

Composition chimique et activité larvicide sur *Anopheles gambiae* s.l. des huiles essentielles de *Citrus sinensis* L. (Rutaceae) et de *Crotalaria podocarpa* DC. (Fabaceae) deux plantes de la biodiversité du Niger

Issoufou YOLIDJE^{1*}, Djibo ALFA KEITA¹, Idrissa MOUSSA¹ et Jean-Luc PIRAT²

¹ Université Abdou Moumouni de Niamey, Faculté des Sciences et Techniques, Laboratoire des Substances Naturelles, BP 10667, Niamey, Niger

² ICGM, Université de Montpellier CNRS, ENSCM, Montpellier, France

(Reçu le 27 Août 2023 ; Accepté le 02 Octobre 2023)

* Correspondance, courriel : yolidjeissouf@yahoo.com

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité larvicide de l'huile essentielle de *Crotalaria podocarpa* et de *Citrus sinensis*, deux plantes de la biodiversité du Niger sur les larves des anophèles. L'huile essentielle est obtenue par hydrodistillation à l'aide du Clevenger et analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). Le test biologique sur les larves des anophèles est effectué selon une méthodologie inspirée du protocole standard de l'OMS (1958). Les rendements d'extraction obtenus sont respectivement 1,14 % et 0,04 % pour *Citrus sinensis* et *Crotalaria podocarpa*. L'analyse GC-MS a montré que l'huile essentielle de *Citrus sinensis* est principalement constituée de D-limonène (96,1 %) et celle de *C. podocarpa* est majoritairement composé de l'oxyde de caryophyllène (51,33 %) et le 2,5,9-triméthylcycloundeca-4,8-diénone (19,56 %). Le test biologique a révélé que l'huile essentielle de *C. podocarpa* ($DL_{50} = 54,374$ ppm) est la plus active contre les larves des anophèles. Les échantillons d'huile essentielle de la présente étude sont moins actifs que la deltaméthrine ($DL_{50} = 2,3$ ppm). Ces résultats pourraient justifier l'utilisation traditionnelle de ces plantes aromatiques comme répulsives dans la lutte préventive du paludisme au Niger.

Mots-clés : huiles essentielles, *Anopheles gambiae*, activité larvicide, paludisme, Niger.

Abstract

Chemical composition and larvicidal activity on *Anopheles gambiae* s.l. of essential oils of *Citrus sinensis* L. (Rutaceae) and *Crotalaria podocarpa* DC. (Fabaceae) two plants of Niger's biodiversity

The aim of this study is to evaluate the larvicidal activity of the essential oil of *Crotalaria podocarpa* and *Citrus sinensis*, two plants from Niger's biodiversity, on *Anopheles* larvae. The essential oil is obtained by hydrodistillation using Clevenger and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The bioassay on *Anopheles* larvae was carried out using a methodology inspired by the standard WHO protocol (1958). Extraction yields obtained were 1.14 % and 0.04 % respectively for *Citrus sinensis* and *Crotalaria*

podocarpa. GC-MS analysis showed that the essential oil of *Citrus sinensis* is mainly composed of D-limonene (96.1 %) and that of *C. podocarpa* is mainly composed of caryophyllene oxide (51.33 %) and 2,5,9-trimethylcycloundeca-4,8-dienone (19.56 %). The bioassay revealed that *C. podocarpa* essential oil ($LD_{50} = 54.374$ ppm) was the most active against *Anopheles* larvae. The essential oil samples in the present study were less active than deltamethrin ($LD_{50} = 2.3$ ppm). These results could justify the traditional use of these aromatic plants as repellents in the preventive fight against malaria in Niger.

Keywords : *essential oils, Anopheles gambiae, larvicidal activity, malaria, Niger.*

1. Introduction

Les moustiques causent, en plus de leur nuisance, des maladies vectorielles [1, 2] et leur impact sur la Santé Publique humaine est très considérable [3]. Dans le monde, les espèces de moustiques, en particulier du genre *Anopheles*, sont responsables de la transmission de maladies parasitaires telle que le paludisme [4]. Au Niger, l'espèce *Anopheles gambiae* est depuis longtemps soupçonnée de transmettre le paludisme [5]. En revanche, une forte prolifération de cette espèce a été constatée ces dernières années [6]. La démoustication par insecticides chimiques est très efficace sur les moustiques culicidés, mais présente plusieurs inconvénients. En effet, ils peuvent être, en plus d'un effet néfaste sur la vie aquatique, à l'origine de divers problèmes environnementaux dont le phénomène de résistance des insectes aux insecticides [7 - 9]. Par ailleurs, les chercheurs et scientifiques tentent d'ores et déjà de trouver des alternatives efficaces et accessibles à partir de produits naturels qui connaissent de nos jours un regain d'intérêt et jouissent d'une popularité grandissante [10]. Au Niger, malgré la diversité variétale des plantes médicinales et aromatiques, les études sur l'activité insecticide des extraits de plantes contre les larves de moustiques sont très limitées. C'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail, dont l'objectif est d'évaluer l'activité larvicide de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* et de *Crotalaria podocarpa* deux plantes aromatiques de la biodiversité nigérienne sur l'espèce *Anopheles gambiae*.

2. Méthodologie

2-1. Matériel végétal

Le matériel végétal est composé d'échantillons de 2 plantes (**Tableau 1**). Ces échantillons ont été collectés dans différentes localités du Niger puis séchés à l'ombre pendant 2 semaines. Ils ont été identifiés et authentifiés au Laboratoire Garba Mounkaila du Département de Biologie de l'Université Abdou Moumouni de Niamey par comparaison avec les échantillons disponibles dans leur herbier.

Tableau 1 : Espèces végétales récoltées

Espèces végétales	Familles botaniques	Parties utilisées	Lieu de récolte
<i>Crotalaria podocarpa</i> DC.	Fabaceae	Feuilles	Tagone (Doutchi)
<i>Citrus sinensis</i> L.	Rutaceae	Péricarpes des fruits	Restaurant/UAM

UAM : Université Abdou Moumouni

2-2. Matériel animal

Le matériel animal utilisé dans cette étude est composé des larves d'*Anopheles gambiae* s.l. (Stades II et III) (**Figure 1**). Elles ont été collectées par tamisage dans le quartier de Saguiya (Commune V / Niamey / Niger) à l'aide d'un tamis en plastique puis transportées au Laboratoire de Biologie de l'Université Abdou Moumouni de Niamey pour les tests biologiques. Ces larves sont rincées abondamment avec de l'eau de puits puis élevées pendant 24 heures (h), dans un seau en plastique en les nourrissant avec des biscuits (aliment riche en glucides) avant leur utilisation pour les tests biologiques. L'identification des larves a été faite au centre de recherche médicale et sanitaire (CERMES/Niamey/Niger).

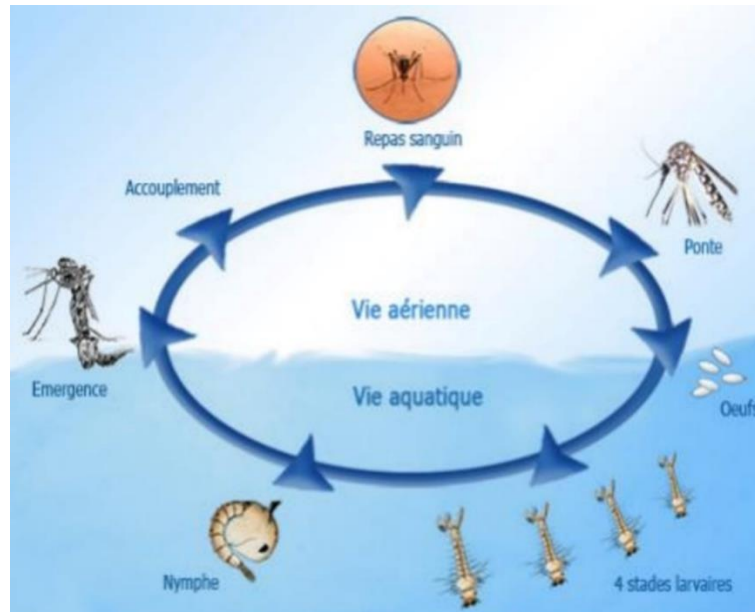


Figure 1 : Cycle de développement de moustiques [22]

2-3. Méthodes d'étude

2-3-1. Extraction de l'huile essentielle

L'huile essentielle de deux plantes aromatiques du Niger a été extraite de matériel végétal sec non pulvérisé par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Pour ce faire, 100 g du matériel végétal sec ont été introduits dans un flacon de 2 L. 700 ml d'eau distillée ont été introduits dans le flacon. Le ballon est équipé d'un appareil de type Clevenger et porté à ébullition (100°C) pendant deux heures (2h). A la fin de la distillation, l'huile essentielle est séparée de l'eau par extraction liquide-liquide du distillat avec de l'éther diéthylique (3 x 10 mL) à l'aide d'une ampoule à décanter. Les phases organiques (contenant l'huile essentielle) sont recueillies dans un ballon taré. L'éther diéthylique a été laissé s'évaporer à température ambiante. Ensuite, le flacon recouvert d'une feuille d'aluminium a été placé dans un congélateur pour protéger cette huile essentielle de la chaleur jusqu'à son utilisation dans des tests biologiques et des analyses chimiques.

2-3-2. Analyse des huiles essentielles

Les huiles essentielles de *Citrus sinensis* (péricarpe du fruit sec) et *Crotalaria podocarpa* (feuilles sèches) obtenues ont été analysé à l'Ecole Normale Supérieure de Chimie de Montpellier (France), dans le laboratoire AM2N de l'Institut Charles Gerhardt de Montpellier (ICGM UMR 5253 du CNRS). Pour cela, 1 µl de l'échantillon est injecté dans le chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (SHIMADZU, modèle

QP2010SE), équipé d'une colonne Phenomenex Zebron ZB-5ms de 20 m de longueur, 0,18 mm de diamètre intérieur et 0,18 μm d'épaisseur de film de phase stationnaire. L'injecteur est de type split/splitless, Fast. Le régulateur est à 970kPa, l'automate a 150 positions. Le spectre de masse (MS) a un mode d'ionisation : impact électronique, vitesse de balayage : 50 scans/s, vitesse d'acquisition : 10 000 uma/s. La température du four est programmée de 50 °C avec un pas de 2 min, à 280 °C avec un gradient de 22 °C par minute et un pas final de 2 min à 280 °C. Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 0,7 ml par minute.

2-3-3. Identification des constituants

L'identification des constituants des huiles essentielles a été réalisée sur la base de leurs indices de rétention et de leurs spectres de masse par comparaison avec les données de la bibliothèque du fabricant Shimadzu (NIST 2008).

2-4. Étude de l'activité larvicide

Les tests biologiques vis-à-vis des larves des anophèles ont été réalisés selon un protocole de l'organisation mondiale de la santé [11]. La réalisation de plusieurs tests biologiques préliminaires a permis de retenir les gammes de concentrations suivantes : 0 ; 25 ; 50 ; 75 ; 100 ; 125 ; 150 ; 175 et 200 ppm et 0,3 ; 0,6 ; 1,2 ; 1,5 ; 3 ; 6 ; 9 ; et 12 ppm respectivement pour les échantillons d'huile essentielle et le produit de référence (deltaméthrine). De l'eau de puits est utilisée pour les différentes dilutions. Vingt (20) larves d'*Anopheles gambiae* ont été introduites dans chaque boîte de Petri de 100 ml contenant la solution testée et laissées en incubation pendant 48 h à température ambiante. Le contrôle est composé uniquement de l'eau du puits. Les larves mortes ont été comptées après 48 heures d'exposition. Chaque analyse a été répétée trois fois.

2-5. Pourcentage de mortalité

Le taux de mortalité des larves d'*Anopheles gambiae* a été calculé selon la méthode de [12].

$$\% m = \frac{NLM - NLMT}{NTL - NLMT} \times 100 \quad (1)$$

% m = pourcentage de mortalité ; *NLM* = nombre de larves mortes dans la boîte de pétri test ; *NLMT* = nombre de larves mortes dans le témoin négatif ; *NTL* = nombre total de larves.

2-6. Dose létale 50 (DL₅₀)

La dose létale médiane (DL₅₀) est la dose qui provoque une mortalité de 50 % des larves d'anophèles. Elle a été déterminée à l'aide de la **Formule** de [13].

$$LD_{50} = \frac{50(X_2 - X_1) + X_2 Y_2 - Y_1 X_1}{Y_2 - Y_1} \quad (2)$$

X1 : concentration inférieure encadrant la DL₅₀ ; *X2* : concentration supérieure encadrant la DL₅₀ ; *Y1* : pourcentage de mortalité correspondant à *X1* ; *Y2* : pourcentage de mortalité correspondant à *X2*.

2-7. Analyse statistique

Les données standardisées ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA) suivie du test PLSD de Tukey au niveau de probabilité de 5 % pour la séparation des moyennes statistiquement significatives. Les résultats de l'analyse de variance ont été utilisés pour déterminer s'il existe une différence significative entre les différentes doses d'insecticides utilisées et, le cas échéant, quelle est la dose la plus efficace en termes de mortalité.

3. Résultats et Discussion

3-1. Rendement d'extraction des huiles essentielles

Les rendements de l'extraction de l'huile essentielle de *Crotalaria podocarpa* et *Citrus sinensis* par hydrodistillation à l'aide du Clevenger sont consignés dans le **Tableau 2**. L'analyse des résultats de ce tableau montre que le meilleur rendement est obtenu avec l'échantillon de *C. sinensis* (1,14 %).

Tableau 2 : Rendement de l'huile essentielle de différentes plantes

Espèces végétales	Parties utilisées	Rendement (%)
<i>C. sinensis</i>	Péricarpes des fruits secs	1,14
<i>C. podocarpa</i>	Feuilles sèches	0,04

3-2. Composition chimique des huiles essentielles de plantes aromatiques

Les résultats de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse et couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) de l'huile essentielle des *C. sinensis* et *C. podocarpa* sont consignés dans le **Tableau 3**. L'analyse de ce **Tableau 3** montre que l'huile essentielle de *Citrus sinensis* contient trois (3) composés tous des monoterpènes (100 %). Le principal composé de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* est le D-limonène (96,2 %). Le D-limonène est rapporté au Maroc [14] et au Cameroun [15] comme constituant majoritaire de *C. sinensis*. Quant à l'huile essentielle de *C. podocarpa*, elle est de nature sesquiterpéniques (89,5 %). Dix-neuf (19) composés ont été détectés et identifiés dans l'huile essentielle de *C. podocarpa* avec l'oxyde de caryophyllène (51,33 %) et le 2,5,9-triméthylcycloundeca-4,8-diénone (19,56 %) comme constituants majoritaires. A notre connaissance l'analyse par GC-MS de l'huile de *C. podocarpa* n'a pas été rapporté dans la littérature.

Tableau 3 : Composition chimique des huiles essentielles des deux (2) plantes aromatiques étudiées

Temps de rétention	Composés chimiques	Teneur en pourcentage (%)		
		<i>C. sinensis</i>	<i>C. podocarpa</i>	Structure chimique
	MONOTERPENES	100	7,97	
4591	β -Myrcène	2,07	0,88	
4953	D-Limonène	96,15	1,42	
5012	Eucalyptol	---	2,92	
5523	Linalol	1,78	---	
5564	β -Linalol	---	2,58	
6657	(S)-Carvone	---	1,17	
	SESQUITERPENES	0	89,46	
7550	Copaène	---	0,65	
7618	β -éléémène	---	1,7	
7743	β -Caryophyllène	---	5,39	
8063	α -Caryophyllène	---	5,23	
8806	Oxide de Caryophyllène	---	51,34	
8863	2-(1,4,4-Triméthyl-cyclohex-2-enyl)-éthanol	---	0,7	
8970	2,5,9-Triméthylcycloundeca-4,8-dienone	---	19,56	
9030	Cedr-8-ene	---	0,86	
9082	6-(Hydroxyméthyl)-1,4,4-triméthylbicyclo[3.1.0]hexan-2-ol	---	0,87	
9219	(-)-Globulol	---	1,95	
9264	Eudesm-7(11)-en-4-ol	---	1,71	
Total		100	99,99	

3-3. Activité larvicide des huiles essentielles sur les larves d'*Anopheles gambiae* après 48h d'exposition

Le **Tableau 4** et la **Figure 2** donnent le pourcentage de larves mortes d'*Anopheles gambiae* en fonction des doses utilisées d'huile essentielle des différents échantillons de plantes et de la deltaméthrine (insecticide de référence) en 48 h d'exposition. L'analyse de ces résultats montre que les huiles essentielles des différents échantillons ont un effet dose-dépendant sur les larves d'*Anopheles gambiae*. Le taux de mortalité des larves est fonction des doses (ou concentrations) des huiles essentielles utilisées. Les concentrations minimales nécessaires pour obtenir une mortalité de 100 % des larves d'*A. gambiae* ont été estimées à 100 et 175 ppm respectivement pour *C. podocarpa* et *C. sinensis*. L'analyse des résultats (figure 3) a montré une DL₅₀ très faible pour *C. podocarpa* (DL₅₀ = 54,3 ppm) justifiant une importante activité insecticide vis-à-vis des larves des anophèles. Par ailleurs, on note que les huiles essentielles sont moins actives que la deltaméthrine (DL₅₀ = 2,3ppm). Des résultats similaires sont rapportés par plusieurs auteurs [14 - 17]. L'activité larvicide observée avec les différents échantillons d'huile essentielle pourrait être liée à leurs composés majeurs. En effet, la toxicité des composés terpéniques envers de nombreux insectes a été rapportée dans la littérature [18]. Ainsi, l'activité insecticide de l'oxyde de caryophyllène, constituant majoritaire de *C. podocarpa* a été rapportée en Italie [19], au Mexique [20] et en Thaïlande [21]. A notre connaissance, l'effet insecticide et la composition chimique de l'huile essentielle de *Crotalaria podocarpa* n'ont pas été rapportés dans la littérature.

Tableau 4 : Activités larvicides des huiles essentielles après 48 heures d'exposition

Concentration	<i>C. sinensis</i>	<i>C. podocarpa</i>
Controle	0	0
25 ppm	0 ± 0 ^b	44 ± 8 ^a
50 ppm	3 ± 2 ^b	75 ± 10 ^a
75 ppm	67 ± 6 ^{bc}	95 ± 5 ^a
100 ppm	95 ± 5 ^a	100 ± 0 ^a
125 ppm	98 ± 2 ^a	100 ± 0 ^a
150 ppm	98 ± 2 ^a	100 ± 0 ^a
175 ppm	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a
200 ppm	100 ± 0 ^a	100 ± 0 ^a

Les moyennes dans la même ligne suivies de lettres identiques ne diffèrent pas statistiquement (test PLSD de Tukey $p < 0,05$).

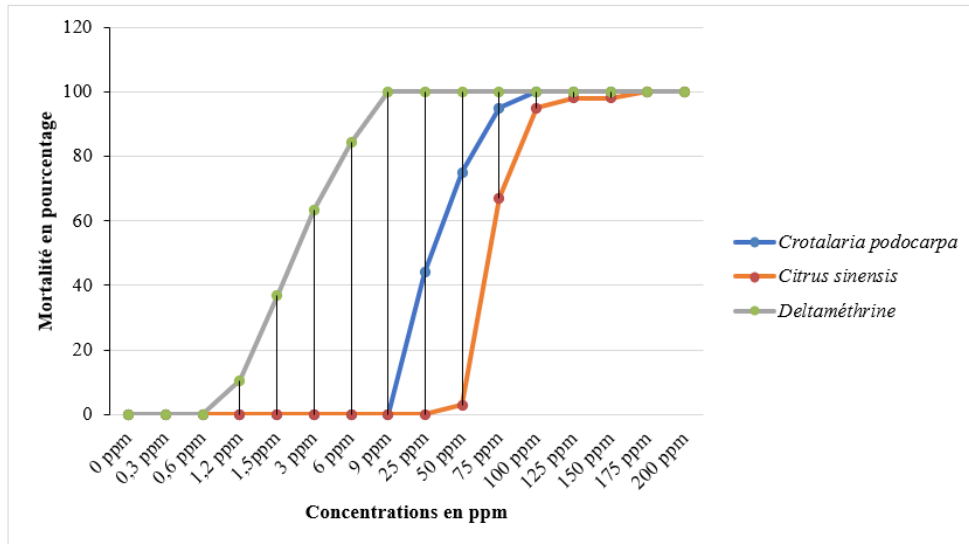


Figure 2 : Activité larvicide de l'huile essentielle des six plantes étudiées et de la deltaméthrine contre les larves d'*Anopheles gambiae*

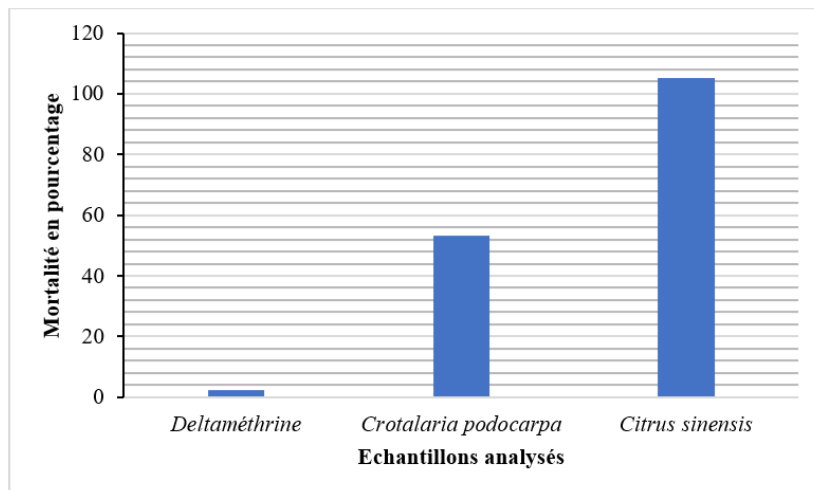


Figure 3 : Dose létale 50 (DL₅₀) de l'huile essentielle et de la deltaméthrine

4. Conclusion

Les échantillons d'huile essentielle de *Citrus sinensis* et *Crotalaria podocarpa* utilisés dans la présente étude ont montré une importante activité larvicide vis-à-vis des larves d'*Anopheles gambiae*. Les doses létales 50 (DL₅₀) obtenues sont 54,37 ppm et 105,13 ppm respectivement pour l'huile essentielle de *C. podocarpa* et celle de *C. sinensis*. Ainsi, l'huile essentielle de *C. podocarpa* est plus active vis-à-vis des larves des anophèles que celle de *C. sinensis*. Les échantillons d'huile essentielle *Citrus sinensis* et *Crotalaria podocarpa* ont une activité faible par rapport à la deltaméthrine produit pur utilisé comme référence. L'insecticide de synthèse (deltamethrine) est certes plus actif que les huiles essentielles des deux plantes de la présente étude, mais en tant que substances naturelles donc biodégradables, ces huiles essentielles pourraient servir à la formulation de nouveaux bio- insecticides.

Références

- [1] - F. SEYE, R. D. NDIONE, M. NDIAYE, Effets larvicides des produits de neem (huile de neem pure et neemix) comparés à deux insecticides chimiques de synthèse (la deltaméthrine et le fenitrothion) sur les larves du moustique *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *J. Sci. Tech.*, 4 (1) (2006) 27 - 36
- [2] - L. YOUSSEF, B. DRISS, E. YOUSSEF, L. OMAR, E. KHADIJA, K. ABDELLATIF, K. ZAKARIA, Cartographie de la faune culicidienne dans la province de Khémisset (Maroc), *Sci. Lib. Edi. Mersenne*, 3 (2011) 7 p.
- [3] - D. PASCAL, M. PIERRE, F. PIERRE, Les moustiques d'intérêt médical, *Revue Française des Laboratoires*, 338 (2001) 27 - 36
- [4] - B. M. GREENWOOD, Control to elimination: implications for malaria research. *Trends Parasitol*, 24 (2008) 449 - 54
- [5] - J. JULVEZ, M. DEVELOUX, A. MOUNKAILA, J. MOUCHET, Diversité du paludisme en zone sahélo-saharienne *Ann. Soc. Belge Méd.*, 72 (1992) 163 - 177
- [6] - K. M. AHADJI-DABLA, G. K. KETOH, W. S. NYAMADOR, G. Y. APETOGBO, I. A. GLITHO, Susceptibility to DDT and Pyrethroids, and Detection of Knockdown Resistance Mutation in *Anopheles Gambiae* Sensu Lato in Southern Togo, *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8 (1) (2014) 314 - 23. DOI: 10.4314/ijbcs.v8i1.27
- [7] - B. AOUINTY, S. OUFARA, F. MELLOUKI, S. MAHARI, Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen), *Biotechnol". Agron. Soc. Environ.*, 10 (2) (2006) 67 - 71
- [8] - F. CUI, Y. TAN, C. L. QIAO, Filariasis vector in China : Insecticide resistance and population structure of mosquito *Culex pipiens* complex, *Pest. Manag. Sci.*, 63 (2007) 453 - 458
- [9] - J. DAABOUB, R. BEN CHEIKH, A. LAMARI, Resistance to pyrethroid insecticides in *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) from Tunisia., *Acta. Tropica.*, 107 (2008) 30 - 36. 11
- [10] - A. EL OUALI LALAMI, F. EL-AKHAL, W. OUDRHIRI, C. F. OUZZANI, R. GUEMMOUH, H. GRECH, "Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *thymus vulgaris* et *thymus satureioidis*., les technologies de laboratoire, 8 (31) (2013) 27 - 33
- [11] - OMS, Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs : Guide du stagiaire Genève, (1985) 102 p.
- [12] - W. S. ABBOTT, A method of computing the effectiveness of an insecticide, *Journal of Economic Entomology*, 18 (2) (1925) 265 - 267
- [13] - A. DRAGSTED, B. LANG, Etude de la toxicité par administration unique d'un nouveau médicament, *Annales pharmaceutiques Française*, (1957) 11 p.
- [14] - F. EL-AKHAL, R. GUEMMOUH, H. GRECHE, A. E. O. LALAMI, Valorisation en tant que bioinsecticide de deux huiles essentielles de *Citrus sinensis* et *Citrus aurantium* cultivées au centre du Maroc (Valorization as a bio-insecticide of essential oils of *Citrus sinensis* and *Citrus aurantium* cultivated in center of Morocco), *J. Mater. Environ. Sci.*, 5 (S1) (2014) 2319 - 2324
- [15] - P. A. NTONGA, P. BELONG, F. TCHOUMBOUNANG, E. M. BAKWO, H. FANKEM, Composition chimique et effets insecticides des huiles essentielles des feuilles fraîches d'*Ocimum canum* Sims et d'*Ocimum basilicum* L. sur les adultes d'*Anopheles funestus* ss, vecteur du paludisme au Cameroun, *J. Applied Biosci.*, 59 (2012) 4340 - 4348
- [16] - F. D. G. AURELIE, N. M. ASCENSION, T. H. GABRIEL, A. A. P. HERMAN, N. M. PAULINE, T. J. LEBEL, Chemical composition and ovicidal, larvicidal and pupicidal activity of *Ocimum basilicum* essential oil against *Anopheles gambiae*. (Diptera : Culicidae), *European Journal of Medicinal Plants*, (2016) 1 - 13

- [17] - D. DRIS, F. TINE-DJEBBAR, H. BOUABIDA, N. SOLTANI, Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae : Toxicological, biometrical and biochemical aspects *South African Journal of Botany*, 113 (2017) 362 - 369
- [18] - L. KONSTANTOPOULOU, L. VASSILOPOULOU, T. P. MAURAGANI, Z. G. SCOURAS, D. AURARIA EXPERIENTIA, Insecticidal effects of essential oils. A study of the effects of essential oils extracted from eleven Greek aromatic plants on, 48 (6) (1992) 535 - 619. URL : <https://doi.org/10.1007/BF01920251>
- [19] - F. BETTARINI, G. E. BORGONOV, T. FIORANI, I. GAGLIARDI, V. CAPRIOLI, P. MASSARDO, A. CHAPYA, Antiparasitic compounds from East African plants : Isolation and biological activity of anonaine, matricarianol, canthin-6-one and caryophyllene oxide *International Journal of Tropical Insect Science*, 14 (1) (1993) 93 - 99
- [20] - B. A. SÁNCHEZ-MUÑOZ, M. I. AGUILAR, B. KING-DÍAZ, J. F. RIVERO, B. LOTINA-HENNSEN, The sesquiterpenes β -caryophyllene and caryophyllene oxide isolated from *Senecio salignus* act as phyto-growth and photosynthesis inhibitors, *Molecules*, 17 (2) (2012) 1437 - 1447
- [21] - J. NARARAK, S. SATHANTRIPHOP, M. KONGMEE, V. MAHIOU-LEDDER, E. OLLIVIER, S. MANGUIN, T. CHAREONVIRIYAPHAP, Excito-repellent activity of β -caryophyllene oxide against *Aedes aegypti* and *Anopheles minimus* *Acta tropica*, 197 (2019) 105030
- [22] - S. ZERROUG, S. BERCHI, "Étude biométrique et histologique sur des larves de *Culex pipiens* Linnée, 1758 (Diptera, Culicidae) Exposées aux extraits aqueux de plantes". Master, Université Frères Mentouri-Constantine, Algérie, (2018) 122 p.