- Tuberoso, C.I.G., Rosa, A., Bifulco, E., Melis, M.P., Atzeri, A., Pirisi, F.M., & Dessì, M.A. (2010):** Chemical composition and antioxidant activities of *Myrtus communis* L. berries extracts, *Food Chemistry*, 123: 1242–1251.
- Tufan-Cetin, O., et Cetin, H. (2023):** Use of micro and macroalgae extracts for the control of vector mosquitoes. *PeerJ*, 11: e16187.
- Tumen, I., Akkol, E. K., Suntar, I., Erbey, G., Kurtca, M., Keles, H., ranovich, A. (2017).** Evaluation of the wound healing and anti-inflammatory activities and phytochemical analysis of *Myrtus communis* L. *Fresenius Envir Bull*, 26(7):4420–4428.
- Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M., Jennings, F.W. (1996).** *Veterinary parasitology. 2nd edition.* Oxford: Blackwell science, p 307.
- Varo, I., Serrano, R., Pitarch, E., Amat, f., Lopez, F.J., Navarro, JC. (2002).** Bioaccumulation of chlorpyrifos through an experimental food chain: study of protein hsp70 as biomarker of sublethal stress in fish. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 42: 229–235.
- Vasantha-Srinivasan, P., Senthil-Nathan, S., Ponsankar, A., Thanigaivel, A., Edwin, E., Selin-Rani, S., Chellappandian, M., Pradeepa, V., Lija-Escaline, J., Kalaivani, K., Hunter, W.B., Duraipandiyar, V., Al-Dhabi, N.A. (2017).** Comparative analysis of mosquito (Diptera: Culicidae: *Aedes aegypti* Liston) responses to the insecticide Temephos and plant derived essential oil derived from Piper betle L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 139: 439-446.



- Waliwitiya, R., Kennedy, C.J., Lowenberger, C.A. (2009).** Larvicidal and oviposition-altering activity of monoterpenoids, trans-anethole and rosemary oil to the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Pest Management Science*, 65: 241–248.
- WHO (World Health Organization). (2005).** Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides. World Health Organization, Geneva.
- Winfield, M.O., Wilkinson, P.A., Allen, A.M., Barker, G.L.A., Coghill, J.A., Burridge, A., Hall, A., Brenchley, R.C., D'Amore, R., Hall, N., Bevan, M.W., Richmond, T., Gerhardt, D.J., Jeddelloh, J.A., Edwards, K.J. (2012).** Targeted re-sequencing of the allohexaploid wheat exome. *Plant Biotechnology Journal*, 10: 733–742.
- Wong, G. K., Jim, C. Y. (2016).** Do vegetated rooftops attract more mosquitoes? Monitoring disease vector abundance on urban green roofs. *Science of the Total Environment*, 573: 222–232
- World Health Organization. World Malaria Report. (2022).** Geneva: World Health Organization ; 2022.
- Wu, J., Wei, Z., Cheng, P., Qian, C., Xu, F., Yang, Y., Wang, A., Chen, W., Zhiguang Sun, Z. Yin Lu, Y. (2020).** Rhein modulates host purine metabolism in intestine through gut microbiota and ameliorates experimental colitis. *Theranostics*, 10 (23): 10665–10679.
- Yamanaka, N. (2021).** Ecdysteroid signalling in insects From biosynthesis to gene expression regulation. In *Advances in Insect Physiology*, 60 : 1-36.
- Yang, Y., Isman, M.B., Tak, J.H. (2020).** Insecticidal Activity of 28 Essential Oils and a Commercial Product Containing *Cinnamomum cassia* Bark Essential Oil against. *Insect*, 11: 474–498.
- Yang, Y., Isman, M.B., Tak, J.H. (2020).** Insecticidal Activity of 28 Essential Oils and a Commercial Product Containing *Cinnamomum cassia* Bark Essential Oil against. *Insect*, 11: 474–498.
- Yezli, A., Boudjelida, H., Arroussi, D.E.R. (2024).** Components and toxicological effects of *Myrtus communis* L. (myrtales: myrtaceae) essential oil against mosquito *Culex pipiens* L. (diptera: culicidae). *Applied ecology and environmental research*, 22(3): 2149–2164.



- Yezli-Touiker S., Taffar A., Meskache R. Soltani N. (2018).** Impact of captopril on *Ephestia kuehniella*: Ovarian Nucleic Acid Amounts and Protein Analysis. Tunis. J. Plant Prot. 13: 77–85.
- Yezli-Touiker, S., Soltani-Mazouni, N., Kirane-Amrani, L., Soltani, N. (2016):** Delayed effects of caproptil on the mediterranean flour moth: reproductive events, of ovaries. Biochemical composition and molting hormone contents of ovaries. Fresenius Environmental Bulletin, 25 (4): 1190–1205.
- Zahoor, A.M.K., Zahoor, M.A., Mubarik, M.S., Rizvi, H., Majeed, H.N., Zuhussnain, M., Ranian, K., Sultana, K., Imran, M., Qamer, S. (2020):** Insecticidal, biological and biochemical response of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) to some indigenous weed plant extracts. Saudi Journal of Biological Sciences, (27): 106–116.
- Zahran, H.E.M., Abou-Taleb, H.K., Abdelgaleil, S.A.M. (2017);** Adulticidal, larvicidal and biochemical properties of essential oils against *Culex pipiens* L. Journal of Asia-Pacific Entomology, 20: 133–129.
- Zeghib, F., Tine-Djebbar, F., Zeghib, A., Bachari, K., Sifi, K., Soltani, N. (2020).** Chemical Composition and Larvicidal Activity of *Rosmarinus officinalis* Essential Oil against West Nile Vector Mosquito *Culex pipiens* (L.). Journal of Essential Oil Bearing Plants, 23(6): 1463-1474.
- Zhang, X., Ordóñez de Pablos, P., Xu, Q. (2014).** Culture effects on the knowledge sharing in multi-national virtual classes: A mixed method. Computers in Human Behavior, 31, 491–498. DOI: 0.1016/j.chb.2013.04.021.
- Zhu, J., Zeng, X. (2006).** Adult repellency and larvicidal activity of five plant essential oils against mosquitoes. Journal of the American Mosquito Control Association, 22: 515–523.
- Zwaan, B., Bijlsma, R., Hoekstra, R. F. (1995).** Direct selection on life span in *Drosophila melanogaster*. Evolution, 49(4): 649–659.

**ANNEXE : PRODUCTION
SCIENTIFIQUE**

ANNEXE : PRODUCTION SCIENTIFIQUE

• Publications catégorie (A) :

Yezli, A., Boudjelida, H., Arroussi, D.E.R. (2024). Components and toxicological effects of *Myrtus communis* L. (myrtales : myrtaceae) essential oil against mosquito *Culex pipiens* L. (diptera: culicidae). Applied ecology and environmental research, 22(3) : 2149–2164.

Yezli, A., Arroussi, D.E.R., Boudjelida, H., Bensouici, C (2024). Repellency and activity evaluation of *Myrtus communis* essential oil on physiology and reproduction of mosquito species *Culex pipiens*. Fresen. Environ. Bull. 33(5) : 407-417.

• Communication internationales :

- **Yezli A, Boudjelida H, Arroussi DE.R. & Hakima Djeddar H. 2022.** Effet larvicides de l'huile essentielle de *Myrtus communis* à l'égard d'un vecteur de maladies *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae). International Online Conference on Valuation of Alternative Plants, Degraded & Marginal Lands, Via Google meet.
- **Yezli A, Boudjelida H, Arroussi DE.R. & Hakima Djeddar H. 2022.** Effet adulticide de l'huile essentielle de *Myrtus communis* à l'égard d'un vecteur de maladies *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae). 1^{er} webinaire internationale impact des maladies vectorielles transmises par les arthropodes sur la santé et l'environnement WIMVTASE 2022,02 Juillet, Via Zoom.
- **Yezli A, Djeddar H, Arroussi De.R. & Boudjelida H. 2022.** Utilisations des huiles essentiels de *Myrtus communis* à l'égard d'un vecteur de maladies *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) : Toxicité. 1st International Webinar of Animal Biodiversity, Protection and Environment " WIBAPE2022", 26 to 27 May 2022, Via Zoom.
- **Yezli A, Boudjelida H, Arroussi D.E R. 2022.** Toxicité des huiles essentielles de *Myrtus communis* à l'égard d'un vecteur de maladies *Culex pipiens* diptera: culicidae (Orale). International Seminar on Valorization of Agronomic, Ecological and Food Resources (ISVAEFR 2022), 18, 19 & 20 October, Skikda Algeria.
- **Yezli A, Boudjelida H, Arroussi D.E R. 2022.** Chemical composition of the essential oil of an endemic plant *Myrtus communis*. 1st International Conference on Innovative Materials for Sustainable Development" held Inno-MSD, December 13, 14 and 15. Annaba (Algeria).
- **Yezli A, Boudjelida H. 2023.** Valorisation des ressources naturelles: Huile essentielle du Myrte endémique à la région Méditerranéenne à l'égard d'un vecteur de Maladies *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). 1st International Seminar on Valorization of Bioresources in Environment & Health.03/05.El Oued, Algeria.
- **Yezli A, Boudjelida H. 2023,** Caractérisation chimique et effet larvicide de l'huile essentielle de

Myrtus communis à l'égard d'un vecteur de maladie. 1st ISARFSHE, 17-18th Annaba.

- **Yezli A**, Boudjelida H. Arroussi R. 2023. Compréhension du mode d'action de l'huile essentielle de *Myrtus communis* à l'égard d'un vecteur de maladies *Culex pipiens*. 1st International SISTA VRNB. 20, 21, 22 Decembre, Tunisie. (Prix de la meilleur presentation)
- **Yezli A**, Arroussi R. Boudjelida H. 2023. Impact de l'huile essentielle de *Myrtus communis* à l'égard d'un vecteur de maladies *Culex pipiens*: réponse des biomarqueurs. 1st International SISTA VRNB. 20, 21, 22 Decembre, Tunisie.

• **Communication nationales :**

- **Yezli A**, Arroussi DE.R, Djeddar H & Boudjeida H. 2021. Evaluation d'effet répulsif des huiles essentielles d'une plante aromatique à l'égard d'un vecteur de maladies *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae). National Doctoral Day and Research Posters "Biological Sciences", Via Google meet.
- **Yezli A**, Boudjelida H & Arroussi DE.R. 2022. Effet répulsif des huiles essentielles du *Myrtus communis* à l'égard de *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). 1er Séminaire Nationaux sur L'Agriculture Durable et la Biodiversité 11 et 12 Mai 2022 via Google meet
- **Yezli A**, Boudjelida H, Arroussi D.E R. 2023. Valorization of natural resources: essential oil against a disease vector *Culex pipiens* (diptera: culicidae). National Seminar On Phytotherapy And Pharmacognosy (Nspp-2023), Mars 14-15, Setif Algeria.
- **Yezli A**, Boudjelida H, 2023. DD-AS, Evaluation of the repellent effect of essential oils *Myrtus communis* against a disease vector *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae), National, 15 November, Annaba.
- **Yezli A**, Boudjelida H, 2023. DD-AS, Effet Adulticide et larvicide de l'huile essentielle de *Myrtus communis* à l'égard d'un vecteur de maladies *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae), National, 15 November, Annaba.

COMPONENTS AND TOXICOLOGICAL EFFECTS OF *MYRTUS COMMUNIS* L. (MYRTALES: MYRTACEAE) ESSENTIAL OIL AGAINST MOSQUITO *CULEX PIPPIENS* L. (DIPTERA: CULICIDAE)

YEZLI, A.^{1*} – BOUDJELIDA, H.¹ – ARROUSSI, D. E. R.^{1,2}

¹Laboratory of Applied Animal Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Badji Mokhtar University, Annaba 23000, Algeria
(e-mail: boudjelidahamid@yahoo.fr; phone: +213-780-387-606)

²National University of Forests, Khanchela 40000, Algeria
(e-mail: arroussi.rachid@yahoo.fr; phone: +213-667-830-807)

*Corresponding author
e-mail: yezliamina@gmail.com; phone: +213-699-034-984

(Received 17th Dec 2023; accepted 25th Mar 2024)

Abstract. The purpose of the present study was to determine the chemical composition of *Myrtus communis* L. essential oil (EO) and to assess its effectiveness against newly exuviated fourth instar larvae and adults of *Culex pipiens*. The EO of the plant was extracted by hydrodistillation and its chemical profile has been analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) method. During this analysis, 36 Compounds were identified and the main components were α -Pinene (50.81%) and 1,8-Cineole (18.98%). The EO toxicity was tested using several concentrations (100, 200, 400, 600, 700 μ l/ml) and lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₀) were estimated at 329.5 μ l/ml and 737.6 μ l/ml against fourth-instar larvae. The adulticidal effect of this EO was tested using different concentrations ranging between 0.15 and 1.25 μ l/ml air and their lethal concentration values were estimated. The EO of *M. communis* L. applied at its LC₅₀ and LC₉₀ against fourth-instar larvae and the effect action pathway was studied using the acetylcholinesterase (AChE) and glutathione S-transferase (GSTs) biomarkers analyzes. These Biomarkers analyzes have confirmed the neurotoxic activity and activation of the detoxification system. It was concluded that *M. communis* EO exhibits insecticidal effects against *Cx. pipiens* and could be considered as a potential alternative to conventional insecticides.

Keywords: phytochemical screening, plant essential oil, insecticidal activities, biomarkers, medicinal plants

Introduction

Mosquitoes are a major public health concern worldwide as they transmit many pathogens to humans and other vertebrate animals (Krishnappa et al., 2019). They are recognized as the primary vectors of various significant diseases, such as malaria, filariasis, dengue fever, yellow fever, chikungunya, West Nile virus, Zika virus and other arboviruses; that can lead to encephalitis, bacteriosis, and helminthiasis (Amraoui et al., 2019). These pathogens are among the most significant health concerns globally (Hamama et al., 2022). The domestic mosquito, *Culex pipiens* is considered as the most dominant with a large distribution in urban areas in Algeria. A culicidian systematic study, in North-East of Algeria (Annaba region) revealed an abundance of 55.83% of this species and a their presence was recorded through the all year because of the temperature rising due the climate changes (Arroussi et al., 2021). Mosquito-borne diseases are a growing global health challenge, threatening more than 40% of the

world's population, by 2050 and half of them will be exposed to arbovirus transmission (Jones et al., 2021). Due to the lack of vaccines and no treatment for these diseases, prevention strategies focus on controlling larval and adult mosquito populations with insecticides and repellents that were considered the most effective approach for reducing the mosquito proliferation (Jones et al., 2021).

Synthetic and neurotoxic insecticides are commonly used to control mosquitoes (Ioannou et al., 2021). However, in recent decades, the development of insect resistance and adverse effects on non-target organisms, soil, water, and air have increased significantly (Johnson et al., 2023) and became a real health and environmental problem. Scientists are looking forward to develop and to propose new alternatives, instead of the used conventional pesticides, such as natural plant extracts, called botanical insecticides or bioinsecticides (Bendjedid et al., 2021; Aïssaoui et al., 2022). Many bioassays using plant extracts and essential oils (EOs), from different plant parts are tested against different insect orders (Yang et al., 2020). According to these positive results, insecticides of botanical origin are increasingly being used as safe alternatives to the conventional chemical and synthetic insecticides for pest control, in both agriculture and public health sector, in a sustainable and ecologically friendly manner (Zahoor et al., 2020; Ma et al., 2023).

EOs are mainly odorless volatile compounds produced spontaneously by plants as secondary metabolites for purposes other than feeding (i.e., protection or attraction) (Nenaah et al., 2022). EOs extracted from plants can act as insect growth disruptors (Abdel Haleem et al., 2022), repellents, synergists (El-Wakeil, 2013) or as phagodeterrents (Bibiano et al., 2022). Due to their lipophilic properties, they can enter the interior of insects and interfere with their biological, physiological, and neurological systems, resulting in metabolic disorders and death (Taffar et al., 2021).

Myrtus communis is a medicinal and aromatic species belonging to the Myrtaceae family that is endemic to the Mediterranean region (Tuberoso et al., 2010). Previous studies have confirmed that *M. communis* has anti-inflammatory (Amira et al., 2012), antiseptic (Amensour et al., 2010), antibacterial and antifungal properties (Bouzabata et al., 2014). Also some plants exhibit other activities, such as anti-protozoal (Belmimoun et al., 2016), antioxidant (Aidi et al., 2010), hypoglycemic (Onal et al., 2005) and other medicinal uses (Hennia et al., 2018).

The current study was aimed to determine the chemical composition of the EO of *M. Communis* and to evaluate its larvicidal and adulticidal effects towards a disease vector *Culex pipiens*. In order to give additional information on its mode of action, the activities of the biomarker of neurotoxicity (AChE) and the detoxifying enzyme (GSTs) were measured and interpreted.

Materials and methods

Plant collection

Fresh leaves of *Myrtus communis* (Myrtales: Myrtaceae) were collected from Seraidi area; (Northeast Algeria, Annaba: 36° 55' 53" North 7° 43' 26" E), and identified according to the voucher specimen (N° PH009-03) which is deposited in the herbarium of the Department of Botany (Faculty of Science, University of Badji Mokhtar Annaba, Algeria). The leaves of this plant remain green during the all year, but the spring period remain the best time for sampling in order to get better oil yield.

The essential oil extraction

The essential oil extraction is carried out using hydrodistillation process, using a Clevenger 19 type apparatus. It consists by immersing the cut fresh leaves of *M. communis* (100 g) directly into the bottle filled with distilled water (1500 ml). The whole is boiled for 3 h, then the essential oil is separated from the aqueous phase in the presence of anhydrous sodium sulfate, in order to remove all traces of water and then it was stored in a small opaque bottle at 4°C in refrigerator. The used plant yield is calculated according to the French standardization association (AFNOR) formula (AFNOR, 2000): $Y \% \text{ oil (w/w)} = \text{weight of essential oil (g)} / \text{weight of plant material (g)} \times 100$.

Gas chromatography-mass spectrometry analysis

The Essential Oil (EO) Analysis was performed using Gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) with an HP (Hewlett Packard) Agilent 6890 plus equipped with a HP- 5MS column (a length of 30 m \times internal diameter of 0.25 mm, and 0.25 μm film thickness). The column oven temperature was set at 60°C for 8 min and then increased to 250°C at the rate of 2°C/min. The injector and detector temperatures carrier gas was helium, which flows through the column at 0.5 ml/min and the split ratio was set to 50:1 with injection of 0.2 μl of oil sample. The component quantification was done by an external standard method using calibration curves generated by running GC analysis of representative compounds. The mass spectrometry (MS) analysis was performed with a HP spectrometer (Hewlett Packard Agilent 5973) that operated at 70 eV.

The constituent's identification was based on a comparison of retention times with those of corresponding reference standards using the NIST 02 and by comparison of the retention index to n-alkanes of the components with published data (Adams, 2007).

Mosquito rearing

The mosquito colonies of *Culex pipiens* were kept in the Animal Biology Laboratory inscterium. The rearing was carried under laboratory conditions with a temperature of $25 \pm 2^\circ\text{C}$, the relative humidity of $70 \pm 5\%$ and with a photoperiod of 14 h light and 10 h darkness as previously described (Rehimi and Soltani, 1999).

Larvicidal test

The effects of this essential oil were tested in a jars containing 100 ml of dechlorinated stored water. Three repetitions were carried out for each concentration, each consisting of 25 newly exuviated fourth-stage larvae. A stock solution of the selected concentrations was prepared by dissolving 0.01 g of *Myrtus communis* essential oil in 1 ml of ethanol solvent. After a screening test, newly exuviated 4th instar larvae of *Cx. pipiens* were exposed to different selected concentrations for 24 h, following the World Health Organization (WHO) standard procedure (WHO, 2005). The used concentrations were 100, 200, 400, 600, and 700 $\mu\text{l/ml}$. A parallel control series was conducted using ethanol. Lethal concentrations (LC_{50} and LC_{90}), 95% confidence limits LC, and the Hill slope of the concentration-mortality curve were calculated (*Table 2*).

Adulticidal test

After a preliminary screening, *Myrtus communis* L EO was applied (by fumigation) at different concentrations: 0.15; 0.25; 0.5; 0.75, 1 and 1.25 µl/ml of air on a filter paper disk of 2.5 cm in diameter (Khani and Besayand, 2012). Female adults of *Cx. pipiens* were introduced into glass bottles of a 250 ml capacity. Three replicates of 10 individuals were made for each concentration. A control series was conducted in parallel. Mortalities were recorded at 1 h after treatment and observed mortalities were corrected according to the formula of Abbott (1925). Lethal concentrations and their confidence limits (95% LC) were calculated with GRAPH PAD PRISM 6 software.

Biomarkers activities

The fourth-instar larvae from the control and treated series, with LC₅₀ and LC₉₀, were used to determine the enzyme activity of acetylcholinesterase (AChE) and glutathione-S-transferases (GSTs). The tests were performed on the treated and control larvae sampled at 24, 48, 72, and 96 h after treatment with two previously determined lethal concentrations (LC₅₀ = 329.5 µl/ml, LC₉₀ = 737.6 µl/ml) of *M. communis* EO. The assays were performed with four replicates, each comprising 15 individuals and the same for the control series.

AChE activity was assessed in accordance with the method of Ellman et al. (1961), using acetylthiocholine as a substrate, The samples were homogenized in 1 ml of detergent solution (1 mM EGTA / 1% triton X / 1 M NaCl / 0.01 M Tris, pH 7). After centrifugation (5,000 rpm for 5 min), the activity of AChE was measured on an aliquot of 100 µl of supernatant to which 100 µl of 5,5'-dithiobisnitrobenzene (DTNB) acid and 1 ml of Tris buffer (0.1 M, pH 7) were added. After 5 min of reaction, 100 µl of substrate (acetylthiocholine) was added. Optical density was measured at a wavelength of 412 nm every 4 min for 20 min. The specific activity of GSTs and AChE are expressed in µM/min/mg of protein. The assay of GSTs was carried out according to Habig et al. (1974) using 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) as an artificial substrate, as previously described (Afnor, 2000). The samples were homogenized individually in 1 ml of phosphate buffer (0.1 M, pH 6). After centrifugation (14.000 rpm for 30 min), an aliquot of 200 µl of the supernatant was added to 1.2 ml of a mixture of CDNB (1 mM)/GSH (5 mM) substrate in phosphate buffer (0.1 M, Ph 6). The absorbance readings were taken, every minute, for 5 min at a wavelength of 340 nm.

Data analysis

Statistical analyses were performed using Prism version 6 for Windows (Graph Pad Software, La Jolla, CA, USA, www.Graphpad.com), and $p < 0.05$ was considered to be a statistically significant difference. Data have been expressed by the mean \pm standard deviation (mean \pm SD). All data were verified by the Brown-Forsythe test and analyzed by one-way ANOVA and two-way analysis of variance (ANOVA). A Tukey post-hoc analysis HSD test was used to evaluate differences between the control and treated series.

Results

Yield and chemical composition of essential oil

The estimated average essential oil yield from the hydrodistillation was 0.63 g from 100 g of the plant *M. communis* and the percentage of essential oil yield was 0.62%

(w/w). The isolated essential oil, from *M. communis*, was analyzed by GC/MS. A total of 36 chemical constituents were identified in the essential oil constituting 99.034% of the total content (Table 1). The essential oil profile is characterized by a high amount of α -Pinene (50.817%), followed by 1,8-Cineole (18.982%), then D-Limonene (8.135%), other compounds like Linalool (4.871%), α -Terpineol (2.620%), and Geranyl acetate (1.870%) were identified as minor components.

Table 1. Chemical composition of *Myrtus communis* leaves essential oil analyzed using GC/MS

No.	Compounds	Concentration (%)	RT (Min)	RI ^{lit}	RI ^{exp}
1	n-Butyl isobutyrate	0.190	8.56	911	912
2	α -Thujene	0.135	9.23	930	924
3	α -Pinene	50.817	9.84	939	934
4	Sabinene	0.213	12.04	975	972
5	β -Pinene	0.062	13.05	979	989
6	α -Phellandrene	0.287	13.84	1002	1002
7	δ -3-Carene	0.332	14.2	1011	1007
8	α -Terpinene	0.088	14.67	1017	1014
9	para- cymene	0.425	15.3	1024	1023
10	D-Limonene	8.135	15.75	1029	1029
11	1,8-Cineole	18.982	15.93	1031	1032
12	(E)- β -Ocimene	0.161	16.95	1050	1046
13	γ -Terpinene	0.505	17.59	1059	1056
14	Terpinolene	0.620	19.65	1088	1085
15	Linalool	4.871	20.86	1096	1102
16	Hotrienol	0.158	21.05	-	1105
17	Endo-Fenchol	0.032	21.52	1116	1111
18	Trans-Pinocarveol	0.189	23.25	1139	1136
19	Trans-Sabinol	0.058	23.86	1188	1190
20	Terpin-4-ol	0.336	26.02	1117	1175
21	α -Terpineol	2.620	27.12	1188	1190
22	Methyl Chavicol	0.082	27.58	1188	1190
23	Trans-Sabinene acetate	0.490	31.68	1256	1256
24	α -Terpinyl acetate	0.337	37.81	1349	1347
25	Geranyl acetate	1.870	40.26	1381	1385
26	Methyl eugenol	1.571	41.55	1403	1405
27	(E)-Caryophyllene	1.714	42.09	1419	1414
28	α -Humulene	0.387	44.17	1454	1448
29	Neryl propanoate	0.030	48.16	1454	1458
30	Durohydroquinone	1.117	48.53	-	1520
31	Flavesone	0.093	49.83	1547	1542
32	Germacrene B	0.697	50.35	1561	1551
33	Geranyl butanoate	0.128	51.17	1564	1565
34	Caryophyllene oxide	0.630	51.92	1583	1578
35	Humulene epoxide II	0.136	53.41	1608	1604
36	Tasmanone	0.538	60.52	1727	1734
	Total identified	99.034			

RT: retention time index (min); RI^{lit}: retention index from literature (Adams, 2007); RI^{exp}: retention index reported in the present investigation

Larvicidal bioassay

The *M. communis* essential oil applied to newly exuviate fourth instar mosquito larvae of *Cx. pipiens*, the mortality (%) recorded in control series was insignificant with $0.33 \pm 0.05\%$. Indeed, our data revealed that, the observed mortality of larvae values varied from $13.04 \pm 2.30\%$ for the lowest concentration (100 $\mu\text{l/ml}$) to $89.29 \pm 6.14\%$ for the highest tested one (700 $\mu\text{l/ml}$). This EO caused a mortality of larvae with a concentration-response relationship (Fig. 1). The mortality concentrations (LC) and the Hill slope recorded with their fiducial limits (95%) were listed in Table 2.

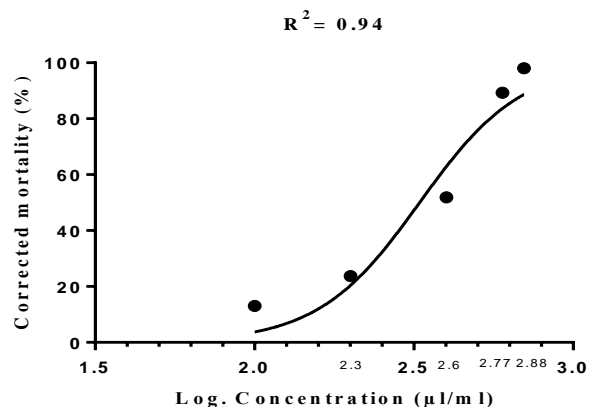


Figure 1. Effect of *Myrtus communis* on *Cx. pipiens* larvae at different concentration ($\mu\text{l/ml}$), Mortality observed in (%) of newly exuviated stage 4 larvae: curve concentration-reponse expressed the corrected mortality and the logarithm of *Myrtus communis* oil concentrations ($\mu\text{l/ml}$)

Table 2. Concentration ($\mu\text{l/ml}$) of *Myrtus communis* essential oil against newly exuviated fourth instar larvae of *Cx. pipiens*. Determination of lethal concentrations ($\mu\text{l/ml}$) and their 95% confidence intervals

Concentrations	Values ($\mu\text{l/ml}$)	Fiducial limits (95%)	R ²
LC ₅₀	329.5	223.1 - 486.5	0.94
LC ₉₀	737.6	370.9 - 1467	
Hill slope	0.734	0.388 - 5.064	

Statistical analysis revealed a significant concentration effect (F 4, 10 = 432.8; P < 0.0001) and Tukey's HSD test showed a significant increase in mortality with increasing concentration. Also a significant difference was noticed between concentrations (Fig. 2).

Adulticidal bioassay

Results of the effect of *Myrtus communis* EO applied by fumigation for 60 min against *Cx. pipiens* mosquitoes, our data revealed that the corrected mortality of adults values varied from 10% for the (0.15 $\mu\text{l/ml}$ area) concentration, and 100% for the highest concentration (1.25 $\mu\text{l/ml}$ area). This EO caused a mortality of larvae with a concentration-response relationship (Fig 3). Table 3 presents the mortality

concentrations (LC) along with their corresponding Hill slope values, both accompanied by their fiducial limits (95%).

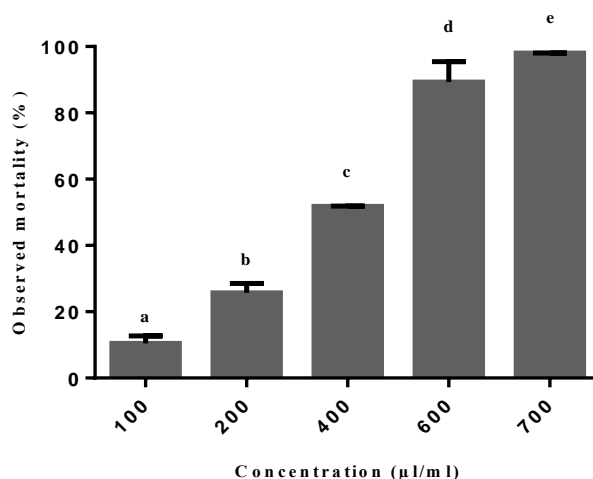


Figure 2. Effect of *Myrtus communis* on *Cx. pipiens* larvae at different concentrations (µl/ml), Mortality observed in (%) of newly exuviated 4th instar larvae of *Cx. pipiens* (Mean ± SD; n = 3 replicates containing each 25 larvae; values indicated by different letters are significantly different by HSD test at P < 0.001)

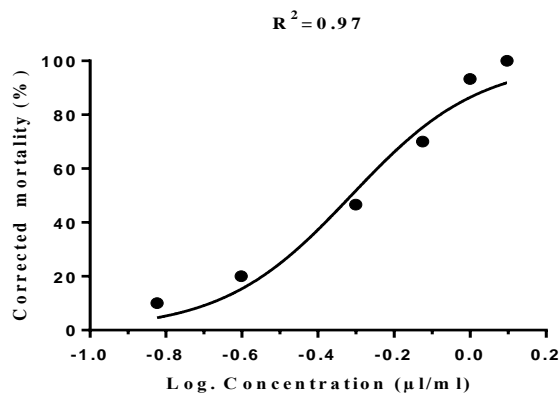


Figure 3. Effect of *Myrtus communis* at different concentrations (µl/ml of air), applied by fumigation, in adult female *Culex pipiens* Mortality corrected in (%): Curve concentrations-response expresses the corrected mortality for the logarithm of *Myrtus communis* oil concentrations (µl/ml of air)

Statistical analysis revealed a significant concentrations effect (F 5, 12 = 379.2; P < 0.0001). They showed a significant concentrations-dependent increase in adult mortality. Ranking the concentrations by Tukey's HSD test allows to classify the concentrations according to their toxicities (Fig. 4), the results reveal the existence of 6 groups with different effects of the essential oil on the percentages of mortalities.

Effects on the enzymatic activities

The lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₀) were used to evaluate their effects on two of the common enzymes targeted by conventional insecticides, Acetylcholinesterase

(AChE) and Glutathione S-transferase (GSTs). *Figures 5 and 6*, respectively, showed the results of the essential oil effects on AChE and GSTs isolated from fourth-instar larvae of *Cx. Pipiens* larvae (mean \pm SD, n = 6).

Table 3. Concentrations ($\mu\text{l/ml}$ air) of *Myrtus communis* EO applied by fumigation for 60 min in female *Culex pipiens* mosquitoes. Determination of lethal concentrations ($\mu\text{l/ml}$ air) and their 95% confidence intervals

Concentrations	Values ($\mu\text{l/ml}$ air)	Fiducial limits (95%)	R ²
LC ₅₀	0.47	0.38 - 0.42	
LC ₉₀	1.13	0.76 - 1.67	
Hill slope	2.515	1.38 - 3.64	0.97

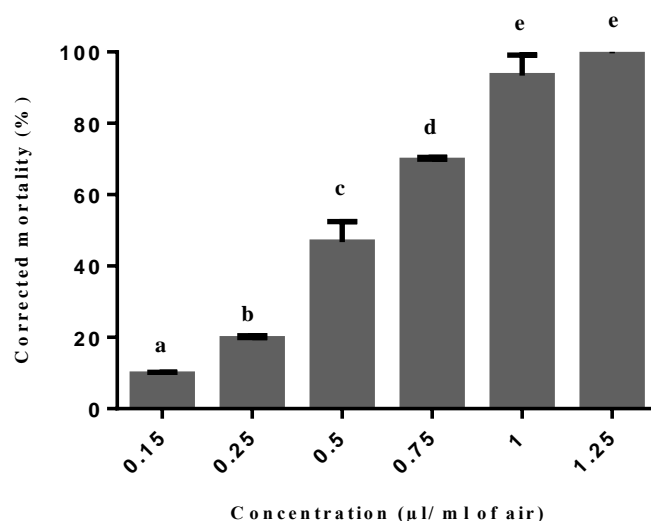


Figure 4. Effect of *Myrtus communis* at different concentrations ($\mu\text{l/ml}$ air), applied by fumigation, in adult female *Culex pipiens* Mortality observed in (%): values indicated by different letters are significantly different by HSD test at $P < 0.001$

For AChE, the activity was determined in the control and treatment series. The oil induced a significant AChE inhibition from 24 h of treatment, with a maximum inhibition occurring at 96 h of treatment. The two-way ANOVA indicated a significant effect of time ($F(3, 24) = 683.6$; $p < 0.0001$), treatment ($F(2, 24) = 265$; $p < 0.0001$) and time-treatment interaction $F(6, 24) = 39.78$; $p < 0.0001$).

Different lowercase letters above the same exposure time indicated a significant difference and different uppercase letters above the same exposure treatment indicated a significant difference ($p < 0.05$). It can be observed that, the *M. communis* essential oil caused a significant increase in GST enzyme activity compared to the control series at 24 h (0.139609 ± 0.0026 for LC₅₀ and 0.252121 ± 0.007 $\mu\text{g/min/mg}$ protein for LC₉₀). With a clear increase at 96 h (0.28965 ± 0.011 for LC₅₀ and 0.441818 ± 0.001 $\mu\text{g/min/mg}$ protein for LC₉₀) after treatment as compared to controls (*Fig. 6*). Two-way ANOVA confirms these results and indicated a significant effect of concentrations ($F(2, 24) = 6890$; $P < 0.0001$), time ($F(3, 24) = 1703$; $P < 0.0001$) and interaction concentrations time ($F(3, 24) = 74.58$; $P < 0.0001$).

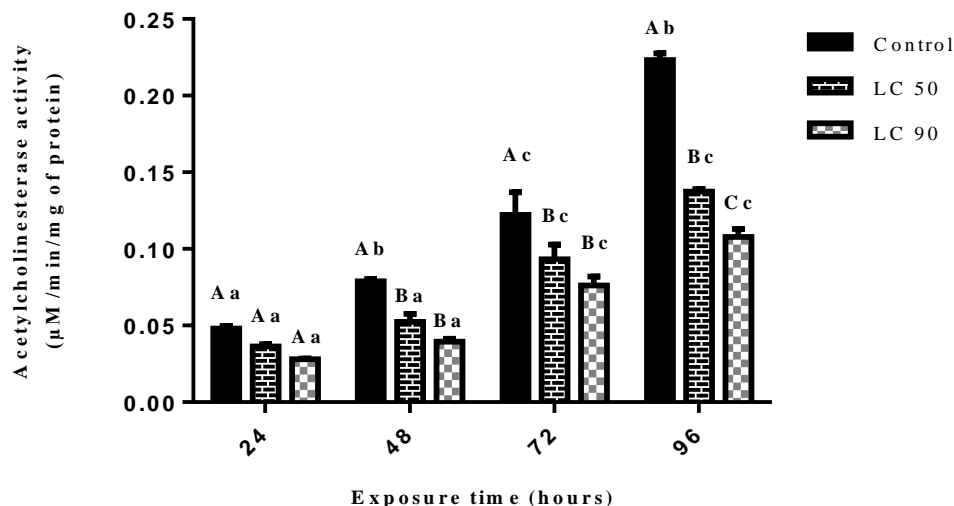


Figure 5. Effect of *Myrtus communis* on AChE activity ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ of protein) in *Culex pipiens* larvae (mean \pm SD, $n = 6$). Different lowercase letters above the same exposure time indicated a significant difference and different uppercase letters above the same exposure treatment indicated a significant difference ($p < 0.05$)

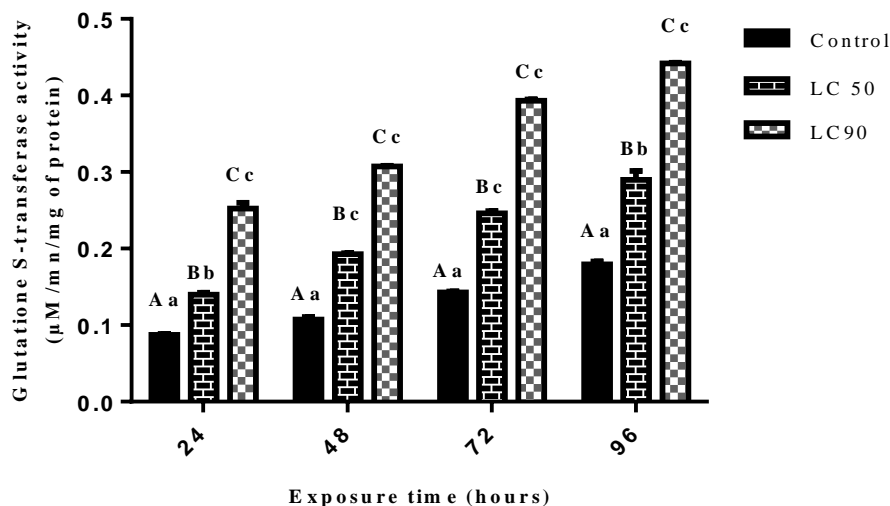


Figure 6. Effect of *Myrtus communis* on GSTs activity ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ of protein) in *Culex pipiens* larvae (mean \pm SD, $n = 6$). Different lowercase letters above the same exposure time indicated a significant difference and different uppercase letters above the same exposure treatment indicated a significant difference ($p < 0.05$)

Discussion

Yield and chemical composition of the essential oil

The yield of extracted essential oil of *M. communis* cultivated in Annaba (Algeria), by hydro-distillation was $0.62\% \pm 0.05\%$ (w/w). This result is relatively similar to the estimated yield of the same collected plant, from different regions (Dadazadeh and Nourafcan, 2021; Mohamadi et al., 2021). Myrtle studies from other countries showed the same yields. In Tunisia, Aidi et al. (2010) obtained an average of 0.61%. In

Morocco, 0.2% (w/w) essential oil was obtained on a dry weight basis (Brahimi et al., 2022). The yield of Iranian myrtle varies from 0.8 to 2.2% (w/w) (Salimi-Beni et al., 2017). Essential oil of *M. communis* is directly related to altitude (Mohamadi et al., 2021), also Several factors can directly impact EO yield, such as harvest time and season, climate, geographic area and drying time, and extraction methods (Dadazadeh and Nourafcan, 2021).

The essential oil of *M. communis* analysis revealed the presence of 36 compounds. The major compounds in this essential oil were α -Pinene (50.817%), followed by 1,8-Cineole (18.982%). In Tunisia it was reported that the essential oil of *M. communis* contained 58.1% α -pinene (Aidi et al., 2010). Also Corsican myrtle (France) oils have high levels of α -pinene (Barhouchi et al., 2016). In contrast to these results, in Italy the two majority compounds are Acetate Geranyl (16.36%) and 1,8-Cineole (16.36%) (Barac et al., 2018). In the essential oil of *M. communis* collected from different regions of Greece, the main compounds were identified as α -pinene, 1,8-Cineole, linalool and limonene (Koutsavitia et al., 2015). Environmental factors such as the relative humidity, temperature, duration of sunstroke, altitude, and other factors directly influence the proportion of the different constituents of essential oil. Indeed, the cultivation conditions (nature of the soil, fertilizer supply) (Joshi et al., 2016), the Isolation process, the Isolation time and other factors such as preliminary treatments (transport conditions, drying and storage time of plant material, etc.) can cause great variability in the composition of essential oil, following enzymatic degradation (Bendif et al., 2017).

Larvicidal bioassay

The toxicity bioassay results show a larvicidal activity, of applied EO of *Myrtus communis* with a concentrations-response relationship. The insecticidal efficacy of EOs is given not only by their specific chemical profile and total content of major compounds, but also by the mutual ratios of the major compounds, which may lead to both synergistic and antagonistic effect (Pavela, 2015). Previous studies on the toxicity of EO have been conducted notably the study of Bouguerra et al. (2019) tested the effect of *Origanum vulgare* on *Cx. pipiens* larvae; the results indicate a very high toxicity with an LC₅₀ value of 12.41 ppm. Recently, bioassays showed the larvicidal activities of *Lavandula angustifolia*, *Mentha x piperita*, *Rosmarinus officinalis* essential oils against *Culex pipiens*, of which rosemary oil acquired the most powerful larvicidal activity (Abo El-kasem Bosly, 2022).

Adulticidal bioassay

The results of the present study indicated that the tested oil displayed fumigant toxicity towards adults of *Cx. pipiens*. The toxicity of essential oil increased significantly with increasing the time of exposure and the concentrations of EO *M. communis*. Zahran et al. (2017) reported a high adulticidal activity for *Origanum vulgare* oils against adults of *Culex pipiens*, with LC₅₀ values from 0.06 to 12.84 mg/ml. Moreover, various authors have reported that adulticidal activity against another mosquito species on essential oils from different plant species, such as *Eucalyptus maculata* (Myrtaceae), *Callistemon linearis* (Myrtaceae), *Cymbopogon citratus* (Poaceae), *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), and *Zanthoxylum limonella* (Rutaceae), with LC₅₀ ranging from 23 to 85.5 mg/ml (Sarma et al., 2019; Soonwera and Sittichok, 2020). Even if the compound is of a natural origin, the selectivity is a key issue. The

fumigant toxicity of OE may be attributed to their major monoterpenes. It is been reported some major compounds of the tested oils, such as α -pinene, limonene, α -terpineol, β -pinene, 1,8-cineole, camphor β -citronellol, geraniol, linalool and α -citral had fumigant toxicity against the adults of *Cx. pipiens* (Ma et al., 2014). In addition, this is the first report showing the adulticidal activity of *M. communis* essential oils against *Cx. pipiens*. The difference of sensitivity may be attributed mainly to the phenotypic resistance (modifications in the target site), metabolic resistance (ability to detoxify insecticides) or behavioral modification. Behavioral changes that minimize contact between insect and the insecticide may cause a severe impact in the insecticide application efficacy, especially if physiological features (Martins et al., 2012) select resistance.

Biomarkers responses

A biomarker is defined as a measurable change in a biological or biochemical response (Joshi et al., 2016) and measures the interaction between a biological system and an environmental agent, they can be chemical, physical, or biological (Winfield et al., 2012). The inhibition or induction of biomarkers depends on the assessment of the level of exposure and the toxic effects of xenobiotics on the organism (Varo et al., 2002).

Acetylcholine esterase (AChE) is one of the most important hydrolytic enzymes in insect nervous system that equilibrate neural signal transduction by rapid hydrolyzing of acetylcholine signal in the synaptic cleft (Jacob and Mason, 2005). The monoterpenes abundantly present in essential oils (EOs) are lipophilic in nature and can interfere with the metabolic, biochemical, physiological and behavioral functions of insects (Mann and Kaufman, 2012). Due to their bioactive chemical constituents, aromatic plant EOs act on the nervous system of insects (Abdullah et al., 2015). The high level of esterases in various insect species, including mosquitoes, has been primarily associated with the phenomenon of resistance against insecticide compounds (Polson et al., 2011). The application of certain EOs or their purified constituents has induced symptoms such as hyperactivity, convulsions, and tremors followed by paralysis, which demonstrates their neurotoxic mode of action. The observed symptoms are similar to those produced by organophosphates and carbamates (Chintalchere et al., 2020). Several monoterpenes found in essential oils act as inhibitors of acetylcholinesterase (Ryan and Byrne, 1988).

The results demonstrate that *M. communis* EO significantly reduced the activity of AChE in the treated series compared to the control ones. This decrease in activity is likely due to the essential oil's inhibition of the enzyme. These findings are consistent with those of Dris et al. (2017), who showed that the essential oil of *Ocimum basilicum* inhibited AChE activity in fourth-stage larvae of *Cx. pipiens*, and with the results presented by Kharoubi et al. (2021), who found that EO of *Mentha x piperita* significantly decreased AChE activity in the treated group compared to the control.

Glutathione S-transferases (GSTs, EC 2.5.1.18) are multifunctional enzymes involved in many cellular physiological activities, such as detoxification of endogenous and xenobiotic compounds or biosynthesis of hormones and protection against oxidative stress (Adeyi et al., 2015). They have been recognized with their important role in xenobiotic detoxification (Tang et al., 2020). The results obtained with *Cx. pipiens* after treatment with *M. communis* EO showed a very significant increase in enzyme levels in the treated series compared to the control series at 24, 48, 72 and 96 h, respectively. This result could be explained by induction of the process of detoxification, a reaction

of the organism against the entry of the essential oils. The previous studies have demonstrated an increase in GSTs activity after treatment of *Cx. pipiens* larvae with EO of *Rosmarinus officinalis* (Zeghib et al., 2020). Similar observations were also reported regarding the essential oil derived from *Piper betle* against *Ae. Aegypti* (Vasanthasrinivasan et al., 2017). Moreover, Shahriari et al. (2018), recorded significant-high activities of glutathione *S*-transferases in the treated larvae of *Ephesia kuehniella* with α -pinene, trans-anethole, and thymol. The significant specific activity of these enzymes are indicative of their high capacity for detoxification, which is attributed to several physiological mechanisms. These mechanisms include the reduced sensitivity of the target site and the increased production of detoxifying enzymes; that is functioning to safeguard the biosynthetic pathways from any inhibition by toxic substances (Shahat et al., 2020). The molecular mechanism responsible for elevated GSTs activity is mostly due to regulatory changes associated with increased GSTs mRNA levels indicating de novo synthesis of the enzyme (Zahran et al., 2017).

Conclusion

Essential oil extracted from *M. communis* belongs to the Myrtaceae family contains many important chemical compounds which were analyzed using GC/MS indicating that α -Pinene is the major compound of the EO. The obtained results have showed of EO of *M. communis* exhibited toxic effects against larvae and adult of the domestic mosquito *Cx. pipiens*. It is concluded that the present EO could presented as a good alternative for neurotoxic products against mosquito control programs.

Acknowledgements. The National Fund for Scientific Research (Excellence Laboratory of Applied Animal Biology), Ministry of High Education and Scientific Research, Algeria supported this work. (PRFU Project N° D01N01UN230120230005 to Pr. S. TOUIKER).

REFERENCES

- [1] Abbott, W. W. (1925): A method for computing the effectiveness of an insecticide. – *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.
- [2] Abdel Haleem, D. R., El Tablawyb, N., Alkeridis, L. A., Sayed, S., Saad, A. M., El-Saadony, M. T. and Farag, S. M. (2022): Screening and evaluation of different algal extracts and prospects for controlling the disease vector mosquito *Culex pipiens* L. – *Saudi Journal of Biological Sciences* 29: 933-940.
- [3] Abdullah, F., Subramanian, P., Ibrahim, H., Abdul Malek, S. N., Lee, G. S., Hong, S. L. (2015): Chemical composition, antifeedant, repellent, and toxicity activities of the rhizomes of galangal, *Alpinia galanga* against Asian subterranean termites, *Coptotermes gestroi* and *Coptotermes curvignathus* (Isoptera: Rhinotermitidae). – *Journal of Insect Science* <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieu175>.
- [4] Abo El-Kasem Bosly, H. (2022): Larvicidal and adulticidal activity of essential oils from plants of the Lamiaceae family against the West Nile virus vector, *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). – *Saudi Journal of Biological Sciences* 29: 103350. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103350>.
- [5] Adams, R. P. (2007): Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. – Allured Publishing, Carol Stream, USA.
- [6] Adeyi, A. O., Akozi, G. O., Adeleke, M. A., Agbaogun, B. K. O., Idowu, A. B. (2015): Induction and activity of glutathione *S*-transferases extracted from *Zonocerus variegatus*

- (Orthoptera: Pyrgomorphidae) exposed to insecticides. – Journal of Tropical Insect Science 35(1): 27-33.
- [7] AFNOR (2000): French Standards Compilation: Essential Oils. – Tome 2.
- [8] Aidi, W., Mhamdi, B., Sriti, J., Ben Jemia, M., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., Kchouk, M. E., Marzouk, B. (2010): Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. – Food and Chemical Toxicology 48(5): 1362-1370.
- [9] Aissaoui, L., Bouaziz, A., Boudjelida, H., Nazli, A. (2022): 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.
- [10] Amensour, M., Sendra, E., Abrini, J., Pérez-Alvarez, J. A., Fernández-López, J. (2010): Antioxidant activity and total phenolic compounds of myrtle extracts. – Journal of Food 8(2): 95-101.
- [11] Amira, S., Dade, M., Schinella, G., Ríos, J. L. (2012): Anti-inflammatory, antioxidant, and apoptotic activities of four plant species used in folk medicine in the Mediterranean basin. – Pak Journal of Pharmaceutical Sciences 25(1): 65-72.
- [12] Amraoui, F., Ben Ayed, W., Madec, Y., Faraj, C., Himmi, O., Btissam, A., Sarih, M., Failloux, A. B. (2019): Potential of *Aedes albopictus* to cause the emergence of arboviruses in Morocco. – PLoS Neglected Tropical Diseases 13(2): 69-97.
- [13] Arroussi, D. E. R., Bouaziz, A., Boudjelida, H. (2021): Mosquito survey reveals the first record of *Aedes* (Diptera: Culicidae) species in urban area, Annaba district, Northeastern Algeria. – Polish Journal of Entomology 90(1): 14-26.
- [14] Barac, A., Donadu, M., Usai, D., Spiric, V. T., Mazzarello, V., Zanetti, S., Aleksic, E., Stevanovic, G., Natasa, N., Rubino, S. (2018): Antifungal activity of *Myrtus communis* against *Malassezia* sp. Isolated from the skin of patients with pityriasis versicolor. – Infection 46: 253-257.
- [15] Barhouchi, B., Saoudi, A., Akila, A. (2016): Essential oil chemical composition of myrtle growing in northeastern Algeria and estimation of its antibacterial effectiveness. – American Journal of Biochemistry and Biotechnology 12(2): 110-121.
- [16] Belmimoun, A., Meddah, B., Meddah, A. T. T., Sonnet, P. (2016): Antibacterial and antioxidant activities of the essential oils and phenolic extracts of *Myrtus communis* and *Zygophyllum album* from Algeria. – Journal of Fundamental and Applied Sciences 8(2): 510-524.
- [17] Bendif, H., Boudjeniba, M., Miara, M. D., Biqiku, L., Bramucci, M., Lupidi, G., Quassinti, L., Vitali, L. A., Maggi, F. (2017): Essential oil of *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* from Algeria: Chemotypification and in vitro biological activities. – Chemistry and Biodiversity 14: 1600299. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600299>.
- [18] Bendjedid, H., Yezli-touiker, S., Taffar, A., Soltani, N. (2021): Phytochemical Composition and Insecticidal Activities of Essential oil of *Thymus munbyanus* (Lamiales: Lamiaceae) Aerial Parts and its Properties Against Biomarkers of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). – Journal of Essential Oil Bearing Plants 24(4): 792-807.
- [19] Bibiano, C. S., Alves, D. S., Freire, B. C., Bertolucci, S. K. V., Carvalho, G. A. J. C. P. (2022): Toxicity of essential oils and pure compounds of Lamiaceae species against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and their safety for the nontarget organism *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). – Crop Protection 158: 106011-106025.
- [20] Bouguerra, N., Tine-Djebar, F., Soltani, N. (2019): Oregano essential oil as potential mosquito larvicides. – Transylvanian Review 39: 9612-9619.
- [21] Bouzabataa, A., Cabral, C., Gonçalves, M., Cruzc, M., Bighellia, A., Cavaleiro, C., Casanovaa, J., Tomi, F., Salgueiro, L. (2014): *Myrtus communis* L. a source of a bioactive and safe essential oil. – Food and Chemical Toxicology 9: 701-702.

- [22] Brahim, A., El Ouardi, M., Kaouachi, A., Boudboud, A., Hajji, L., Hajjaj, M. (2022): Characterization of the biochemical potential of Moroccan onions (*Allium cepa* L.). – International Journal of Food Science <https://doi.org/10.1155/2022/2103151>.
- [23] Chintalchere, J. M., Dar, M. A., Shaha, C., Pandit, R. S. (2020): Impact of essential oils on *Musca domestica* larvae: oxidative stress and antioxidant responses. – International Journal of Tropical Insect Science 41: 821-830.
- [24] Dadazadeh, A., Nourafcan, H. (2021): The effect of different essential oil extraction methods on the efficiency and antibacterial properties of *Myrtus communis* L. leaves. – International Journal of Modern Agriculture 10(2): 4762-4775.
- [25] Dris, D., Tine-Djebbar, F., Bouabida, H., Soltani, N. (2017): Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: toxicological, biometrical and biochemical aspects. – S. Afr. Journal of Botany 113: 362-369.
- [26] Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., Featherstone, R. M. (1961): A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. – Biochemical Pharmacology 7: 88-95.
- [27] El-Wakeil, N. E. (2013): Retracted article: botanical pesticides and their mode of action. – Gesunde Pflanzen (65): 125-149.
- [28] Habig, W. H., Pabst, M. J., Jackoby, W. B. (1974): Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. – Journal of Biological Chemistry 249(22): 7130-7139.
- [29] Hamama, H. M., Zyaan, O. H., Ali, O. A., Saleh, D. I., El-Akkad, H. A., El-Saadony, M. T. and Farag, S. M. (2022): Virulence of entomopathogenic fungi against *Culex pipiens*: impact on biomolecules availability and life table parameters. – Saudi Journal of Biological Sciences 29(1): 385-393.
- [30] Henna, A., Graça Miguel, M., Nemmiche, S. (2018): Antioxidant activity of *Myrtus communis* L. and *Myrtus nivellei* Batt. & Trab. Extracts: a brief review. – Medicines 5(89): 1-68.
- [31] Ioannou, C. S., Hadjichristodoulou, C., Kyritsi, M. A., Papadopoulos, N. T. (2021): Short-term selection to diflubenzuron and *Bacillus thuringiensis* Var. *Israelensis* differentially affects the winter survival of *Culex pipiens* f. *Pipiens* and *Culex pipiens* f. *Molestus* (Diptera: Culicidae). – Journal of Insects 12: 527-543.
- [32] Jacob, R. F., Mason, R. P. (2005): Lipid peroxidation induces cholesterol domain formation in model membranes. – Journal of Biological Chemistry 280: 39380-39387.
- [33] Johnson, E. J., McComic, S. E., Rault, L. C., Swale, D. R., Anderson, T. D. (2023): Bioinsecticidal activity of cajeput oil to pyrethroid-susceptible and-resistant mosquitoes. – Pesticide Biochemistry and Physiology 193: 105458. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105458>.
- [34] Jone, R. T., Ant, T. H., Cameron, M. M., Logan, J. G. (2021): Novel control strategies for mosquito-borne diseases. – Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 376: 20190802. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0802>.
- [35] Joshi, R., Wani, S. H., Singh, B., Bohra, A., Dar, Z. A., Lone, A. A., Singla-Pareek, S. L. (2016): Transcription factors and plants response to drought stress: current understanding and future directions. – Frontiers in Plant Science 7: 1029. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01029>.
- [36] Khani, A., Basavand, F. (2012): Chemical Composition and insecticidal activity of myrtle (*Myrtus communis* L.) essential oil against two stored-product pests. – Journal of Medicinal Plants and By-products 2: 83-89.
- [37] Kharoubi, R., Rehim, N., Khaldi, R., Haouari-Abderrahim, J., Soltani, N. (2021): Phytochemical screening and insecticidal activities of essential oil of *Mentha x piperita* L. (Lamiales: Lamiaceae) and their enzymatic properties against mosquito *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). – Journal of Essential Oil Bearing Plants 24: 134-146.
- [38] Koutsaviti, A., Lignou, I., Bazosb, I., Koliopoulsc, G., Michaelakisd, A., Giatropoulsc, A., Tzakou, O. (2015): Chemical composition and larvicidal activity of

- Greek myrtle essential oils against *Culex pipiens* biotype molestus. – Natural Product Communications 10(10): 1759-1762.
- [39] Krishnappa, k., Pandiyan, j., Elumalai, k., Baranitharan, M., Jayakumar S., Gokulkrishnan, J. (2019): GC-MS analysis and mosquitocidal properties of *Loranthus pentandrus* L. (Loranthaceae) against human vector mosquitoes (Diptera: Culicidae). – Academia Journal of Medicinal Plants 7(12): 261-268.
- [40] Ma, W. B., Feng, J. T., Jiang, Z. L., Wu, H., Ma, Z. Q., Zhang, X. (2014): Fumigant activity of eleven essential oil compounds and their selected binary mixtures against *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae). – Parasitology Research 113: 3631-3637.
- [41] Ma, X., Hu, J., Ding, C., Portieles, R., Xu, H., Gao, J., Du, L., Gao, X., Yue, Q., Zhao, L., Borrás-Hidalgo, O. (2023): New native *Bacillus thuringiensis* strains induce high insecticidal action against *Culex pipiens pallens* larvae and adults. – BMC Microbiology 23: 100. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02842-9>.
- [42] Mann, R. S., Kaufman, P. E. (2012): Natural product pesticides: their development, delivery and use against insect vectors. – Mini-Reviews in Organic Chemistry 9(2): 185-202.
- [43] Martins, A. J., Valle, D. (2012): The Pyrethroid Knockdown Resistance. – In: Soloneski S., Larramendy M. (eds.) Insecticides-Basic and Other Applications, InTech, Rijeka.
- [44] Mohamadi, Y., Lograda, T., Ramdani, M., Figueredo, G., Chalard, P. (2021): Chemical composition and antimicrobial activity of *Myrtus communis* essential oils from Algeria. – Biodiversitas 2(22): 933-946. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220249>.
- [45] Nenaah, G. E., Almadiy, A. A., Al-Assiuty, B. A., Mahnashi, M. H. (2022): The essential oil of *Schinus terebinthifolius* and its nanoemulsion and isolated monoterpenes: investigation of their activity against *Culex pipiens* with insights into the adverse effects on non-target organisms. – Pest Management Science (78): 1035-1047.
- [46] Onal, S., Timur, S., Okutucu, B., Zihnioğlu, F. (2005): Inhibition of alpha-glucosidase by aqueous extracts of some potent antidiabetic medicinal herbs. – Preparative Biochemistry & Biotechnology 35(1): 29-36.
- [47] Pavela, R. (2015): Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicide: a review. – Industrial Crops and Products 76: 174-187.
- [48] Polson, K. A., Brogdon, W. G., Rawlins, S. C., Chadee, D. D. (2011): Characterization of insecticide resistance in Trinidadian strains of *Aedes aegypti* mosquitoes. – Acta Tropica 117(1): 31-38.
- [49] Rehim, N., Soltani, N. (1999): Laboratory evaluation of Alsystin, a chitin synthesis inhibitor, against *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae): effects on development and cuticle secretion. – Journal of Applied Entomology 123(7): 437-441.
- [50] Ryan, M. F., Byrne, O. (1988): Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. – Journal of Chemical Ecology 14(10): 1965-1975.
- [51] Salimi-Beni, A., Kocheiki-Shahmokhtar, M., Masoumias, A., Khajehsharifi, H. (2017): Phytochemical and biological studies of some *Myrtus* (*Myrtus communis* L.) populations of southwest region of Zagros (Iran). – Natural Products Chemistry & Research 5(7): 290.
- [52] Sarma, R., Adhikari, K., Mahanta, S., Khanikor, B. (2019): Insecticidal activities of *Citrus aurantifolia* essential oil against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). – Toxicology Reports 6: 1091-1096.
- [53] Shahat, M. A. M., El-Sheikh, T. M. Y., Hammad, K. M., Hasaballah, M. I., Shehata, A. Z. I. (2020): Effect of some plant extracts on the biochemical parameters, AChE and GST activities of the mosquito, *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). – Journal of Biological Sciences 12(2): 69-80.
- [54] Shahriari, M., Zibaee, A., Sahebzadeh, N., Shamakhi, L. (2018): Effects of α -pinene, trans anethole, and thymol as the essential oil constituents on antioxidant system and acetylcholine esterase of *Ephesia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). – Journal of Pest Science 150: 40-47.

- [55] Soonwera, M., Sittichok, S. (2020): Adulticidal activities of *Cymbopogon citratus* (Stapf.) and *Eucalyptus globulus* (Labill.) essential oils and of their synergistic combinations against *Aedes aegypti* (L.), *Aedes albopictus* (Skuse), and *Musca domestica* (L.). – *Environmental Science and Pollution Research* 27: 20201-20214.
- [56] Taffar, A., Yezli-Touiker, S., Bendjedid, H., Soltani, N. (2021): Evaluation of azadirachtin, a biopesticides, on growth, development and cuticle secretion of Mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella* Zeller. – *Journal of Entomology Res* 45(3): 436-443.
- [57] Tang, F., Tu, H., Shang, Q., Gao, X., Liang, P. (2020): Molecular cloning and characterization of five glutathione S-transferase genes and promoters from *Micromelalopha troglodyta* (Graeser) (Lepidoptera: Notodontidae) and their response to tannic acid stress. – *Insects* 11(6): 339-355.
- [58] Tuberoso, C. I. G., Rosa, A., Bifulco, E., Melis, M. P., Atzeri, A., Pirisi, F. M., Dessì, M. A. (2010): Chemical composition and antioxidant activities of *Myrtus communis* L. berries extracts. – *Food Chemistry* 123: 1242-1251.
- [59] Varo, I., Serrano, R., Pitarch, E., Amat, f., Lopez, F. J., Navarro, J. C. (2002): Bioaccumulation of chlorpyrifos through an experimental food chain: study of protein hsp70as biomarker of sublethal stress in fish. – *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 42: 229-235.
- [60] Vasantha-Srinivasan, P., Senthil-Nathan, S., Ponsankar, A., Thanigaivel, A., Edwin, E., Selin-Rani, S., Chellappandian, M., Pradeepa, V., Lija-Escaline, J., Kalaivani, K., Hunter, W. B., Duraipandian, V., Al-Dhabi, N. A. (2017): Comparative analysis of mosquito (Diptera: Culicidae: *Aedes aegypti* Liston) responses to the insecticide Temephos and plant derived essential oil derived from Piper betle L. – *Ecotoxicology and Environmental Safety* 139: 439-446.
- [61] WHO (World Health Organization) (2005): Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides. – World Health Organization, Geneva.
- [62] Winfield, M. O., Wilkinson, P. A., Allen, A. M., Barker, G. L. A., Coghill, J. A., Burridge, A., Hall, A., Brenchley, R. C., D'Amore, R., Hall, N., Bevan, M. W., Richmond, T., Gerhardt, D. J., Jeddelloh, J. A., Edwards, K. J. (2012): Targeted re-sequencing of the allohexaploid wheat exome. – *Plant Biotechnology Journal* 10: 733-742.
- [63] Yang, Y., Isman, M. B., Tak, J. H. (2020): Insecticidal activity of 28 essential oils and a commercial product containing Cinnamomum cassia bark essential oil against. – *Insect* 11: 474-498.
- [64] Zahoor, A. M. K., Zahoor, M. A., Mubarik, M. S., Rizvi, H., Majeed, H. N., Zulhussnain, M., Ranian, K., Sultana, K., Imran, M., Qamer, S. (2020): Insecticidal, biological and biochemical response of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) to some indigenous weed plant extracts. – *Saudi Journal of Biological Sciences* (27): 106-116.
- [65] Zahran, H. E. M., Abou-Taleb, H. K., Abdelgaleil, S. A. M. (2017): Adulticidal, larvicidal and biochemical properties of essential oils against *Culex pipiens* L. – *Journal of Asia-Pacific Entomology* 20: 133-129.
- [66] Zeghib, F., Tine-Djebbar, F., Zeghib, A., Bachari, K., Sifi, K., Soltani, N. (2020): Chemical composition and larvicidal activity of *Rosmarinus officinalis* essential oil against West Nile vector mosquito *Culex pipiens* (L.). – *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 23(6): 1463-1474.