



FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES
LABORATOIRE D'AMELIORATION ET DE DEDEVELOPPEMENT
DE LA PRODUCTION VEGETALE ET ANIMALE (LADPVA)

N°...../SNV/2025

THÈSE

Présentée par :

ARIBI Lamia

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT 3^{ème} CYCLE

Spécialité : **PARASITOLOGIE**

THÈME

**Caractérisation de *Culex pipiens* (Linnaeus, 1758)
et *Culiseta longiareolata* (Macquart, 1838)
et toxicité des extraits des plantes sur leurs larves**

Membre du jury :

Président	DJIRAR Nacer	Pr. Univ. Sétif 1
Directeur	BOUNECHADA Mustapha	Pr. Univ. Sétif 1
Co-directeur	KHENCHOUCHE Abdelhalim	Pr. Univ. Sétif 1
Examinatrice	KOHIL Karima	Pr. Univ. Constantine
Examinatrice	BENHISSEN Saliha	MCA. Univ. Msila
Examinatrice	MOUHOUBI Djamila	MCA. Univ. Sétif 1

Remerciements

*J'exprime mon sentiment de profonde gratitude à notre **ALLAH** le maître de la vie, et des circonstances de m'avoir alloué de sa grâce inestimable et de m'avoir donné, la santé, la force et la patience pour mener à terme ce travail.*

*Mes remerciements les plus sincères vont à **M. DJIRAR Nacer**, Professeur à l'Université de Sétif, pour l'honneur qu'il m'a fait de présider ce jury.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à **M. BOUNECHADA Mustapha**, Professeur à l'Université de Sétif, pour ses encouragements constants et son soutien inestimable tout au long de mon parcours universitaire. Son regard paternel a été une source de motivation.*

*Une mention toute particulière d'un grand respect à mon Co-Promoteur **M. KHENCHOUCHE Abdelhalim**, Professeur à l'Université de Sétif, pour son soutien indéfectible et ses orientations judicieuses tout au long de ce parcours*

*Je souhaite également remercier **Mme. KOHIL Karima**, Professeure à l'Université de Constantine pour avoir accepté d'évaluer cette thèse avec rigueur et bienveillance.*

*Je remercie chaleureusement **Dr. BENHISSEN Saliha**, Maître de Conférences à l'Université de Msila, pour avoir généreusement accepté d'examiner cette thèse.*

*Je tiens à remercier **Dr. MOUHOUBI Djamilia**, Maître de Conférences à l'Université de Sétif 1, pour sa participation en tant qu'examinatrice de ce travail.*

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de cette recherche. Un grand merci à tous les enseignants pour leurs précieux conseils et leur soutien constant, aux ingénieures de laboratoire pour leur dévouement et leur aide technique, qui ont été indispensables à la réussite des expériences.

Dédicaces

*A la mémoire de mon cher grand-père **ABDELHAMID** et de ma grand-mère, **MESSAOUDA**, qu'**ALLAH** accueille leurs âmes dans Son vaste paradis.*

*A mon cher papa **DJAMEL**, l'homme le plus exemplaire qui soit, grâce à qui j'ai forgé mon identité et suis devenue celle que je suis aujourd'hui. Je remercie **ALLAH** de t'avoir préservé en bonne santé et de m'avoir permis de réaliser ton rêve. Qu'**ALLAH** t'accorde une longue vie épanouissante, entouré de bonheur et de santé.*

*A ma chère maman **LILA**, mon pilier, et ma source de force. Tes douaas, ton amour inconditionnel et ton soutien sans faille m'ont porté dans les moments les plus difficiles. Qu'**ALLAH** te récompense pour tout ce que tu as fait pour moi et t'accorde une vie remplie de bonheur et de santé.*

*A mon mari **FARID**, pour ton soutien inébranlable tout au long de ce parcours.*

*A ma précieuse fille **AYA**, ma raison de me battre chaque jour. Que chaque réussite soit un pas de plus vers un avenir meilleur pour toi.*

*A mes sœurs **ASMA**, **MERIEM**, **NARIMENE**, ainsi qu'à mon frère **SAIF** et son épouse **AHLEM**, A mon grand-père **MOHAMED** et ma grand-mère **ZAKIA**,
A mes neveux et nièces, A toute ma famille, A ma belle-famille,
Merci pour votre amour.*

A mes amies et collègues, pour votre aide précieuse tout au long de ce projet. Votre soutien, même dans les moindres tâches, a été inestimable.

Ce travail n'est pas seulement le fruit d'une recherche, mais un défi marqué par des sacrifices, des nuits blanches, des efforts inlassables et une volonté inébranlable de ne jamais abandonner.

À travers ces pages, je vois bien plus qu'un aboutissement : j'y vois la preuve de ma force, de mon engagement et de ma capacité à accomplir ce que je pensais parfois impossible.

الحمد لله

سُورَةُ الْبَقَرَةِ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

* إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا
فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ
رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ
بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ
كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ﴿٢٦﴾

ملخص

تهدف هذه الدراسة لاستكشاف الخصائص البيئية والفسولوجية لـ أكثر نوعين من البعوض هيمنة في الجزائر *Culex pipiens s.l.* و *Culiseta longiareolata*، ناقلاً رئيسياً للعوامل الممرضة التي تشكل تحديات كبيرة للصحة العامة على الصعيد العالمي، إلا أنهما لم يحظيا بدراسة كافية في الجزائر. في هذه الدراسة، قمنا أولاً بدراسة التمايز البيئي بين *Cx. pipiens* و *p. pipiens* و *Cx. p. molestus*، عضوان في مركب *Cx. pipiens*، معروفين باختلافاتهما السلوكية والفسولوجية الكبيرة. تمت كذلك دراسة خصائص التكاثر، بما في ذلك معدلات التوالد الذاتي. تم أخذ عينات من تسع مناطق من مختلف البيئات، حضرية أو ريفية، سطحية أو تحت أرضية. النتائج أوضحت أن *Cx. p. pipiens* فضل البيئات الريفية ومواقع التكاثر السطحية، وتميز بسلوك غير ذاتي التوالد. في المقابل، لم يُظهر كل من *Cx. p. molestus* والهجائن أي تفضيل لنوع معين من البيئات، سواء كانت حضرية أو ريفية، أو لمواقع التكاثر، سواء كانت سطحية أو تحت أرضية. ومع ذلك، فإنها تمتعت بقدرة ملحوظة على أن تكون ذاتية التوالد، خاصة في المواقع التحت أرضية. بالإضافة إلى ذلك، تؤكد التحليلات أن التوالد الذاتي يرتبط بشكل قوي بمواقع التكاثر التحت أرضية. في الوقت ذاته، كشفت التحليلات الجزيئية لـ *Cs. longiareolata* المأخوذة من أربعة مواقع سطحية عن وجود خمسة أنماط وراثية (haplotypes) مما يشير إلى تشابه جيني كبير داخل المجتمع المدروس. علاوة على ذلك، لم تُظهر هذه العينات أي سلوك توالد ذاتي. ركز الجزء الثاني من هذه الدراسة على تحديد الخصائص الكيميائية للزيوت الأساسية المستخلصة من ثلاث نباتات، وهي *Cymbopogon citratus*، *Pimpinella anisum*، و *Saccocalyx satureioides*، بالإضافة إلى تقييم نشاطها القاتل ضد يرقات البعوض، *Cx. pipiens s.l.* و *Cs. longiareolata*. تم الحصول على الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي للأجزاء الهوائية المجففة، حيث كانت نسبة المردود 0.9% لـ *C. citratus*، و2% لـ *S. satureioides*، و4% لـ *P. anisum*. تم تحليل الزيوت بواسطة التحليل الكيميائي الضوئي، إذ كشفت النتائج عن 48 مركباً لـ *C. citratus*، أهمها α -citral و β -citral؛ و58 مركباً لـ *S. satureioides*، مع مركبات رئيسية مثل α -terpineol، thymol، و borneol؛ و 48 مركباً لـ *P. anisum*، مع anethole و D-limonene كمركبان سائدان. تم تقييم نشاط الزيوت القاتل وفقاً لبروتوكول منظمة الصحة العالمية، أظهرت النتائج أن يرقات *Cx. pipiens s.l.* هي الأكثر حساسية، وأن الزيت الأساسي لـ *P. anisum* كان الأكثر سمية. بالإضافة إلى ذلك، تم اختيار *S. satureioides* لتحليل بيوكيميائي معمق نظراً لقلة الدراسات حوله. كشف هذا التحليل عن انخفاض في وزن الجسم، وكذلك في تركيبات الكربوهيدرات والبروتينات، في حين ارتفع مستوى الدهون في النوعين المدروسين.

الكلمات المفتاحية: مركب *Culex pipiens s.l.*، *Culiseta longiareolata*، البيئية، التوالد الذاتي، COI، الميكروساتليت CQ11، مستخلصات النباتات، المكافحة البيولوجية، الجزائر.

Résumé

Cette étude a porté sur deux espèces les plus dominantes en Algérie *Culex pipiens* s.l. et *Culiseta longiareolata*. Ces deux vecteurs de pathogènes posent des défis majeurs pour la santé publique à l'échelle mondiale, mais ont été relativement peu étudiés en Algérie. Dans la présente recherche, nous avons dans un premier temps analysé la différenciation écologique entre *Culex pipiens pipiens* et *Culex pipiens molestus*, deux membres du complexe *Cx. pipiens*, connus pour leurs différences comportementales et physiologiques. Les caractéristiques de reproduction, notamment les taux d'autogénie, ont été également étudiées. Neuf populations de *Cx. pipiens* s.l. ont été échantillonnées dans divers habitats urbains et ruraux dans la région de Sétif, répartis entre des sites de reproduction en surface et souterrains. L'identification moléculaire des larves, réalisée à l'aide du locus microsatellite CQ11, a révélé que les trois biotypes (*Cx. p. pipiens*, *Cx. p. molestus* et leurs hybrides) coexistaient en sympatrie dans les sites de reproduction en surface et souterrains, la forme *molestus* étant dominante, suivie des hybrides et la forme *pipiens*. *Cx. p. pipiens* préférait les habitats ruraux et les sites de reproduction en surface, et se caractérisait par un comportement anautogène. En revanche, la forme *Cx. p. molestus* et les hybrides ne montraient aucune préférence spécifique pour un type particulier d'habitat ou de site de reproduction. Cependant, ces deux formes présentaient une capacité notable à être autogènes, particulièrement dans les sites de reproduction souterrains. De plus, les analyses confirmaient que l'autogénie était fortement corrélée aux sites de reproduction souterrains. Simultanément, une analyse moléculaire basée sur l'amplification du gène COI, suivie du séquençage des spécimens de *Cs. longiareolata* prélevés dans quatre sites épigés, a mis en évidence la présence de cinq haplotypes, suggérant une forte similarité au sein de la population étudiée. En outre, elle ne présentait aucun comportement autogène. Le second volet de cette recherche a porté sur la caractérisation chimique des huiles essentielles de trois plantes, *Cymbopogon citratus*, *Saccocalyx satureioides* et *Pimpinella anisum*, ainsi que sur l'évaluation de leur activité larvicide contre les larves des deux espèces, *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata*. Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation des parties aériennes séchées, avec des rendements de 0,9 % pour *C. citratus*, 2 % pour *S. satureioides*, et 4 % pour *P. anisum*. Les huiles ont été ensuite analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM), révélant 48 composés pour *C. citratus*, dont les principaux sont l' α -citral et le β -citral ; 58 composés pour *S. satureioides*, avec l' α -tépinéol, le thymol et le bornéol comme composés majeurs ; et 49 composés pour *P. anisum*, dominés par l'anéthol et le D-limonène. L'activité larvicide de ces huiles a été ensuite évaluée conformément au protocole standard de l'Organisation Mondiale de la Santé, permettant d'estimer les concentrations létales (CL25, CL50, CL90). Les résultats ont révélé que *Cx. pipiens* s.l. était l'espèce la plus sensible, et que l'huile essentielle de *P. anisum* s'est avérée la plus toxique. De plus, *S. satureioides* a été sélectionnée pour une analyse biochimique approfondie en raison de son statut peu étudié. Cette analyse a révélé que le poids corporel, ainsi que les concentrations en glucides et en protéines, diminuaient, tandis que le taux des lipides augmentait chez les deux espèces étudiées.

Mots clés : Complexe *Culex pipiens* s.l., *Culiseta longiareolata*, Ecologie, Autogénie, COI, Microsatellite CQ11, Extraits de plantes, Lutte biologique, Algérie.

Abstract

This study focused on two of the most dominant mosquito species in Algeria: *Culex pipiens* s.l. and *Culiseta longiareolata*. Both of these pathogen vectors present significant public health challenges on a global scale but have been relatively understudied in Algeria. In this research, we first analyzed the ecological differentiation between *Culex pipiens pipiens* and *Culex pipiens molestus*, two members of the *Cx. pipiens* complex, known for their distinct behavioral and physiological characteristics. Reproductive traits, such as autogeny rates, were also studied. Nine populations of *Cx. pipiens* s.l. were sampled from various urban and rural habitats in the Setif region, distributed across aboveground and underground breeding sites. The molecular identification of larvae, carried out using the CQ11 microsatellite locus, revealed that the three biotypes (*Cx. p. pipiens*, *Cx. p. molestus*, and their hybrids) coexisted in sympatry in both aboveground and underground breeding sites, with the *molestus* form being dominant, followed by hybrids and the *pipiens* form. *Cx. p. pipiens* preferred rural habitats and surface breeding sites and was characterized by an anautogenous behavior. In contrast, *Cx. p. molestus* and hybrids showed no specific preference for a particular type of habitat or breeding site. However, these two forms exhibited a notable capacity to be autogenous, particularly in underground breeding sites. Furthermore, the analyses confirm that autogeny is strongly correlated with underground breeding sites. Simultaneously, a molecular analysis based on the amplification of the COI gene, followed by sequencing of *Cs. longiareolata* specimens collected from four aboveground breeding sites, revealed the presence of five haplotypes, suggesting a high degree of similarity within the studied population. Additionally, it displayed no autogenous behavior. The second part of this research focused on the chemical characterization of essential oils from three plants: *Cymbopogon citratus*, *Saccocalyx satureioides*, and *Pimpinella anisum*, as well as on the evaluation of their larvicidal activity against the larvae of the two species, *Cx. pipiens* s.l. and *Cs. longiareolata*. The essential oils were extracted by hydrodistillation of dried aerial parts, with yields of 0.9% for *C. citratus*, 2% for *S. satureioides*, and 4% for *P. anisum*. The oils were then analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), revealing 48 compounds in *C. citratus*, with α -citral and β -citral as the main components; 58 compounds in *S. satureioides*, with α -terpineol, thymol, and borneol as major compounds; and 49 compounds in *P. anisum*, dominated by anethole and D-limonene. The larvicidal activity of these oils was assessed following the World Health Organization's standard protocol to estimate lethal concentrations (LC25, LC50, LC90). The results showed that *Cx. pipiens* s.l. was the most sensitive species and that *P. anisum* oil proved to be the most toxic. Additionally, *S. satureioides* was selected for a detailed biochemical analysis due to its understudied status. This analysis revealed that body weight, as well as carbohydrate and protein concentrations, decreased, while lipid levels increased in both species studied.

Keywords: *Culex pipiens* s.l. complex, *Culiseta longiareolata*, Ecology, Autogeny, COI, Microsatellite CQ11, Plant extracts, Biological control, Algeria.

Liste des figures

Figure 1: Cycle de développement des moustiques.	8
Figure 2: Photographie de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf, 1906.	20
Figure 3: Photographie de <i>Saccocalyx satureioides</i> Coss. et Durieu, 1853.	21
Figure 4: Photographie de <i>Pimpinella anisum</i> L.,1753.....	23
Figure 5: Localisation géographique de la région de Sétif et répartition des sites d'échantillonnage.	25
Figure 6: Mise en couple des adultes de moustiques.....	28
Figure 7: Appareil Clevenger pour l'hydrodistillation des huiles essentielles	33
Figure 8: Protocole d'extraction des glucides, lipides et protéines totaux.	35
Figure 9: Description morphologique de l'adulte de <i>Culex pipiens</i> s.l.	40
Figure 10: Description morphologique de la larve de <i>Culex pipiens</i> s.l.....	41
Figure 11: Amplification par PCR du microsatellite CQ11 sur un gel d'agarose à 1,6 %	42
Figure 16: Description morphologique de l'adulte de <i>Culiseta longiareolata</i>	46
Figure 17: Description morphologique de la larve de <i>Culiseta longiareolata</i>	46
Figure 18: Amplification par PCR du COI sur un gel d'agarose à 1,6%.....	47
Figure 19: Variation des haplotypes de <i>Cs. longiareolata</i>	47
Figure 20: Chromatogramme CPG-SM de l'HE de <i>C. citratus</i> : Variation de l'abondance en fonction du temps (min)	51
Figure 21: Chromatogramme CPG-SM de l'HE de <i>S. satureioides</i> : Variation de l'abondance en fonction du temps (min).....	53
Figure 22: Chromatogramme CPG-SM de l'HE de <i>P. anisum</i> : Variation de l'abondance en fonction du temps (min).	55
Figure 23: Effet toxique de l'HE de <i>C. citratus</i> (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. (A) et <i>Cs. longiareolata</i> (B) après 24h d'exposition : Moyenne ± Ecartype.....	58

Figure 24: Effet toxique de l'HE de <i>C. citratus</i> sur la mortalité (%) des larves : Courbe dose-réponse montrant le pourcentage de mortalité observée en fonction du logarithme des concentrations.....	58
Figure 25: Effet toxique de l'HE de <i>S. saturoioides</i> (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. (A) et <i>Cs. longiareolata</i> (B) après 24h d'exposition : Moyenne ± Ecartype.....	61
Figure 26: Effet toxique de l'HE de <i>S. saturoioides</i> sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. (A) et <i>Cs. longiareolata</i> (B) après 24h d'exposition : Courbe dose-réponse montrant le pourcentage de mortalité observée en fonction du logarithme des concentrations	61
Figure 27: Effet toxique de l'HE de <i>P.anisum</i> (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. (A) et <i>Cs. longiareolata</i> (B) après 24h d'exposition : Moyenne ± Ecartype.....	64
Figure 28: Effet toxique de l'HE de <i>P. anisum</i> sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. (A) et <i>Cs. longiareolata</i> (B) après 24h d'exposition : Courbe dose-réponse montrant le pourcentage de mortalité observée en fonction du logarithme des concentrations	64
Figure 29: Dosage des glucides : Courbe de régression de l'absorbance en fonction des quantités de glucose (µg).....	67
Figure 30: Dosage des lipides : Courbe de régression de l'absorbance en fonction des quantités des lipides (µg).	68
Figure 31: Dosage des protéines : Courbe de régression de l'absorbance en fonction des quantités d'albumine (µg).....	69

Liste des tableaux

Tableau 1: Synthèse des sites d'étude et leurs coordonnées géographiques.	26
Tableau 2: Amorces PCR spécifiques pour la discrimination entre <i>Cx. pipiens</i> s.l. et <i>Cx. torrentium</i>	30
Tableau 3: Amorces PCR spécifiques pour la discrimination entre les formes de <i>Cx. pipiens</i>	30
Tableau 4: Amorces PCR spécifiques aux diptères.	31
Tableau 5: Caractéristiques des plantes étudiées.	32
Tableau 6: Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.	36
Tableau 7: Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.....	37
Tableau 8: Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.	37
Tableau 9: Fréquences des différentes formes de <i>Cx. pipiens</i>	42
Tableau 10: Expression de l'autogénie chez les femelles de <i>Cx. pipiens</i> s.l en fonction des types d'habitats et des sites de reproduction.....	43
Tableau 11: Expression de l'autogénie des formes de <i>Cx. pipiens</i> dans les sites épigés et hypogés.....	44
Tableau 12: Numéros d'accession des haplotypes de <i>Cs. longiareolata</i>	48
Tableau 13: Composition chimique de l'HE de <i>C. citratus</i> : Indice de rétention (IR), temps de rétention (TR) et concentration (%) des composants identifiés.	50
Tableau 14: Composition chimique de l'HE de <i>S. satureioides</i> : Indice de rétention (IR), temps de rétention (TR), et concentration (%) des composants identifiés.	52
Tableau 15: Composition chimique de l'HE de <i>P. anisum</i> : Indice de rétention (IR), temps de rétention (TR), et concentration (%) des composants identifiés.	54
Tableau 16: Effet toxique de l'HE de <i>C. citratus</i> (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. après 24h d'exposition : Moyenne ± Ecartype	56
Tableau 17: Effet toxique de l'HE de <i>C. citratus</i> (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cs. longiareolata</i> après 24h d'exposition : Moyenne ± Ecartype	57

Tableau 18: Effet toxique de l'HE de <i>C. citratus</i> (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. après 24h d'exposition (Moyenne ± Ecartype) : Analyse de variance à un critère de classification après transformation angulaire des pourcentages de mortalité.....	57
Tableau 19: Effet toxique de l'HE de <i>C. citratus</i> (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cs. longiareolata</i> après 24h d'exposition (Moyenne ± Ecartype): Analyse de variance à un critère de classification après transformation angulaire des pourcentages de mortalité.....	57
Tableau 20: Concentrations létales (ppm) de l'HE de <i>C. citratus</i> appliquées sur les larves du 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. et de <i>Cs. longiareolata</i> après 24h d'exposition.....	58
Tableau 21: Effet toxique de l'HE de <i>S. satureioides</i> (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. après 24h d'exposition : Moyenne ± Ecartype	59
Tableau 22: Effet toxique de l'HE de <i>S. satureioides</i> (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cs. longiareolata</i> après 24h d'exposition (Moyenne ± Ecartype) : Analyse de variance à un critère de classification après transformation angulaire des pourcentages de mortalité.....	60
Tableau 23: Effet toxique de l'HE de <i>S. satureioides</i> (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. après 24h d'exposition (Moyenne ± Ecartype) : Analyse de variance à un critère de classification après transformation angulaire des pourcentages de mortalité.....	60
Tableau 24: Effet toxique de l'HE de <i>S. satureioides</i> (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cs. longiareolata</i> après 24h d'exposition (Moyenne ± Ecartype) : Analyse de variance à un critère de classification après transformation angulaire des pourcentages de mortalité.....	60
Tableau 25: Concentrations létales (ppm) de l'HE de <i>S. satureioides</i> appliquées sur les larves du 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. et de <i>Cs. longiareolata</i> après 24h d'exposition.....	61
Tableau 26: Effet toxique de l'HE de <i>P. anisum</i> (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. après 24h d'exposition (Moyenne ± Ecartype) : Analyse de variance à un critère de classification après transformation angulaire des pourcentages de mortalité.....	62
Tableau 27: Effet toxique de l'HE de <i>P. anisum</i> (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cs. longiareolata</i> après 24h d'exposition : Moyenne ± Ecartype	63

Tableau 28: Effet toxique de l'HE de <i>P. anisum</i> (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. après 24h d'exposition (Moyenne ± Ecartype) : Analyse de variance à un critère de classification après transformation angulaire des pourcentages de mortalité.....	63
Tableau 29: Effet toxique de l'HE de <i>P. anisum</i> (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cs. longiareolata</i> après 24h d'exposition (Moyenne ± Ecartype) : Analyse de variance à un critère de classification après transformation angulaire des pourcentages de mortalité.....	63
Tableau 30: Concentrations létales (ppm) de l'HE de <i>P. anisum</i> appliquées sur les larves du 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. et de <i>Cs. longiareolata</i> après 24h d'exposition.	64
Tableau 31: Les concentrations létales (CL25, CL50 et CL90) des HEs extraites de <i>C. citratus</i> , <i>S. satureioides</i> et <i>P. anisum</i> sur les larves du 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. et de <i>Cs. longiareolata</i> après 24h d'exposition.....	65
Tableau 32: Effet de l'HE de <i>S. satureioides</i> (CL25, CL50) sur le poids corporel (mg) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. et <i>Cs. longiareolata</i> après 24 heures d'exposition (Moyenne ± Ecartype).	66
Tableau 33: Effet de l'HE de <i>S. satureioides</i> (CL25, CL50) sur la concentration des glucides (µg/mg) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. et <i>Cs. longiareolata</i> après 24 heures d'exposition (Moyenne ± Ecartype).	67
Tableau 34: Effet de l'HE de <i>S. satureioides</i> (CL25, CL50) sur la concentration des lipides (µg/mg) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. et <i>Cs. longiareolata</i> après 24 heures d'exposition (Moyenne ± Ecartype).	68
Tableau 35: Effet de l'HE de <i>S. satureioides</i> (CL25, CL50) sur la concentration des protéines (µg/mg) des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. et <i>Cs. longiareolata</i> après 24 heures d'exposition (Moyenne ± Ecartype).....	69

Liste des abréviations

Cx. pipiens : *Culex pipiens*

VNO : Virus du Nil Occidental

RVFV : Rift Valley fever virus

MBD : Mosquito-Borne Diseases

Cs. longiareolata : *Culiseta longiareolata*

COI : Cytochrome c Oxidase I

ITS2 : Internal Transcribed Spacer 2

Cyt b : Cytochrome b

ACE : Acétylcholinestérase

pb : Paire de bases

HE : Huile essentielle

NIST : National Institute of Standards and Technology

CL25 : Concentration létale qui tue 25% de la population

CL50 : Concentration létale qui tue 50% de la population

CL90 : Concentration létale qui tue 90% de la population

DO : Densité Optique

SPHV : Sulfophosphovanillinique

GST : Glutathion-S-transférase

PCR : Polymerase Chain reaction

BLAST : Basic Local Alignment Search Tool

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	---

Données bibliographiques

1. Généralités sur les Culicidae	6
2. Cycle de développement des Culicidae	6
2.1. Œuf.....	6
2.2. Larve	7
2.3. Nymphe.....	7
2.4. Adulte.....	8
3. Présentation du complexe <i>Culex pipiens</i> Linné, 1758	9
4. Présentation de <i>Culiseta longiareolata</i> Macquart, 1838	10
5. Importance médicale et vétérinaire des Culicidae	12
6. Approche d'identification moléculaire des Culicidae	14
7. Lutte contre les Culicidae	15
7.1. Lutte physique.....	15
7.2. Lutte chimique	15
7.3. Lutte biologique	16
8. Présentation botanique des plantes étudiées	18
8.1. <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf, 1906	18
8.2. <i>Saccocalyx satureioides</i> Coss. et Durieu, 1853	20
8.3. <i>Pimpinella anisum</i> L., 1753	22

Matériel et méthodes

1. Caractérisation du complexe <i>Culex pipiens</i> et <i>Culiseta longiareolata</i> (Diptera : Culicidae)	24
1.1. Présentation de la zone d'étude	24
1.2. Stations d'étude.....	24
1.3. Description des stations	25

1.4. Collecte et identification des larves	27
1.5. Mise en couple et détermination de l'autogénie	27
1.6. Typage moléculaire de <i>Cx. pipiens</i> s.l. et <i>Cs. longiareolata</i>	28
1.6.1. Extraction d'ADN des larves	28
1.6.2. Extraction d'ADN des adultes.....	29
1.6.3. Déroulement de la PCR	29
<i>Culex pipiens</i> s.l.....	29
<i>Culiseta longiareolata</i>	31
1.7. Séquençage	31
1.8. Analyse statistique	31
2. Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles sur les larves de <i>Culex pipiens</i> s.l. et <i>Culiseta longiareolata</i> (Diptera : Culicidae).....	32
2.1. Collecte et élevage des larves	32
2.2. Récolte des plantes.....	32
2.3. Extraction des HEs par hydrodistillation et rendement	33
2.4. Analyse des HEs par CPG-SM	33
2.5. Activité larvicide.....	34
2.6. Extraction des constituants biochimiques.....	34
2.6.1. Dosage des lipides	36
2.6.2. Dosage des glucides.....	36
2.6.3. Dosage des protéines	37
2.7. Analyse statistique	38

Résultats

1. Caractérisation du complexe <i>Culex pipiens</i> et <i>Culiseta longiareolata</i> (Diptera : Culicidae).....	39
1.1. <i>Culex pipiens</i> s.l.....	39
1.1.1. Caractérisation morphologique.....	39
1.1.1.1. Adulte	39

1.1.1.2.	Larve	40
1.1.2.	Caractérisation écologique et moléculaire	41
1.1.3.	Caractérisation biologique de la reproduction	43
1.1.3.1.	Expression de l'autogénie en fonction des types d'habitats et des sites de reproduction	43
1.1.3.2.	Expression de l'autogénie des formes de <i>Cx. pipiens</i> en fonction des sites de reproduction	43
1.2.	<i>Culiseta longiareolata</i>	45
1.2.1.	Caractérisation morphologique.....	45
1.2.1.1.	Adulte	45
1.2.1.2.	Larve	46
1.2.2.	Caractérisation moléculaire	47
1.2.3.	Caractérisation biologique de la reproduction	48
2.	Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles sur les larves de <i>Culex pipiens</i> s.l. et <i>Culiseta longiareolata</i>	49
2.1.	Rendement des HEs	49
2.2.	Composition chimique des HEs.....	49
2.2.1.	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf, 1906	49
2.2.2.	<i>Saccocalyx satureioides</i> Coss. et Durieu, 1853	51
2.2.3.	<i>Pimpinella anisum</i> L., 1753.....	53
2.3.	Activités larvicides des HEs à l'égard de <i>Culex pipiens</i> s.l. et <i>Culiseta longiareolata</i> (Diptera : Culicidae).....	56
2.3.1.	Activité larvicide de l'HE de <i>C. citratus</i>	56
2.3.2.	Activité larvicide de l'HE de <i>S. satureioides</i>	59
2.3.3.	Activité larvicide de l'HE de <i>P. anisum</i>	62
2.4.	Efficacité comparée des HEs à l'égard de <i>Cx. pipiens</i> s.l. et <i>Cs. longiareolata</i>	65
2.5.	Effet de l'HE de <i>S. satureioides</i> sur la croissance des larves du 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. et <i>Cs. longiareolata</i>	65
2.5.1.	Effet de l'HE de <i>S. satureioides</i> sur le poids corporel.....	66

2.5.2.	Effet de l'HE de <i>S. saturoieides</i> sur le taux des glucides	66
2.5.3.	Effet de l'HE de <i>S. saturoieides</i> sur le taux des lipides.....	67
2.5.4.	Effet de l'HE de <i>S. saturoieides</i> sur le taux des protéines.....	68

Discussion

1.	Caractérisation du complexe <i>Culex pipiens</i> et <i>Culiseta longiareolata</i> (Diptera : Culicidae).....	72
1.1.	Caractérisation écologique et moléculaire	72
1.2.	Caractérisation biologique de la reproduction	74
2.	Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles sur les larves de <i>Culex pipiens</i> s.l. et <i>Culiseta longiareolata</i> (Diptera : Culicidae).....	77
2.1.	Rendement et composition chimique des HEs	77
2.2.	Activités larvicides des HEs à l'égard de <i>Cx. pipiens</i> s.l. et <i>Cs. longiareolata</i> (Diptera : Culicidae).....	79
2.3.	Effet de l'HE de <i>S. saturoieides</i> sur la croissance des larves de 4 ^{ème} stade de <i>Cx. pipiens</i> s.l. et <i>Cs. longiareolata</i>	82
2.3.1.	Effet de l'HE de <i>S. saturoieides</i> sur le poids corporel.....	82
2.3.2.	Effet de l'HE de <i>S. saturoieides</i> sur les constituants biochimiques	83
	Conclusion et perspectives	86
	Références bibliographiques	88
	Annexes	111

Introduction

Introduction

Les Culicidae, communément appelés moustiques, forment un groupe d'arthropodes d'une grande diversité, comptant plus de 3 600 espèces réparties à travers le monde, particulièrement bien adaptés à la cohabitation avec les êtres humains et les animaux domestiques (Ruzzante *et al.*, 2019; Goodwin *et al.*, 2021; Muñoz-Gamba *et al.*, 2021). Les moustiques sont présents sur tous les continents (Guarner & Hale, 2019), et colonisent une variété d'habitats, depuis les zones tropicales humides jusqu'aux régions tempérées et arides. Les moustiques femelles, en raison de leur comportement hématophage nécessaire à la maturation des œufs, jouent un rôle essentiel dans la transmission de maladies (Marzec *et al.*, 2023; Phasomkusolsil *et al.*, 2023). Ces maladies vectorielles représentent encore 17 % de l'ensemble des maladies infectieuses et causent environ 700 000 décès humains chaque année (OMS, 2020). Parmi elles figurent le paludisme, la filariose lymphatique, la dengue, le chikungunya, l'encéphalite japonaise, la fièvre jaune, le virus Zika et l'encéphalite de St. Louis (Sneha *et al.*, 2022; Sofi *et al.*, 2022; Ganesan *et al.*, 2023). Outre leur importance en tant que vecteurs de maladies humaines, les moustiques participent également à la transmission de pathogènes affectant les animaux, y compris les oiseaux et les mammifères. L'élevage et les systèmes cultivés sont également en proie à des maladies à transmission vectorielle, qui imposent de graves contraintes à la production agricole à l'échelle mondiale (Brown *et al.*, 2023; Wu *et al.*, 2023).

L'écologie des moustiques est largement influencée par la disponibilité d'habitats aquatiques pour la reproduction. Les moustiques peuvent être classées en fonction de leurs préférences d'habitats larvaires (Hinne *et al.*, 2021) : certains préfèrent des sites de reproduction permanents, notamment des habitats naturels tels que les lacs, mares, étangs, fossés ou les excès d'eau d'irrigation. D'autres espèces préfèrent les conteneurs artificiels, tandis que certaines choisissent des sites de reproduction temporaires. De plus, certaines espèces sont particulièrement attirées par des eaux riches en ammoniac (Merabti *et al.*, 2017; Lubna *et al.*, 2024).

Cette diversité d'habitats leur permet de coloniser différents types d'écosystèmes, des zones humides naturelles aux environnements anthropiques, comme les zones urbaines où l'eau stagnante dans les infrastructures humaines sert de gîte larvaire (Hessou-Djossou *et al.*, 2022).

Culex pipiens s.l., le moustique commun, est l'une des espèces les plus répandues à travers le monde. En Afrique du Nord, *Cx. pipiens* s.l. est un vecteur compétent de plusieurs agents pathogènes chez les animaux et les humains, notamment le virus du Nil occidental (VNO) et le virus de la fièvre de la vallée du Rift (RVFV) (Amara Korba *et al.*, 2016; Tabbabi & Bekhti, 2017; Haba & McBride, 2022).

Le complexe *Culex pipiens* comprend six membres : *Cx. australicus* Dobrotworsky & Drummond, *Cx. globocoxitus* Dobrotworsky, qui sont limités à l'Australie ; *Cx. pipiens pallens* Coquillet, présent au Japon et en Extrême-Orient de l'Eurasie, *Cx. quinquefasciatus* Say, qui se propagent à l'échelle mondiale dans les régions tropicales et subtropicales (Beji *et al.*, 2017; Yurchenko *et al.*, 2020) ; et *Cx. pipiens* Linnaeus qui se rencontre dans les régions tempérées, et comprenant deux formes morphologiquement identiques, mais présentant d'importantes différences physiologiques et écologiques (Fros *et al.*, 2015; C. B. Vogels *et al.*, 2017; Spanoudis *et al.*, 2020). La forme *pipiens* est ornithophile (se nourrit principalement d'oiseaux), eurygame (s'accouple dans les espaces ouverts), et hétérodynamique (entre en diapause pendant l'hiver). En revanche, la forme *molestus* se trouve dans des environnements souterrains, ce qui explique sa capacité à survivre dans des climats froids sans entrer en diapause, tout en étant plus anthropophile (préférant se nourrir de sang humain) et sténogame (capable de s'accoupler dans des espaces confinés). De plus, cette forme présente la capacité de se reproduire sans nécessiter de repas de sang, une caractéristique appelée autogénie, qui a été défini pour la première fois en 1929 par Roubaud. L'autogénie confère aux moustiques une plus grande flexibilité reproductive, leur permettant de s'adapter à divers environnements et d'augmenter les opportunités de transmission de pathogènes (Holicki *et al.*, 2020; Epstein *et al.*, 2021; Blom *et al.*, 2024). Les formes hybrides possèdent des traits des deux formes, et leur capacité à se reproduire dans des environnements variés et à piquer à la fois les oiseaux et les humains en fait un vecteur pont pour la transmission du VNO (Beji *et al.*, 2017).

Culiseta longiareolata est une espèce moins étudiée notamment en Algérie, mais qui revêt néanmoins une importance significative. Elle présente une grande capacité d'adaptation à divers environnements. Contrairement au complexe *Cx. pipiens* s.l., *Cs. longiareolata* est principalement ornithophile (Martínez-de La Puente *et al.*, 2020), jouant un rôle clé dans la transmission de parasites aviaires tels que *Plasmodium* chez les oiseaux (Deblauwe *et al.*, 2021). Cependant, elle peut aussi piquer les humains et transmettre des pathogènes.

Des études antérieures ont rapporté que cette espèce de moustique pourrait être un vecteur possible de la bactérie à l'origine de la fièvre de Malte (brucellose) et du virus de l'encéphalite occidentale (Boumaza *et al.*, 2022). En Algérie, cette espèce, bien qu'elle soit moins souvent associée à des épidémies humaines, représente une préoccupation en raison de sa capacité à coexister avec d'autres espèces de moustiques, ainsi que de son rôle potentiel dans la transmission de maladies dans les zones rurales et semi-rurales (Aissaoui & Boudjelida, 2017; Hamaidia & Berchi, 2018; Amna *et al.*, 2023; Bouaoud *et al.*, 2024).

L'identification moléculaire de ces espèces et de leurs formes biologiques est essentielle. Les méthodes morphologiques traditionnelles, bien qu'utiles, montrent des limites lorsqu'il s'agit de différencier les sous-espèces ou les formes cryptiques, en particulier dans des populations aux caractéristiques similaires, comme c'est fréquemment le cas avec le complexe *Cx. pipiens* (Delgado-Serra *et al.*, 2021; Lessard *et al.*, 2021).

Pour une meilleure mise en œuvre des mesures de lutte antivectorielle, l'identification moléculaire, la caractérisation biologique et écologique des espèces présentes en Algérie sont d'une importance primordiale. Les outils moléculaires, tels que l'analyse des marqueurs génétiques (sous unité 1 du cytochrome oxydase), permettent une identification plus précise des espèces et des formes biologiques (Nabti & Bounecheda, 2020). De plus, l'identification moléculaire est essentielle pour détecter les mutations responsables de la résistance aux insecticides, un problème croissant dans de nombreuses populations de moustiques à travers le monde. Les conséquences sur la santé publique et l'économie des pays à forte prévalence des maladies transmises par les moustiques sont énormes, perturbant non seulement les systèmes de santé, mais également les économies locales, réduisant la qualité de vie des populations affectées (Agbor *et al.*, 2020; Fang *et al.*, 2021; Alves *et al.*, 2024).

Afin de réduire l'impact dévastateur des maladies transmises par les moustiques, diverses mesures de lutte antivectorielle ont été mises en place, dont l'utilisation de pesticides chimiques, qui restent l'une des principales stratégies pour contrôler les populations de moustiques. L'utilisation de insecticides synthétiques tels que les organophosphates, les organochlorés et les carbamates a longtemps été privilégiée pour leur efficacité dans l'élimination des moustiques (Ajaegbu *et al.*, 2022; Prabhu *et al.*, 2022). Cependant, cette approche présente plusieurs inconvénients majeurs, outre les problèmes de santé humaine

associés à l'exposition prolongée à ces produits chimiques, tels que des perturbations endocriniennes et des risques de toxicité aiguë ou chronique, ces pesticides provoquent également des perturbations écologiques importantes. Ils affectent non seulement les moustiques cibles, mais aussi les espèces non ciblées, perturbant ainsi l'équilibre biologique des écosystèmes locaux (Mahmoudi *et al.*, 2022; Toubal *et al.*, 2022). De plus, l'utilisation répétée et excessive de ces produits chimiques a favorisé l'émergence de populations de moustiques résistantes aux insecticides, rendant leur gestion de plus en plus complexe et inefficace au fil du temps (Salem *et al.*, 2021). La communauté scientifique à explorer de nouvelles alternatives, plus respectueuses de l'environnement et moins toxiques pour l'être humain. L'une de ces alternatives consiste à recourir à des méthodes de lutte biologique, qui exploitent des agents naturels pour réduire les populations de moustiques (Pandiyan *et al.*, 2019). Parmi ces agents, les poissons prédateurs (Shafique *et al.*, 2019), les champignons (L. A. Cisneros-Vázquez *et al.*, 2023), les nématodes (Treviño-Cueto *et al.*, 2021), les bactéries (Thelma & Balasubramanian, 2021) et les moustiques transgéniques (Shinzawa *et al.*, 2022). Par ailleurs, les produits dérivés des plantes, tels que les huiles essentielles, constituent une alternative intéressante pour la lutte antivectorielle en raison de leur efficacité, leur biodégradabilité et leur faible impact sur l'environnement (Alhaithloul *et al.*, 2023). Plus de 2 000 espèces végétales présentant des propriétés insecticides ont été identifiées. Parmi celles-ci, les familles botaniques Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Lamiaceae et Canellaceae apparaissent comme les plus prometteuses en tant que source de bioinsecticides. Cependant, seules 344 de ces espèces ont démontré une activité spécifique contre les moustiques (Dris, 2018).

Dans ce contexte, le premier chapitre de cette étude est consacré à la caractérisation écologique et moléculaire des deux espèces de moustiques, *Culex pipiens* s.l. et *Culiseta longiareolata*, dont la prévalence est particulièrement élevée en Algérie, notamment dans la région de Sétif (Nabti & Bounechada, 2020). Une attention particulière est portée à l'analyse de leur comportement autogène.

Le deuxième chapitre porte sur l'activité insecticide des huiles essentielles des trois plantes sélectionnées : *Cymbopogon citratus*, *Saccocalyx satureioides* et *Pimpinella anisum*. Ce choix repose sur une étude bibliographique approfondie ayant révélé la présence de composés bioactifs dans ces espèces, susceptibles d'agir comme répulsifs ou insecticides naturels (Waliwitiya *et al.*, 2009; Youssefi *et al.*, 2019; Sarma *et al.*, 2019),

ainsi que sur leur disponibilité locale. L'analyse de leur composition chimique est réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM), afin d'identifier précisément les molécules bioactives responsables des effets insecticides de ces huiles. Une étude toxicologique est ensuite menée afin d'évaluer l'efficacité de ces huiles essentielles sur les larves du quatrième stade de *Cx. pipiens* s .l. et *Cs. longiareolata*, en déterminant les concentrations létales (CL25, CL50 et CL90).

Enfin, l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides*, dont l'activité insecticide reste peu étudiée, a fait l'objet d'une analyse approfondie afin d'évaluer ses effets sur les paramètres morphométriques, notamment le poids corporel, ainsi que sur les paramètres biochimiques, en particulier les concentrations en glucides, lipides et protéines chez les larves des deux espèces de moustiques étudiées.

Données bibliographiques

Données bibliographiques

1. Généralités sur les Culicidae

Les Culicidae, communément appelés moustiques, sont une famille d'arthropodes holométaboles appartenant à l'ordre des Diptères. Ces insectes ailés se caractérisent par un corps mince, de longues pattes fines et une trompe allongée. Leur cycle de vie est marqué par une métamorphose complète, comprenant quatre stades distincts : œuf, larve, nymphe, et adulte. Les trois premiers stades se déroulent en milieu aquatique, tandis que le stade adulte est aérien (Becker *et al.*, 2010; Nebbak *et al.*, 2022).

La classification des Culicidae a évolué en parallèle des avancées en biologie moléculaire et en génétique, divisant actuellement la famille en deux sous-familles principales : les Culicinae et les Anophelinae. À ce jour, environ 3 600 espèces et sous-espèces de moustiques ont été recensées dans le monde (Muñoz-Gamba *et al.*, 2021).

Les Culicidae se trouvent dans une grande variété d'habitats, des forêts tropicales aux zones urbaines, grâce à leur remarquable capacité d'adaptation à divers environnements. Cette plasticité écologique leur permet de coloniser de nouvelles régions et de survivre dans des conditions environnementales variées, augmentant ainsi leur potentiel de propagation des pathogènes humains (Takken & Verhulst, 2013; Benelli & Beier, 2017).

2. Cycle de développement des Culicidae

Le cycle de vie des moustiques alterne entre une phase aquatique, comprenant les stades d'œuf, de larve, et de nymphe, et une phase aérienne où l'insecte atteint son stade adulte (Figure 1). Ce processus est fortement influencé par des facteurs environnementaux, notamment la température, l'humidité, la disponibilité de l'eau, et la densité de la population. La durée totale du cycle varie en fonction de ces conditions, mais s'étend en moyenne sur environ 34 jours (Jude *et al.*, 2023).

2.1. Œuf

Après l'accouplement, qui se produit peu de temps après l'émergence des adultes, la femelle pond entre 50 et 500 œufs environ 4 jours après avoir pris un repas sanguin. Cette ponte se fait à la surface de l'eau, soit individuellement, comme chez les *Anopheles*,

soit en groupes formant des radeaux flottants, comme chez les *Culex*, *Uranotaenia*, *Coquillettidia*, *Orthopodomyia*, et *Culiseta* (Becker *et al.*, 2010). Les œufs, fusiformes, mesurent environ 0,5 mm de longueur. Initialement blanchâtres, ils deviennent gris ou noirs en quelques heures, en raison de l'oxydation des composés chimiques présents dans leur coque externe (Zerroug, 2018).

2.2. Larve

La larve, qui passe par quatre stades de développement distincts (L1 à L4), vit exclusivement en milieu aquatique, ou elle se nourrit de micro-organismes tels que les particules végétales et les bactéries. Ce stade dure environ 10 jours (Arista-Jalife *et al.*, 2020), durant lesquels la larve grandit de 2 à 12 mm de longueur. Les larves se distinguent des autres insectes aquatiques par l'absence de pattes, la présence d'une tête distincte portant des brosses buccales et des antennes, un thorax bulbeux plus large que la tête et l'abdomen, des papilles anales postérieures, et une paire d'ouvertures respiratoires (sous-famille des Anophelinae) ou un siphon allongé (sous-famille des Culicinae) porté près de l'extrémité de l'abdomen (Harbach, 2007).

Les larves, se déplacent rapidement par saccades et remontent régulièrement à la surface pour respirer (Farajollahi & Price, 2013). Après la quatrième mue, la larve se métamorphose en nymphe.

2.3. Nymphe

La nymphe, également aquatique, ne se nourrit pas et reste dans cet état pendant 1 à 3 jours. Cette phase représente une étape de transition essentielle, au cours de laquelle l'insecte subit des transformations morphologiques et physiologiques majeures, lui permettant de passer du stade larvaire, aquatique et saprophyte, à l'état adulte, aérien et généralement hématophage chez les femelles (Dris, 2018). La nymphe en forme de virgule, présente une structure en deux parties distinctes : le céphalothorax, large et proéminent, abrite les futures ailes, pattes, antennes, et trompe, et sur lequel sont situées les trompettes respiratoires lui permettant de respirer à la surface de l'eau. L'abdomen, allongé en forme de queue, joue un rôle important dans la mobilité et permet également de différencier les sexes (Becker *et al.*, 2010).

2.4. Adulte

L'adulte ou imago est aérien mesurant entre 3 et 10 mm de longueur, selon l'espèce. Leur corps est divisé en trois parties : la tête, le thorax, et l'abdomen. Les mâles et les femelles se nourrissent principalement de nectar, mais les femelles possèdent des pièces buccales de type piqueur-suceur, qui leur permettent de se nourrir de sang. Ce repas sanguin est indispensable pour la maturation des œufs (Harbach, 2007). Les mâles se distinguent facilement des femelles par leurs antennes plumeuses. Après l'accouplement, le mâle meurt peu de temps après, tandis que la femelle continue de pondre périodiquement des œufs tout au long de sa vie (Reisen, 2010).

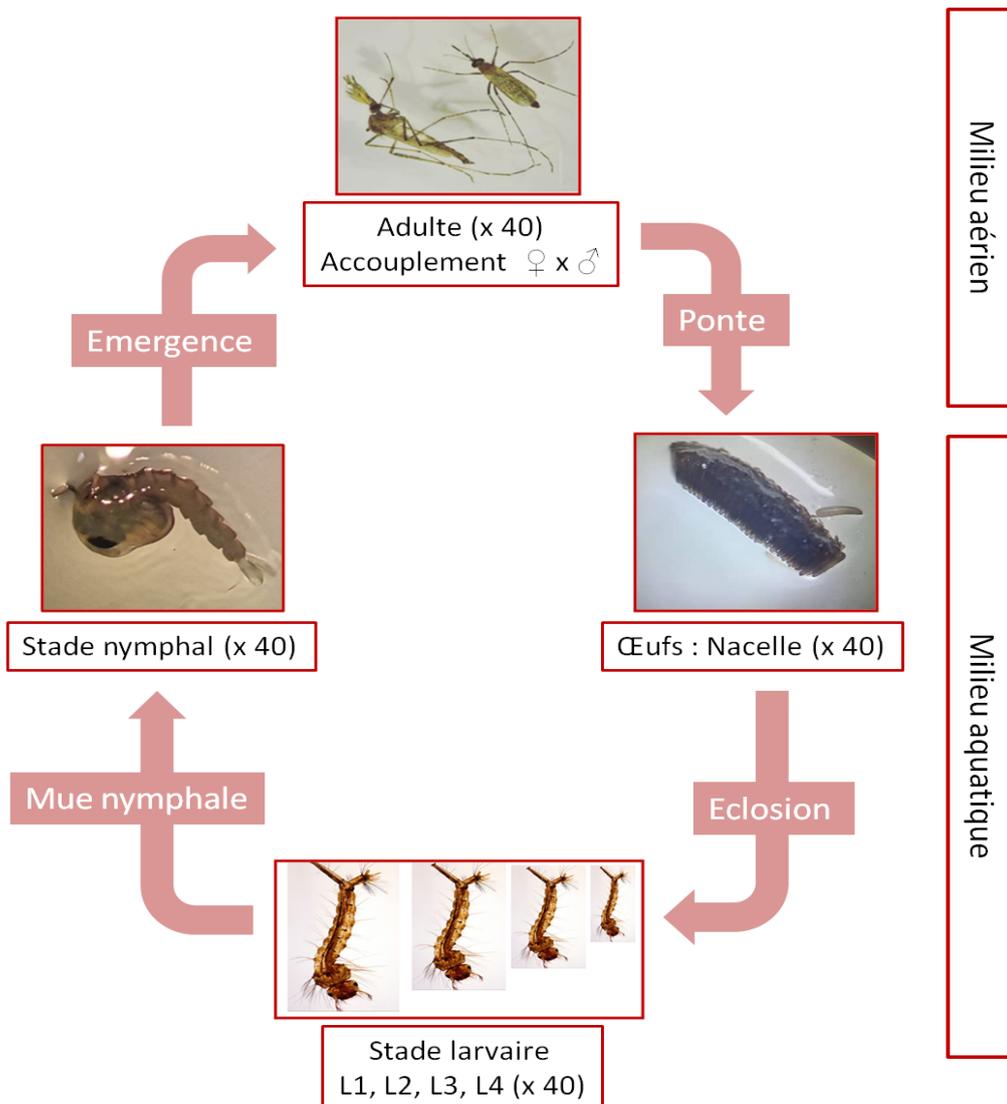


Figure 1: Cycle de développement des moustiques.

3. Présentation du complexe *Culex pipiens* Linné, 1758

Le complexe *Culex pipiens* désigne un groupe de moustiques étroitement apparentés qui partagent des caractéristiques morphologiques similaires mais se distinguent par leur comportement, leur physiologie et parfois leur distribution géographique, des facteurs pouvant influencer leur rôle en tant que vecteurs de maladies. *Cx. pipiens* est le moustique vecteur le plus répandu dans les régions tempérées, y compris en Afrique du Nord, et comprend deux biotypes distincts : *pipiens* et *molestus* (Becker *et al.*, 2010; Amraoui *et al.*, 2012).

Culex pipiens pipiens est anautogène (ne pond des œufs qu'après un repas de sang), ornithophile (préférant se nourrir du sang des oiseaux), eurygame (incapable de s'accoupler dans des espaces confinés). Il se reproduit dans divers milieux, des plans d'eau naturels et artificiels, et ne pique généralement pas les humains (Harbach *et al.*, 1984; Clements, 1992; Becker *et al.*, 2012). En revanche, *Culex pipiens molestus* est autogène (pond des œufs sans se nourrir de sang), mammophile et surtout anthropophiles (préférant se nourrir du sang des mammifères, notamment des humains). Ce biotype préfère les habitats souterrains urbains riches en matières organiques, où il s'accouple dans des espaces confinés (sténogame) (Arich *et al.*, 2022). Les conditions nutritionnelles de ces environnements favorisent le développement de l'autogénie.

Les différences d'adaptation climatique entre *Cx. p. pipiens* et *Cx. p. molestus* sont également notables. *Cx. p. pipiens* est hétérodynamique, active saisonnièrement et stocke des lipides avant d'entrer en diapause (Vanderheyden *et al.*, 2022). Elle prospère dans les climats tempérés, tandis que *Cx. p. molestus* est homodynamique, et reste active toute l'année, même dans des environnements souterrains. Les mâles ne peuvent pas faire de diapause et meurent avec le début de l'hiver (Harbach *et al.*, 1984; Vinogradova, 2000; Zhou & Miesfeld, 2009).

Les deux formes, *pipiens* et *molestus*, peuvent s'hybrider dans les zones de coexistence, produisant des populations pouvant agir comme vecteurs ponts, se nourrissant d'oiseaux et d'humains (Di Luca *et al.*, 2016; Zittra *et al.*, 2016).

La classification taxonomique de *Culex pipiens* s.l. Linné, 1758 est la suivante :

Règne	Animalia
Sous-règne	Metazoa
Embranchement	Arthropoda
Sous-embranchement	Hexapoda
Classe	Insecta
Ordre	Diptera
Sous-ordre	Nematocera
Famille	Culicidae
Sous-famille	Culicinae
Genre	<i>Culex</i>
Espèce	<i>Culex pipiens</i> Linné, 1758

4. Présentation de *Culiseta longiareolata* Macquart, 1838

Culiseta longiareolata est une espèce de moustique thermophile et ornithophile, distribuée en Europe, en Asie et en Afrique, ainsi que dans la mer Méditerranée. Cette espèce montre une capacité d'hibernation plutôt que de diapause, confirmée par le fait que les larves restent en stade larvaire en hiver, mais poursuivent leur développement lorsqu'elles sont exposées à une température constante de 23 °C. Les femelles de *Cs. longiareolata* hivernent également, comme en témoignent les observations d'individus en hibernation dans des maisons urbaines durant l'hiver (Van Pletzen & Van der Linde, 1981; Khaligh *et al.*, 2020). Tolérantes à une forte pollution de l'eau, les larves de *Cs. longiareolata* se développent principalement dans des habitats artificiels tels que les piscines rocheuses, les barils en bois ou en métal, les réservoirs en béton et les puits, souvent en cohabitation avec *Cx. pipiens* s.l. Cependant, elles sont rarement rencontrées dans des plans d'eau naturels comme les mares ou les fossés., (Maslov, 1967; Seidel *et al.*, 2013). En outre, elles sont également capables de cannibalisme et de prédation, y compris sur des larves de moustiques du complexe *Cx. pipiens* et des têtards de crapauds comme *Bufo viridis* (Blaustein & Kotler, 1993; Seidel *et al.*, 2013; Zित्रa *et al.*, 2014).

Les femelles de cette espèce préfèrent se nourrir principalement sur les oiseaux et ne piquent que rarement les humains (Martínez-de La Puente *et al.*, 2020; Deblauwe *et al.*, 2021).

Cs. longiareolata a également été identifié comme vecteur potentiel de maladies telles que l'encéphalite du Nil occidental (Romi *et al.*, 2004), ainsi que du paludisme aviaire (Schoener *et al.*, 2017).

Il a initialement été supposé que cette espèce était strictement anautogène, en raison de l'incapacité des femelles à pondre des œufs sans repas sanguin (Al-Jaran & Katbeh-Bader, 2001). Cependant, des recherches plus récentes ont révélé qu'une faible proportion de la population peut effectivement présenter des capacités autogènes (Khaligh *et al.*, 2020).

La classification taxonomique de *Culiseta longiareolata* Macquart, 1838 est la suivante :

Règne	Animalia
Sous-règne	Metazoa
Embranchement	Arthropoda
Sous-embranchement	Hexapoda
Classe	Insecta
Ordre	Diptera
Sous-ordre	Nematocera
Famille	Culicidae
Sous-famille	Culicinae
Genre	<i>Culiseta</i>
Espèce	<i>Culiseta longiareolata</i> Macquart, 1838

5. Importance médicale et vétérinaire des Culicidae

Les moustiques (Diptera : Culicidae) jouent un rôle majeur en santé publique en raison de leur capacité à transmettre des maladies graves aux humains et aux animaux, ce qui en fait les arthropodes les plus meurtriers au monde. Environ 16 % des maladies infectieuses et parasitaires mondiales sont causées par des agents pathogènes transmis par des moustiques vecteurs (Nebbak *et al.*, 2022).

Les genres *Aedes*, *Anopheles*, et *Culex* sont les principaux vecteurs de pathogènes responsables de maladies infectieuses telles que le paludisme, la dengue, la fièvre jaune, le chikungunya, et le Zika, ainsi que des maladies touchant les animaux domestiques et sauvages, telles que la fièvre de la vallée du Rift et la fièvre du Nil occidental (Schaffner *et al.*, 2014; Azari-Hamidian *et al.*, 2019; Suesdek, 2019). Ce dernier peut notamment être maintenu dans les populations de moustiques grâce à la transmission verticale (des adultes aux œufs) (Chianese *et al.*, 2019).

L'infection par le virus Zika (ZIKV) a été déclarée urgence de santé publique par l'OMS en février 2016, en raison de sa propagation rapide et de complications graves associées telles que la microcéphalie et le syndrome de Guillain-Barré (Millet *et al.*, 2017). Ces maladies constituent une menace majeure, affectant des millions de personnes et représentant environ 80 % de la population mondiale, principalement dans les régions tropicales et subtropicales où les systèmes de santé sont souvent débordés (De Souza *et al.*, 2020; Rakotonirina *et al.*, 2023).

De plus, les moustiques du genre *Culex* jouent un rôle crucial dans la transmission des filarioses, maladies provoquées par des nématodes parasites qui affectent des millions de personnes dans les régions endémiques. Ils sont également impliqués dans la transmission de cellules tumorales, accentuant encore leur impact sur la santé humaine (Benelli & Beier, 2017; Suesdek, 2019). Par ailleurs, il a été démontré que ces moustiques peuvent véhiculer des bactéries pathogènes, telles que *Rickettsia felis* (Zhang *et al.*, 2019).

L'hybridation entre les formes de *Cx. pipiens* qui se nourrissent d'oiseaux et celles qui préfèrent d'autres mammifères, fait de cette espèce un vecteur de pont pour le virus du Nil occidental (VNO) chez l'humain. En effet, les moustiques, souvent infectés en se nourrissant d'oiseaux porteurs du virus, peuvent ensuite le transmettre à l'homme (Fonseca *et al.*, 2004).

Au cours des dernières décennies, le changement climatique, associé à des facteurs tels que la déforestation, l'urbanisation rapide et la conversion des zones sauvages pour l'agriculture ou la production animale, a profondément transformé les écosystèmes. Ces transformations ont favorisé l'abondance des moustiques vecteurs, modifié leurs répartitions géographiques et créé des environnements propices à la reproduction et à la survie des stades immatures.

Ces changements ont conduit à une expansion géographique des maladies transmises par les moustiques (MBD) vers de nouvelles régions, y compris en Afrique du Nord, où certaines de ces maladies étaient auparavant rares ou inexistantes (Nebbak *et al.*, 2022). Parallèlement, cette expansion accentue la menace des virus véhiculés par ces moustiques (Davis *et al.*, 2015; Ruiz-Arondo *et al.*, 2019; Kweka *et al.*, 2020; Perrin *et al.*, 2022).

Par ailleurs, les oiseaux migrateurs contribuent à la diffusion des arbovirus, agissant comme réservoirs pour des pathogènes tels que le virus du Nil occidental, qui se propage lors des migrations saisonnières (Maquart *et al.*, 2021; Brown *et al.*, 2023).

Un aspect notable de la biologie de certains vecteurs est leur capacité d'autogénie, un mécanisme remarquable qui favorise leur survie. Ce phénomène permet à certaines espèces de moustiques d'atteindre un taux de survie élevé, augmentant ainsi leur potentiel de transmission d'agents pathogènes. De plus, les espèces autogènes pourraient avoir plus d'opportunités de transmettre des arbovirus que les populations anautogènes.

La lutte contre les maladies transmises par les moustiques reste un défi majeur, en raison de l'absence de thérapies et de vaccins efficaces pour de nombreuses maladies et de la complexité des programmes de lutte antivectorielle. Ces programmes doivent être constamment ajustés pour faire face à l'évolution des populations de moustiques et à leur capacité d'adaptation à de nouveaux environnements (Araújo *et al.*, 2015; Benelli & Beier, 2017). Une identification précise des espèces vectrices est cruciale pour développer des stratégies de contrôle efficaces et réduire le fardeau de ces maladies (Failloux *et al.*, 2017).

6. Approche d'identification moléculaire des Culicidae

L'identification moléculaire des moustiques est devenue une approche incontournable pour la surveillance et le contrôle des vecteurs de maladies, offrant une alternative plus fiable aux méthodes morphologiques traditionnelles, souvent limitées par la similitude entre espèces ou des spécimens endommagés. Parmi les marqueurs les plus couramment utilisés, une petite région de 658 pb du gène mitochondrial de la cytochrome c oxydase I (COI), également connue sous le nom de "région universelle" ou "Folmer", joue un rôle crucial pour l'identification des espèces animales, y compris les moustiques (Hernández-Triana *et al.*, 2019; Madeira *et al.*, 2021; Laojun *et al.*, 2023). Cette méthode repose sur l'amplification d'une séquence spécifique du gène COI, suivie d'une comparaison avec des bases de données de référence comme BOLD (Barcode of Life Database) ou GenBank (deWaard *et al.*, 2019).

Le COI est favorisé en raison de ses caractéristiques génétiques telles que l'abondance des copies dans les cellules (1000 copies par cellule), l'absence d'introns, et la faible recombinaison. Cependant, cette technique présente certaines limites, notamment pour la détection des hybrides, en raison de l'hérédité maternelle du COI. De plus, des phénomènes comme l'introggression, l'hétéroplasmie et la présence de pseudogènes peuvent compliquer l'identification (Hernández-Triana *et al.*, 2019; Beebe, 2020; Adeniran *et al.*, 2021). Pour surmonter ces défis, des approches multilocus combinant le COI avec d'autres marqueurs génétiques tels que ITS2, Cyt b, et ACE-2 ont été proposées. Ces marqueurs nucléaires se sont révélés particulièrement efficaces pour discriminer les espèces au sein de complexes cryptiques difficiles à identifier morphologiquement (Bourke *et al.*, 2013; Foster *et al.*, 2013; Chan *et al.*, 2014; Batovska *et al.*, 2016; Weeraratne *et al.*, 2018).

Un microsatellite supplémentaire, CQ11, est actuellement utilisé pour distinguer les membres du complexe *Cx. pipiens* (Bahnck & Fonseca, 2006; Luande *et al.*, 2020). Au-delà de la simple reconnaissance des espèces, l'identification moléculaire permet aussi d'explorer les relations phylogénétiques et de comprendre la diversité génétique des populations de moustiques (Hernández-Triana *et al.*, 2019; Laojun *et al.*, 2023). Cette capacité est cruciale pour la surveillance des vecteurs, où la détection rapide et précise des espèces est essentielle pour orienter les stratégies de contrôle et prévenir la propagation des maladies.

7. Lutte contre les Culicidae

La lutte contre les moustiques est un enjeu majeur de santé publique à l'échelle mondiale, en raison de leur rôle en tant que vecteurs de maladies graves. Le changement climatique, l'urbanisation rapide et la résistance croissante aux insecticides ont intensifié la nécessité d'adopter des méthodes innovantes et intégrées pour le contrôle des populations de moustiques. Les approches traditionnelles comme la lutte physique et chimique restent des piliers de la gestion des populations de moustiques, mais l'accent est de plus en plus mis sur des méthodes intégrées qui prennent en compte la durabilité écologique, comme la lutte biologique. Les récentes recherches indiquent que l'intégration de ces différentes méthodes est cruciale pour minimiser les impacts environnementaux tout en maintenant une efficacité élevée (Achee *et al.*, 2015; Benelli & Beier, 2017).

7.1. Lutte physique

Historiquement, la lutte contre les moustiques s'appuyait principalement sur des mesures de protection personnelle telles que le port de vêtements longs et clairs, l'utilisation de moustiquaires imprégnées et les pulvérisations d'insecticides à l'intérieur des habitations. Dans les années 1960, l'accent était mis sur l'élimination mécanique des gîtes larvaires, une méthode alors efficace mais devenue obsolète avec l'urbanisation croissante (Zerroug, 2018). Les initiatives éducatives récentes ont favorisé l'adoption de méthodes écologiques pour le contrôle des moustiques. De nouvelles pratiques agricoles, comme le nivellement des terres, le nettoyage des canaux et la réduction des pesticides, ont été adoptées pour limiter la reproduction des moustiques et diminuer leur densité. Par ailleurs, ces approches favorisent la sensibilisation à la conservation des prédateurs naturels et encouragent une gestion plus durable des écosystèmes (Yasuoka *et al.*, 2006).

7.2. Lutte chimique

Pour atténuer les conséquences néfastes des maladies transmises par les moustiques et améliorer la qualité de l'environnement ainsi que la santé humaine, les pesticides chimiques ont été largement adoptés comme principal moyen de contrôle. Parmi ces substances, les larvicides synthétiques, ainsi que les inhibiteurs de la synthèse de la chitine et les analogues de l'hormone juvénile, qui font partie des régulateurs de croissance des insectes (IGRs), sont couramment utilisés pour cibler et éliminer les moustiques (Park *et al.*, 2019; Stevens *et al.*, 2019).

Cependant, malgré plusieurs décennies de gestion des populations de moustiques adultes à l'aide d'insecticides chimiques, considérés comme le moyen le plus efficace, la transmission des maladies véhiculées par les moustiques persiste (Ferraguti *et al.*, 2021). L'utilisation intensive de ces insecticides a soulevé d'importantes préoccupations quant à leurs effets sur la santé publique et leur impact environnemental.

La dissémination de composés tels que les carbamates, les organochlorés et les organophosphates a entraîné des effets toxiques sur la santé humaine, perturbé les écosystèmes biologiques et affecté des organismes non ciblés. De plus, les inhibiteurs de la synthèse de la chitine et les analogues de l'hormone juvénile ont également démontré des effets secondaires indésirables sur des espèces non ciblées (Santorum *et al.*, 2019; Yokoyama, 2019). En outre, l'application répétée de ces produits chimiques favorise l'émergence de résistances chez certaines populations de moustiques (Salem *et al.*, 2021; Prabhu *et al.*, 2022).

Face à ces défis, la communauté scientifique s'oriente de plus en plus vers l'élaboration de stratégies alternatives et de techniques plus respectueuses de l'environnement. Les approches préconisées incluent l'adoption de méthodes de contrôle sélectives, biodégradables et écologiques, telles que l'utilisation de méthodes biologiques (Pandiyani *et al.*, 2019).

7.3. Lutte biologique

Ces dernières années, les chercheurs ont été incités à explorer et à développer des stratégies alternatives pour la lutte contre les moustiques, privilégiant des méthodes qui sont sûres sur le plan toxicologique, dégradables, et respectueuses de l'environnement (Pandiyani *et al.*, 2019). L'utilisation d'agents biologiques tels que les poissons prédateurs (Shafique *et al.*, 2019), les anoues, en particulier les têtards, ainsi que les punaises d'eau et les copépodes prédateur (Pavela *et al.*, 2019), a montré une efficacité notable. De même, l'utilisation des champignons (Cisneros-Vázquez *et al.*, 2023), de nématodes (Treviño-Cueto *et al.*, 2021), de bactéries (Thelma & Balasubramanian, 2021), de moustiques transgéniques (Shinzawa *et al.*, 2022) et de produits végétaux (Alhathloul *et al.*, 2023) a été signalé comme efficace pour réduire les populations de moustiques.

Les huiles essentielles (HEs) sont des sous-produits du métabolisme des plantes, communément appelées métabolites secondaires. Ces composés volatils sont synthétisés et stockés dans des structures sécrétoires complexes, telles que les trichomes glandulaires, les cavités sécrétoires, et les canaux résinifères, se présentant sous forme de gouttelettes de fluide dans diverses parties de la plante, y compris les feuilles, les fleurs, les graines, les racines, et les fruits (Pereira Filho *et al.*, 2021). Elles confèrent à la plante une odeur, distinctive, et jouent un rôle adaptatif important, en attirant les pollinisateurs et agissant comme mécanisme de défense contre les prédateurs (Pavela, 2015; Aljaafari *et al.*, 2021). Les HEs, reconnues pour leur nature hydrophobe, sont fortement solubles dans les graisses, les alcools et la plupart des solvants organiques. Principalement composées d'éléments tels que l'oxygène, l'hydrogène et le carbone, elles forment des aldéhydes, esters, phénols, cétones, alcools, acides organiques, ainsi que des composés azotés ou soufrés, des hydrocarbures et des terpènes (Masyita *et al.*, 2022).

Ces mélanges naturels complexes, contiennent entre 20 et 60 composants, dont deux ou trois principaux présents à des concentrations élevées (20 à 70 %), ce qui influence leurs propriétés biologiques (Pavela, 2015).

Les méthodes d'extraction varient selon l'espèce, la partie de la plante utilisée, et l'état de la matière première (fraîche, partiellement déshydratée ou séchée) (Silva *et al.*, 2019). En général, elles sont extraites par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger (Esmaili *et al.*, 2021). De plus, plusieurs facteurs, comme la méthode d'extraction, la période de récolte, le climat, la qualité du sol, ou encore les conditions de CPG-SM, peuvent influencer la composition chimique et l'activité biologique des HEs, même au sein d'une même espèce (Kerbouche *et al.*, 2021; Souadia *et al.*, 2021; Draoui *et al.*, 2022).

Les HEs présentent diverses activités, notamment antibactériennes, antifongiques, antioxydantes et antivirales (Diniz Do Nascimento *et al.*, 2020; El Karkouri *et al.*, 2021; Ćavar Zeljković *et al.*, 2022; Boudechicha *et al.*, 2023). De plus, la toxicité des extraits dérivés de plantes est prouvée contre diverses espèces de moustiques d'importance médicale et vétérinaire, ainsi que contre d'autres arthropodes nuisibles et vecteurs (Beltrão Molento *et al.*, 2020; Song & Han, 2020; Hegazy *et al.*, 2022; García-Díaz *et al.*, 2023). Ils agissent notamment comme inhibiteurs de croissance, larvicides (An *et al.*, 2020), ovicides (Faustino *et al.*, 2021), adulticides (Omoniwa *et al.*, 2024) et nymphicides (Abdelali *et al.*, 2023).

Ces propriétés font des huiles essentielles des outils naturels prometteurs pour le contrôle des populations d'insectes à différents stades de leur cycle de vie. Ces HEs exercent leurs effets insecticides à travers des mécanismes d'action variés, notamment l'inhibition du neurotransmetteur acétylcholinestérase et l'interaction avec les récepteurs GABA et octopamine (Yezli, Boudjelida, *et al.*, 2024), ce qui réduit le risque de développement de résistance chez les espèces ciblées. De plus, elles sont considérées comme sans danger pour les vertébrés (Pavela & Benelli, 2016), tout en présentant des niveaux de toxicité faibles sur les invertébrés aquatiques non ciblés. En outre, outre leur efficacité contre les larves de moustiques, la praticabilité des produits à base d'huiles essentielles doit également être prise en compte, en tenant compte de la diversité des conditions de terrain (matière organique dans l'eau, salinité, température, pH, etc.) et des différences de sensibilité entre les espèces de moustiques (Masetti, 2016). Cependant, les applications des HEs comme insecticides et répulsifs sont limitées en raison de la volatilité de certains de leurs composants (Esmaili *et al.*, 2021).

Les plantes productrices d'HE appartiennent à divers genres répartis sur environ 60 familles botaniques. Parmi les principales familles de plantes reconnues pour leur capacité à produire des HEs de grande valeur médicinale et industrielle, on trouve les Alliaceae, Apiaceae, Asteraceae (Compositae), Lamiaceae (Labiatae), Myrtaceae, Poaceae, Cupressaceae, Lauraceae, Pinaceae, Zingiberaceae, et Rutaceae (Moghaddam & Mehdizadeh, 2017).

Dans la présente étude, trois plantes ont été sélectionnées : *Cymbopogon citratus*, *Saccocalyx satureioides*, et *Pimpinella anisum*, en raison de recherches préliminaires ayant mis en évidence la présence de composés bioactifs dans ces espèces, susceptibles d'agir comme répulsifs ou insecticides naturels (Waliwitiya *et al.*, 2009; Youssefi *et al.*, 2019; Sarma *et al.*, 2019).

8. Présentation botanique des plantes étudiées

8.1. *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, 1906

Cymbopogon citratus (DC.) Stapf, communément appelée citronnelle, et connue en arabe sous le nom de عشب الليمون (Shah *et al.*, 2011), est une herbe tropicale vivace appartenant à la famille des Poaceae (ou Gramineae) (Bassolé *et al.*, 2011).

Le nom "Cymbopogon" provient des mots grecs "kymbe" (bateau) et "pogon" (barbe), faisant référence à l'arrangement des épis floraux, tandis que "citratus" dérive du terme latin signifiant "feuilles au parfum de citron" (Kiełtyka-Dadasiewicz *et al.*, 2024). Originaires de régions tropicales et subtropicales d'Asie, cette plante est également cultivée en Afrique, en Amérique et dans d'autres zones tropicales (Thuong Nhan *et al.*, 2020; Tran *et al.*, 2019).

Les feuilles sont longues et minces, à marge entière, et disposées en touffes (Figure 2). Elles mesurent environ 1,3 à 2,5 cm de large, 0,9 m de long avec une coloration vert bleuâtre et des nervures parallèles. Généralement, elles ne produisent ni fleurs ni panicules. Leur agencement est principalement au niveau du sol, avec des racines courtes et sans présence de tige. Lorsqu'elles sont broyées, elles dégagent un arôme d'agrumes (Oladeji *et al.*, 2019; Tran *et al.*, 2019; Pradeep & Mp, 2020). *C. citratus* se caractérise par sa capacité à s'adapter à différents types de sols et par sa croissance vigoureuse (Adhikary *et al.*, 2024).

En médecine traditionnelle, *C. citratus* est utilisée pour traiter les troubles nerveux, gastro-intestinaux, le diabète et la fièvre (Nguyen *et al.*, 2019; Madi *et al.*, 2022). Des recherches scientifiques ont rapporté les activités antifongiques, antibactériennes, antiprotozoaires, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antioxydantes, anti-rhumatismales et insecticides de cette plante (Pan *et al.*, 2022; Thuong Nhan *et al.*, 2020; Aljedan, 2021; Dangol *et al.*, 2023).

La classification taxonomique de *C. citratus* (DC.) Stapf., 1906 est la suivante :

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Ordre	Poales
Famille	Poaceae
Genre	<i>Cymbopogon</i>
Espèce	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf, 1906



Figure 2: Photographie de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, 1906.

8.2. *Saccocalyx satureioides* Coss. et Durieu, 1853

Saccocalyx satureioides Coss. & Durieu, appartenant à la famille des Lamiaceae, est une plante endémique du nord-est de l'Algérie, particulièrement des zones prédésertiques. Elle est localement connue sous divers noms : زعتر الصحراء (Laouer *et al.*, 2006), زعتر الخيل (Nedjimi & Beladel, 2015), زعتر الرمل (Benabed, 2018).

Cet arbuste aromatique, mesurant entre 20 et 100 cm de hauteur, a des tiges robustes, pouvant atteindre de 20 à 120 cm de longueur (Figure 3). Ses feuilles sont petites, ovales-lancéolées, oblongues ou étroites, mesurant de 4 à 6 mm de long sur 2 à 3 mm de large, avec des bords ciliés à la base.

Les fleurs, disposées en verticilles de quatre à six à l'aisselle des feuilles, varient du blanc rosé au pourpre. Le calice, à cinq dents, devient fortement accrescent et vésiculeux à maturité. La corolle présente quatre lobes très courts, sub-égaux, les lobes supérieurs étant légèrement émarginés avec 4 étamines subégales. Les fruits se séparent en quatre articles. La plante dégage une odeur de thym (Benabed, 2018; Mehloos *et al.*, 2020; Benaradj & Boucherit, 2023).

D'un point de vue écologique, *S. satureioides* joue un rôle crucial dans la stabilisation des dunes de sable grâce à son système racinaire profond et étendu. Cependant, elle subit une forte pression de pâturage en raison de l'abondance du bétail (Saouli, 2023).

En médecine traditionnelle, les parties aériennes de *S. satureioides* sont utilisées en décoction pour traiter divers troubles, notamment gastriques, respiratoires, et comme stomachique, digestive, antidiarrhéique et vermifuge (Ziani *et al.*, 2018; Souadia *et al.*, 2020), ainsi que pour soigner le rhume et l'hypertension (Benziane *et al.*, 2023).

Les extraits de cette plante ont également démontré des propriétés antimicrobiennes, anticancéreuses, antioxydantes et antifongiques, antileishmaniennes (Aouf *et al.*, 2020; Benahmed *et al.*, 2016; Khaldi *et al.*, 2017; Mostefa Sari *et al.*, 2020).

La classification taxonomique de *S. satureioides* Coss. et Durieu, 1853 est la suivante :

Règne	Plantae
Division	Spermaphyta
Classe	Dicotyledonae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Saccocalyx</i>
Espèce	<i>Saccocalyx satureioides</i> Coss. et Durieu, 1853



Figure 3: Photographie de *Saccocalyx satureioides* Coss. et Durieu, 1853.

8.3. *Pimpinella anisum* L., 1753

Pimpinella anisum L., communément appelée anis vert, et connue en arabe sous le nom de اليانسون (Shrief *et al.*, 2022), appartient à la famille des Apiaceae (Ombellifereae). Cette plante herbacée annuelle est largement cultivée dans le bassin méditerranéen. Elle se caractérise par une tige dressée, cylindrique, striée et ramifiée, atteignant généralement entre 30 et 70 cm de hauteur (Figure 4) (Bhupathyraaj *et al.*, 2014; Al- Wendawi *et al.*, 2021).

Les feuilles varient en forme et taille selon leur position : Les feuilles à la base de la plante sont longues, avec un pétiole et une forme ovale, mesurant généralement entre 5 et 10 cm de long. Les feuilles caulinaires sont soit sessiles, soit avec un pétiole court, oblongues à lancéolées, souvent profondément incisées ou lobées, les feuilles supérieures sont plus petites, tripennées et moins segmentées (Vecchio *et al.*, 2016).

Les fleurs blanchâtres, regroupées en ombelles, apparaissent en été et produisent des fruits (graines) d'environ 3 à 5 mm de longueur et 2 à 3 mm de largeur. Ces graines sont ovales, pédiculées, allongées et de couleur vert-grisâtre (Bekara *et al.*, 2016; Ammour, 2023).

En médecine traditionnelle, cette plante est réputée pour ses propriétés carminatives, antispasmodiques et digestives, permettant de soulager les troubles gastro-intestinaux tels que les ballonnements, les crampes abdominales et la dyspepsie. De plus, elle est employée pour traiter la bronchite, les infestations de poux et pour favoriser la lactation chez les mères allaitantes (Habib *et al.*, 2013; Nasir & Yabalak, 2021).

De plus, les extraits de *P. anisum* ont démontré des effets antioxydants, antimicrobiens, anti-inflammatoires et antiviraux (Amer & Aly, 2019; Sun *et al.*, 2019; Dawoud & Ameen, 2023), renforçant ainsi leur importance dans les secteurs médical et industriel.

La classification taxonomique de *Pimpinella anisum* L.,1753, est la suivante :

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	<i>Pimpinella</i>
Espèce	<i>Pimpinella anisum</i> L., 1753



Figure 4: Photographie de *Pimpinella anisum* L.,1753.

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

1. Caractérisation du complexe *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae)

1.1. Présentation de la zone d'étude

La région de Sétif, située dans l'est de l'Algérie, est connue comme la capitale des hauts plateaux. Elle s'élève à une altitude de 1100 mètres et comprend 60 communes réparties en 20 daïras. Sétif est un carrefour géostratégique, entouré de six wilayas : Béjaïa et Jijel au nord, Mila à l'est, Batna et M'Sila au sud, et Bordj Bou-Arredj à l'ouest. La superficie totale est de 6 549,64 km².

Sur le plan climatique, la wilaya est caractérisée par un climat continental semi-aride, marqué par des étés chauds et secs, tandis que les hivers sont pluvieux et froids. Les précipitations annuelles varient de 700 mm au nord à 400 mm sur les hauts plateaux, atteignant un pic en décembre et un minimum en juillet. En 2020, la population de la wilaya était de 1 987 357 habitants (Monographie Sétif, 2020).

1.2. Stations d'étude

L'étude a été menée de juin 2022 à septembre 2023 afin d'inventorier divers sites de reproduction favorables au développement des larves de *Culex pipiens* s.l. et *Culiseta longiareolata*. Une prospection a permis d'identifier ces sites, répartis en deux catégories : urbains et ruraux, en fonction de densités humaines spécifiques : plus de 300 habitants par km² pour les zones urbaines et moins de 149 habitants par km² pour les zones rurales (Krida *et al.*, 2015). Les sites ont été sélectionnés en tenant compte de la disponibilité des stations de reproduction en surface (épigées) et souterrains (hypogées).

Les sites sélectionnés incluent Ain Oulmene, Guellal, Sétif Centre, Ain Abbessa, El Ouricia, Dehamcha et Hammam Sokhna (Figure 5).

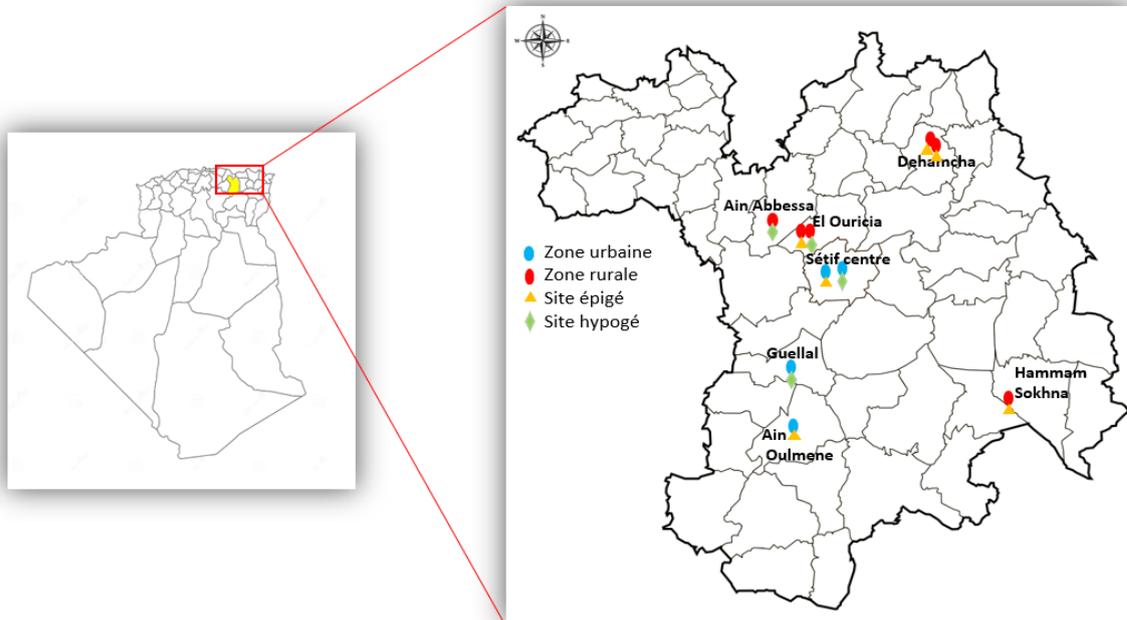


Figure 5: Localisation géographique de la région de Sétif et répartition des sites d'échantillonnage (Cliché personnel).

1.3. Description des stations

Les données relatives aux stations d'étude, incluant leur type d'habitat, la nature du site et leurs coordonnées géographiques, sont présentées dans le tableau 1.

- **Sites urbains**

Station 1 : Site ouvert. Les eaux présentes proviennent principalement du réseau d'assainissement urbain. L'eau est polluée avec une végétation modérée.

Station 2 : Site fermé, situé dans la cave d'un bâtiment, caractérisé par une faible luminosité. L'eau est stagnante et polluée en raison de l'accumulation de déchets et d'effluents d'égouts, avec une odeur désagréable et une végétation limitée aux algues et moisissures.

Station 3 : Site fermé, situé dans la cave d'un bâtiment, avec une faible luminosité. L'eau est polluée par des eaux usées, dégageant une odeur désagréable. La végétation est très limitée, principalement composée de moisissures.

Station 4 : Site ouvert, il s'agit d'une fontaine. L'eau est claire mais polluée par des déchets, avec une végétation limitée.

• **Sites ruraux**

Station 5 : Site fermé, il s'agit d'un regard caractérisé par une lumière restreinte. L'eau est relativement polluée, avec une présence modérée de végétation.

Station 6 : Site fermé, situé dans une station de traitement des eaux. L'endroit est sombre, l'eau y est claire, et aucune végétation n'est présente.

Station 7 : C'est le même site que la sixième station, ouvert, situé dans une station de traitement des eaux. L'eau est claire, non polluée, avec une végétation présente le long des bordures.

Station 8 : Site, ouvert, situé à proximité de plans d'eau naturels formés après des chutes de pluies. L'eau est peu claire. La végétation est présente le long des bordures.

Station 9 : Site ouvert, il s'agit d'une mare. L'eau y est peu claire, non polluée, et recouverte d'une végétation dense.

Station 10 : Site, ouvert, il s'agit d'une fosse avec de l'eau stagnante, polluée, sans aucune végétation.

Tableau 1: Synthèse des sites d'étude et leurs coordonnées géographiques.

Habitat	N°	Station	Site de reproduction	Coordonnées géographiques
Urbain	1	Ain Oulmene	Epigé	35°54'59.9"N 5°17'50.7"E
	2	Guellal	Hypogé	36°02'07.5"N 5°20'23.3"E
	3	Sétif Centre	Hypogé	36°11'51.4"N 5°25'46.9"E
	4	Sétif Centre	Epigé	36°12'03.4"N 5°21'59.9"E
Rural	5	Ain Abbesa	Hypogé	36°17'18.8"N 5°16'22.9"E
	6	El Ouricia	Hypogé	36°15'45.6"N 5°22'49.3"E
	7	El Ouricia	Epigé	36°15'46.9"N 5°22'51.8"E
	8	Dehamcha	Epigé	36°19'50.1" N 5°38'08.0"E
	9	Dehamcha	Epigé	36°21'04.0" N 5°39'27.9"E
	10	Hammam Sokhna	Epigé	35°58'07.9"N 5°48'43.1"E

1.4. Collecte et identification des larves

La collecte des larves de *Cx. pipiens* s.l. a été réalisée dans sites N°1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, et 10 en utilisant la technique de prélèvement à la louche (Dipper sampling), qui consiste à effectuer des coups de louche de 0,5 litre d'eau à chaque prélèvement.

En raison de l'absence de larves de *Cs. longiareolata* dans l'ensemble des sites hypogés étudiés, les larves de cette espèce ont été collectées dans les sites épigés N°4, 7, 8, et 10. Les larves ont été ensuite placées dans des bidons en plastique de 5 litres et transportées au laboratoire dans des conditions optimisées pour minimiser leur mortalité. Un pool de larves a été prélevé sur chaque site, identifié à l'aide des clés picturales via le logiciel XPER 2-Identification (Moskeytool_V1.2), puis conservé dans de l'alcool à 70 % en vue de la caractérisation moléculaire. Les autres pools de larves ont été élevés jusqu'à l'âge adulte, afin d'évaluer leur comportement autogène.

1.5. Mise en couple et détermination de l'autogénie

Pour évaluer l'expression de l'autogénie en fonction du type d'habitat et du site de reproduction, les larves de *Cx. pipiens* s.l. des sites N° 1, 3, 4, 6 et 8 (Tableau 1), ainsi que de tous les sites de collecte pour *Cs. longiareolata*, ont été élevées dans des bacs en plastique sous des conditions contrôlées, avec une température maintenue à $27 \pm 2^\circ\text{C}$, une humidité relative de 60 à 80% régulée par un contrôleur d'humidité ZL-7830A, et une photopériode de 14:10h. Les larves ont été nourries de biscuits et de levure (75:25%, respectivement). Lorsqu'elles ont atteint le stade nymphal, les nymphes ont été séparées individuellement dans des tubes contenant de l'eau distillée et recouverts de tulle jusqu'à l'émergence des adultes. Ces derniers ont été triés par sexe et mis en couples dans des gobelets de 50 cl couverts de tulle (un mâle et une femelle/gobelet), avec un bout de coton imbibé d'une solution sucrée et une petite boîte de Pétri pour la ponte (Figure 6). La présence de radeaux d'œufs a été enregistrée quotidiennement pendant 20 jours. Les femelles ayant pondu des œufs sans repas de sang ont été considérées comme autogènes. Les femelles survivantes ont été ensuite conservées à -20°C pour une analyse moléculaire.



Figure 6: Mise en couple des adultes de moustiques (Cliché personnel).

1.6. Typage moléculaire de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata*

L'ADN des larves et des adultes de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* a été extrait à l'aide du kit DNeasy Blood and Tissue (Qiagen, Hilden, Allemagne) conformément au protocole du fabricant. Toutes les étapes de centrifugation ont été réalisées à température ambiante (15-25°C) à l'aide d'une micro-centrifugeuse.

1.6.1. Extraction d'ADN des larves

Un corps entier de larve de 4^{ème} stade a été placé dans un tube de réaction avec 180 µl de tampon de lyse ATL et une bille en céramique, puis homogénéisé avec le TissueLyser (30/s pendant 3 minutes). Ensuite, 20 µl de Protéinase K ont été ajoutés, suivis d'une incubation à 56°C pendant la nuit (~16 heures à 350 rpm). Après agitation, 400 µl de tampon de lyse AL/éthanol (v/v) ont été ajoutés. Le mélange a été transféré dans une colonne DNeasyMinispinn placée dans un tube de collecte de 2 ml, centrifugé à 8000 rpm pendant 1 minute (l'écoulement et le tube de collecte ont été éliminés). La colonne a été placée dans un nouveau tube de collecte, suivi de l'ajout de 500 µl de tampon de lavage AW1 et d'une centrifugation à 8000 rpm pendant 1 minute. Après élimination de l'écoulement, la colonne a été transférée dans un autre tube de collecte, 500 µl de tampon de lyse AW2 ont été ajoutés, et centrifugé à 14000 rpm pendant 3 minutes. La colonne a été ensuite transférée dans un tube de micro-centrifuge. Ensuite, 100 µl de tampon d'élution AE ont été pipetés directement sur la membrane DNeasy, incubé à température ambiante pendant 1 minute, puis centrifugé à 8000 rpm pendant 1 minute pour obtenir l'échantillon A. Une deuxième élution a été réalisée pour obtenir l'échantillon B.

1.6.2. Extraction d'ADN des adultes

Une patte de moustiques a été placée dans un tube de réaction avec 400 µl de solution de lyse TLS et une bille en céramique. L'homogénéisation a été réalisée avec le TissueLyser (30/s pendant 3 minutes). Ensuite, 25 µl de protéinase K ont été ajoutés et mélangés par vortex, puis incubés à 50°C (1 à 2 heures à 350 rpm). L'échantillon a été centrifugé à 11000×g pendant 1 minute. Après avoir ajouté 400 µl de solution de liaison TBS au surnageant, l'échantillon a été mis sur un filtre à spin placé dans un tube collecteur, puis centrifugé à 11000×g pendant 2 minutes. Le filtrat a été éliminé, et le filtre à spin a été transféré dans un nouveau tube collecteur. Ensuite, 500 µl de solution de lavage HS ont été ajoutés, suivis d'une centrifugation à 11000×g pendant 1 minute. Après avoir éliminé le filtrat, 750 µl de solution de lavage MS ont été ajoutés et centrifugés à 11000×g pendant 1 minute. Pour éliminer toute trace d'éthanol, une centrifugation supplémentaire à 11000×g pendant 3 minutes a été réalisée. Le filtrat et le tube collecteur ont été éliminés, puis le filtre à spin a été placé dans un tube d'élution. Après avoir ajouté 100 µl de tampon d'élution et incubé à température ambiante pendant 1 minute, une centrifugation à 11000×g pendant 1 minute a permis de recueillir l'échantillon A. L'étape d'élution a été répétée pour obtenir l'échantillon B. L'ADN extrait est stocké à -20°C jusqu'à son utilisation pour la PCR.

1.6.3. Déroulement de la PCR

Culex pipiens s.l.

Pour différencier les formes de *Cx. pipiens* de *Cx. torrentium*, l'amplification partielle de l'ace-2 a été réalisée à l'aide des amorces ACEpip, ACEpall, ACEtorr et B1246s (Tableau 2) dans des protocoles de PCR standard (Smith & Fonseca, 2004). Le mélange réactionnel contenait 1 µl d'ADN, un tampon de réaction 5× Green Taq®, 10 pMol de chaque amorce, 0,2 mMol de chaque dNTP, 0,125 µl de Taq polymérase (Promega) et 10,675 µl d'eau distillée.

L'amplification par PCR a été réalisée à l'aide d'un thermocycleur (Biometra TOne) selon le protocole suivant : une dénaturation initiale à 95 °C pendant 5 minutes, suivie de 35 cycles comprenant une dénaturation à 94 °C pendant 30 secondes pour séparer les brins d'ADN, une hybridation des amorces à 55 °C pendant 30 secondes, et une élongation à 72 °C pendant 1 minute. Une élongation finale a été effectuée à 72 °C pendant 5 minutes.

Les produits PCR ont été visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,6 %, pendant environ 1 h 30 min ciblant des fragments d'ADN de 610 pb correspondant aux formes de *Cx. pipiens*.

Tableau 2: Amorces PCR spécifiques pour la discrimination entre *Cx. pipiens* s.l. et *Cx. torrentium*.

Amorce	Séquence (5'–3')
ACEpall	ATGGTGGAGACGCATGACG
ACEpip	GGAAACAACGACGTATGTACT
ACEtorr	TGCCTGTGCTACCAGTGATGTT
B1246S	TGGAGCCTCCTCTTCACGGC

La différenciation de *Cx. p. pipiens* et *Cx. p. molestus* sur la base de séquences partielles de CQ11 a été réalisée à l'aide d'amorces CQ11F2, pipCQ11R et molCQ11R (Tableau 3) selon des protocoles standard de PCR (Bahnek & Fonseca, 2006). Le mélange réactionnel contenait 1 µl d'ADN, un tampon de réaction 5× Green Taq®, 10 pMol de chaque amorce, 0,2 mMol de chaque dNTP, 0,125 µl de Taq polymérase (Promega) et 10,675 µl d'eau distillée.

Le programme de PCR comprenait une dénaturation initiale à 95 °C pendant 5 minutes, suivie de 40 cycles de dénaturation à 94 °C pendant 30 secondes, d'hybridation à 54 °C pendant 30 secondes, et d'élongation à 72 °C pendant 40 secondes, avec une élongation finale à 72 °C pendant 5 minutes. Les produits PCR ont été visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,6%, pendant environ 1 h 30 min ciblant des fragments de 187 pb pour *Cx.p. pipiens* et de 244 pb pour *Cx. p. molestus*.

Tableau 3: Amorces PCR spécifiques pour la discrimination entre les formes de *Cx. pipiens*.

Amorce	Séquence (5'–3')
CQ11F2	GATCCTAGCAAGCGAGAAC
pipCQ11R	CATGTTGAGCTTCGGTGAA
molCQ11R	CCCTCCAGTAAGGTATCAAC

Culiseta longiareolata

L'amplification partielle d'environ 730 pb de la sous-unité I de la cytochrome c oxydase mitochondriale (COI) a été réalisée à l'aide des amorces H15CuliCOIFw et H15CuliCOIRv (Tableau 4) dans des protocoles de PCR standard.

Le mélange réactionnel contenait 1 µl d'ADN, 1 U du GoTaq® Long PCR Master Mix, 10 pMol de chaque amorce et 9,5 µl d'eau distillée. Le protocole de PCR comprenait une dénaturation initiale à 95 °C pendant 2 minutes, suivie de 35 cycles de dénaturation à 95 °C pendant 1 minute, d'hybridation à 50 °C pendant 1 minute, et d'élongation à 72 °C pendant 1 minute, avec une élongation finale à 72 °C pendant 5 minutes. Les produits PCR ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,6 %, pendant environ 1 heure 30 minutes ciblant des fragments d'ADN de 710 pb.

Tableau 4: Amorces PCR spécifiques aux diptères.

Amorce	Séquence (5'-3')
H15CuliCOIFw	AGCCATTTAATCGCGACAA
H15CuliCOIRv	GGATGTCCAAAAAATCAAAATAAATGTT

1.7. Séquençage

Les produits PCR obtenus ont été purifiés et séquencés par une entreprise spécialisée (Microsynth GmbH). Les séquences brutes ont été traitées *et alignées* à l'aide du logiciel BioEdit, permettant d'obtenir des séquences de taille uniforme (679 pb). Ces séquences ont été ensuite comparées aux séquences précédemment publiées dans la base de données GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) à l'aide de l'outil BLAST, permettant de confirmer leurs identités.

1.8. Analyse statistique

La relation entre les formes de *Cx. pipiens* et les sites de reproduction, les habitats et le comportement autogène a été analysée à l'aide du test du Chi-deux. Tous les tests statistiques ont été effectués à l'aide de logiciel SPSS d'IBM V.22.

2. Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles sur les larves de *Culex pipiens* s.l. et *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae)

2.1. Collecte et élevage des larves

L'échantillonnage des larves de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* a été effectué dans des gîtes naturels non traités. Les larves de 4^{ème} stade ont été utilisées directement pour les tests, tandis que les œufs, ainsi que les larves des 1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} stades, ont été élevées à une température ambiante de $27 \pm 2^\circ\text{C}$ avec une photopériode de 14:10h jusqu'à ce qu'elles atteignent le 4^{ème} stade. Leur alimentation consistait principalement de biscuits et de levure (75:25%, respectivement).

2.2. Récolte des plantes

Le matériel végétal utilisé dans cette étude comprend les parties aériennes de trois plantes. Les informations relatives à leurs collectes, ainsi que leurs numéros de spécimen, sont résumées dans le tableau 5 :

Tableau 5: Caractéristiques des plantes étudiées.

Nom commun	Nom scientifique	Lieu de collecte	Code de spécimen
Citronnelle	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	Boussaâda, Wilaya de M'sila	CAS28/06/21
Zaatar el Sahra	<i>Saccocalyx satureioides</i> Coss. et Durieu	Boussaâda, Wilaya de M'sila	PUVIT- 0900350001
Anis vert	<i>Pimpinella anisum</i> L.	Sétif	/

La collecte des plantes a été effectuée en mars 2021. L'identification des plantes a été faite par Pr. Laouer (Université Ferhat Abbas, Sétif 1).

Les parties aériennes des plantes ont été étalées et séchées à l'abri du soleil et de l'humidité, à température ambiante, afin de préserver les molécules bioactives. Une fois complètement sèches, elles ont été récupérées, placées dans des sacs en papier, et conservées jusqu'à leur utilisation ultérieure.

2.3. Extraction des HEs par hydrodistillation et rendement

Une biomasse de 50 à 100 g de matière sèche de chaque plante a été soumise à une hydrodistillation pendant 3 heures, à l'aide d'un appareil de type Clevenger (Figure 7). Les huiles obtenues ont été mise dans des tubes en verre opaques et stockées à une température de 4°C. Le rendement en huile essentielle, déterminé à partir de trois extractions et exprimé en pourcentage, correspond au rapport du poids de l'huile extraite au poids de la matière sèche de la plante. Il est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement en huile essentielle (\%)} = \frac{\text{poids de l'huile (g)}}{\text{poids de la matière sèche de la plante (g)}} \times 100$$

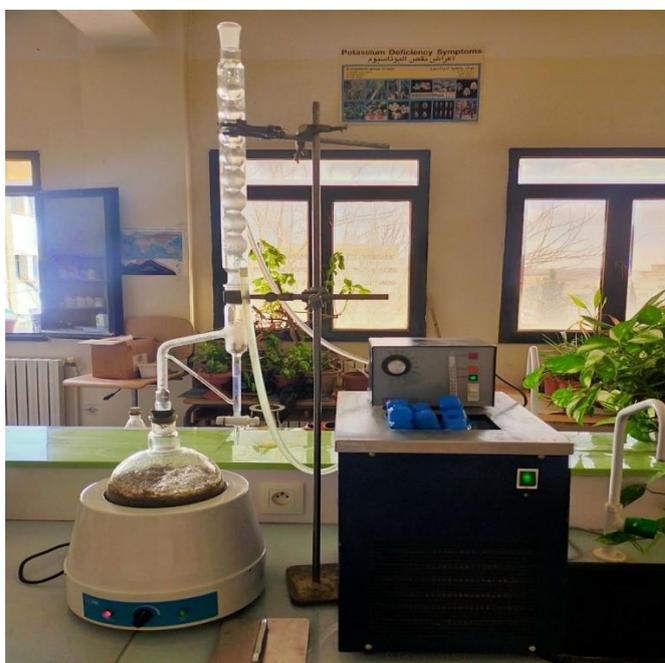


Figure 7: Appareil Clevenger pour l'hydrodistillation des huiles essentielles (Cliché personnel).

2.4. Analyse des HEs par CPG-SM

Les HEs ont été soumises à une analyse chimique à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (Shimadzu CPG-SM-TQ8040), équipée d'une colonne RTX5MS (30 m 0,25 mm et 0,25 µm d'épaisseur de film). La température initiale du four de la colonne a été maintenue à 60 °C pendant 8 minutes, puis a augmenté jusqu'à 250 °C pendant 10 minutes à une vitesse de 3 °C/min. L'injection a été réalisée à 250 °C.

Le gaz vecteur utilisé était de l'hélium à un débit de 1 ml/min, avec une injection de 1 µl d'HE en mode split (10 :1). L'ionisation des composants a été réalisée par impact électronique 70 eV. Les composés des HEs ont été identifiés en se référant à la base de données WILEY-NIST. La composition en pourcentage de l'HE a été calculée en fonction de la surface des pics chromatographiques.

2.5. Activité larvicide

Les essais de toxicité ont été effectués selon la méthode standard décrite par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2005). Les HEs obtenue par hydrodistillation ont été diluée dans de l'éthanol pour obtenir une solution mère de 10% et 1%. 25 larves du 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* ont été exposées à différentes concentrations obtenues en ajoutant 0,1-1 ml de la solution mère à 100 ml d'eau déchlorurée. Les concentrations qui ont révélé une mortalité relative entre 10 % et 95 % ont été répétées quatre fois. Une gamme de témoins a été exécutée simultanément, en ajoutant 1 ml d'éthanol à 100 ml d'eau déchlorurée aux témoins positifs, tandis que les témoins négatifs ont été exposés à l'eau déchlorurée uniquement. La mortalité a été enregistrée après 24 heures d'exposition. Les concentrations létales (CL25, LC50, LC90) ainsi que leurs intervalles de confiance à 95% (IC à 95 %) ont été déterminées. Après avoir identifié ces concentrations, la CL25 et la CL50 ont été appliquées aux larves du 4^{ème} stade nouvellement exuviées afin de tester leurs effets sur les métabolites.

2.6. Extraction des constituants biochimiques

Les individus de stade 4 non traités (témoins) et ceux exposés à l'HE de *S. satureioides* aux concentrations létales CL25 et CL50 pendant 24 heures ont été pesés puis placés dans des microtubes contenant 1 ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 20 %. L'essai a été réalisé en trois répétitions, chacune comprenant 10 individus. Les larves ont été ensuite broyées à l'aide d'un homogénéisateur à ultrasons. Les métabolites ont été extraits selon la méthode de Shibko *et al.* (1967) (Figure 8). Après une première centrifugation (5000 tr/min, 4 °C, 10 min), le surnageant obtenu a été utilisé pour doser les glucides selon la méthode de Duchateau & Florin (1959), et le culot a été traité avec 1 ml d'un mélange éther/chloroforme (v/v), puis centrifugé à nouveau (5000 tr/min, 10 min).

Le surnageant obtenu a été utilisé pour doser les lipides (Goldsworthy *et al.*, 1972) et le culot dissous dans une solution de soude (0,1 N) a été utilisé pour la quantification des protéines selon la méthode de Bradford (1976).

La concentration des métabolites a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage représentée par l'équation $y = ax + b$, où y représente les densités optiques (DO). La concentration des métabolites a été calculée en fonction de la quantité de standard utilisé, selon la formule suivante :

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

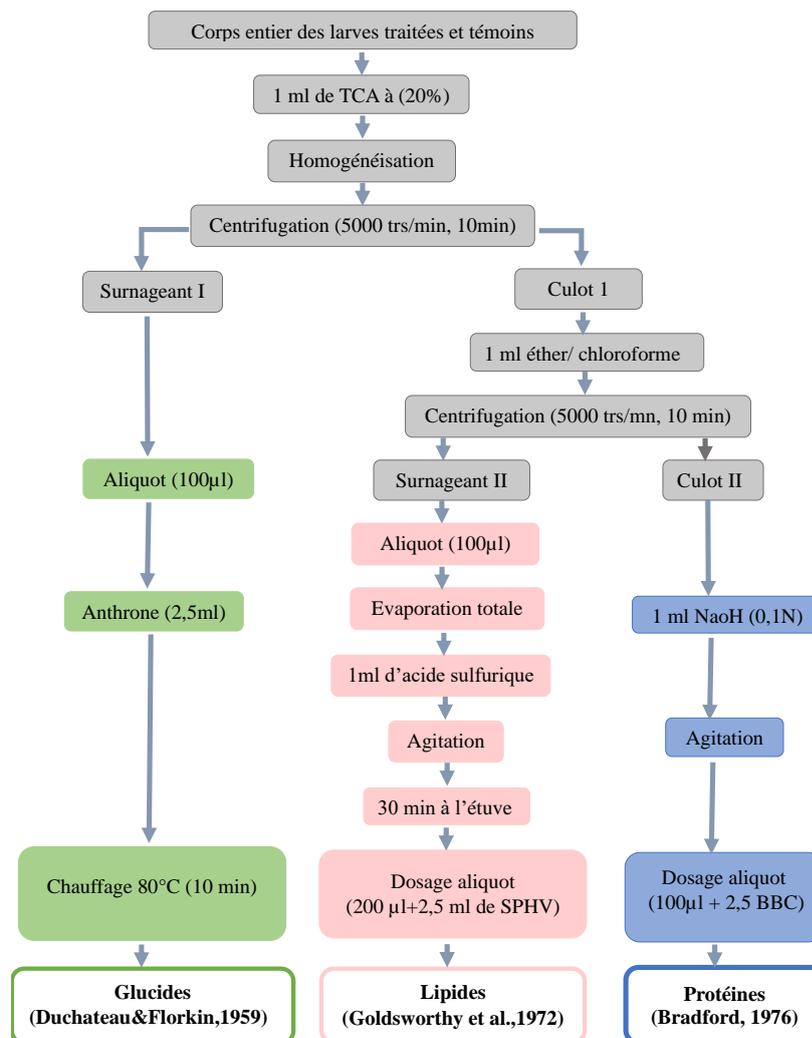


Figure 8: Protocole d'extraction des glucides, lipides et protéines totaux.

2.6.1. Dosage des lipides

La quantité totale de lipides corporels a été évaluée selon la méthode de Goldsworthy *et al.* (1972), Après évaporation totale du solvant à 40 °C, 1 ml d'acide sulfurique concentré (96 %) a été ajouté à des aliquotes de 100 µl des extraits lipidiques. Les tubes fermés, ont été ensuite agités et chauffés à 100 °C pendant 20 minutes.

Après refroidissement, 200 µl de chaque échantillon ont été mélangés à 2,5 ml de réactif sulfophosphanillinique. Ce réactif a été préparé en dissolvant 0,38 g de vanilline dans 55 ml d'eau distillée, puis en ajoutant 195 ml d'acide orthophosphorique à 85 %. La solution a été conservée pendant 3 semaines à 4 °C et à l'obscurité. Après agitation, les échantillons ont été laissés à l'obscurité pendant 30 minutes. La réaction produit une coloration rose dont l'absorbance est mesurée à 530 nm.

La quantification des lipides est réalisée à partir d'une courbe d'étalonnage avec une solution de lipides obtenue en dissolvant 2,5 mg d'huile de tournesol dans 1 ml d'un mélange éther/chloroforme (V/V) (Tableau 6).

Tableau 6: Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.

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

2.6.2. Dosage des glucides

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de Duchateau & Florin (1959). Cette technique consiste à ajouter 100 µl de surnageant à 2,5 ml de réactif d'antrone (préparé en dissolvant 150 mg d'antrone dans 75 ml d'acide sulfurique concentré et 25 ml d'eau distillée), puis à chauffer le mélange à 80 °C pendant 10 minutes. La réaction produit une coloration verte, dont l'absorbance est mesurée à 620 nm et est proportionnelle à la quantité de glucides présents dans l'échantillon.

La quantité de glucides est calculée à partir d'une courbe d'étalonnage obtenue avec une solution mère de glucose à 1 mg/ml d'eau distillée (Tableau 7).

Tableau 7: Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.

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

2.6.3. Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de Bradford (1976). A une fraction aliquote de 100 µl de l'échantillon, on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de Coomassie (BBC) (G 250, Merck), préparé en homogénéisant 100 mg de BBC dans 50 ml d'éthanol à 95°, puis en ajoutant 100 ml d'acide orthophosphorique à 85% et en complétant à 1000 ml avec de l'eau distillée. Ce réactif se conserve 2 à 3 semaines à 4 °C. La réaction produit une coloration bleue dont l'absorbance est mesurée à 595 nm.

La quantification des protéines se fait à l'aide d'une courbe d'étalonnage obtenue avec une solution d'albumine de sérum de bœuf (BSA) à 1 mg/ml d'eau distillée (Tableau 8).

Tableau 8: Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.

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

2.7. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme moyenne \pm SD. La régression non linéaire exprimant le pourcentage de la mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses, a permis d'estimer les concentrations létales (CL25, CL50 et CL90), avec leurs intervalles de confiance à 95%.

Les différents taux de mortalité subissent une transformation angulaire (Fisher & Yates, 1963). Une analyse de la variance (ANOVA) a été effectuée sur les données suivi d'un test HSD de Tukey pour déterminer la signification entre les différentes séries (seuil de significativité de 5%).

Les données biochimiques ont été également analysées par ANOVA, suivie d'une analyse post hoc LSD. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel GraphPad Prism 8.4.2.

Résultats

Résultats

1. Caractérisation du complexe *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae)

1.1. *Culex pipiens* s.l.

1.1.1. Caractérisation morphologique

Les principales caractéristiques morphologiques, chez les adultes et les larves de *Culex pipiens* s.l., identifiées à l'aide du logiciel XPER 2-Identification (Moskeytool_V1.2), peuvent être synthétisées comme suit :

1.1.1.1. Adulte

- **Tête :**

- Les palpes maxillaires sont nettement plus courts que la trompe et entièrement foncés (Figure 9.A). La trompe est également uniformément foncée (Figure 9.A).

- **Thorax :**

- Le scutellum est trilobé (Figure 9.B).

- **Abdomen :**

- Les écailles sur les tergites sont de couleur crème et foncée (Figure 9.C).

- **Ailes :**

- Les ailes sont uniformément foncées, mesurant de 3 à 5 mm de longueur de l'insertion à l'apex. Les écailles sur les nervures sont exclusivement foncées.
- L'alula est frangée de petites écailles (Figure 9.D1).
- La furcation de la nervure R2+3 est plus proche de la furcation de la nervure M1+2 (Figure 9.D2).
- L'apex de la veine anale se termine après la fourche mcu/cuA (Figure 9.D3).
- La veine R2+3 est plus courte que la veine R2/R3 (Figure 9.D3).

- **Pattes postérieures (Patte III) :**

- Le tarsomère 1 (Figure 9.E1) et le tarsomère 5 (Figure 9.E2) sont entièrement foncés.
- Le tibia est uniformément foncé avec un anneau apical pâle (Figure 9.E1).

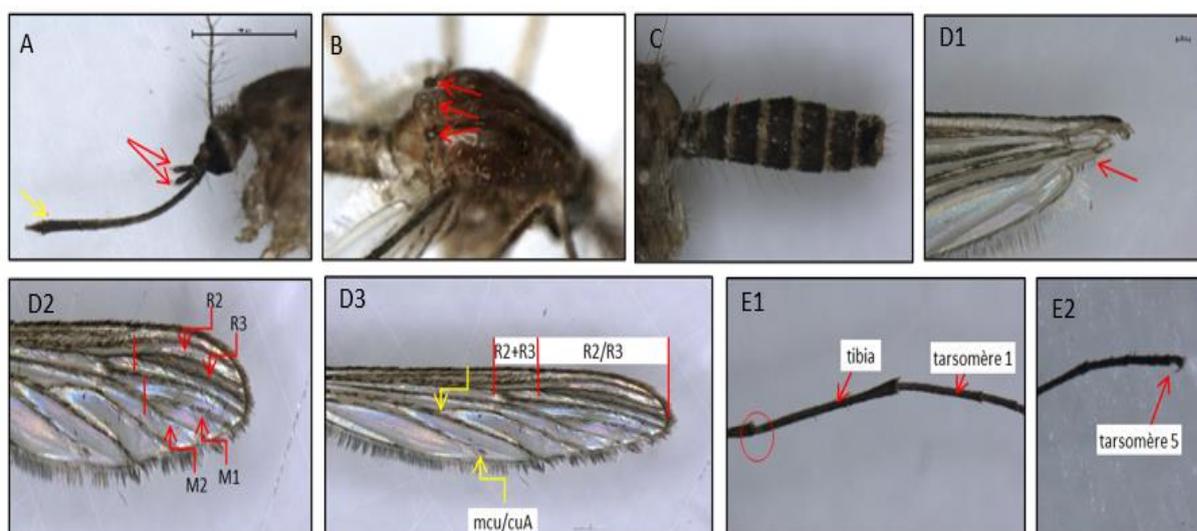


Figure 9: Description morphologique de l'adulte de *Culex pipiens* s.l.

A : Palpes maxillaires, Trompe (X40). **B :** Scutellum (X40). **C :** Tergite (X10).

D1 : Alula (X100). **D2 :** Nervures R2+3 ; M1+2 (X40). **D3 :** Apex de la veine anale, Fourche mcu/cuA , Veines R2+3, R2/R3 (X40). **E1 :** Patte III : Tibia, Tarsomère 1 (X40).

E2 : Patte III : Tarsomère 5 (X40) (Cliché personnel).

1.1.1.2. Larve

• Tête :

- La soie antennaire 3-A est proche de la soie 4-A (Figure 10.A1).
- Les branches de la soie 6-C comportent 4 branches et les branches de la soie 5-C comptent 5 branches (Figure 10.A2).
- La soie 4-C possède une seule branche (Figure 10.A3).
- Le mentum présente plus de 8 dents de chaque côté de la dent médiane (Figure 10.A4).

• Abdomen :

- La soie 1a-S du siphon présente 2 à 5 branches et est insérée au-delà de la dernière dent du pecten (Figure 10.B1).
- La dent distale du pecten du siphon présente 5 denticules basaux (Figure 10.B2).
- L'épine sub-apicale 2-S du siphon est courte (Figure 10.B3).

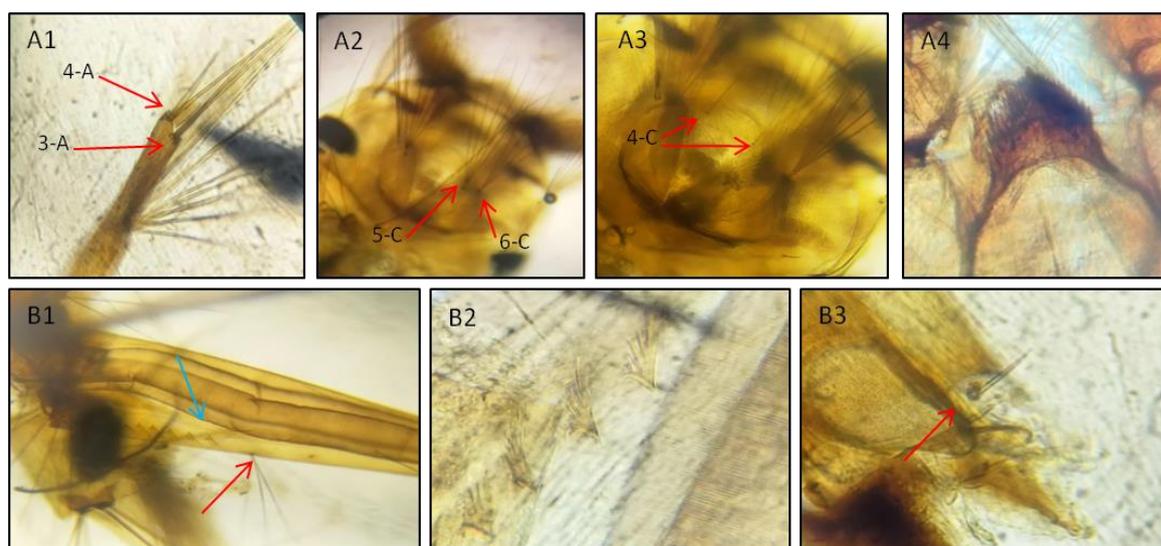


Figure 10: Description morphologique de la larve de *Culex pipiens* s.l.

A1 : Soies antennaires 3-A, 4-A (X10). **A2 :** Soies 5-C, 6-C (X10). **A3 :** Soie 4-C (X10).

A4 : Mentum (X10). **B1 :** Soie siphonale 1a-S, Dents du pecten (X10).

B2 : Dents distales (X40). **B3 :** Epine sub-apicale (X40) (Cliché personnel).

1.1.2. Caractérisation écologique et moléculaire

La caractérisation écologique et moléculaire du complexe *Cx. pipiens* est cruciale pour mieux comprendre ses différences comportementales et sa capacité vectorielle, afin d'orienter des stratégies de lutte adaptées.

L'amplification du microsatellite CQ11, suivie d'une analyse par électrophorèse, a révélé des variations dans les fréquences des différentes formes de *Cx. pipiens* sur les 9 sites analysés (Tableau 9, Figure 11). Parmi les 93 larves caractérisées par PCR, la forme *molestus* était dominante, représentant 44,09% (41/93) des spécimens, suivie par la forme hybride à 38,71% (36/93), tandis que 17,2% (16/93) appartenaient à la forme *pipiens*. La majorité des sites de reproduction analysés (77,77%, soit 7/9) abritaient les trois formes génétiques de *Cx. pipiens*, tandis que 22,22% (2/9) abritaient uniquement les formes *molestus* et hybrides. Aucun site n'abritait une population pure (uniquement la forme *pipiens* ou *molestus*).

Les analyses statistiques ont révélé que la forme *pipiens* présentait une différence hautement significative entre les habitats urbains et ruraux, avec une nette préférence pour les sites ruraux (test du Chi-deux : $\chi^2 = 25$, ddl = 1, $p < 0,0001$). En revanche, elle montrait une préférence tout aussi significative pour les sites de reproduction épigés par rapport aux sites hypogés (test du Chi-deux : $\chi^2 = 38,44$, ddl = 1, $p < 0,0001$).

Cependant, les formes *molestus* et hybrides ne montraient pas de différences statistiquement significatives, que ce soit pour l'habitat urbain ou rural [(test du Chi-deux : *molestus* ($\chi^2 = 1,44$, ddl = 1, p = 0,230), hybride ($\chi^2 = 2,56$, ddl = 1, p = 0,11)], ou pour le type de site de reproduction épigé ou hypogé [(test du Chi-deux : *molestus* ($\chi^2 = 0,04$, ddl = 1, p = 0,841), hybride ($\chi^2 = 0,36$, ddl = 1, p = 0,549)].

Tableau 9: Fréquences des différentes formes de *Cx. pipiens*.

Biotype			Habitat		Site de reproduction	
	N	%	Urbain n (%)	Rural n (%)	Epigé n (%)	Hypogé n (%)
<i>pipiens</i>	16	17,2	4 (25)	12 (75)	13 (81,25)	3 (18,75)
<i>molestus</i>	41	44,09	23 (56,1)	18 (43,9)	21 (51,22)	20 (48,78)
Hybride	36	38,71	15 (41,67)	21 (58,33)	19 (52,78)	17 (47,22)
Total	93	100	42	51	53	40

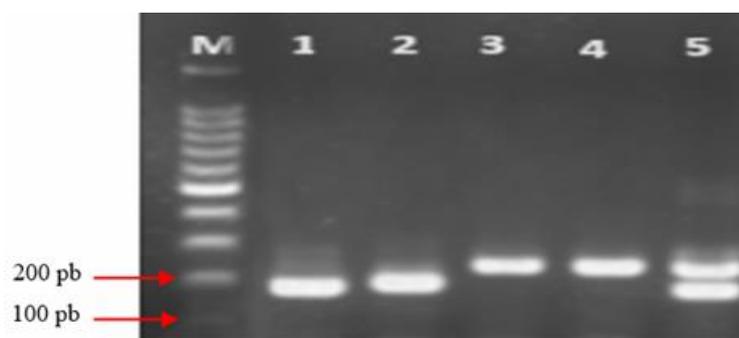


Figure 11: Amplification par PCR du microsatellite CQ11 sur un gel d'agarose à 1,6 %.
M : Marqueur de taille 100 pb. **1,2 :** Forme *pipiens* (187 pb). **3,4 :** Forme *molestus* (244 pb).
5 : Forme hybride.

1.1.3. Caractérisation biologique de la reproduction

1.1.3.1. Expression de l'autogénie en fonction des types d'habitats et des sites de reproduction

Pour évaluer l'expression de l'autogénie des moustiques, des adultes (mâles et femelles) provenant de 5 sites de reproduction (N° 1, 3, 4, 6 et 8) ont été élevés. Les femelles ayant produit des œufs sans avoir pris de repas sanguin ont été considérées comme autogènes.

Les analyses statistiques ont révélé que l'autogénie était fortement corrélée aux sites de reproduction hypogés (test du Chi-deux : $\chi^2 = 11,56$, ddl = 1, $p < 0,0001$). En revanche, aucune différence significative n'a été observée entre l'autogénie et le type d'habitat (test du Chi-deux: $\chi^2 = 0,16$, ddl = 1, $p = 0,689$) (Tableau 10).

Tableau 10: Expression de l'autogénie chez les femelles de *Cx. pipiens* s.l en fonction des types d'habitats et des sites de reproduction.

Biotype	Habitat		Site de reproduction		
	N	Urbain n (%)	Rural n (%)	Épigé n (%)	Hypogé n (%)
Autogénie	22	12 (54,55)	10 (45,45)	7 (31,82)	15 (68,18)
Anautogénie	102	68 (66,66)	34 (33,33)	60 (58,82)	42 (41,18)
Total	124	80	44	67	57

1.1.3.2. Expression de l'autogénie des formes de *Cx. pipiens* en fonction des sites de reproduction

Nous avons également exploré le lien entre les formes de *Cx. pipiens* et l'autogénie tant dans les sites épigés que dans les sites hypogés. Les femelles survivantes, soit 32 provenant des sites épigés et 36 des sites hypogés, ont été identifiées moléculairement en ciblant le microsatellite CQ11 pour déterminer leur forme.

L'analyse des femelles autogènes collectées dans les sites épigés a révélé que 66,67% (6/9) des échantillons appartenait à la forme *molestus*, tandis que 22,22 % (2/9) correspondaient à la forme hybride et 11,11 % (1/9) à la forme *pipiens*. Dans les sites hypogés, 58,82% (10/17) des spécimens étaient de la forme *molestus*, tandis que 41,18% (7/17) appartenait à la forme hybride. Par ailleurs, aucune forme *pipiens* n'a été observée dans ces sites.

Concernant les femelles anautogènes des sites épigés, 43,48% (10/23) étaient de la forme *pipiens*, 43,48% (10/23) de la forme hybride, et 13,04% (3/23) de la forme *molestus*. Dans les sites hypogés, 42,11% (8/19) des femelles anautogènes étaient de la forme *molestus*, 42,11% (8/19) de la forme hybride, et 15,79 % (3/19) de la forme *pipiens* (Tableau 11).

Les analyses statistiques ont révélé que les forme *molestus* et hybride étaient significativement plus autogènes dans les sites hypogés que dans les sites épigés [test du Chi-deux : *molestus* ($\chi^2 = 6,188$, ddl = 1, $p = 0,013$), hybride ($\chi^2 = 31,36$, ddl = 1, $p < 0,0001$)]. Les analyses ont également révélé une différence hautement significative entre les formes *molestus* et hybrides en termes de taux d'autogénie dans les sites épigés (test du Chi-deux : $\chi^2 = 25$, ddl = 1, $p < 0,0001$). En revanche, aucune différence significative n'a été observée entre ces deux formes dans les sites hypogés (test du Chi-deux : $\chi^2 = 3,24$, ddl = 1, $p = 0,072$). Par ailleurs, la forme *pipiens* était principalement anautogène, quel que soit le type de site épigé ou hypogé.

Tableau 11: Expression de l'autogénie des formes de *Cx. pipiens* dans les sites épigés et hypogés.

Biotype	Sites épigés		Sites hypogés	
	Autogène n (%)	Anautogène n (%)	Autogène n (%)	Anautogène n (%)
<i>pipiens</i>	1 (11,11)	10 (43,48)	0	3 (15,79)
<i>molestus</i>	6 (66,67)	3 (13,04)	10 (58,82)	8 (42,11)
Hybrides	2 (22,22)	10 (43,48)	7 (41,18)	8 (42,11)
Total	9	23	17	19

1.2. *Culiseta longiareolata*

1.2.1. Caractérisation morphologique

Les principales caractéristiques morphologiques, chez les adultes et les larves de *Culiseta longiareolata*, identifiées à l'aide du logiciel XPER 2-Identification (Moskeytool_V1.2), peuvent être synthétisées de la manière suivante :

1.2.1.1. Adulte

• Tête :

- Les palpes maxillaires sont nettement plus courts que la trompe, avec des écailles mélangées foncées et pâles (Figure 16.A). La trompe est entièrement foncée (Figure 16.A).

• Thorax :

- Le scutellum est trilobé (Figure 16.B1).
- Le scutum présente des bandes continues (Figure 16.B2).

• Abdomen :

- Les écailles sur les tergites sont crème et foncées (Figure 16.C).

• Ailes :

- Les ailes sont foncées avec des taches noires et mesurent environ 6 mm de longueur de l'insertion à l'apex (Figure 16.D1).
- L'alula est frangée de petites écailles (Figure 16.D2).

• Pattes postérieures (Patte III) :

- Le tarsomère 1 est rayé longitudinalement avec des écailles pâles, tandis que le tarsomère 5 est entièrement foncé (Figure 16.E).
- Le tibia présente une bande longitudinale pâle (Figure 16.E).

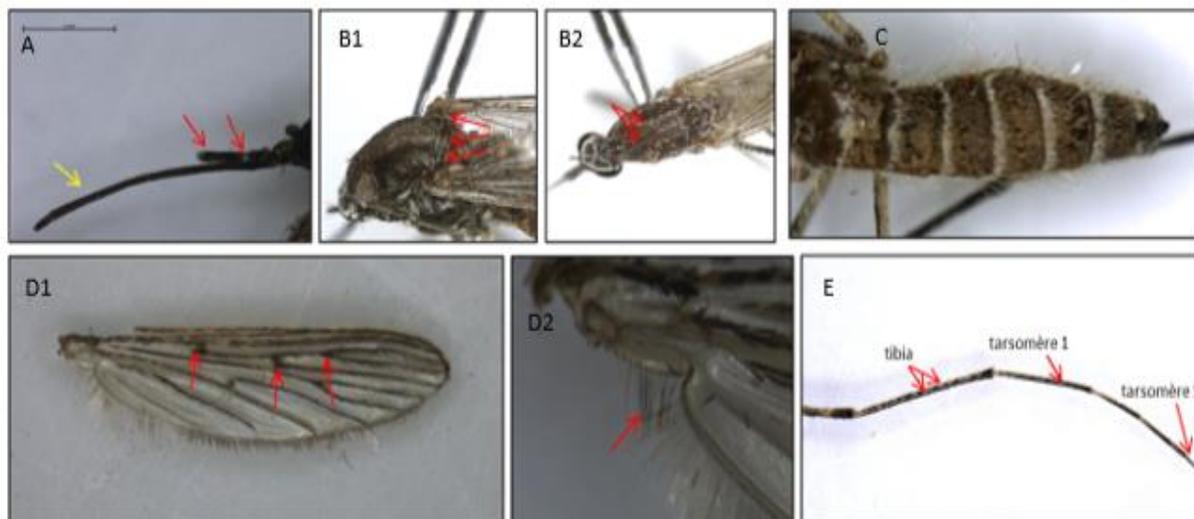


Figure 12: Description morphologique de l'adulte de *Culiseta longiareolata*.

A : Palpes maxillaires, Trompe (X40). **B1 :** Scutellum. **B2 :** Scutum (X40).

C : Tergites (X40). **D1 :** Ecailles alaires (X40). **D2 :** Alula (X100). **E :** Patte III : Tibia, Tarsomère 1, Tarsomère 5 (X40) (Cliché personnel).

1.2.1.2. Larve

• Tête :

- L'antenne est lisse et courte, et la soie antennaire 1-A est à peine visible (Figure 15.A).

• Abdomen :

- Présence d'une paire de touffes siphonales insérées à la base du siphon (Figure 15.B).

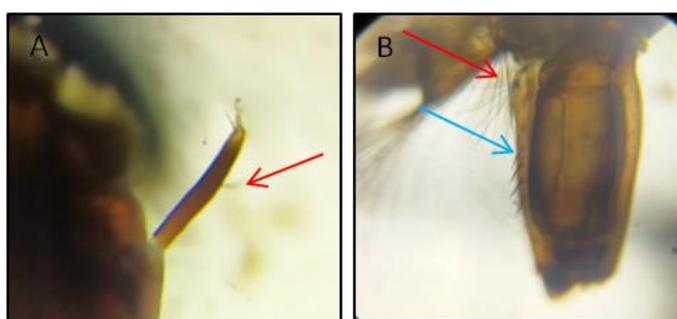


Figure 13: Description morphologique de la larve de *Culiseta longiareolata*.

A : Soie antennaire 1-A (X10). **B :** Touffes siphonales (X10) (Cliché personnel).

1.2.2. Caractérisation moléculaire

En raison de l'absence des larves de *Cs. longiareolata* dans l'ensemble des sites hypogés étudiés, les larves ont été collectées que dans les sites épigés. L'analyse génétique réalisée sur 35 spécimens de *Cs. longiareolata* a permis d'obtenir des amplicons PCR qui ont été analysés par électrophorèse (Figure 18), puis séquencés.

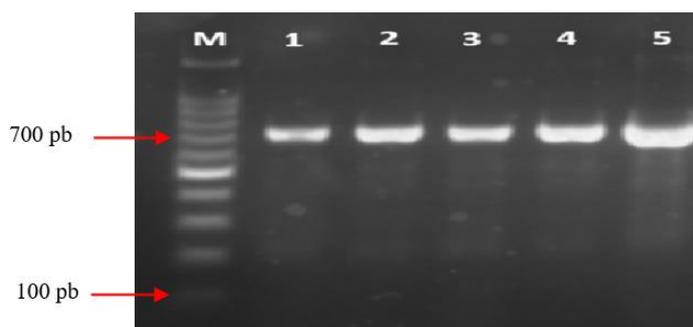


Figure 14: Amplification par PCR du COI sur un gel d'agarose à 1,6%.
M : Marqueur de taille 100 pb ; **1-5 :** Culicidae (710 pb).

L'analyse des séquences a mis en évidence cinq haplotypes, chacun se distinguant par une seule mutation nucléotidique (substitution) à une position spécifique (Figure 19). Parmi ces haplotypes, l'haplotype 1 s'est avéré prédominant, représentant 74,29% des spécimens (26/35).

Position	138	282	465	633
Haplotype 1	T	T	A	T
Haplotype 2	T	T	A	C
Haplotype 3	T	T	G	T
Haplotype 4	C	T	A	T
Haplotype 5	T	C	A	T

Figure 15: Variation des haplotypes de *Cs. longiareolata*

Les séquences obtenues ont été comparées à celles disponibles dans la base de données GenBank. Les analyses BLAST ont confirmé que tous les spécimens appartenaient à *Cs. longiareolata*. Les séquences ont été ensuite déposées dans GenBank sous les numéros d'accèsion PQ844768 - PQ844799 (Tableau 12). Certaines séquences, n'ont pas pu être enregistrées dans GenBank en raison de leur faible qualité.

Tableau 12: Numéros d'accèsion des haplotypes de *Cs. longiareolata*.

Localisation	Haplo type	Numéro d'accèsion
Sétif Centre	Type5	PQ844793
	Type4	PQ844794, PQ844796, PQ844797, PQ844799
	Type 1	PQ844795, PQ844798
Ouricia	Type 1	PQ844784, PQ844785, PQ844787, PQ844788, PQ844789, PQ844790, PQ844791, PQ844792
	Type 3	PQ844786
Dehamcha	Type 1	PQ844768, PQ844769, PQ844770, PQ844772, PQ844773
	Type 2	PQ844771, PQ844774
Hammam Sokhna	Type 1	PQ844775, PQ844783, PQ844782, PQ844781, PQ844780, PQ844779, PQ844778, PQ844777, PQ844776

1.2.3. Caractérisation biologique de la reproduction

Un total de 67 couples de *Cs. longiareolata* ont été élevés pour évaluer l'expression du comportement autogène. Aucune ponte d'œufs n'a été observée, ce qui confirme que tous les spécimens se sont révélés être exclusivement anautogènes.

2. Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles sur les larves de *Culex pipiens* s.l. et *Culiseta longiareolata*

2.1. Rendement des HEs

Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des parties aériennes séchées de *Cymbopogon citratus*, *Saccocalyx satureioides*, et *Pimpinella anisum* ont révélé des caractéristiques distinctives en termes d'aspect, d'odeur et de rendement.

L'HE de *C. citratus* était de couleur jaune vif, avec une texture fluide, un parfum frais et citronné, et un rendement modéré de $0,9 \pm 0,06\%$.

L'HE de *S. satureioides* était légèrement plus visqueuse, avec une couleur jaune pâle et une odeur épicée et camphrée. Son rendement était plus élevé, atteignant environ $2 \pm 0,11\%$.

L'HE de *P. anisum* était incolore à légèrement jaune, dégageait un arôme doux et anisé, et présentait le rendement le plus élevé, de l'ordre de $4 \pm 0,2\%$.

2.2. Composition chimique des HEs

2.2.1. *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, 1906

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) a révélé la présence de 48 composés, représentant 100% de la composition totale de l'HE. Les concentrations, les indices de rétention (IR) et les temps de rétention (TR) des constituants isolés sont présentés dans le tableau 13 et la figure 20.

Les monoterpènes oxygénés représentaient 84,49% de l'huile, suivis des monoterpènes hydrocarbonés à 6,59%, avec une présence notable de l' α -citral (37,74%) et du β -citral (28,31%). En revanche, les sesquiterpènes hydrocarbonés et oxygénés ne représentaient que 0,64% des composants identifiés.

Tableau 13: Composition chimique de l'HE de *C. citratus* : Indice de rétention (IR), temps de rétention (TR) et concentration (%) des composants identifiés.

N°	Composants	IR	TR (min)	(%)
1	5-Hepten-2-one, 6-methyl-	799	9.390	1,09
2	β -Myrcene	786	9.728	6,21
3	β -trans-Ocimene	834	12.366	0,15
4	Phenylacetaldehyde	837	12.510	0,05
5	β -Ocimene	844	12.948	0,06
6	1,6-Octadiene, 2,7-dimethyl-	848	13.201	0,11
7	cis-Linalool oxide	866.	14.234	0,17
8	Ethyl 2-(5-methyl-5-vinyltetrahydrofuran-2-yl)propan-2-ycarbonate	882	15.142	0,1
9	Myroxide	888	15.489	0,59
10	3-Methyl-2-(2-methyl-2-butenyl)-furan	893	15.751	0,24
11	Linalool	896	15.916	2,67
12	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	911	16.755	0,04
13	cis-p-Menthane	932	17.921	0,06
14	γ -Isogeraniol	940	18.380	0,31
15	α -Cyclocitral	943	18.532	0,26
16	Citral	946	18.665	0,07
17	Citronellal	949	18.839	0,25
18	trans- γ -Caryophyllene	953	19.080	0,07
19	Isoneral	961	19.490	1,42
20	Rosefuranepoxide	971	20.058	1,21
21	3,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-	979	20.477	1,84
22	α -Terpineol	984	20.764	0,44
23	2-Pentylnonenal	989	21.027	0,37
24	(-)-cis-Isopiperitenol	994	21.290	0,04
25	2-Cyclopentylidenecyclopentanone	1012	22.250	0,05
26	Oxiranecarboxaldehyde, 3-methyl-3-(4-methyl-3-pentenyl)-	1018	22.569	0,13
27	(Z)-Geraniol	1025	22.910	0,12
28	(R)-citronellol	1029	23.098	0,37
29	β-Citral	1043	23.818	28,31
30	Geraniol	1055	24.444	7,52
31	α-Citral	1076	25.493	37,74
32	Carvacrol	1091	26.239	0,16
33	Neryl formate	1099	26.638	0,63
34	2-Hydroxycineole	1133	28.256	0,34
35	Geranoicacid	1154	29.228	0,13
36	Nerolacetate	1161	29.565	0,16
37	Cyclohexanol, 4-(1-methylethyl)-	1170	29.955	0,37
38	Geranylacetate	1181	30.491	5,21
39	Aromandendrene	1213	31.946	0,07
40	cis- α -Bergamotene	1231	32.743	0,11
41	(E)- β -Famesene	1253	33.705	0,12
42	2-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, isobutyrate, (Z)-	1285	35.109	0,09

43	2-Tridecanone	1291	35.377	0,11
44	Geraniol butyrate	1357	38.093	0,05
45	Caryophyllene oxide	1378	38.952	0,2
46	Selin-6-en-4 α -ol	1414	40.406	0,09
47	Neointermedeol	1453	41.960	0,05
48	2,6-Dodecadiene, 2,6-dimethyl-	1467	42.490	0,04
Monoterpènes hydrocarbonés 2, 3, 5, 6, 13				6,59
Monoterpènes oxygénés 7, 9-12, 14-22, 24-32, 34, 35, 50				84,49
Sesquiterpènes hydrocarbonés 39-41				0,3
Sesquiterpenes oxygenés 45-47				0,34
Autres 1, 4, 8, 23, 33, 36-38, 42-44, 48				8,27
Total (%)				99

Figure 16: Chromatogramme CPG-SM de l'HE de *C. citratus*.

2.2.2. *Saccocalyx satureioides* Coss. et Durieu, 1853

L'analyse CPG-SM a permis d'identifier 58 composés, couvrant 100% de la composition totale de l'HE. Les concentrations, les indices de rétention (IR) et les temps de rétention (TR) des constituants isolés sont détaillés dans le tableau 14 et la figure 22.

Les monoterpènes oxygénés (69,75%) et les monoterpènes hydrocarbonés (22,02%) étaient majoritaires, avec l' α -térpinéol (23,95%), le thymol (18,15%), et le bornéol (17,22%) comme principaux composés. Les sesquiterpènes hydrocarbonés et oxygénés totalisaient 5,08% des composants identifiés.

Tableau 14: Composition chimique de l'HE de *S. saturoioides* : Indice de rétention (IR), temps de rétention (TR), et concentration (%) des composants identifiés.

N°	Composants	IR	TR (min)	(%)
1	5,5-Dimethyl-1-vinylbicyclo [2.1.1] hexane	712	6.08	0.05
2	α -Tricyclene	714	6.21	0.31
3	α -Thujene	719	6.41	0.78
4	2-Pinene	726	6.75	2.85
5	Camphene	740	7.47	4.7
6	2,4-Thujadiene	744	7.65	0.04
7	α -Sabinene	765	8.67	0.12
8	β -Pinene	768	8.82	0.84
9	3-Octanone	780	9.41	0.35
10	β -Myrcene	786	9.70	1.02
11	α -Phellandrene	799	10.36	0.06
12	3-Carene	805	10.69	0.05
13	α -Terpinene	812	11.08	0.96
14	Prehnitene	822	11.69	5.08
15	D-Limonene	825	11.85	2.1
16	β -cis-Ocimene	845	12.99	0.02
17	γ -Terpinene	855	13.58	2.51
18	(Z)-Sabinene hydrate	861	13.94	0.13
19	Linalool oxide	867	14.30	0.01
20	2-Norbornanone, 3,3-dimethyl-	876	14.78	0.02
21	α -Terpinolene	883	15.19	0.53
22	Linalool	896	15.97	2.07
23	trans-2-Menthenol	915	17.01	0.08
24	1,7,7-Trimethylbicyclo [2.2.1] hept-5-en-2-one	920	17.25	0.21
25	cis-Sabinol	932	17.92	0.24
26	(+)-2-Bornanone	937	18.18	0.38
27	3-Ketocamphor	942	18.47	0.32
28	Borneol	950	19.99	16.98
29	L-4-terpineol	976	20.33	5.95
30	α-Terpineol	999	21.578	23.95
31	Bornyl formate	1024	22.864	1.17
32	D-Carvone	1046	23.973	0.31
33	Geraniol	1064	24.895	0.11
34	p-Anethole	1081	25.724	0.62
35	Thymol	1099	26.652	18.15
36	Thymol acetate	1152	29.137	1.25
37	Ethyltetramethylcyclopentadiene	1170	29.995	0.25
38	Santovar O	1185	30.675	0.07
39	(Z)-Jasmone	1195	31.145	0.03
40	α -Gurgujene	1204	31.569	0.11
41	Caryophyllene	1214	31.995	0.51
42	Aromandendrene	1233	32.848	0.42
43	α -Humulen	1248	33.485	0.15

44	Alloaromadendrene	1256	33.820	0.17
45	γ -Gurjunene	1269	34.418	0.06
46	β -Selinene	1281	34.945	0.07
47	Bicyclo[5.2.0] nonane, 2-methylene-4,8,8-trimethyl-4-vinyl-	1291	35.360	0.24
48	γ -Cadinene	1309	36.145	0.34
49	β -Cadinene	1319	36.552	0.3
50	Davana ether	1329	36.941	0.06
51	Succinic acid, tridec-2-yn-1-yl trans-hex-3-en-1-yl ester	1345	37.619	0.03
52	Palustrol	1363	38.340	0.04
53	Spatulenol	1373	38.758	1.3
54	Junenol	1425	40.845	0.05
55	τ -Cadinol	1437	41.306	1.01
56	1,1,4,7-Tetramethyldecahydro-1H-cyclopropa[e]azulen-7-ol	1466	42.445	0.02
57	Shyobunol	1486	43.213	0.2
58	Cyclopentanecarboxylicacid, 3-methylene-, 1,7,7 trimethylbicyclo [2.2.1]hept-2-yl ester	1607	47.720	0.02
	Monoterpènes hydrocarbonés 1-9, 11-18, 22			22.02
	Monoterpènes oxygénés 19, 20, 23-32, 34-37			69.75
	Sesquiterpènes hydrocarbonés 42, 51			2.37
	Sesquiterpenes oxygénés 52, 59			2.71
	Autres 10, 21, 33, 38-41, 60			3.16
	Total (%)			100

Figure 17: Chromatogramme CPG-SM de l'HE de *S. satureioides*.

2.2.3. *Pimpinella anisum* L., 1753

L'analyse CPG-SM a permis de détecter 49 composés, représentant 100% de la composition totale de l'HE. Les concentrations, les indices de rétention (IR) et les temps de rétention (TR) des constituants isolés sont détaillés dans le tableau 15 et la figure 22.

Les monoterpènes oxygénés (56,35%) et les monoterpènes hydrocarbonés (38,28%) constituaient les groupes majoritaires, avec l'anéthol (24,93%), le D-limonène (20,5%) et la rotundifolone (13,33%) comme principaux composés. Les sesquiterpènes hydrocarbonés et oxygénés, représentaient une très faible proportion, ne représentant que 0,05% de l'ensemble des composants identifiés.

Tableau 15: Composition chimique de l'HE de *P. anisum* : Indice de rétention (IR), temps de rétention (TR), et concentration (%) des composants identifiés.

N°	Composants	IR	TR (min)	(%)
2	n-Heptylchloride	693	5.165	0,01
3	3-Bromocyclohexene	710	5.972	0,02
4	α -Thujene	719	6.410	0,17
5	2-Pinene	725	6.738	3,40
6	Camphene	738	7.361	0,14
7	α -Sabinene	765	8.686	1,07
8	β -Pinene	768	8.836	1,89
9	β -Myrcene	787	9.754	3,08
10	α -Phellandrene	800	10.395	1,59
11	3-Carene	805	10.710	0,01
12	α -Terpinene	812	11.102	0,15
13	D-Limonene	830	12.133	20,5
14	β -Ocimene	836	12.478	0,47
15	5-Methyl-1-heptanol	841	12.750	0
16	α -Ocimene	845	13.028	0,04
17	γ -Terpinene	857	13.665	5,64
18	cis-Sabinene hydrate	862	13.967	0,04
19	Nonanal	865	14.153	0,01
20	cis-Linalool oxide	868	14.306	0,01
21	2-Nonen-1-ol, (E)-	871	14.510	0,28
22	L-Fenchone	885	15.289	9,53
23	Linalool	898	16.087	5,27
24	1,3,8-p-Menthatriene	907	16.530	0,04
25	cis-Menth-2-en-1-ol	915	16.979	0,04
26	allo-Ocimene	926	17.570	0,02
27	p-Mentha-1,5,8-triene	929	17.775	0,07
28	(+)-(E)-Limonene oxide	933	17.955	0,04
29	(+)-2-Bornanone	936	18.164	0,22
30	1,2-Dimethylcyclohexane	941	18.405	0,1
31	α -Terpineol	961	19.529	0,57
32	L-4-terpineol	971	20.069	0,46
33	Anethole	1001	21.683	24,93
34	Dillether	1031	23.230	0,01
35	α -Naginatene	1038	23.570	0,04
36	3-Carvomenthenone	1047	24.041	0,03

37	2-isopropyl-4-methylanisole	1052	24.255	0,02
38	Anhydrolinalool oxide	1057	24.528	0,11
39	2-Butyl-2-cyclopentenone	1060	24.677	0,19
40	Carvacrol	1101	26.738	0,03
41	1-Oxaspiro[2.5]octane, 2,4,4-trimethyl-8-methylene-	1117	27.491	0,05
42	Piperitenone	1134	28.293	1,31
43	Rotundifolone	1169	29.933	13,33
44	Cinerolone	1195	31.144	0,38
45	Isoeugenolmethylether	1200	31.399	0,2
46	Germacrene D	1276	34.705	0,04
47	Myristicine	1319	36.561	4,4
48	Elemicine	1353	37.957	0,04
49	Shyobunol	1485	43.202	0,01
50	Acetic acid;(2Z)-3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-ol	1530	44.866	0,03
	Monoterpènes hydrocarbonés 4-14, 16, 17, 24, 26, 27			38,28
	Monoterpènes oxygénés 18, 20, 22, 23, 25, 28, 29, 31-36, 38, 40, 42-44			56,35
	Sesquiterpènes hydrocarbonés 46			0,04
	Sesquiterpenes oxygenés 49			0,01
	Autres 1-3, 15, 19, 21, 30, 37, 39, 41, 45, 47, 48, 50			5,35
	Total (%)			100

Figure 18: Chromatogramme CPG-SM de l'HE de *P. anisum*.

2.3. Activités larvicides des HEs à l'égard de *Culex pipiens* s.l. et *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae)

2.3.1. Activité larvicide de l'HE de *C. citratus*

L'exposition des larves de 4^{ème} stade nouvellement muées de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* à différentes concentrations de l'HE de *C. citratus* (40, 60, 80, 100, 120, 140 ppm pour *Cx. pipiens* et 60, 80, 100, 120, 140 ppm pour *Cs. longiareolata*) pendant 24 heures a révélé une augmentation du taux de mortalité en fonction des concentrations appliquées (Tableau 16 et 17). La mortalité observée variait de 18% et 19% aux concentrations les plus faibles atteignant 100% à la concentration maximale (140 ppm) pour *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata*, respectivement. Aucune mortalité n'a été observée dans les groupes témoins, qu'ils soient positifs ou négatifs.

Une analyse de variance à un facteur, réalisée après transformation angulaire des pourcentages de mortalité, a révélé une différence hautement significative ($p < 0,0001$) entre les concentrations testées pour les deux espèces (Tableaux 18 et 19). Le test HSD de Tukey a permis de regrouper les concentrations en cinq groupes distincts (Figure 23).

Les courbes dose-réponse (Figure 24), représentant la mortalité en fonction du logarithme des concentrations, ont permis d'estimer les concentrations létales (CL25, CL50 et CL90) ainsi que leurs intervalles de confiance à 95% (Tableau 20). Les résultats suggèrent que *Cs. longiareolata* était l'espèce la plus résistante aux effets de l'HE de *C. citratus*.

Tableau 16: Effet toxique de l'HE de *C. citratus* (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. après 24h d'exposition : Moyenne \pm Ecartype (n = 4 répétitions de 25 individus).

Concentration (ppm)	40	60	80	100	120	140
R 1	24	60	76	84	88	100
R 2	20	56	72	76	92	100
R 3	12	52	68	76	92	100
R 4	16	48	76	72	88	100
m \pm SD	18 \pm 5,16	54 \pm 5,16	73 \pm 3,83	77 \pm 5,03	90 \pm 2,31	100 \pm 0

Tableau 17: Effet toxique de l'HE de *C. citratus* (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cs. longiareolata* après 24h d'exposition : Moyenne \pm Ecartype (n = 4 répétitions de 25 individus).

Concentration (ppm)	60	80	100	120	140
R 1	24	60	72	88	100
R 2	24	56	72	88	100
R 3	16	52	76	92	100
R 4	12	48	80	92	100
m \pm SD	19 \pm 6	54 \pm 5,16	75 \pm 3,83	90 \pm 2,31	100 \pm 0

Tableau 18: Effet toxique de l'HE de *C. citratus* (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. après 24h d'exposition (Moyenne \pm Ecartype, n = 4 répétitions de 25 individus) : Analyse de variance à un critère de classification après transformation angulaire des pourcentages de mortalité.

Tableau d'ANOVA	SCE	ddl	CM	F _{obs}	P
Traitement	8383	5	1677	211,5	P<0,0001***
Erreur résiduelle	142,7	18	7,926		
Total	8526	23			

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

Tableau 19: Effet toxique de l'HE de *C. citratus* (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cs. longiareolata* après 24h d'exposition (Moyenne \pm Ecartype, n = 4 répétitions de 25 individus) : Analyse de variance à un critère de classification après transformation angulaire des pourcentages de mortalité.

Tableau d'ANOVA	SCE	ddl	CM	F _{obs}	P
Traitement	8169	4	2042	251,9	P<0,0001***
Erreur résiduelle	121,6	15	8,108		
Total	8290	19			

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

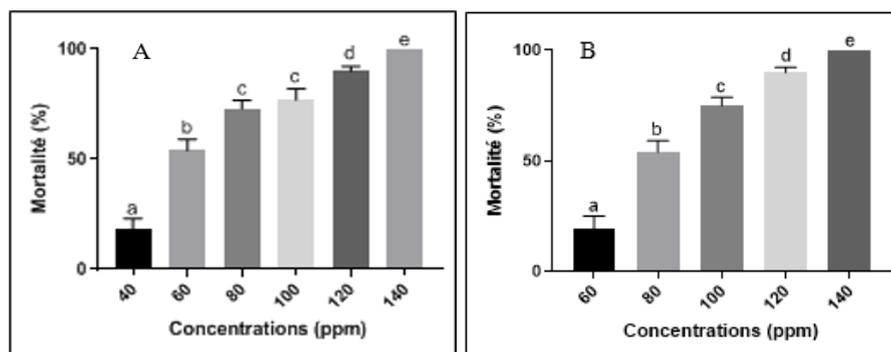


Figure 19: Effet toxique de l'HE de *C. citratus* (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. (A) et *Cs. longiareolata* (B) après 24h d'exposition : Moyenne ± Ecartype (n = 4 répétitions de 25 individus). Les différentes lettres indiquent une différence significative (p < 0,05) (le test HSD de Tukey).

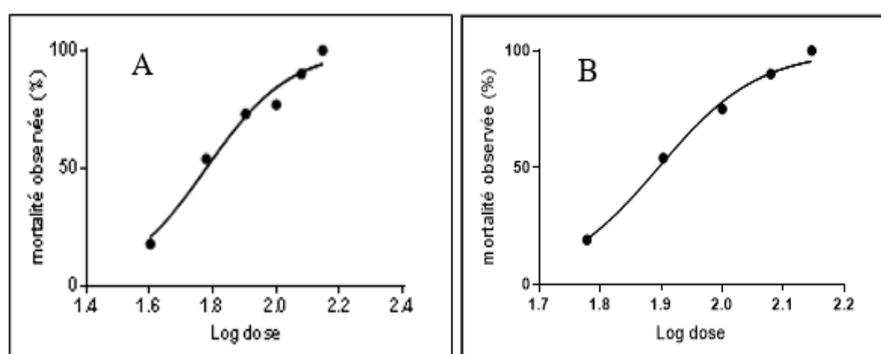


Figure 20: Effet toxique de l'HE de *C. citratus* sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. (A) et *Cs. longiareolata* (B) après 24h d'exposition : Courbe dose-réponse montrant le pourcentage de mortalité observée en fonction du logarithme des concentrations.

Tableau 20: Concentrations létales (ppm) de l'HE de *C. citratus* appliquées sur les larves du 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. et de *Cs. longiareolata* après 24h d'exposition.

Espèce	CL25 (ppm) 95% IC	CL50 (ppm) 95% FL	CL90 (ppm) 95% FL	Hill Slope	R ²
<i>Cx. pipiens</i> s.l.	42,88 (34,32 - 50,52)	59,96 (52,8 - 67,09)	117,2 (94,88 - 151,5)	3,28	0.97
<i>Cs. longiareolata</i>	63,82 (57,76 - 69,28)	78,6 (73,98 - 83,18)	119,2 (107,1 - 134,9)	5,27	0.99

R²- Coefficient de détermination
Intervalle de confiance (95%)

2.3.2. Activité larvicide de l'HE de *S. satureioides*

Les larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* ont été exposées à différentes concentrations de l'HE de *S. satureioides* (40, 50, 60, 70, 80, 90 ppm pour *Cx. pipiens* s.l. et 40, 60, 80, 100, 120 ppm pour *Cs. longiareolata*) pendant 24 heures.

Les résultats de l'activité larvicide, présentés dans le Tableau 21 et 22, ont montré une augmentation du taux de mortalité en fonction de l'augmentation des concentrations. Le taux de mortalité variait de 14% et 7% à 40 ppm, atteignant 100% à 90 ppm et 120 ppm chez *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata*, respectivement. Aucune mortalité n'a été observée dans les groupes témoins.

L'analyse de variance à un facteur, après transformation angulaire des pourcentages de mortalité, a révélé une différence hautement significative ($p < 0,0001$) entre les concentrations testées pour *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* (Tableaux 23 et 24). Le test HSD de Tukey a permis de regrouper les concentrations en six groupes pour *Cx. pipiens* s.l. et cinq pour *Cs. longiareolata* (Figure 25).

Les courbes dose-réponse (Figure 26), représentant la mortalité en fonction du logarithme des concentrations, ont permis d'estimer les concentrations létales (CL25, CL50 et CL90) avec leurs intervalles de confiance à 95% (Tableau 25). Les résultats indiquent que l'HE de *S. satureioides* était moins toxique pour les larves de *Cs. longiareolata* que pour celles de *Cx. pipiens* s.l.

Tableau 21: Effet toxique de l'HE de *S. satureioides* (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. après 24h d'exposition : Moyenne \pm Ecartype (n = 4 répétitions de 25 individus).

Concentration (ppm)	40	50	60	70	80	90
R 1	12	36	56	72	84	100
R 2	12	36	52	76	92	100
R 3	16	40	60	68	92	100
R 4	14	39	58	70	90	100
m \pm SD	14 \pm 2,31	39 \pm 3,83	58 \pm 5,16	70 \pm 5,17	90 \pm 4	100 \pm 0

Tableau 22: Effet toxique de l'HE de *S. saturoioides* (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cs. longiareolata* après 24h d'exposition : Moyenne \pm Ecartype (n = 4 répétitions de 25 individus).

Concentration (ppm)	40	60	80	100	120
R 1	4	44	76	92	100
R 2	4	40	72	88	100
R 3	8	40	72	92	100
R 4	12	40	80	92	100
m \pm SD	7 \pm 3,83	41 \pm 2	75 \pm 3,83	91 \pm 2	100 \pm 0

Tableau 23: Effet toxique de l'HE de *S. saturoioides* (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. après 24h d'exposition (Moyenne \pm Ecartype, n = 4 répétitions de 25 individus) : Analyse de variance à un critère de classification après transformation angulaire des pourcentages de mortalité.

Tableau d'ANOVA	SCE	ddl	CM	F _{obs}	P
Traitement	20563	5	4113	276,2	P<0,0001***
Erreur résiduelle	268	18	14,89		
Total	20831	23			

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

Tableau 24: Effet toxique de l'HE de *S. saturoioides* (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cs. longiareolata* après 24h d'exposition (Moyenne \pm Ecartype, n = 4 répétitions de 25 individus) : Analyse de variance à un critère de classification après transformation angulaire des pourcentages de mortalité.

Tableau d'ANOVA	SCE	ddl	CM	F _{obs}	P
Traitement	23667	4	5917	792,4	P<0,0001***
Erreur résiduelle	112	15	7,467		
Total	23779	19			

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

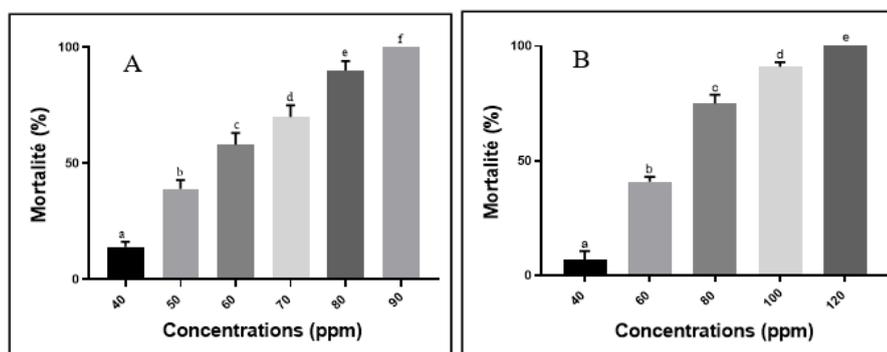


Figure 21: Effet toxique de l'HE de *S. saturoioides* (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. (A) et *Cs. longiareolata* (B) après 24h d'exposition : Moyenne ± Ecartype (n = 4 répétitions de 25 individus). Les différentes lettres indiquent une différence significative (p < 0,05) (le test HSD de Tukey).

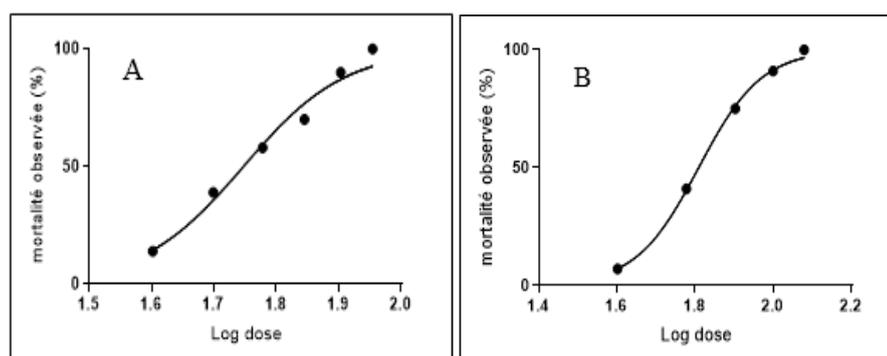


Figure 22: Effet toxique de l'HE de *S. saturoioides* sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. (A) et *Cs. longiareolata* (B) après 24h d'exposition : Courbe dose-réponse montrant le pourcentage de mortalité observée en fonction du logarithme des concentrations.

Tableau 25: Concentrations létales (ppm) de l'HE de *S. saturoioides* appliquées sur les larves du 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. et de *Cs. longiareolata* après 24h d'exposition.

Espèce	CL25 (ppm) 95% IC	CL50 (ppm) 95% FL	CL90 (ppm) 95% FL	Hill Slope	R ²
<i>Cx. pipiens</i> s.l.	45.43 (39.96 - 50.19)	55.87 (51.81 - 59.87)	84.52 (74.4 - 99.37)	5.31	0.98
<i>Cs. longiareolata</i>	52.6 (49.34 - 55.68)	64.48 (61.89 - 67.06)	96.91 (89.81 - 105.1)	5.39	0.99

R²- Coefficient de détermination
Intervalle de confiance (95%)

2.3.3. Activité larvicide de l'HE de *P. anisum*

Les larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* ont été exposées pendant 24 heures à différentes concentrations de l'HE de *P. anisum* (10, 20, 30, 40, 50 ppm pour *Cx. pipiens* s.l. et 20, 30, 40, 50 ppm pour *Cs. longiareolata*). Les résultats de l'activité larvicide, présentés dans les tableaux 26 et 27, montraient une augmentation du taux de mortalité en fonction de l'augmentation des concentrations. La mortalité variait de 8% pour *Cx. pipiens* s.l. et 12% pour *Cs. longiareolata* aux plus faibles concentrations (10 et 20 ppm, respectivement), pour atteindre 100% et 97% à 50 ppm chez *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata*, respectivement. Aucune mortalité n'a été observée dans les groupes témoins.

L'analyse de variance à un facteur, réalisée après transformation angulaire des pourcentages de mortalité, a révélé une différence hautement significative ($p < 0,0001$) entre les concentrations testées pour les deux espèces (Tableaux 28 et 29). Le test HSD de Tukey a permis de regrouper les concentrations en cinq groupes pour *Cx. pipiens* s.l. et quatre groupes pour *Cs. longiareolata* (Figure 27).

Les courbes dose-réponse (Figure 28), représentant la mortalité en fonction du logarithme des concentrations, ont permis d'estimer les concentrations létales avec leurs intervalles de confiance à 95% (Tableau 30). Les résultats indiquent que *Cx. pipiens* s.l. semblait être l'espèce la plus sensible à cette HE.

Tableau 26: Effet toxique de l'HE de *P. anisum* (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. après 24h d'exposition : Moyenne \pm Ecartype (n = 4 répétitions de 25 individus).

Concentration (ppm)	10	20	30	40	50
R 1	4	44	72	96	100
R 2	8	40	76	88	100
R 3	12	40	72	88	100
R 4	8	36	64	92	100
m \pm SD	8 \pm 3,26	40 \pm 2,26	71 \pm 5,03	91 \pm 3,82	100 \pm 0

Tableau 27: Effet toxique de l'HE de *P. anisum* (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cs. longiareolata* après 24h d'exposition : Moyenne \pm Ecartype (n = 4 répétitions de 25 individus).

Concentration (ppm)	20	30	40	50
R 1	16	44	76	96
R 2	12	40	76	96
R 3	12	48	72	96
R 4	8	40	68	100
m \pm SD	12 \pm 3,26	43 \pm 3,83	73 \pm 3,83	97 \pm 2

Tableau 28: Effet toxique de l'HE de *P. anisum* (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. après 24h d'exposition (Moyenne \pm Ecartype, n = 4 répétitions de 25 individus) : Analyse de variance à un critère de classification après transformation angulaire des pourcentages de mortalité.

Tableau d'ANOVA	SCE	ddl	CM	F _{obs}	P
Traitement	11734	4	2934	337,2	P<0,0001***
Erreur résiduelle	130,5	15	8,7		
Total	11865	19			

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

Tableau 29: Effet toxique de l'HE de *P. anisum* (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cs. longiareolata* après 24h d'exposition (Moyenne \pm Ecartype, n = 4 répétitions de 25 individus) : Analyse de variance à un critère de classification après transformation angulaire des pourcentages de mortalité.

Tableau d'ANOVA	SCE	ddl	CM	F _{obs}	P
Traitement	7777	3	2592	371,8	P<0,0001***
Erreur résiduelle	83,68	12	6,973		
Total	7860	15			

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

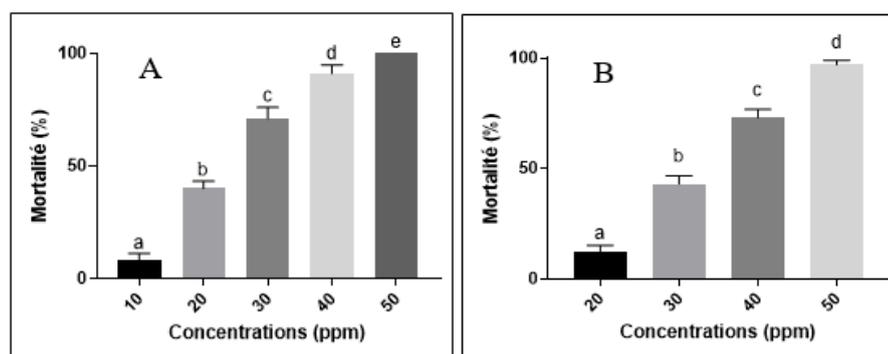


Figure 23: Effet toxique de l'HE de *P. anisum* (ppm) sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. (A) et *Cs. longiareolata* (B) après 24h d'exposition : Moyenne \pm Ecartype (n = 4 répétitions de 25 individus). Les différentes lettres indiquent une différence significative (p < 0,05) (le test HSD de Tukey).

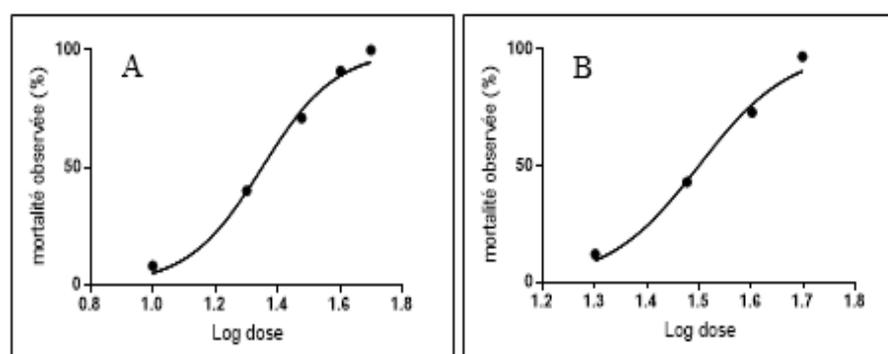


Figure 24: Effet toxique de l'HE de *P. anisum* sur la mortalité (%) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. (A) et *Cs. longiareolata* (B) après 24h d'exposition : Courbe dose-réponse montrant le pourcentage de mortalité observée en fonction du logarithme des concentrations.

Tableau 30: Concentrations létales (ppm) de l'HE de *P. anisum* appliquées sur les larves du 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. et de *Cs. longiareolata* après 24h d'exposition.

Espèce	CL25 (ppm) 95% IC	CL50 (ppm) 95% FL	CL90 (ppm) 95% FL	Hill Slope	R ²
<i>Cx. pipiens</i> s.l.	16,58 (13,39 - 19,49)	22,42 (19,74 - 25)	41,01 (33,64 - 51,65)	3,64	0.99
<i>Cs. longiareolata</i>	25,34 (18,79 - 30,78)	31,6 (26,75 - 36,31)	49,13 (37,58 - 72,85)	4,98	0.98

R²- Coefficient de détermination
Intervalle de confiance (95%)

2.4. Efficacité comparée des HEs à l'égard de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata*

En tenant compte des concentrations létales (CL25, CL50 et CL90) des HEs testées sur les larves de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata*, les résultats montrent que l'HE de *P. anisum* était la plus toxique, suivie par celles de *C. citratus* et de *S. satureioides*. De plus, *Cs. longiareolata* s'est révélé être l'espèce la plus résistante aux trois HEs testées (Tableau 31).

Tableau 31: Les concentrations létales (CL25, CL50 et CL90) des HEs extraites de *C. citratus*, *S. satureioides* et *P. anisum* sur les larves du 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. et de *Cs. longiareolata* après 24h d'exposition.

Plantes testées	Espèce	CL25 (ppm)	CL50 (ppm)	CL90 (ppm)
<i>Cymbopogon citratus</i>	<i>Cx. pipiens</i> s.l.	42,88 (34,32 - 50,52)	59,96 (52,8 - 67,09)	117,2 (94,88 - 151,5)
	<i>Cs. longiareolata</i>	63,82 (57,76 - 69,28)	78,6 (73,98 - 83,18)	119,2 (107,1 - 134,9)
<i>Saccocalyx satureioides</i>	<i>Cx. pipiens</i> s.l.	45,43 (39,96 - 50,19)	55,87 (51,81 - 59,87)	84,52 (74,4 - 99,37)
	<i>Cs. longiareolata</i>	52,6 (49,34 - 55,68)	64,48 (61,89 - 67,06)	96,91 (89,81 - 105,1)
<i>Pimpinella anisum</i>	<i>Cx. pipiens</i> s.l.	16,58 (13,39 - 19,49)	22,42 (19,74 - 25)	41,01 (33,64 - 51,65)
	<i>Cs. longiareolata</i>	25,34 (18,79 - 30,78)	31,6 (26,75 - 36,31)	49,13 (37,58 - 72,85)

2.5. Effet de l'HE de *S. satureioides* sur la croissance des larves du 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata*

L'HE de *S. satureioides* a été sélectionnée pour évaluer son effet à des concentrations létales spécifiques (CL25 et CL50), sur le poids corporel et les paramètres biochimiques, notamment les teneurs en glucides, lipides et protéines, des larves de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata*. Cette étude vise à combler le manque de données approfondies sur l'activité larvicide de cette plante, tout en offrant un aperçu des mécanismes d'action potentiels.

2.5.1. Effet de l'HE de *S. saturoioides* sur le poids corporel

Les résultats obtenus indiquent que l'HE de *S. saturoioides* induisait une diminution significative du poids corporel des larves de *Cx. pipiens* s.l. après 24 heures d'exposition en fonction de l'augmentation des concentrations ($p = 0,007$). Chez *Cs. longiareolata*, la réduction du poids était encore plus marquée entre le témoin et les groupes traités, avec une valeur de p extrêmement faible ($p < 0,0001$), confirmant que cette augmentation était hautement significative (Tableau 32).

Tableau 32: Effet de l'HE de *S. saturoioides* (CL25, CL50) sur le poids corporel (mg) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* après 24 heures d'exposition (Moyenne \pm Ecartype, $n = 3$ répétitions de 10 individus).

Poids corporel (mg)				
Espèces	Témoins	CL25	CL50	P
<i>Cx. pipiens</i> s.l.	3,43 \pm 0,5 a	2,79 \pm 0,12 ab	2,14 \pm 0,14 b	0,007
<i>Cs. longiareolata</i>	6,40 \pm 0,05 a	5,98 \pm 0,11 b	4,94 \pm 0,15 c	<0,0001

Les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$ (post hoc LSD).

2.5.2. Effet de l'HE de *S. saturoioides* sur le taux des glucides

La quantité des glucides dans les larves a été déterminée à l'aide de la droite de régression établie à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 29). Chez *Cx. pipiens* s.l., une diminution significative des taux des glucides a été observée entre le groupe témoin et les groupes traités CL25 et CL50 ($p = 0,014$). De manière encore plus marquée, chez *Cs. longiareolata*, les taux des glucides diminuaient significativement avec l'augmentation des doses de traitement ($p = 0,006$) (Tableau 33).

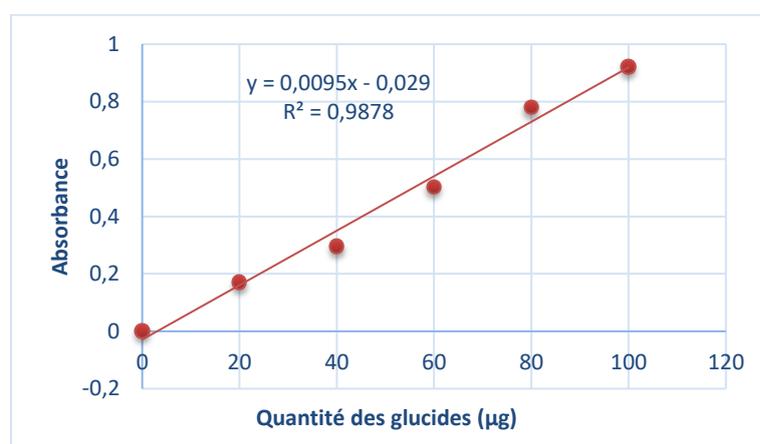


Figure 25: Dosage des glucides : Courbe de régression de l'absorbance en fonction des quantités de glucose (µg) (R2 : coefficient de détermination).

Tableau 33: Effet de l'HE de *S. saturoioides* (CL25, CL50) sur la concentration des glucides (µg/mg) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* après 24 heures d'exposition (Moyenne ± Ecartype, n = 3 répétitions de 10 individus).

Quantité des glucides (µg/mg)				
Espèces	Témoins	CL25	CL50	P
<i>Cx. pipiens</i> s.l.	15,13±0,67 a	12,18 ± 0,47 ab	9,43 ± 1,54 b	0,014
<i>Cs. longiareolata</i>	21,32 ± 0,68 a	20,63 ± 1,68 a	16,89 ± 0,76 b	0,006

Les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) (post hoc LSD).

2.5.3. Effet de l'HE de *S. saturoioides* sur le taux des lipides

La courbe d'étalonnage a permis de quantifier les lipides dans les larves des groupes témoin et traités (Figure 30). Les taux des lipides augmentaient de manière non significative chez *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* du groupe témoin aux groupes traités par la CL25 et CL50 ($p = 0,09$ et $p = 0,66$, respectivement) (Tableau 34).

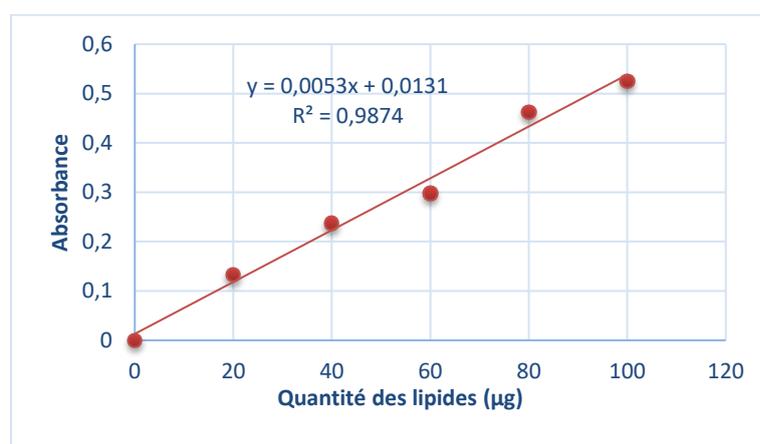


Figure 26: Dosage des lipides : Courbe de régression de l’absorbance en fonction des quantités des lipides (µg) (R2 : coefficient de détermination).

Tableau 34: Effet de l’HE de *S. saturoioides* (CL25, CL50) sur la concentration des lipides (µg/mg) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* après 24 heures d’exposition (Moyenne ± Ecartype, n = 3 répétitions de 10 individus).

Quantité des lipides (µg/mg)				
Espèces	Témoins	CL25	CL50	P
<i>Cx. pipiens</i> s.l.	8,76 ± 1,85 a	10,46 ± 1,38 a	12,5 ± 1,8 a	0,09
<i>Cs. longiareolata</i>	13,63 ± 1,38 a	14,61 ± 0,91 a	16,44 ± 1,18 a	0,66

Les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) (post hoc LSD).

2.5.4. Effet de l’HE de *S. saturoioides* sur le taux des protéines

La courbe d’étalonnage a permis de mesurer les taux des protéines (Figure 31). Chez *Cx. pipiens* s.l., les taux des protéines présentaient une diminution significative entre le groupe témoin et les groupes traités ($p = 0,037$). De même, une diminution significative des protéines est également observée entre le groupe témoin et les groupes traités de *Cs. longiareolata* ($p = 0,013$) (Tableau 35).

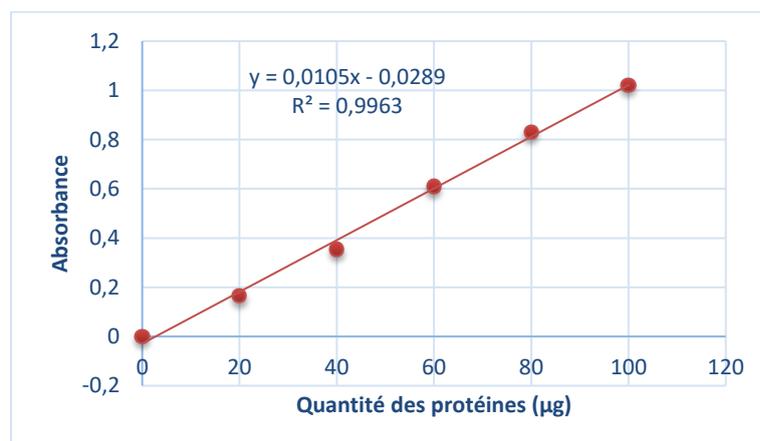


Figure 27: Dosage des protéines : Courbe de régression de l'absorbance en fonction des quantités d'albumine (µg) (R² : coefficient de détermination).

Tableau 35: Effet de l'HE de *S. saturoioides* (CL25, CL50) sur la concentration des protéines (µg/mg) des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* après 24 heures d'exposition (Moyenne ± Ecartype, n = 3 répétitions de 10 individus).

Quantité des protéines (µg/mg)				
Espèces	Témoins	CL25	CL50	P
<i>Cx. pipiens</i> s.l.	29,99 ± 4,85 a	28,92 ± 2,85 ab	21,34 ± 1,33 b	0,037
<i>Cs. longiareolata</i>	35,07 ± 2,85 a	33,07 ± 0,36 ab	29 ± 0,82 b	0,013

Les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) (post hoc LSD).

Discussion

Discussion

1. Caractérisation du complexe *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae)

1.1. Caractérisation écologique et moléculaire

Les deux formes de *Cx. pipiens* (*pipiens* et *molestus*), bien que morphologiquement similaires, présentent des différences comportementales, physiologiques et trophiques qui influencent leur capacité vectorielle. L'hybridation entre ces formes pourrait accroître leur potentiel vectoriel, renforçant ainsi leur importance en médecine humaine et vétérinaire (Ohashi *et al.*, 2014; Shaikovich *et al.*, 2016; Tewfick *et al.*, 2019).

Cette étude a mis en évidence que le microsatellite CQ11 identifiait à la fois les formes *pipiens* et *molestus*, ainsi que leurs hybrides, coexistant dans les mêmes sites de reproduction. En particulier, la forme *pipiens* montrait une préférence pour les habitats épigés avec une nette prédilection pour les zones rurales. En revanche, bien que la forme *molestus* ait longtemps été considérée comme strictement anthropophile et confinée aux sites de reproduction souterrains, nos observations ont révélé qu'elle peut également coloniser des habitats épigés. Des résultats similaires ont été rapportés par Beji *et al.* (2017) en Tunisie, qui ont rapporté la coexistence des formes *pipiens* et *molestus*, ainsi que de leurs hybrides, dans des sites épigés. Ces observations concordent avec celles de Vogels *et al.* (2015), qui ont également identifié *Cx. p. pipiens* et *Cx. p. molestus* en sympatrie dans des habitats en surface aux Pays-Bas. En Roumanie, une sympatrie des deux biotypes dans les habitats épigés a été également observée, bien que le nombre d'hybrides détecté soit faible, ce qui suggère l'existence d'un isolement reproductif (Tiron *et al.*, 2021). Dans d'autres régions d'Afrique du Nord et d'Amérique du Sud, les deux biotypes coexistent dans divers habitats urbains, suburbains et ruraux, tant dans les sites de reproduction aériens que souterrains (Amraoui *et al.*, 2012; Fros *et al.*, 2015; Amara Korba *et al.*, 2016; Alvial *et al.*, 2024).

La prédominance de la forme *molestus*, ainsi que l'absence des hybrides (Cardo *et al.*, 2020) et de la forme *pipiens* dans les sites hypogés (Krida *et al.*, 2015) s'expliquent probablement par l'influence de plusieurs facteurs environnementaux.

La température annuelle moyenne et la photopériode sont deux facteurs clés qui régulent le cycle de vie et les comportements reproductifs des moustiques. De plus, l'urbanisation modifie les habitats naturels en affectant la végétation et les sources alimentaires, tout en créant de nouveaux sites de reproduction tels que les infrastructures souterraines. Ces facteurs combinés influencent la distribution des différentes formes. Reusken *et al.* (2010) ont fourni les premières preuves de la présence de *Cx. p. molestus* et d'hybrides en Europe du Nord, où les biotypes et leurs hybrides coexistaient au sein des mêmes sites souterrains. En revanche, dans le sud de l'Europe, leur coexistence n'a été observée qu'en surface (Gomes *et al.*, 2009; Osório *et al.*, 2014). Di Luca *et al.* (2016) ont démontré la présence d'hybrides en Europe du Nord et du Centre, suggérant que les deux biotypes peuvent également se croiser à des latitudes élevées, permettant ainsi un flux génétique entre les populations de surface et souterraines dans des conditions environnementales favorables.

Par ailleurs, dans la présente étude, l'analyse moléculaire réalisée par l'amplification du gène COI suivie du séquençage des spécimens de *Cs. longiareolata* a révélé l'existence de cinq haplotypes, chacun caractérisé par une variation nucléotidique unique. Ces légères variations génétiques traduisent un faible niveau de polymorphisme, reflétant une forte homogénéité génétique des populations dans la zone d'étude. Une étude menée par Günay (2015) en Turquie, portant sur des populations de *Cs. longiareolata* collectées dans différentes villes, a identifié 13 haplotypes au sein de cette espèce, soulignant une diversité génétique plus importante. Les résultats du BLAST ont également mis en évidence une forte similarité génétique avec des populations d'autres régions du monde. Les séquences obtenues présentaient une identité de 99,82 % à 100 % avec la séquence MW577644.1 provenant d'Algérie. Par ailleurs, elles montraient également une similarité de 99,85 % à 100 % avec la séquence MN005050 de Grèce et de 99,70 % à 100 % avec la séquence MK713984.1 de Turquie. Cependant, des variations génétiques importantes ont été observées au sein des différentes populations de *Cs. longiareolata*, sur la base des fragments ITS2 et COI, ce qui nécessite des recherches supplémentaires pour déterminer si des espèces cryptiques existent au sein de ce taxon morphologiquement homogène (Soltanbeiglu *et al.*, 2020).

1.2. Caractérisation biologique de la reproduction

Le comportement de l'autogénie peut affecter différents paramètres de transmission des agents pathogènes, tels que l'augmentation de la population des vecteurs et la réduction de la période d'apparition des agents pathogènes (Khaligh *et al.*, 2020).

Nos résultats ont montré que l'autogénie est observée chez les femelles collectées aussi bien dans les habitats aériens que souterrains, bien que son expression soit significativement plus élevée dans les habitats hypogés. Cela peut s'expliquer par l'adaptation des moustiques à des environnements où les sources de repas sanguins sont limitées, favorisant ainsi le développement de l'autogénie (Kassim *et al.*, 2012).

Des adaptations similaires ont été décrites dans des études menées en Algérie (Amara Korba *et al.*, 2016), au Maroc (Krida *et al.*, 2015), en Tunisie (Beji *et al.*, 2017) et au Portugal (Gomes *et al.*, 2009), où un faible pourcentage de femelles issues de sites épigés montrait un comportement autogène. Cette faculté d'adaptation est liée à la capacité de *Cx. pipiens* à mobiliser des réserves énergétiques du stade larvaire pour produire des œufs autogènes. Certaines espèces autogènes de moustiques pouvaient tout de même prendre un repas de sang avant de pondre leur premier lot d'œufs, bien que cela ne soit pas nécessaire au développement de ces œufs (Sweeney & Russell, 1973).

Dans notre étude, la forme *molestus* montrait les taux les plus élevés d'autogénie dans les deux types de sites, aussi bien épigés qu'hypogés. Cette forte prévalence est liée à la proportion élevée de la forme *molestus* dans ces habitats, confirmant des observations similaires faites en Italie, en Australie et en Californie (Kassim *et al.*, 2012; Nelms *et al.*, 2013; Di Luca *et al.*, 2016). Selon Di Luca *et al.* (2016), l'autogénie apparaît dès la première génération dans les populations contenant des CQ11 *molestus* ou des hybrides CQ11. En l'absence de *molestus*, mais avec des fréquences élevées d'hybrides, des pontes autogènes ont été également observées. En revanche, dans les populations majoritairement composées de *pipiens* et présentant peu d'hybrides, aucune ponte autogène n'a été observée, ce qui conduit à une disparition progressive des colonies. Cette dynamique souligne l'importance de la présence de *molestus* ou d'hybrides pour maintenir une population autogène (Spielman, 1964).

L'adaptation de *Cx. p. molestus* aux habitats souterrains, où les opportunités pour se nourrir de sang sont limitées, favorise l'autogénie. Une étude réalisée à Shanghai a montré que l'autogénie chez *Cx. p. molestus* peut se maintenir pendant au moins 10 générations (Gao *et al.*, 2019). Cependant, Il a également été observé que certaines femelles *Cx. p. molestus* peuvent présenter un comportement anautogène, souvent attribué à une mauvaise adaptation aux conditions de laboratoire, entraînant une dissociation gonotrophique (Gomes *et al.*, 2009). Cependant, bien que cette forme présente une autogénie obligatoire, son comportement de recherche d'hôte et sa prise de repas sanguin demeurent peu étudiés (Kassim *et al.*, 2012).

Il a été également observé dans cette étude qu'aucune ponte d'œufs autogènes n'a été observée chez *Cx. p. pipiens* confirmant ainsi son comportement anautogène conformément à des résultats précédents (Amara Korba *et al.*, 2016). Cependant, certaines recherches ont démontré que, bien que rarement, des femelles de la forme *pipiens* pouvaient produire des œufs sans avoir pris de repas de sang (Beji *et al.*, 2017). Cette observation a été également rapportée au Portugal par Gomes *et al.* (2009). Contrairement aux résultats antérieurs, Dehghan *et al.* (2014) ont exclusivement observé un comportement anautogène chez les deux formes, *pipiens* et *molestus* en Iran. Dans les systèmes anautogènes, l'hormone ecdystéroïdogène et les peptides analogues à l'insuline transduisent les signaux nutritionnels en réponse à un repas de sang, déclenchant la maturation des œufs. Par ailleurs, l'autogénie est influencée par plusieurs facteurs, notamment la température, la variation géographique, la saisonnalité, la disponibilité nutritionnelle des larves, l'accès restreint aux sites de reproduction, l'absence d'hôtes pour un repas sanguin et les espaces limités pour l'accouplement (Becker *et al.*, 1999; Ariani *et al.*, 2015; Khaligh *et al.*, 2020). Cependant, bien que la disponibilité des nutriments soit un facteur clé, elle n'aboutissait jamais à une forme autogène *pipiens*, tandis qu'une disponibilité alimentaire extrêmement faible éliminait rarement l'autogénie de la forme *molestus*. Néanmoins, le nombre d'œufs autogènes produits augmentait proportionnellement avec la disponibilité des nutriments (Jarvela *et al.*, 2021). Par ailleurs la taille des radeaux d'œufs issus d'une ponte autogène était significativement plus petite que celle des œufs pondus après un repas sanguin (Clements, 1992).

En effet, cette étude a également montré que les femelles de *Cs. longiareolata* n'exprimaient pas de comportement autogène. Très peu de populations de cette espèce peuvent pondre des œufs sans avoir pris de repas sanguin, comme l'ont rapporté Van Pletzen & Van der Linde (1981) ; Al-Jaran & Katbeh-Bader (2001) et Khaligh *et al.* (2020).

Cette diversité dans les comportements reproductifs reflète l'adaptation des moustiques à leurs environnements, influençant ainsi leur dynamique populationnelle et leur potentiel vectoriel. La compréhension approfondie de ces mécanismes biologiques est essentielle pour développer des stratégies de lutte plus ciblées et efficaces.

2. Evaluation de l'effet toxique des huiles essentielles sur les larves de *Culex pipiens* s.l. et *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae)

2.1. Rendement et composition chimique des HEs

Les rendements des HEs extraites des parties aériennes des plantes étudiées variaient considérablement comme suit : *C. citratus* avec 0,9%, *S. satureioides* avec 2%, et *P. anisum* avec 4%. La présente étude a confirmé que le néral et le géraniol sont les principaux constituants de *C. citratus*. Ces résultats concordent avec plusieurs travaux antérieurs qui ont également mis en évidence la prédominance de ce chemotype dans la composition chimique de cette espèce. Cependant, des variations quantitatives de ces composés ont été observées, en fonction des régions géographiques. En Algérie, Boukhatem *et al.* (2014), ont rapporté un rendement de 0,6% pour *C. citratus*, avec 23 composés représentant 90,6% de l'huile totale, dominée par le géraniol (42,2%) et le néral (31,5%). En Egypte, l'HE extraite de *C. citratus* a présenté un rendement de 0,66%, dominée par deux composés majoritaires : le citral A (géraniol) à 42,86% et le citral B (néral) à 36,83%, parmi les 22 composants identifiés (Soliman *et al.*, 2017). Au Kenya, Matasyoh *et al.* (2011) ont également noté un rendement de 0,8%, dominé par les monoterpènes hydrocarbonés (94,25%), principalement le géraniol (39,53%), le néral (33,31%), et le myrcène (11,41%). Au Mexique, Vazquez-Briones *et al.* (2015) ont observé un rendement plus élevé de 1,5%, avec 15 composants, parmi lesquels l'oxiraneméthanol (28,4%), le néral (19,35%), et le géraniol (15,97%) sont les plus abondants. Par ailleurs, Mirghani *et al.* (2012) ont souligné que la composition chimique varie selon l'organe de la plante d'où l'huile est extraite, caractérisant 68 composés dans l'huile des tiges et 72 dans celle des feuilles, avec le géraniol, le néral, le géraniol, le limonène, et le β -myrcène comme principaux constituants.

Pour *S. satureioides*, l' α -terpinéol, le thymol, et le bornéol ont été identifiés comme composés majeurs. Aouf *et al.* (2020) ont rapporté un rendement de 2,8%, avec 28 constituants représentant 99,80% de l'HE, parmi lesquels les principaux composés sont le bornéol (25,71%), l' α -terpinéol (25,61%), le thymol (12,8%), et le camphène (10,26%). Khaldi *et al.* (2017) ont observé un rendement similaire de 2,4%, où l' α -terpinéol (32,65%) et le thymol (22,26%) se distinguaient comme composants majeurs. Ammar *et al.* (2020) ont également rapporté un rendement de 2,1%, avec une composition majoritairement dominée par le thymol (25,6%), l' α -terpinéol (24,6%), le bornéol (17,4%), et le p-cymène (11,4%).

Par ailleurs, certaines études ont relevé des rendements plus élevés. L'HE de *S. satureioides* extraite à Ain Safra, dans la région de Naâma, a présenté un rendement de 4,42%, avec 34 constituants identifiés, dont le bornéol (24,7%), le thymol (21%) et l' α -terpinéol (19,1%) comme composants majeurs (Bendimerad *et al.*, 2009). De même, l'huile obtenue dans la région de Boussaâda a révélé une composition dominée par l' α -terpinéol (32,7%), le thymol (22,8%), le bornéol (11,6%) et le carvacrol (6,9%), avec un rendement de 3,5% (Biondi *et al.*, 2006). A Zaafrane, dans la région de Djelfa, les rendements des huiles de *S. satureioides* variaient entre 2,69% et 4,88%, avec des variations des concentrations en α -terpinéol, thymol et bornéol selon la période de collecte (Souadia *et al.*, 2020). Cependant, Laouer *et al.* (2006) et Zerroug *et al.* (2011) ont également observé des rendements plus faibles de 1,5%, caractérisé par une prédominance de l' α -terpinéol, du thymol et du bornéol. Le chémotype bornéol, thymol et l' α terpinéol semble caractériser l'HE de *S. satureioides* poussant à l'état sauvage en Algérie.

Pour *P. anisum*, l'anéthol et le D-limonène se sont révélés être les composés dominants. Cependant, des études antérieures ont signalé l'existence de plusieurs chemotypes caractérisant cette HE. Pavela (2014) à Prague, a observé un rendement de 3,31%, comprenant 20 composés, dont le trans-anéthole à plus de 81% et le β -himachalène à 12,32 %. Par ailleurs, Sharifi *et al.* (2008), en Iran, ont démontré un rendement similaire de 3,3 %, avec l'E-anéthole (92,9 %), le p-allylanisol (2,2 %) et le Z- α -bisabolène (1,8 %) comme principaux composants. En Grèce, Fitsiou *et al.* (2016) ont identifié 47 composés représentant environ 99% de la surface chromatographique totale de l'HE de *P. anisum*, avec l'anéthole à 88,1%, suivi du pseudo-iso-eugényl-2-méthylbutyrate à 4,15% et du himachalène à 4,15%. Cependant, Iannarelli *et al.* (2018), en Italie, ont observé un rendement faible de 2%, de la même plante, avec le (E)-anéthole (92,8 %) et l'estragole (4,7 %) comme principaux composés.

La distillation assistée par micro-ondes a montré un bon rendement des HEs des graines d'anis, tout en réduisant le temps d'extraction et la consommation énergétique. Cette méthode a également mis en évidence la présence de composés supplémentaires dans l'HE, contribuant à l'amélioration de ses activités biologiques (Boumahdi *et al.*, 2021). D'autres études ont montré qu'un temps d'extraction prolongé peut réduire le rendement. Anastasopoulou *et al.* (2020) ont rapporté un rendement de 80 ml/kg après 1h de distillation de *P. anisum*, diminuant à 25 ml/kg après 3h entraînant des variations quantitatives dans les composants majoritaires.

Cette réduction pourrait s'expliquer par la perte de certains composés volatils dans la phase gazeuse et de composants solubles dans l'eau au cours de l'extraction.

La composition, la concentration des composants et le rendement des huiles essentielles sont déterminés par des facteurs intrinsèques et extrinsèques. Parmi les facteurs internes figurent la génétique de la plante (espèce, écotype, chimiotype), son origine, la partie utilisée, le stade de développement, la période saisonnière de récolte, ainsi que les voies métaboliques. Les facteurs externes englobent les conditions environnementales (climat, habitat, date de semis, utilisation de fertilisants), les conditions de culture (température, humidité, rayonnement, propriétés du sol, méthodes de récolte, localisation géographique), et les techniques post-récolte (séchage, méthodes d'extraction, et conditions d'analyse) (Mohamadi *et al.*, 2015; Souadia *et al.*, 2020; Kerbouche *et al.*, 2021; Draoui *et al.*, 2022).

2.2. Activités larvicides des HEs à l'égard de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* (Diptera : Culicidae)

Dans cette étude, nous avons évalué l'activité larvicide de trois HEs : *C. citratus*, *S. satureioides*, et *P. anisum* à l'égard des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. et de *Cs. longiareolata*. Les trois HEs se sont avérées toxiques et leur efficacité a été déterminée en calculant les concentrations létales, qui indiquent respectivement les concentrations nécessaires pour tuer 25, 50, et 90% des larves de moustiques ciblées. Ces indices permettent non seulement d'évaluer la puissance des HEs en tant qu'agents larvicides, mais aussi de comparer leur efficacité relative et leur potentiel d'utilisation dans des programmes de lutte contre les moustiques. Cependant, il a été constaté que *Cx. pipiens* s.l. était l'espèce la plus sensible, avec l'HE de *P. anisum* se révélant être la plus toxique.

Une étude menée par Peach *et al.* (2019) a révélé que les HEs de l'écorce de cannelle, de la citronnelle et du romarin étaient particulièrement répulsives pour *Aedes aegypti*. En combinant ces huiles, les chercheurs ont observé une synergie qui renforçait considérablement leur effet répulsif. Lors d'expériences sur le terrain, le mélange d'HE de citronnelle et d'écorce de cannelle a montré une répulsion notable envers le moustique *Culiseta incidens*. Par ailleurs, George *et al.* (2016) ont confirmé que l'application d'huile de citronnelle sur la peau de volontaires humains assurait une protection significative contre les piqûres de moustiques, avec une durée d'efficacité d'environ trois heures pendant la nuit.

De plus, des moustiques en captivité ont montré un éloignement significatif de la zone traitée, avec une répulsion de 43% après une minute et une mortalité totale après 18 minutes. En effet, il a été observé que les HEs de citronnelle et de clou de girofle provoquaient diverses aberrations morphologiques chez *Ae. aegypti*, telles que des larves déformées, une éclosion incomplète, et des nymphes anormales (Soonwera & Phasomkusolsil, 2016). En parallèle, l'HE de citronnelle, ainsi que ses composants majeurs, le citral et l'acétate de géranyle, ont démontré une toxicité élevée chez les adultes d'*Ulomoides dermestoides* (DL50 = 5,17 µg/insecte, DL50 = 4,17 µg/insecte, DL50 = 7,21 µg/insecte, respectivement) (Plata Rueda *et al.*, 2020). Le thymol (21,53 %), l' α -pinène (17,43 %) et l'o-cymène (15,37 %) sont les principaux composants de l'huile de thym, tandis que le néral (34,48 %), le gèranial (34,37 %) et le β -myrcène (12,84 %) sont les composés majoritaires de l'HE de citronnelle. Ces composants ont montré des efficacités similaires contre les ravageurs de la tomate (Ngongang *et al.*, 2022). Ces résultats sont cohérents avec ceux de Moustafa *et al.* (2021), qui ont démontré que l'HE de citronnelle également riche en α -citral et β -citral, avait une activité insecticide efficace contre les larves de 2^{ème} stade de la chenille noire (*Agrotis ipsilon*), en affectant l'activité des enzymes peroxydases et de détoxification, avec des valeurs de CL15 et CL50 respectivement de 427,67 et 2623,06 mg/l.

En outre, Alves *et al.* (2019) ont évalué les effets insecticides de l'HE de citronnelle, mettant en évidence des modifications comportementales, une diminution de la teneur en triacylglycérol, ainsi qu'une réduction des activités de l'acétylcholinestérase et de la β -estérase. Ces modifications pourraient affecter la survie de l'insecte, ainsi que le transfert des ressources énergétiques pendant l'ovogenèse et l'oviposition. Les extraits aqueux et éthanoliques de *C. citratus* et *Annona senegalensis* ont été également testés contre les larves de 3^{ème} et 4^{ème} stade de *Culex quinquefasciatus*. Les résultats ont révélé que l'extrait éthanolique de ces plantes est plus toxique, avec des CL50 et CL95 respectivement de 2.7E+07 et 0.891 ppm pour *C. citratus* et *A. senegalensis*, comparé à 2.669 et 6.656 ppm pour les extraits aqueux (Wahedi *et al.*, 2024).

Très peu d'études ont été réalisées sur l'effet insecticide de *S. satureioides*. Ammar *et al.* (2020) ont démontré les propriétés insecticides de cette plante, rapportant une efficacité significative contre *Cx. quinquefasciatus* avec des CL50 et CL90 de 62,8 ppm et 94,4 ppm, respectivement.

En parallèle, plusieurs études ont rapporté des variations notables dans les concentrations létales d'autres HEs appartenant à la famille de Lamiaceae. L'activité larvicide de *Rosmarinus officinalis* et *Lavandula angustifolia* a été démontrée par El-Kasem Bosly (2022), avec des concentrations létales CL50 de 214,97 ppm et 301,11 ppm, respectivement. Ces résultats contrastent avec ceux de Asiri *et al.* (2020) et Zeghib *et al.* (2020), qui ont rapporté une toxicité plus élevée pour ces mêmes plantes contre la même espèce, avec des valeurs de CL50 de 51,33 ppm et 29,82 ppm, respectivement. De plus, Dris *et al.* (2017) ont observé que l'HE de *Lavandula dentata* présentait une activité larvicide contre *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longaireolata*, avec des CL50 respectives de 113,38 ppm et 77,09 ppm. Giatropoulos *et al.* (2018) ont également mis en évidence l'effet toxique de 14 plantes appartenant à la famille des Lamiaceae contre *Aedes albopictus*, avec des CL50 variant entre 20,5 ppm et 147,5 ppm, et des CL90 allant de 42,3 ppm à 188,3 ppm. De même, Dahchar *et al.* (2016) et Belkhiri *et al.* (2021) ont examiné l'effet toxique des extraits aqueux de *Thymus vulgaris* et *Salvia verbenae* contre *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longaireolata*, montrant une diminution des valeurs de concentration létale avec l'augmentation du temps d'exposition.

Une recherche visant à évaluer l'efficacité des HEs commerciales d'ail (*Allium sativum*) et d'anis (*P. anisum*) contre les larves d'*Ae. aegypti* a démontré que l'HE d'ail, avec une CL50 de 0,006 ppm, était plus efficace que l'HE d'anis (CL50 = 0,023 ppm) (Sedthapong *et al.*, 2020). Pavela *et al.* (2019), ont également démontré que les HEs des Apiacées, notamment celle d'anis, caractérisée par une teneur élevée en anéthole (96,7 %), présentaient une toxicité avec des valeurs de CL50 allant de 1,45 à 4,01 ml/l contre les larves de 3^{ème} stade de *Cx. quinquefasciatus*. Par ailleurs, quatre autres HEs de la même famille (*Trachyspermum ammi*, *Smyrniolum olusatrum*, *P. anisum* et *Helosciadium nodiflorum*) ont montré des CL50 allant de 17,5 à 25,9 µl/l. Les mélanges binaires de ces HEs ont significativement réduit les taux d'émergence et la fertilité des larves survivantes de *Cx. quinquefasciatus* après traitement. Par ailleurs, des tests de toxicité réalisés sur les principaux constituants de ces huiles ont révélé des CL50 de 18,6 mg/l pour la germacrone, 33,7 mg/l pour l'isofuranodiène, et 24,8 µl/l pour l'anéthole (Benelli *et al.*, 2017). Les interactions antagonistes et synergiques des constituants des HEs peuvent avoir un impact significatif sur leur efficacité insecticide (Mir *et al.*, 2022).

Ces observations sont en accord avec les résultats d'Andrade-Ochoa *et al.* (2018), qui ont démontré que l'anéthole présentait des effets synergiques avec d'autres constituants, tout comme le carvacrol et le thymol, tandis que le limonène présente un effet antagoniste avec le pinène.

Les principaux composants de l'HE d'anis, notamment l'anéthole (E), le limonène, l'himachalène, le trans-verbenol et le linalool, ont également montré une activité insecticide contre le tribolium rouge de la farine (*Tribolium castaneum*) (Hashem *et al.*, 2020). Les activités de contact, fumigantes et de répulsion, ont été également évaluées. Les HEs de quatre espèces végétales le géranium (*Pelargonium graveolens*), l'anis (*P. anisum*), la camomille allemande (*Matricaria chamomilla*) et l'orange amère (*Citrus aurantium*) ont été évaluées contre les adultes de *Callosobruchus maculatus*. L'huile de *P. graveolens* (riche en citronellol à 27,76 % et en géraniol à 12,35 %) s'est révélée la plus efficace (CL50 = 3,5 mg/l), suivie par l'huile de *P. anisum* (trans-anisole à 86,74 %) avec une CL50 de 4,9 mg/l (Abouelatta *et al.*, 2016).

2.3. Effet de l'HE de *S. satureioides* sur la croissance des larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata*

2.3.1. Effet de l'HE de *S. satureioides* sur le poids corporel

La taille corporelle constitue un trait critique chez les moustiques, influençant leur capacité à se nourrir de sang, leur attraction pour les hôtes, et leur fécondité, tous des facteurs déterminants dans le potentiel de transmission des maladies (Farjana & Tuno, 2013). Les HEs et leurs composants actifs exercent divers modes d'action, notamment l'inhibition de la mue, la réduction du développement et de la fertilité, ainsi que la perturbation de la formation des cuticules (Bakkali Aissaoui *et al.*, 2018). Dans la présente étude, l'application de l'HE de *S. satureioides* à des concentrations de CL25 et CL50 a induit une diminution du poids des larves de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* par rapport aux témoins non traités. Cette réduction du poids larvaire pourrait être attribuée à un processus d'absorption altéré, potentiellement causé par l'effet de l'HE sur les cellules digestives des larves (Procópio *et al.*, 2015). En outre, plusieurs études ont montré que les insecticides botaniques inhibent l'activité de diverses enzymes digestives, essentielles pour la conversion des matériaux alimentaires complexes en micromolécules nécessaires à la production d'énergie

et de métabolites pour la croissance et le développement (Yahia *et al.*, 2023). Zeghib *et al.* (2020) ont rapporté que l'HE de *Ruta officinalis* réduisait le poids des larves de *Cx. pipiens* s.l. Cette observation a été confirmée par Dris *et al.* (2017), qui ont noté des résultats similaires après un traitement avec l'HE d'*Ocimum basilicum* sur la même espèce.

De plus, l'HE de *Ruta graveolens*, à des concentrations de CL25 et CL50, réduisait de manière significative le poids corporel des larves de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata*, à toutes les périodes d'exposition testées (Bouabida & Dris, 2020; Dris & Bouabida, 2020).

2.3.2. Effet de l'HE de *S. satureioides* sur les constituants biochimiques

Les insecticides d'origine végétale affectent les concentrations de divers composants biochimiques, tels que les protéines, les glucides et les lipides, dans le corps des insectes, perturbant ainsi leur physiologie et conduisant à une réduction de leur activité ou à leur mortalité (Medhini *et al.*, 2012). Les glucides, en particulier, jouent un rôle crucial dans la physiologie des insectes, participant à des processus vitaux tels que la mue et la reproduction (Kaufmann & Brown, 2008). Outre leur conversion en graisses, les glucides sont indispensables à la synthèse des protéines et fournissent l'énergie nécessaire au vol des moustiques. La distance qu'un moustique peut parcourir dépend directement de la quantité des sucres disponibles (Yezli *et al.*, 2024). L'analyse des métabolites des larves traitées avec des concentrations létales (CL25 et CL50) de l'HE de *S. satureioides* a révélé une perturbation notable des contenus biochimiques, notamment une diminution significative des taux de glucides chez *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata*. Ces résultats concordent avec ceux obtenus pour d'autres HEs. *R. graveolens*, a également induit une réduction similaire des niveaux des glucides chez les larves de *Cs. longiareolata* (Bouabida & Dris, 2020). Des effets comparables ont été observés avec d'autres HEs, comme celles de ricin et de camphre contre *Spodoptera littoralis* (Ali & Ibrahim, 2018), *L. angustifolia* contre *Glyphodes pyloalis* (Yazdani *et al.*, 2013) et *Eucalyptus globulus* et *allium sativum* contre *Ephestia kuehniella* (Shahriari *et al.*, 2020).

La diminution des glucides chez les larves peut être attribuée à une augmentation du métabolisme des sucres pour couvrir les dépenses énergétiques sous des conditions de stress (Yazdani *et al.*, 2014). Cependant, Zeghib *et al.* (2020) ont rapporté des résultats contraires, montrant une augmentation du contenu en glucides.

Cette contradiction pourrait s'expliquer par l'induction de la glycogénolyse sous l'effet du stress provoqué par les pesticides, conduisant à une réponse caractérisée par l'élévation des taux de glucides (Shakoori *et al.*, 2019).

Les lipides constituent une source d'énergie importante pour les insectes, en particulier pour répondre aux besoins énergétiques et faire face au stress induit par les insecticides. Ils sont stockés dans les corps adipeux et leur quantité augmente pendant la période d'alimentation. Leur niveau varie également selon le stade de développement et les conditions d'alimentation des insectes (Ebadollahi *et al.*, 2013). En plus d'être une réserve énergétique, les lipides jouent un rôle structurel en formant des acides gras, des phospholipides et des stérols, composants essentiels des membranes cellulaires des insectes (Bouguerra *et al.*, 2018).

L'HE de *S. satureioides* a induit une augmentation non significative de la teneur en lipides chez les larves de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* par rapport aux témoins. Des études antérieures ont également rapporté des résultats similaires. Des traitements à l'anis et à l'huile de basilic ont montré une augmentation significative du taux des lipides dans les tissus des adultes de *Sitophilus granarius* (Abo El Makarem *et al.*, 2015). De même, L'exposition des adultes de trois espèces de *Sitophilus* à l'HE de clou de girofle a entraîné une augmentation des lipides totaux, tandis que l'huile d'anis, à la CL50, a entraîné une réduction des lipides chez les mêmes insectes (Askar *et al.*, 2016). Par ailleurs, Bouabida & Dris (2020) ont rapporté une diminution des lipides chez les larves de *Drosophila melanogaster*, *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* après traitement avec l'HE de *R. graveolens*. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus avec l'extrait d'*O. basilicum* contre les larves de *Cx. pipiens* s.l., confirmant que l'effet des HEs sur les lipides dépend de divers facteurs, tels que l'espèce d'insecte, le stade de développement et le type d'huile utilisée (Ali & Ibrahim, 2018). La réduction des lipides pourrait être attribuée à la peroxydation lipidique, ainsi qu'à une réorientation du métabolisme énergétique vers le catabolisme des lipides, induite par le stress provoqué par l'HE. Ce processus entraîne la dégradation des triglycérides en glycérol et acides gras, libérant ainsi de l'ATP et d'autres intermédiaires métaboliques (Yezli *et al.*, 2024).

Les protéines jouent un rôle essentiel dans de nombreuses réactions biologiques, notamment la régulation hormonale, et elles s'intègrent dans les cellules en tant qu'éléments structurels aux côtés des glucides et des lipides (Bouzidi *et al.*, 2019).

Medhini *et al.* (2012) ont montré que la quantité des protéines dans le corps d'un insecte est déterminée par l'équilibre entre leur biosynthèse et leur dégradation en acides aminés. Les résultats de cette étude sont conformes à ceux de Seghier *et al.* (2020), qui ont observé une réduction des protéines après le traitement des larves de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* avec l'HE de *Petroselinum crispum*. Cette diminution pourrait être due à une augmentation de la dégradation des protéines en acides aminés, permettant à l'insecte de détoxifier les constituants de l'huile et de se remettre du stress causé par les composés actifs de l'HE (Ali & Ibrahim, 2018).

Par ailleurs, Ali *et al.* (2011) ont également suggéré que la réduction des protéines pourrait également être liée à la réduction des niveaux d'ADN et d'ARN. Des résultats opposés ont été observés par Madaci *et al.* (2008), qui ont rapporté une augmentation des protéines après l'application d'extraits hydroalcooliques des feuilles de *Nerium oleander* sur les larves de vers blancs de Rhizotrogini (Coleoptera : Scarabaeidae). Une augmentation similaire a été notée chez *Cx. pipiens* s.l. traité avec l'HE de *R. officinalis* (Zeghib *et al.*, 2020), ainsi qu'avec les HEs de *Cymbopogon nardus* et *Pogostemon cablin* sur les larves d'*Ae. aegypti* (Hemanga *et al.*, 2018). L'augmentation du niveau de protéines peut s'expliquer par une intensification de leur synthèse et leur accumulation dans le corps gras, l'hémolymphe et d'autres tissus, en préparation à la synthèse des protéines cuticulaires sous le stress des insecticides (Zeghib *et al.*, 2020).

Ces effets pourraient s'expliquer par une mobilisation accrue des réserves pour répondre au stress induit par la toxicité des traitements. Cela suggère que la perturbation de ces réserves durant les stades larvaires pourrait affecter la survie, la reproduction et le potentiel vectoriel des moustiques adultes (Bouzidi, 2021).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Cette étude a apporté des contributions majeures à la compréhension et à la gestion des moustiques, en particulier *Culex pipiens* s.l. et *Culiseta longiareolata*, qui représentent des défis importants pour la santé publique en Algérie. La caractérisation moléculaire des deux espèces a permis de mieux comprendre leurs diversités biologiques et leurs comportements écologiques.

L'analyse génétique des échantillons de *Cx. pipiens* s.l. recueillis dans divers environnements urbains et ruraux a révélé que les trois biotypes (*Cx. p. pipiens*, *Cx. p. molestus* et leurs hybrides) coexistaient fréquemment en sympatrie, tant dans des habitats aériens que souterrains. La forme *pipiens*, principalement rurale et anautogène, se limitait aux sites de reproduction en surface, ce qui restreint sa capacité à se reproduire dans des environnements où l'accès aux repas sanguins est réduit. En revanche, les formes *molestus* et hybride, adaptées à divers habitats urbains et ruraux, ainsi qu'aux sites de reproduction souterrains ou de surface, montraient une prévalence marquée de l'autogénie, en particulier dans les sites hypogés. De plus, les analyses confirmaient que l'autogénie était fortement corrélée aux sites de reproduction souterrains. Par ailleurs, *Cs. longiareolata* présentait une forte homogénéité génétique, dans les populations étudiées. L'absence de comportement autogène chez cette espèce souligne une stratégie de reproduction dépendante des repas sanguins.

Le deuxième volet de cette étude a exploré les propriétés insecticides des huiles essentielles extraites de *Cymbopogon citratus*, *Saccocalyx satureioides* et *Pimpinella anisum*. Les analyses par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) ont permis d'identifier les composés bioactifs responsables de leurs effets insecticides. L'efficacité de ces huiles contre les larves de 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* s.l. et *Cs. longiareolata* a été évaluée, confirmant leur potentiel en tant qu'alternatives aux insecticides chimiques conventionnels. En particulier, l'huile essentielle de *S. satureioides* a montré un impact significatif sur les paramètres morphométriques et biochimiques des larves, perturbant leurs processus métaboliques et entraînant une altération de leur croissance et de leur développement.

Cette étude ouvre des perspectives prometteuses sur les plans moléculaire et toxicologique. L'analyse génétique des populations des moustiques contribuera à une meilleure compréhension de leur dynamique et de leur adaptation, tout en permettant d'optimiser les stratégies de lutte.

Il serait pertinent d'intégrer des analyses moléculaires pour identifier les gènes de résistance aux insecticides, afin d'adapter les stratégies de lutte. Par ailleurs, étendre les analyses moléculaires à d'autres régions permettrait de vérifier si l'uniformité génétique observée chez *Cs. longiareolata* est une caractéristique générale ou spécifique aux populations étudiées. En complément, tester les principaux composés actifs des huiles essentielles ou explorer leur nanoencapsulation ouvrirait de nouvelles perspectives pour une lutte antivectorielle plus efficace. De plus, mesurer des biomarqueurs de neurotoxicité (AChE, GST) et étudier les effets histologiques sur les larves permettraient de mieux comprendre les mécanismes d'action de ces biopesticides.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- Abdelali, S. K., Souttou, K., Kacimi-Elhassani, M., Aissaoui, L., & Bendachou, H. (2023). Chemical composition of *Artemesia herba-alba* essential oil and its larvicidal and pupicidal effects against *Culex pipiens* (Diptera; Culicidae). *Actualidades Biológicas*, 45(118).
- Abo El Makarem, H., Kholly, S., Abdel-Latif, A. et Seif, A. I. (2015). Physiological and biochemical effects of some essential oils on the granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera : Curculionidae). *The Egyptian Society of Experimental Biology*, 11, 117-123.
- Abouelatta, A. M., Abou-Elghar, G. E., Elzun, H. M., & Rizk, A. M. (2016). Insecticidal activity of crude essential oils of four aromatic plants against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). *Minufiya J Agric Res*, 41(2), 203-216.
- Achee, N. L., Gould, F., Perkins, T. A., Reiner, R. C., Morrison, A. C., Ritchie, S. A., Gubler, D. J., Teysou, R., & Scott, T. W. (2015). A Critical Assessment of Vector Control for Dengue Prevention. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 9(5), e0003655. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003655>
- Adeniran, A. A., Hernández-Triana, L. M., Ortega-Morales, A. I., Garza-Hernández, J. A., Cruz-Ramos, J. D. L., Chan-Chable, R. J., Vázquez-Marroquín, R., Huerta-Jiménez, H., Nikolova, N. I., Fooks, A. R., & Rodríguez-Pérez, M. A. (2021). Identification of mosquitoes (Diptera : Culicidae) from Mexico State, Mexico using morphology and COI DNA barcoding. *Acta Tropica*, 213, 105730. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105730>
- Adhikary, K., Banerjee, P., Barman, S., Bandyopadhyay, B., & Bagchi, D. (2024). Nutritional aspects, chemistry profile, extraction techniques of Lemongrass Essential Oil and it's physiological benefits. *Journal of the American Nutrition Association*, 43(2), 183-200. <https://doi.org/10.1080/27697061.2023.2245435>
- Agbor, O. V., Idowu, T. E., Fagbohun, K. I., Oyenyi, A. T., Jimoh, R. T., & Otubanjo, A. O. (2020). molecular identification and insecticide resistance status of *Culex* mosquitoes collected from blocked drainages in Lagos State, Nigeria. *Pan African Journal of Life Sciences*, 4(1), 1-6. [https://doi.org/10.36108/pajols/0202/40\(0110\)](https://doi.org/10.36108/pajols/0202/40(0110))
- Aissaoui, L., & Boudjelida, H. (2017). Diversity and distribution of Culicinae fauna in Tebessa district (North-East of Algeria). *International Journal of Mosquito Research*, 4(1): 07-12.
- Ajaegbu, E. E., Ikuesan, A. J., Nduka, F. O., Nwigwe, J. O., Ezeagha, C. C., Enyi, N. C., & Ezeagwu, P. C. (2022). Mosquitoes' larvicidal activity of *Phoenix dactylifera* Linn extracts against *Aedes aegypti*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 10(4), 54-58. <https://doi.org/10.22271/j.ento.2022.v10.i4a.9035>
- Al- Wendawi, Sh. A., Gharb, L. A., & Al Ghrery, R. S. (2021). Antioxidant, antibacterial and antibiofilm potentials of Anise (*Pimpinella Anisum*) seeds extracted essential oils. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, 52(2), 348-358. <https://doi.org/10.36103/ijas.v52i2.1296>

- Alhaithloul, H. A. S., Alqahtani, M. M., Abdein, M. A., Ahmed, M. A. I., Hesham, A. E.-L., Aljameeli, M. M. E., Al Mozini, R. N., Gharsan, F. N., Hussien, S. M., & El-Amier, Y. A. (2023). Rosemary and neem methanolic extract : Antioxidant, cytotoxic, and larvicidal activities supported by chemical composition and molecular docking simulations. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1155698. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1155698>
- Ali, M. A., & Ibrahim, A. M. A. (2018). Castor and camphor essential oils alter hemocyte populations and induce biochemical changes in larvae of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera :Noctuidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 21(2), 631-637. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2018.04.005>
- Ali, N. S., Ali, S. S., & Shakoori, A. R. (2011). Effects of sublethal doses of Talstar on biochemical components of Malathion-Resistant and susceptible adults of *Rhyzopertha dominic*. *Pakistan Journal of Zoology*, 43(5).
- Aljaafari, M. N., AlAli, A. O., Baqais, L., Alqubaisy, M., AlAli, M., Molouki, A., Ong-Abdullah, J., Abushelaibi, A., Lai, K.-S., & Lim, S.-H. E. (2021). An overview of the potential therapeutic applications of essential oils. *Molecules*, 26(3), 628. <https://doi.org/10.3390/molecules26030628>
- Al-Jaran, T. Kh., & Katbeh-Bader, A. M. (2001). Laboratory studies on the biology of *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera : Culicidae). *Aquatic Insects*, 23(1), 11-22. <https://doi.org/10.1076/aqin.23.1.11.4928>
- Aljedan, D. M. (2021). effects of some insecticides (Deltamethrin and Malathion) and Lemongrass oil on fruit fly (*Drosophila melanogaster*). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 24(4), 477-491. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2021.477.491>
- Alves, G., Troco, A. D., Seixas, G., Pabst, R., Francisco, A., Pedro, C., Garcia, L., Martins, J. F., & Lopes, S. (2024). Molecular and entomological surveillance of malaria vectors in urban and rural communities of Benguela Province, Angola. *Parasites & Vectors*, 17(1), 112. <https://doi.org/10.1186/s13071-024-06214-8>
- Alves, M. D. S., Campos, I. M., Brito, D. D. M. C. D., Cardoso, C. M., Pontes, E. G., & Souza, M. A. A. D. (2019). Efficacy of lemongrass essential oil and citral in controlling *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Chrysomelidae), a post-harvest cowpea insect pest. *Crop Protection*, 119, 191-196. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.02.007>
- Alvial, I. E., Hernández-P, R., Suazo, M. J., González, C. R., & Benítez, H. A. (2024). Unraveling biotypes of the northern house mosquito, *Culex pipiens* s.l. (Diptera : Culicidae): Molecular differentiation and morphometric analysis. *Journal of Insect Science*, 24(1), 7.
- Amara Korba, R., Alayat, M. S., Bouiba, L., Boudrissa, A., Bouslama, Z., Boukraa, S., Francis, F., Failloux, A.-B., & Boubidi, S. C. (2016). Ecological differentiation of members of the *Culex pipiens* complex, potential vectors of West Nile virus and Rift Valley fever virus in Algeria. *Parasites & Vectors*, 9(1), 455. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1725-9>
- Amer, A., & Aly, U. (2019). Antioxidant and antibacterial properties of anise (*Pimpinella anisum* L.). *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 18(1), 68. https://doi.org/10.4103/epj.epj_44_18
- Ammar, S., Noui, H., Djamel, S., Madani, S., Maggi, F., Bruno, M., Romano, D., Canale, A., Pavela, R., & Benelli, G. (2020). Essential oils from three Algerian medicinal plants (*Artemisia campestris*, *Pulicaria arabica*, and *Saccocalyx satureioides*) as new botanical insecticides? *Environmental Science and Pollution Research*, 27(21), 26594-26604. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09064-w>

- Ammour, F. Z. (2023).** Contribution à l'étude de l'effet fertilo-améliorateur des huiles essentielles du mélange de plante chez le bélier (*Pimpinella anisum*). Thèse de Doctorat en Sciences Vétérinaires. Université Ibn Khaldoun Tiaret, Algérie, 130 p.
- Amna, R., Adjami, Y., Brahim, M., Khamsa, K., Abdelhakim, R., Kamel, R., & Ouakid, Mohammed. L. (2023).** Update on the distribution and the status the Asian tiger mosquito (*Aedes albopictus*) on the population of Culicidae in the North-east of Algeria. *13*, 17-27. https://doi.org/10.15421/2023_420
- Amraoui, F., Tijane, M., Sarih, M., & Failloux, A.-B. (2012).** Molecular evidence of *Culex pipiens* form *molestus* and hybrids *pipiens/molestus* in Morocco, North Africa. *Parasites & Vectors*, *5*(1), 83. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-83>
- An, N. T. G., Huong, L. T., Satyal, P., Tai, T. A., Dai, D. N., Hung, N. H., Ngoc, N. T. B., & Setzer, W. N. (2020).** Mosquito larvicidal activity, antimicrobial activity, and chemical compositions of essential oils from four species of Myrtaceae from Central Vietnam. *Plants*, *9*(4), 544. <https://doi.org/10.3390/plants9040544>
- Anastasopoulou, E., Graikou, K., Ganos, C., Calapai, G., & Chinou, I. (2020).** *Pimpinella anisum* seeds essential oil from Lesvos Island: Effect of hydrodistillation time, comparison of its aromatic profile with other samples of the Greek market. Safe use. *Food and Chemical Toxicology*, *135*, 110875. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110875>
- Andrade-Ochoa, S., Sánchez-Aldana, D., Chacón-Vargas, K. F., Rivera-Chavira, B. E., Sánchez-Torres, L. E., Camacho, A. D., Noguera-Torres, B., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2018).** Oviposition deterrent and larvicidal and pupaecidal activity of seven essential oils and their major components against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera : Culicidae): Synergism–antagonism Effects. *Insects*, *9*(1), 25. <https://doi.org/10.3390/insects9010025>
- Aouf, A., Ali, H., Al-Khalifa, A. R., Mahmoud, K. F., & Farouk, A. (2020).** Influence of nanoencapsulation using high-pressure homogenization on the volatile constituents and anticancer and antioxidant activities of algerian *Saccocalyx satireioides* Coss. et Durieu. *Molecules*, *25*(20), 4756. <https://doi.org/10.3390/molecules25204756>
- Araújo, H., Carvalho, D., Ioshino, R., Costa-da-Silva, A., & Capurro, M. (2015).** *Aedes aegypti* control strategies in Brazil : Incorporation of new technologies to overcome the persistence of Dengue epidemics. *Insects*, *6*(2), 576-594. <https://doi.org/10.3390/insects6020576>
- Ariani, C. V., Smith, S. C. L., Osei-Poku, J., Short, K., Juneja, P., & Jiggins, F. M. (2015).** Environmental and genetic factors determine whether the mosquito *Aedes aegypti* Lays eggs without a blood meal. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *92*(4), 715-721. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0471>
- Arich, S., Haba, Y., Assaid, N., Fritz, M. L., McBride, C. S., Weill, M., Taki, H., Sarih, M., & Labbé, P. (2022).** No association between habitat, autogeny and genetics in Moroccan *Culex pipiens* populations. *Parasites & Vectors*, *15*(1), 405. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05469-3>
- Arista-Jalife, A., Nakano, M., Garcia-Nonoal, Z., Robles-Camarillo, D., Perez-Meana, H., & Arista-Viveros, H. A. (2020).** *Aedes* mosquito detection in its larval stage using deep neural networks. *Knowledge-Based Systems*, *189*, 104841. <https://doi.org/10.1016/j.knsys.2019.07.012>
- Asiri, B. M., Al-Ansari, S. Q., & Edrees, N. O. (2020).** Evaluation of toxicological effects of some plant oils and diesel oil on some biological aspects of *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) larvae. *Life Science Journal*, *17*(9), 57-70.

- Askar, S. I., Al-Assaal, M. S., & Nassar, A. M. (2016). Efficiency of some essential oils and insecticides in the control of some Sitophilus insects (Coleoptera : Curculionidae). *Egyptian Journal of Plant. Protection Research*, 4(2), 39-55.
- Azari-Hamidian, S., Norouzi, B., & Harbach, R. E. (2019). A detailed review of the mosquitoes (Diptera : Culicidae) of Iran and their medical and veterinary importance. *Acta Tropica*, 194, 106-122. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.03.019>
- Bahnck, C. M., & Fonseca, D. M. (2006). Rapid assay to identify the two genetic forms of *Culex pipiens* L.(Diptera : Culicidae) and hybrid populations. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 75(2), 251-255.
- Bakkali Aissaoui, A., Amrani, A. E., Zantar, S., & Toukour, L. (2018). Activité acaricide des huiles essentielles du *Mentha Pulegium*, *Origanum Compactum* et *Thymus Capitatus* sur l'acarien phytophage *Tetranychus Urticae* Koch (Acari : Tetranychidae). *European Scientific Journal, ESJ*, 14(3), 118. <https://doi.org/10.19044/esj.2018.v14n3p118>
- Batovska, J., Blacket, M. J., Brown, K., & Lynch, S. E. (2016). Molecular identification of mosquitoes (Diptera : Culicidae) in southeastern Australia. *Ecology and Evolution*, 6(9), 3001-3011. <https://doi.org/10.1002/ece3.2095>
- Becker, N., Jöst, A., & Weitzel, T. (2012). The *Culex pipiens* complex in Europe. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 28(4s), 53-67. <https://doi.org/10.2987/8756-971X-28.4s.53>
- Becker, N., Jost, A., Weitzel, T., & Rettich, K. (1999). Exploiting the biology of urban mosquitoes for their control. *Proceedings of the 3rd International Conference on Urban Pests. Czech University of Agriculture, Prague, Czech Republic*, 19, 425-429.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Madon, M., Dahl, C., & Kaiser, A. (2010). Mosquitoes and Their Control. *Springer Berlin Heidelberg*. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-92874-4>
- Beebe, N. W. (2020). DNA barcoding mosquitoes : Advice for potential prospectors – CORRIGENDUM. *Parasitology*, 147(1), 126-126. <https://doi.org/10.1017/S0031182018000859>
- Beji, M., Rhim, A., Roiz, D., & Bouattour, A. (2017). Ecophysiological characterization and molecular differentiation of *Culex pipiens* forms (Diptera : Culicidae) in Tunisia. *Parasites & Vectors*, 10(1), 327. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2265-7>
- Bekara, A., Ait Hamadouche, N., Kahloula, K., Sadi, N., & Aoues, A. (2016). Etude phytochimique et activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. *Algerian journal of natural products*, 4(3), 299-307.
- Belkhir, N., Benhissen, S., Habbachi, W., Asloum, A. Y., Hedjouli, Z., Habbachi, S., Rebbas, K., & Ferah, N. (2021). Larvicidal activity of extracts from six plant species on larvae of *Culiseta longiareolata* (Diptera; Culicidae). *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 98-106.
- Beltrão Molento, M., Chaaban, A., Nunes Gomes, E., Carvalho da Silva Santos, V. M., & Baron Maurer, J. B. (2020). Plant extracts used for the control of endo and ectoparasites of livestock : A review of the last 13 years of science. *Archives of Veterinary Science*, 25(4).
- Benabed, K. H. (2018). Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles et extraits phénoliques de deux espèces de la famille des Lamiaceae. Thèse de Doctorat en Sciences. Université Kasdi Merbah, Ouargla, 111p
- Benahmed, M., Djeddi, N., Akkal, S., & Laouar, H. (2016). *Saccocalyx satureioides* as corrosion inhibitor for carbon steel in acid solution. *International Journal of Industrial Chemistry*, 7(2), 109-120. <https://doi.org/10.1007/s40090-016-0082-z>

- Benaradj, A., & Boucherit, H. (2023).** Ethnobotanical study of the plant of medicinal interest *Saccocalyx satureioides* Coss. & Durieu (Lamiaceae) in the region of Naâma (Algeria). *Biodiversity: Research and Conservation*, 68, 27-34. <https://doi.org/10.14746/biorc.2022.68.4>
- Bendimerad, N., Bekhechi, C., Belmekki, N., & Fernandez, X. (2009).** Chemical analysis and antimicrobial activity of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. Essential oil from southwestern Algeria. *International Journal of Essential Oil Therapeutics*, 3, 1-5.
- Benelli, G., & Beier, J. C. (2017).** Current vector control challenges in the fight against malaria. *Acta Tropica*, 174, 91-96. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.06.028>
- Benelli, G., Pavela, R., Iannarelli, R., Petrelli, R., Cappellacci, L., Cianfaglione, K., Afshar, F. H., Nicoletti, M., Canale, A., & Maggi, F. (2017).** Synergized mixtures of Apiaceae essential oils and related plant-borne compounds : Larvicidal effectiveness on the filariasis vector *Culex quinquefasciatus* Say. *Industrial Crops and Products*, 96, 186-195. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.11.059>
- Benziane, M. Y., Bendahou, M., Benbelaïd, F., Khadir, A., Belhadef, H., Benaïssa, A., Ouslimani, S., Mahdi, F., & Muselli, A. (2023).** Efficacy of endemic Algerian essential oils against single and mixed biofilms of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Archives of Oral Biology*, 145, 105584. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2022.105584>
- Bhupathyraaj, M., Albulushi, S., Saidi, H., & Amaresh, N. (2014).** Study of physicochemical properties, antibacterial and GC-MS analysis of essential oil of the Aniseed (*Pimpinella anisum* Linn.) in Oman. *Research And Reviews: Journal Of Pharmacognosy And Phytochemistry*, 2, 24-33.
- Biondi, D. M., Sari, M., Ghani, Z. A., & Ruberto, G. (2006).** Essential oil of Algerian *Saccocalyx satureioides* Coss. et Durieu. *Flavour and fragrance journal*, 21(3), 546-548.
- Blaustein, L., & Kotler, B. P. (1993).** Oviposition habitat selection by the mosquito, *Culiseta longiareolata*: Effects of conspecifics, food and green toad tadpoles. *Ecological Entomology*, 18(2), 104-108. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1993.tb01190.x>
- Blom, R., Krol, L., Langezaal, M., Schrama, M., Trimbos, K. B., Wassenaar, D., & Koenraadt, C. J. M. (2024).** Blood-feeding patterns of *Culex pipiens* biotype *pipiens* and *pipiens/molestus* hybrids in relation to avian community composition in urban habitats. *Parasites & Vectors*, 17(1), 95. <https://doi.org/10.1186/s13071-024-06186-9>
- Bouabida, H., & Dris, D. (2020).** Effect of rue (*Ruta graveolens*) essential oil on mortality, development, biochemical and biomarkers of *Culiseta longiareolata*. *South African Journal of Botany*, 133, 139-143. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.07.005>
- Bouaoud, L., Aïssaoui, L., & Dor, A. (2024).** Diversity and distribution of Culicidian fauna in urban and rural areas of Setif region (North-East Algeria). *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 24(6), 372-381. <https://doi.org/10.1089/vbz.2023.0047>
- Boudechicha, A., Aouf, A., Farouk, A., Ali, H. S., Elkhadragey, M. F., Yehia, H. M., & Badr, A. N. (2023).** Microfluidizing technique application for Algerian *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf effects enhanced volatile content, antimicrobial, and anti-mycotoxigenic properties. *Molecules*, 28(14), 5367. <https://doi.org/10.3390/molecules28145367>
- 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. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2018.1504696>

- Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., Saidi, F., & Kebir, H. T. (2014).** Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. *Libyan Journal of Medicine*, 9(1), 25431. <https://doi.org/10.3402/ljm.v9.25431>
- Boumahdi, Y., Moghrani, H., Nasrallah, N., Ouarek, S., & Maachi, R. (2021).** Microwave-assisted hydrodistillation of the essential oil from Algerian *Pimpinella anisum* seeds. *Flavour and Fragrance Journal*, 36(1), 34-46. <https://doi.org/10.1002/ffj.3614>
- Boumaza, M., Merabti, B., Adjami, Y., Ouakid, M. L., & Carvajal, T. M. (2022).** Geometric morphometric wing analysis of avian malaria vector, *Culiseta longiareolata*, from two locations in Algeria. *Insects*, 13(11), 1031. <https://doi.org/10.3390/insects13111031>
- Bourke, B. P., Oliveira, T. P., Suesdek, L., Bergo, E. S., & Sallum, M. A. M. (2013).** A multi-locus approach to barcoding in the *Anopheles strodei* subgroup (Diptera: Culicidae). *Parasites & Vectors*, 6(1), 111. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-111>
- Bouzidi, O. (2021).** Efficacité comparée d'une plante médicinale, *Laurus nobilis* à l'égard de deux espèces de moustiques, *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*. Thèse de Doctorat LMD. Université Larbi Tébessi, Tébessa, Algérie, p137.
- Bouzidi, O., Tine-Djebbar, F., Tine, S., & Soltani, N. (2019).** Chemical composition and insecticidal activity of *Laurus nobilis* essential oil on *Culiseta longiareolata* (Diptera: Culicidae) larvae. *13th PARIS International Conference on Agricultural, Chemical, Biological & Environmental Sciences (PACBES-19) March 14-16, Paris, France*. <https://doi.org/10.17758/EARESS.EAP0319114>
- Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Brown, J. J., Pascual, M., Wimberly, M. C., Johnson, L. R., & Murdock, C. C. (2023).** Humidity – the overlooked variable in the thermal biology of Mosquito born disease. *Ecology Letters*, 26(7), 1029-1049. <https://doi.org/10.1111/ele.14228>
- Cardo, M. V., Rubio, A., Junges, M. T., Vezzani, D., & Carbajo, A. E. (2020).** A rural–urban latitudinal study of the distributions of *Culex quinquefasciatus* and *Culex pipiens* bioforms in their southernmost sympatric fringe. *Medical and Veterinary Entomology*, 34(1), 34-43. <https://doi.org/10.1111/mve.12400>
- Ćavar Zeljković, S., Schadich, E., Džubák, P., Hajdúch, M., & Tarkowski, P. (2022).** Antiviral activity of selected lamiaceae essential oils and their monoterpenes against SARS-Cov-2. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 893634. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.893634>
- Chan, A., Chiang, L.-P., Hapuarachchi, H. C., Tan, C.-H., Pang, S.-C., Lee, R., Lee, K.-S., Ng, L.-C., & Lam-Phua, S.-G. (2014).** DNA barcoding: Complementing morphological identification of mosquito species in Singapore. *Parasites & Vectors*, 7(1), 569. <https://doi.org/10.1186/s13071-014-0569-4>
- Cheatle Jarvela, A. M., Bell, K. L., Noreuil, A., & Fritz, M. L. (2021).** Autogenous and anaautogenous *Culex pipiens* bioforms exhibit insulin-like peptide signaling pathway gene expression differences that are not dependent upon larval nutrition. <https://doi.org/10.1101/2021.06.20.449144>
- Chianese, A., Stelitano, D., Astorri, R., Serretiello, E., Della Rocca, M. T., Melardo, C., Vitiello, M., Galdiero, M., & Franci, G. (2019).** West Nile virus: An overview of current information. *Translational Medicine Reports*, 3(1), 14-21. <https://doi.org/10.4081/tmr.8145>

- Cisneros-Vázquez, V., Penilla-Navarro, R. P., Rodríguez, A. D., Ordóñez-González, J. G., Valdez-Delgado, K. M., Danis-Lozano, R., & Vázquez-Martínez, G. (2023). Entomopathogenic fungi for the control of larvae and adults of *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae) vector of dengue, chikungunya and zika viruses in Mexico. *Salud Pública de México*, 65(2), 144-150. <https://doi.org/10.21149/13931>
- Clements, A. N. (1992). The Biology of Mosquitoes, 1: *Development, Nutrition and Reproduction* (1 st). CABI. <https://doi.org/10.1079/9780851993744.0000>
- Dahchar, Z., Bendali-Saoudi, F., & Soltani, N. (2016). Larvicidal activity of some plant extracts against two mosquito species *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(4), 346-350.
- Dangol, S., Poudel, D. K., Ojha, P. K., Maharjan, S., Poudel, A., Satyal, R., Rokaya, A., Timsina, S., Dosoky, N. S., Satyal, P., & Setzer, W. N. (2023). Essential oil composition analysis of *Cymbopogon* species from Eastern Nepal by GC-MS and Chiral GC-MS, and antimicrobial activity of some major compounds. *Molecules*, 28(2), 543. <https://doi.org/10.3390/molecules28020543>
- Davis, K. F., Yu, K., Rulli, M. C., Pichdara, L., & D’Odorico, P. (2015). Accelerated deforestation driven by large-scale land acquisitions in Cambodia. *Nature Geoscience*, 8(10), 772-775. <https://doi.org/10.1038/ngeo2540>
- Dawoud, T., & Ameen, F. (2023). Unveiling the bioactive potential of *Pimpinella anisum* l. leaf extracts : Chromatographic profiling, antimicrobial efficiency, and cytotoxicity analysis. *Biomedical Chromatography*, 37(12), e5739. <https://doi.org/10.1002/bmc.5739>
- De Souza, A. L. D. S., Multini, L. C., Marrelli, M. T., & Wilke, A. B. B. (2020). Wing geometric morphometrics for identification of mosquito species (Diptera : Culicidae) of neglected epidemiological importance. *Acta Tropica*, 211, 105593. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105593>
- Deblauwe, I., Ibáñez-Justicia, A., De Wolf, K., Smits, N., Schneider, A., Stroo, A., Jacobs, F., Vanslebrouck, A., Gombeer, S., Dekoninck, W., Müller, R., & Van Bortel, W. (2021). First detections of *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae) in Belgium and the Netherlands. *Journal of Medical Entomology*, 58(6), 2524-2532. <https://doi.org/10.1093/jme/tjab127>
- Dehghan, H., Moosa-Kazemi, S. H., Sadraei, J., & Soleimani, H. (2014). The ecological aspects of *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) in central Iran. *Journal of arthropod-borne diseases*, 8(1), 35.
- Delgado-Serra, S., Viader, M., Ruiz-Arrondo, I., Miranda, M. Á., Barceló, C., Bueno-Mari, R., Hernández-Triana, L. M., Miquel, M., Lester, K., Jurado-Rivera, J. A., & Paredes-Esquivel, C. (2021). Molecular characterization of mosquito diversity in the Balearic Islands. *Journal of Medical Entomology*, 58(2), 608-615. <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa217>
- deWaard, J. R., Ratnasingham, S., Zakharov, E. V., Borisenko, A. V., Steinke, D., Telfer, A. C., Perez, K. H. J., Sones, J. E., Young, M. R., Levesque-Beaudin, V., Sobel, C. N., Abrahamyan, A., Bessonov, K., Blagoev, G., deWaard, S. L., Ho, C., Ivanova, N. V., Layton, K. K. S., Lu, L., ... Hebert, P. D. N. (2019). A reference library for Canadian invertebrates with 1.5 million barcodes, voucher specimens, and DNA samples. *Scientific Data*, 6(1), 308. <https://doi.org/10.1038/s41597-019-0320-2>
- Di Luca, M., Toma, L., Boccolini, D., Severini, F., La Rosa, G., Minelli, G., Bongiorno, G., Montarsi, F., Arnoldi, D., Capelli, G., Rizzoli, A., & Romi, R. (2016). Ecological Distribution and CQ11 genetic structure of *Culex pipiens* complex (Diptera : Culicidae) in Italy. *PLOS ONE*, 11(1), e0146476. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146476>

- Diniz Do Nascimento, L., Moraes, A. A. B. D., Costa, K. S. D., Pereira Galúcio, J. M., Taube, P. S., Costa, C. M. L., Neves Cruz, J., De Aguiar Andrade, E. H., & Faria, L. J. G. D. (2020). Bioactive natural compounds and antioxidant activity of essential oils from spice plants : New findings and potential applications. *Biomolecules*, 10(7), 988. <https://doi.org/10.3390/biom10070988>
- Draoui, Y., Aksas, H., & Amghar, F. (2022). Extraction and valorization of active principles of *Saccocalyx satureioides* collected in two wilayas of Algeria. *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*, 8(2).
- Dris, D. (2018). Etude de l'activité larvicide des extraits de trois plantes : *Mentha piperita*, *Lavandula dentata* et *Ocimum basilicum* sur les larves de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* (Linné) et *Culiseta longiareolata* (Aitken). Thèse de Doctorat en Sciences. Université Beji Mokhtar, Annaba, Algérie.
- Dris, D., & Bouabida, H. (2020). Larvicidal activity of an Algerian *Ruta graveolens* essential oil on mosquito species *Culex pipiens*. *Transylvanian Review*, 17(47).
- 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. *South African Journal of Botany*, 113, 362-369. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.09.013>
- Dris, D., Tine-Djebbar, F., & Soltani, N. (2017). *Lavandula dentata* essential oils: Chemical composition and larvicidal activity against *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae). *African Entomology*, 25, 387-394. <https://doi.org/10.4001/003.025.0387>
- Duchateau, Gh., & Florkin, M. (1959). Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie*, 67(2), 306-314. <https://doi.org/10.3109/13813455909074435>
- Ebadollahi, A., Khosravi, R., Sendi, J. J., Honarmand, P., & Amini, R. M. (2013). Toxicity and physiological effects of essential oil from *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera : Tenebrionidae) larvae. *Annual Research & Review in Biology*, 3(4),
- El Karkouri, J., Bouhrim, M., Al Kamaly, O. M., Mechchate, H., Kchibale, A., Adadi, I., Amine, S., Alaoui Ismaili, S., & Zair, T. (2021). Chemical composition, antibacterial and antifungal activity of the essential oil from *Cistus ladanifer* L. *Plants*, 10(10), 2068. <https://doi.org/10.3390/plants10102068>
- El-Kasem Bosly, H. A. (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(8), 103350. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103350>
- Epstein, N. R., Saez, K., Polat, A., Davis, S. R., & Aardema, M. L. (2021). The urban-adapted underground mosquito *Culex pipiens* form *molestus* maintains exogenously influenceable circadian rhythms. *Journal of Experimental Biology*, 224(10). <https://doi.org/10.1242/jeb.242231>
- Esmaili, F., Sanei-Dehkordi, A., Amoozegar, F., & Osanloo, M. (2021). A Review on the use of essential oil-based nanoformulations in control of mosquitoes. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(5), 12516-12529. <https://doi.org/10.33263/BRIAC115.1251612529>

- Failloux, A.-B., Bouattour, A., Faraj, C., Gunay, F., Haddad, N., Harrat, Z., Jancheska, E., Kanani, K., Kenawy, M. A., Kota, M., ... Robert, V. (2017). Surveillance of arthropod-borne viruses and their vectors in the mediterranean and Black Sea Regions Within the MediLabSecure Network. *Current Tropical Medicine Reports*, 4(1), 27-39. <https://doi.org/10.1007/s40475-017-0101-y>
- Fang, Y., Tambo, E., Xue, J.-B., Zhang, Y., Zhou, X.-N., & Khater, E. I. M. (2021). Molecular analysis of targeted insecticide resistance gene mutations in field-caught mosquitos of medical importance from Saudi Arabia. *Journal of Medical Entomology*, 58(4), 1839-1848. <https://doi.org/10.1093/jme/tjab048>
- Farajollahi, A., & Price, D. C. (2013). A rapid identification guide for larvae of the most common north american container-inhabiting Aedes species of medical importance. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 29(3), 203-221. <https://doi.org/10.2987/11-6198R.1>
- Farjana, T., & Tuno, N. (2013). Multiple blood feeding and host-seeking behavior in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae). *Journal of medical entomology*, 50(4), 838-846.
- Faustino, C. G., De Medeiros, F. A., Galardo, A. K. R., Rodrigues, A. B. L., Da Costa, A. L. P., Martins, R. L., Brandão, L. B., Santos, L. L., ... Da Silva De Almeida, S. S. M. (2021). Biocidal Activity of a nanoemulsion containing essential oil from *Protium heptaphyllum* Resin against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Molecules*, 26(21), 6439. <https://doi.org/10.3390/molecules26216439>
- Ferraguti, M., Heesterbeek, H., Martínez-de La Puente, J., Jiménez-Clavero, M. Á., Vázquez, A., Ruiz, S., Llorente, F., Roiz, D., Vernooij, H., ... Figuerola, J. (2021). The role of different Culex mosquito species in the transmission of West Nile virus and avian malaria parasites in Mediterranean areas. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(2), 920-930. <https://doi.org/10.1111/tbed.13760>
- Fisher, R. A., & Yates, F. (1963). Statistical tables for biological, agricultural and medical research, edited by RA Fisher and F. Yates (6 th). Edinburgh: Oliver and Boyd.
- Fitsiou, E., Mitropoulou, G., Spyridopoulou, K., Tiptiri-Kourpeti, A., Vamvakias, M., Bardouki, H., Panayiotidis, M., Galanis, A., Kourkoutas, Y., Chlichlia, K., & Pappa, A. (2016). Phytochemical profile and evaluation of the biological activities of essential oils derived from the Greek aromatic plant species *Ocimum basilicum*, *Mentha spicata*, *Pimpinella anisum* and *Fortunella margarita*. *Molecules*, 21(8), 1069. <https://doi.org/10.3390/molecules21081069>
- Fonseca, D. M., Keyghobadi, N., Malcolm, C. A., Mehmet, C., Schaffner, F., Mogi, M., Fleischer, R. C., & Wilkerson, R. C. (2004). Emerging vectors in the *Culex pipiens* complex. *Science*, 303(5663), 1535-1538. <https://doi.org/10.1126/science.1094247>
- Foster, P. G., Bergo, E. S., Bourke, B. P., Oliveira, T. M. P., Nagaki, S. S., Sant'Ana, D. C., & Sallum, M. A. M. (2013). Phylogenetic analysis and DNA-based species confirmation in Anopheles (Nyssorhynchus). *PLoS ONE*, 8(2), e54063. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054063>
- Fros, J. J., Miesen, P., Vogels, C. B., Gaibani, P., Sambri, V., Martina, B. E., Koenraadt, C. J., Van Rij, R. P., Vlak, J. M., Takken, W., & Pijlman, G. P. (2015). Comparative Usutu and West Nile virus transmission potential by local *Culex pipiens* mosquitoes in north-western Europe. *One Health*, 1, 31-36. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2015.08.002>

- Ganesan, P., Samuel, R., Mutheeswaran, S., Pandikumar, P., Reegan, A. D., Aremu, A. O., & Ignacimuthu, S. (2023). Phytocompounds for mosquito larvicidal activity and their modes of action: A review. *South African Journal of Botany*, 152, 19-49. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.11.028>
- Gao, Q., Su, F., Zhou, Y.-B., Chu, W., Cao, H., Song, L.-L., Zhou, J.-J., & Leng, P.-E. (2019). Autogeny, fecundity, and other life history traits of *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae) in Shanghai, China. *Journal of Medical Entomology*, 56(3), 656-664. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy228>
- García-Díaz, J., Souto, R. N. P., Escalona-Arranz, J. C., Ferreira, R. M. D. A., Da Costa, T. S., González-Fernández, R., Heredia-Díaz, Y., Chil-Núñez, I., ... Setzer, W. N. (2023). Larvicidal and Adulticidal Activity of Essential Oils from Four Cuban Plants against Three Mosquito Vector Species. *Plants*, 12(23), 4009. <https://doi.org/10.3390/plants12234009>
- George, I., Edim, H., & Edet, E. (2016). Studies on mosquito repellent activity of *Cymbopogon citratus* (Lemon Grass) using human volunteers. *International Journal Of Research -Granthaalayah*, 4(12), 41-47. <https://doi.org/10.29121/granthaalayah.v4.i12.2016.2391>
- Giatropoulos, A., Kimbaris, A., Michaelakis, A., Papachristos, D. P., Polissiou, M. G., & Emmanouel, N. (2018). Chemical composition and assessment of larvicidal and repellent capacity of 14 Lamiaceae essential oils against *Aedes albopictus*. *Parasitology Research*, 117(6), 1953-1964. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5892-9>
- Goldsworthy, G. J., Mordue, W., & Guthkelch, J. (1972). Studies on insect adipokinetic hormones. *General and Comparative Endocrinology*, 18(3), 545-551.
- Gomes, B., Sousa, C. A., Novo, M. T., Freitas, F. B., Alves, R., Côte-Real, A. R., Salgueiro, P., Donnelly, M. J., Almeida, A. P., & Pinto, J. (2009). Asymmetric introgression between sympatric *molestus* and *pipiens* forms of *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) in the Comporta region, Portugal. *BMC Evolutionary Biology*, 9(1), 262. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-9-262>
- Goodwin, A., Padmanabhan, S., Hira, S., Glancey, M., Slinowsky, M., Immidisetti, R., Scavo, L., Brey, J., Sai Sudhakar, B. M. M., Ford, T., ... Acharya, S. (2021). Mosquito species identification using convolutional neural networks with a multitiered ensemble model for novel species detection. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92891-9>
- Guarner, J., & Hale, G. L. (2019). Four human diseases with significant public health impact caused by mosquito-borne flaviviruses: West Nile, Zika, dengue and yellow fever. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 36(3), 170-176. <https://doi.org/10.1053/j.sem dp.2019.04.009>
- Günay, F. (2015). Analyses moléculaires par la méthode de codage à barres ADN sur la faune des moustiques en Turquie. Thèse de Doctorat. Université Hacettepe, Institut des sciences, Ankara.
- Haba, Y., & McBride, L. (2022). Origin and status of *Culex pipiens* mosquito ecotypes. *Current Biology*, 32(5), R237-R246. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.01.062>
- Habib, U., Athar, M., Muhammad, I., B, T., & B, H. (2013). Evaluation of anise (*Pimpinella anisum* L.) accessions with regard to morphological characteristics, fruit yield, oil contents and composition. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(29), 2177-2186. <https://doi.org/10.5897/JMPR12.1204>

- Hamaidia, H., & Berchi, S. (2018).** Biosystematic study of Culicidae (Diptera, Nematocera) nuisance source in Tébessa (Algeria). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(4), 1226-1231.
- Harbach, R. (2007).** The Culicidae (Diptera): A review of taxonomy, classification and phylogeny. *Zootaxa*, 1668(1). <https://doi.org/10.11646/zootaxa.1668.1.28>
- Harbach, R., Harrison, B. A., & Gad, A. (1984).** *Culex Molestus* Forskål (Diptera : Culicidae): neotype designation, description, variation, and taxonomic status.
- Hashem, A. S., Ramadan, M. M., Abdel-Hady, A. A. A., Sut, S., Maggi, F., & Dall'Acqua, S. (2020).** *Pimpinella anisum* essential oil nanoemulsion toxicity against *Tribolium castaneum*? Shedding light on its interactions with aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase by molecular docking. *Molecules*, 25(20), 4841. <https://doi.org/10.3390/molecules25204841>
- Hegazy, M. M., Mostafa, R. M., El-Sayed, Y. A., Baz, M. M., Khater, H. F., Selim, A., & El-Shourbagy, N. M. (2022).** The efficacy of *Saussurea costus* extracts against hematophagous arthropods of camel and cattle. *Pakistan Veterinary Journal*, 42, 547-553.
- Hemanga, H., Varun, T., Harshita, K., Sumit, K., Sanjeev, K., Bhattacharyya, D. R., Kamaruz Zaman, K. Z., & Pronobesh Chattopadhyay, P. C. (2018).** Toxicity of essential oils on *Aedes aegypti* : A vector of chikungunya and dengue fever. *International Journal of Mosquito Research*, 5(3): 51-57
- Hernández-Triana, L. M., Brugman, V. A., Nikolova, N. I., Ruiz-Arrondo, I., Barrero, E., Thorne, L., De Marco, M. F., Krüger, A., Lumley, S., Johnson, N., & Fooks, A. R. (2019).** DNA barcoding of British mosquitoes (Diptera, Culicidae) to support species identification, discovery of cryptic genetic diversity and monitoring invasive species. *ZooKeys*, 832, 57-76. <https://doi.org/10.3897/zookeys.832.32257>
- Hessou-Djossou, D., Djègbè, I., Ahadji-Dabla, K. M., Nonfodji, O. M., Tchigossou, G., Djouaka, R., Cornélie, S., Djogbenou, L., Akogbeto, M., & Chandre, F. (2022).** Diversity of larval habitats of Anopheles mosquitoes in urban areas of Benin and influence of their physicochemical and bacteriological characteristics on larval density. *Parasites & Vectors*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05323-6>
- Hinne, I. A., Attah, S. K., Mensah, B. A., Forson, A. O., & Afrane, Y. A. (2021).** Larval habitat diversity and Anopheles mosquito species distribution in different ecological zones in Ghana. *Parasites & Vectors*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04701-w>
- Holicki, C. M., Scheuch, D. E., Ziegler, U., Lettow, J., Kampen, H., Werner, D., & Groschup, M. H. (2020).** German *Culex pipiens* biotype *molestus* and *Culex torrentium* are vector-competent for Usutu virus. *Parasites & Vectors*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04532-1>
- Iannarelli, R., Marinelli, O., Morelli, M. B., Santoni, G., Amantini, C., Nabissi, M., & Maggi, F. (2018).** Aniseed (*Pimpinella anisum* L.) essential oil reduces pro-inflammatory cytokines and stimulates mucus secretion in primary airway bronchial and tracheal epithelial cell lines. *Industrial Crops and Products*, 114, 81-86. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.076>
- Ju, J., Xie, Y., Yu, H., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H., & Yao, W. (2022).** Synergistic interactions of plant essential oils with antimicrobial agents: A new antimicrobial therapy. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(7), 1740-1751. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1846494>

- Jude, J., Gunathilaka, N., Udayanaga, L., Fernando, D., Premarathne, P., Wickremasinghe, R., & Abeyewickreme, W. (2023). Biology, bionomics and life-table studies of *Anopheles stephensi* (Diptera : Culicidae) in Sri Lanka and estimating the vectorial potential using mathematical approximations. *Parasitology International*, 93, 102715. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2022.102715>
- Kassim, N. F. A., Webb, C. E., & Russell, R. C. (2012). *Culex molestus* Forskal (Diptera : Culicidae) in Australia : Colonisation, stenogamy, autogeny, oviposition and larval development. *Australian Journal of Entomology*, 51(1), 67-77. <https://doi.org/10.1111/j.1440-6055.2011.00834.x>
- Kaufmann, C., & Brown, M. R. (2008). Regulation of carbohydrate metabolism and flight performance by a hypertrehalosaemic hormone in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Journal of Insect Physiology*, 54(2), 367-377. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2007.10.007>
- Kerbouche, L., Hazzit, M., Baaliouamer, A., & Akretche, S. (2021). Distillation time effecting on the composition of *Origanum floribundum* essential oils and their antioxidant and antimicrobial activities. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 76(3-4), 153-160. <https://doi.org/10.1515/znc-2020-0102>
- Khalidi, A., Moussaoui, A., & Benmehdi, H. (2017). In vitro antifungal activities of essential oil of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. On fungal species development. *Applied Biology in Saharan Areas*, 1(2), 8-15.
- Khaligh, F. G., Naghian, A., Soltanbeiglou, S., & Gholizadeh, S. (2020). Autogeny in *Culiseta longiareolata* (Culicidae : Diptera) mosquitoes in laboratory conditions in Iran. *BMC Research Notes*, 13(1), 81. <https://doi.org/10.1186/s13104-020-04942-5>
- Kieltyka-Dadasiewicz, A., Esteban, J., & Jabłońska-Trypuć, A. (2024). Antiviral, antibacterial, antifungal, and anticancer activity of plant materials derived from *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf Species. *Pharmaceuticals*, 17(6), 705. <https://doi.org/10.3390/ph17060705>
- Krida, G., Rhim, A., Daaboub, J., Failloux, A. -B., & Bouattour, A. (2015). New evidence for the potential role of *Culex pipiens* mosquitoes in the transmission cycle of West Nile virus in Tunisia. *Medical and Veterinary Entomology*, 29(2), 124-128. <https://doi.org/10.1111/mve.12107>
- Kweka, E. J., Mazigo, H. D., Lyaruu, L. J., Mausa, E. A., Venter, N., Mahande, A. M., & Coetzee, M. (2020). Anopheline mosquito species composition, Kdr mutation frequency, and parasite infectivity status in Northern Tanzania. *Journal of Medical Entomology*, 57(3), 933-938. <https://doi.org/10.1093/jme/tjz245>
- Laojun, S., Changbunjong, T., Sumruayphol, S., & Chaiphongpachara, T. (2023). Molecular and morphometric differentiation of secondary filariasis vector *Coquillettidia* mosquitoes (Diptera : Culicidae) in Thailand. *Infection, Genetics and Evolution*, 112, 105452. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2023.105452>
- Laouer, H., Akkal, S., Debarnot, C., Canard, B., Meierhenrich, U. J., & Baldovini, N. (2006). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. *Natural Product Communications*, 1(8), 1934578X0600100. <https://doi.org/10.1177/1934578X0600100809>
- Lessard, B. D., Kurucz, N., Rodriguez, J., Carter, J., & Hardy, C. M. (2021). Detection of the Japanese encephalitis vector mosquito *Culex tritaeniorhynchus* in Australia using molecular diagnostics and morphology. *Parasites & Vectors*, 14(1), 411. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04911-2>

- Luande, V. N., Eklöf, D., Lindström, A., Nyanjom, S. G., Evander, M., & Lilja, T. (2020).** The Human Biting *Culex pipiens* bioform *molestus* detected in several areas in Southern Sweden. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 20(12), 936-938. <https://doi.org/10.1089/vbz.2020.2631>
- Lubna, Rasheed, S. B., & Zaidi, F. (2024).** Species diversity pattern of mosquitoes (Diptera : Culicidae) breeding in different permanent, temporary and natural container habitats of Peshawar, KP Pakistan. *Brazilian Journal of Biology*, 84. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.271524>
- Madaci, B., Merghem, R., Doumandji, B., & Soltani, N. (2008).** Effet du *Nerium oleander*, laurier-rose, (apocynacees) sur le taux des proteines, l'activite de l'ache et les mouvements des vers blancs rhizotrogini (*Coleoptera scarabaeidae*). *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 73-78.
- Madeira, S., Duarte, A., Boinas, F., & Costa Osório, H. (2021).** A DNA barcode reference library of Portuguese mosquitoes. *Zoonoses and Public Health*, 68(8), 926-936. <https://doi.org/10.1111/zph.12885>
- Madi, Y. F., Meselhy, M. R., El-Kashoury, E.-S. A., & Choucry, M. A. (2022).** Morphological and anatomical characterization of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf cultivated in Egypt. *Bulletin of Faculty of Pharmacy Cairo University*, 60(1). <https://doi.org/10.54634/2090-9101.1032>
- Mahmoudi, K., Bendali-Saoudi, F., & Soltani, N. (2022).** Potential predation of *Cyclops fuscus* Jurine, 1820 (Crustacea Copepoda) against two mosquito species *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 and *Culiseta longiareolata* Macquart, 1838 (Diptera Culicidae). *Biodiversity Journal*, 13(4), 805-812. <https://doi.org/10.31396/Biodiv.Jour.2022.13.4.805.812>
- Maquart, P.-O., Sokha, C., & Boyer, S. (2021).** Mosquito diversity (Diptera : Culicidae) and medical importance, in a bird sanctuary inside the flooded forest of Prek Toal, Cambodia. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 24(4), 1221-1227. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2021.08.001>
- Martínez-de La Puente, J., Soriguer, R., Senar, J. C., Figuerola, J., Bueno-Mari, R., & Montalvo, T. (2020).** Mosquitoes in an urban zoo : Identification of blood meals, flight distances of engorged females, and avian malaria infections. *Frontiers in Veterinary Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00460>
- Marzec, S., Siperstein, A., Zhou, A., Holzapfel, C., Bradshaw, W., Meuti, M., & Armbruster, P. (2023).** MicroRNA expression prior to biting in a vector mosquito anticipates physiological processes related to energy utilization, reproduction and immunity. *Insects*, 14(8), 700. <https://doi.org/10.3390/insects14080700>
- Masetti, A. (2016).** The potential use of essential oils against mosquito larvae : A short review. 69, 307-310
- Maslov, A. V. (1967).** Krovososushchie komary podtriby Culisetina (Diptera, Culicidae) mirovoi fauny.
- Masyita, A., Mustika Sari, R., Dwi Astuti, A., Yasir, B., Rahma Rumata, N., Emran, T. B., Nainu, F., & Simal-Gandara, J. (2022).** Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chemistry: X*, 13, 100217. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100217>
- Matasyoh, J. C., Wagara, I. N., Nakavuma, J. L., & Kiburai, A. M. (2011).** Chemical composition of *Cymbopogon citratus* essential oil and its effect on mycotoxigenic *Aspergillus* species. *African Journal of Food Science*, 5(3), 138-142.

- Medhini, N., Divakar, Y. G., & Manjulakumari, D. (2012). Effect of *Calendula officinalis* extracts on the nutrient components of different tissues of tobacco cutworm, *Spodoptera litura* Fabricius. *Journal of Biopesticides*, 5, 139.
- Mehlous, S., Benchikh, F., Benabdallah, H., Loucif, K., Kaoudoune, C., Laouer, H., & Amira, S. (2020). Evaluation of antioxidant activity and polyphenols content of the hydro-methanolic extract from *Saccocalyx satureioides* Coss and Dur. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(4), 188-190. <https://doi.org/10.22270/jddt.v10i4.4166>
- Merabti, B., Lebouz, I., & Ouakid, M. L. (2017). Larvicidal activity and influence of Azadirachtin (Neem Tree Extract) on the longevity and fecundity of mosquito species. *Acta Zoologica Bulgarica*, 69(3), 429-435.
- Millet, J.-P., Montalvo, T., Bueno-Marí, R., Romero-Tamarit, A., Prats-Uribe, A., Fernández, L., Camprubí, E., Del Baño, L., Peracho, V., ... & Zika Working Group in Barcelona. (2017). Imported Zika virus in a European City : How to prevent local transmission? *Frontiers in Microbiology*, 8, 1319. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01319>
- Mir, S., Bouchenak, O., Ait-Kaci Aourahoun, K., & Alliliche, M. (2022). Chemical composition and insecticidal activity of *Origanum floribundum* Munby essential oil endemic plant from Algeria. *Tropical Biomedicine*, 39(2), 215-220. <https://doi.org/10.47665/tb.39.2.005>
- Mirghani, M. E. S., Liyana, Y., & Parveen, J. (2012). Bioactivity analysis of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil. *International Food Research Journal*, 19(2), 569-575.
- Moghaddam, M., & Mehdizadeh, L. (2017). Chemistry of Essential Oils and Factors Influencing Their Constituents. *Soft Chemistry and Food Fermentation*, 379-419 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811412-4.00013-8>
- Mohamadi, S., Zhao, M., Amrani, A., Marchioni, E., Zama, D., Benayache, F., & Benayache, S. (2015). On-line screening and identification of antioxidant phenolic compounds of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. *Industrial Crops and Products*, 76, 910-919. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.048>
- Mostefa Sari, F., Allem, R., & Toumi, M. (2020). Bioactive compounds of thyme (*Thymus fontanesii* Boiss. & reut.) and native savory (*Saccocalyx satureioides* Coss& Dur.) against cutaneous leishmaniasis, *Agrobiologia*, 10(1), 1739-1748
- Moustafa, M., Awad, M., Amer, A., Hassan, N., Ibrahim, E.-D., Ali, H., Akrami, M., & Salem, M. (2021). Insecticidal activity of lemongrass essential oil as an eco-friendly agent against the Black Cutworm *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera : Noctuidae). *Insects*, 12(8), 737. <https://doi.org/10.3390/insects12080737>
- Muñoz-Gamba, A. S., Laiton-Donato, K., Perdomo-Balaguera, E., Castro, L. R., Usme-Ciro, J. A., & Parra-Henao, G. (2021). Molecular characterization of mosquitoes (Diptera : Culicidae) from the Colombian rainforest. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 63, e24. <https://doi.org/10.1590/s1678-9946202163024>
- Nabti, I., & Bounechada, M. (2020). Mosquito biodiversity in Setif region (Algerian high plains), density and species distribution across two climate zones. *Entomologie faunistique-Faunistic entomology*, 73, 1-14.
- Nasir, A., & Yabalak, E. (2021). Investigation of antioxidant, antibacterial, antiviral, chemical composition, and traditional medicinal properties of the extracts and essential oils of the *Pimpinella* species from a broad perspective: A review. *Journal of Essential Oil Research*, 33(5), 411-426. <https://doi.org/10.1080/10412905.2021.1928559>

- Nebbak, A., Almeras, L., Parola, P., & Bitam, I. (2022).** Mosquito vectors (Diptera : Culicidae) and mosquito-borne diseases in North Africa. *Insects*, 13(10), 962. <https://doi.org/10.3390/insects13100962>
- Nedjimi, B., & Beladel, B. (2015).** Instrumental neutron activation analysis of Algerian *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. : A Valuable Medicinal Plant. *Analytical Chemistry Letters*, 5(3), 135-139. <https://doi.org/10.1080/22297928.2015.1073120>
- Nelms, B. M., Kothera, L., Thiemann, T., Macedo, P. A., Savage, H. M., & Reisen, W. K. (2013).** Phenotypic variation among *Culex pipiens* complex (Diptera : Culicidae) populations from the Sacramento Valley, California: Horizontal and Vertical Transmission of West Nile Virus, diapause potential, autogeny, and host selection. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 89(6), 1168-1178. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0219>
- Ngongang, M. D. T., Eke, P., Sameza, M. L., Mback, M. N. L. N., Lordon, C. D., & Boyom, F. F. (2022).** Chemical constituents of essential oils from *Thymus vulgaris* and *Cymbopogon citratus* and their insecticidal potential against the tomato borer, *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 42(1), 31-43. <https://doi.org/10.1007/s42690-021-00514-7>
- Nguyen, T. V. L., Nguyen, M. D., Nguyen, D. C., Bach, L. G., & Lam, T. D. (2019).** Model for thin layer drying of Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) by Hot Air. *Processes*, 7(1), 21. <https://doi.org/10.3390/pr7010021>
- Ohashi, K., Tsuda, Y., Kasai, S., Kawada, H., & Takagi, M. (2014).** Hybridization between sympatric populations of *Culex pipiens pallens* and *Culex pipiens* f. *molestus* (Diptera : Culicidae) in Nagasaki, Japan. *Medical Entomology and Zoology*, 65(2), 67-72. <https://doi.org/10.7601/mez.65.67>
- Oladeji, O. S., Adelowo, F. E., Ayodele, D. T., & Odelade, K. A. (2019).** Phytochemistry and pharmacological activities of *Cymbopogon citratus* : A review. *Scientific African*, 6, e00137. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00137>
- Omoniwa, B. P., Johnson, T. O., Acho, M. A., Nwonuma, C. O., Soji-Omoniwa, O., Oluwafemi, A. G., Tomo, B. E., Odejobi, K., Alejlowo, O., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.imu.2024.101446>
- Osório, H. C., Zé-Zé, L., Amaro, F., Nunes, A., & Alves, M. J. (2014).** Sympatric occurrence of *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae) biotypes *pipiens*, *molestus* and their hybrids in Portugal, Western Europe : Feeding patterns and habitat determinants. *Medical and Veterinary Entomology*, 28(1), 103-109. <https://doi.org/10.1111/mve.12020>
- Pan, D., Machado, L., Bica, C. G., Machado, A. K., Steffani, J. A., & Cadoná, F. C. (2022).** In Vitro Evaluation of Antioxidant and Anticancer Activity of Lemongrass (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf). *Nutrition and Cancer*, 74(4), 1474-1488. <https://doi.org/10.1080/01635581.2021.1952456>
- Pandiyani, G. N., Mathew, N., & Munusamy, S. (2019).** Larvicidal activity of selected essential oil in synergized combinations against *Aedes aegypti*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 174, 549-556. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.03.019>
- Pavela, R. (2014).** Insecticidal properties of *Pimpinella anisum* essential oils against the *Culex quinquefasciatus* and the non-target organism *Daphnia magna*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17(3), 287-293. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2014.02.001>

- Pavela, R. (2015).** Acute toxicity and synergistic and antagonistic effects of the aromatic compounds of some essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say larvae. *Parasitology Research*, 114(10), 3835-3853. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4614-9>
- Pavela, R., & Benelli, G. (2016).** Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends in Plant Science*, 21(12), 1000-1007. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.10.005>
- Pavela, R., Maggi, F., Iannarelli, R., & Benelli, G. (2019).** Plant extracts for developing mosquito larvicides : From laboratory to the field, with insights on the modes of action. *Acta Tropica*, 193, 236-271. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.01.019>
- Peach, D. A. H., Almond, M., Gries, R., & Gries, G. (2019).** Lemongrass and Cinnamon Bark : Plant essential oil blend as a spatial repellent for mosquitoes in a field setting. *Journal of Medical Entomology*, 56(5), 1346-1352. <https://doi.org/10.1093/jme/tjz078>
- Pereira Filho, A. A., Pessoa, G. C. D., Yamaguchi, L. F., Stanton, M. A., Serravite, A. M., Pereira, R. H. M., Neves, W. S., & Kato, M. J. (2021).** larvicidal activity of essential oils from piper species against strains of *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae) resistant to pyrethroids. *Frontiers in Plant Science*, 12, 685864. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.685864>
- Perrin, A., Glaizot, O., & Christe, P. (2022).** Worldwide impacts of landscape anthropization on mosquito abundance and diversity: A meta-analysis. *Global Change Biology*, 28(23), 6857-6871. <https://doi.org/10.1111/gcb.16406>
- Phasomkusolsil, S., Tawong, J., Monkanna, N., Kornkan, T., Jitbantrengphan, T., Chaiyasab, M., Pongda, N., Kamram, T., & Lindroth, E. J. (2023).** The effects of human and rhesus macaque blood meal sources on mosquito reproduction and adult survival under laboratory conditions. *Experimental Parasitology*, 253, 108591. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2023.108591>
- Prabhu, K., Sudharsan, P., Ganesh Kumar, P., Chitra, B., & Janani, C. (2022).** Impact of *Piper betle* L. bioactive compounds in larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus*. *Journal of Natural Pesticide Research*, 2, 100013. <https://doi.org/10.1016/j.napere.2022.100013>
- Pradeep, S., & Mp, S. (2020).** Pharmacognostic study of Bhustrina (*Cymbopogon citratus* Stapf.). *Journal of Ayurveda and Integrated Medical Sciences*, 5(02). <https://doi.org/10.21760/jaims.5.2.10>
- Procópio, T. F., Fernandes, K. M., Pontual, E. V., Ximenes, R. M., De Oliveira, A. R. C., Souza, C. D. S., Melo, A. M. M. D. A., Navarro, D. M. D. A. F., Paiva, P. M. G., Martins, G. F., & Napoleão, T. H. (2015).** *Schinus terebinthifolius* leaf extract causes midgut damage, interfering with survival and development of *Aedes aegypti* larvae. *PLOS ONE*, 10(5), e0126612. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126612>
- Rakotonirina, A., Maquart, P.-O., Flamand, C., Sokha, C., & Boyer, S. (2023).** Mosquito diversity (Diptera : Culicidae) and medical importance in four Cambodian forests. *Parasites & Vectors*, 16(1), 110. <https://doi.org/10.1186/s13071-023-05729-w>
- Reisen, W. K. (2010).** Landscape epidemiology of vector-borne diseases. *Annual Review of Entomology*, 55(1), 461-483. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-112408-085419>
- Reusken, C., De Vries, A., Buijs, J., Braks, M. A. H., Den Hartog, W., & Scholte, E.-J. (2010).** First evidence for presence of *Culex pipiens* biotype *molestus* in the Netherlands, and of hybrid biotype *pipiens* and *molestus* in northern Europe. *Journal of Vector Ecology*, 35(1), 210-212.

- Romi, R., Pontuale, G., Ciufolini, M. G., Fiorentini, G., Marchi, A., Nicoletti, L., Cocchi, M., & Tamburro, A. (2004). Potential vectors of West Nile Virus following an equine disease outbreak in Italy. *Medical and Veterinary Entomology*, 18(1), 14-19. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2004.0478.x>
- Roubaud, E. (1929). Autogenous Cycle of Winter Generations of *Culex pipiens* L. 735-738. <https://doi/full/10.5555/19292901774>
- Ruiz-Arrondo, I., McMahon, B. J., Hernández-Triana, L. M., Santibañez, P., Portillo, A., & Oteo, J. A. (2019). Surveillance of mosquitoes (Diptera, Culicidae) in a Northern Central region of Spain: Implications for the Medical Community. *Frontiers in Veterinary Science*, 6, 86. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00086>
- Ruzzante, L., Reijnders, M. J. M. F., & Waterhouse, R. M. (2019). Of Genes and Genomes: Mosquito evolution and diversity. *Trends in Parasitology*, 35(1), 32-51. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2018.10.003>
- Salem, S. S., Fouda, M. M. G., Fouda, A., Awad, M. A., Al-Olayan, E. M., Allam, A. A., & Shaheen, T. I. (2021). Antibacterial, cytotoxicity and larvicidal activity of green synthesized selenium nanoparticles using *Penicillium corylophilum*. *Journal of Cluster Science*, 32(2), 351-361. <https://doi.org/10.1007/s10876-020-01794-8>
- Santorum, M., Brancalhão, R. M. C., Guimarães, A. T. B., Padovani, C. R., Tettamanti, G., & Dos Santos, D. C. (2019). Negative impact of Novaluron on the nontarget insect *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Environmental Pollution*, 249, 82-90. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.02.095>
- Saouli, N. (2023). Investigations into trichomes and anatomy of *Saccocalyx satureioides*: A xeromorphic shrub endemic to the arid zones of Algeria. *Annals of Arid Zone*, 62(4), 373-380. <https://doi.org/10.59512/aaz.2023.62.4.12>
- Sarma, R., Adhikari, K., Mahanta, S. et Khanikor, B. (2019). Insecticidal activities of *Citrus aurantifolia* essential oil against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Toxicology Reports*, 6, 1091-1096. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.10.009>
- Schaffner, F., Versteirt, V., & Medlock, J. (2014). Guidelines for the surveillance of native mosquitoes in Europe. *ECDC: Stockholm*.
- Schoener, E., Uebleis, S. S., Butter, J., Nawratil, M., Cuk, C., Flechl, E., Kothmayer, M., Obwaller, A. G., Zechmeister, T., Rubel, F., Lebl, K., Zित्रa, C., & Fuehrer, H.-P. (2017). Avian Plasmodium in Eastern Austrian mosquitoes. *Malaria Journal*, 16(1), 389. <https://doi.org/10.1186/s12936-017-2035-1>
- Sedthapong, L., Pongmada, D., Peerada, D., Wallapa, W., Nantana, S., Thavatchai, K., & Tanawat, C. (2020). Efficacy of commercial botanical pure essential oils of garlic (*Allium sativum*) and anise (*Pimpinella anisum*) against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. <https://doi.org/10.7324/JABB.2020.80614>
- Seghier, H., Fouzia, T.-D., Loucif-Ayad, W., & Soltani, N. (2020). Larvicidal and pupicidal activities of *Petroselinum crispum* seed essential oil on *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata* mosquitoes. *Transylvanian Review*, 27(47), 14669-14677.
- Seidel, B., Nowotny, N., Duh, D., Indra, A., Hufnagl, P., & Allerberger, F. (2013). First records of the thermophilic mosquito *Culiseta longiareolata* (Macquart, 1838) in Austria, 2012, and in Slovenia, 2013. *Journal of the European Mosquito Control Association*, 31, 17-20.

- Shafique, M., Lopes, S., Doum, D., Keo, V., Sokha, L., Sam, B., Vibol, C., Alexander, N., Bradley, J., Liverani, M., Hii, J., Rithea, L., Aryal, S., & Hustedt, J. (2019). Implementation of guppy fish (*Poecilia reticulata*), and a novel larvicide (Pyriproxyfen) product (Sumilarv 2MR) for dengue control in Cambodia: A qualitative study of acceptability, sustainability and community engagement. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(11), e0007907. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007907>
- Shah, G., Shri, R., Panchal, V., Sharma, N., Singh, B., & Mann, A. (2011). Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, stapf (Lemon grass). *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 2(1), 3. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.79796>
- Shahriari, M., Zibae, A., Shamakhi, L., Sahebzadeh, N., Naseri, D., & Hoda, H. (2020). Bio-efficacy and physiological effects of *Eucalyptus globulus* and *Allium sativum* essential oils against *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera : Pyralidae). *Toxin Reviews*, 39(4), 422-433. <https://doi.org/10.1080/15569543.2018.1554588>
- Shaikevich, E. V., Vinogradova, E. B., Bouattour, A., & Gouveia De Almeida, A. P. (2016). Genetic diversity of *Culex pipiens* mosquitoes in distinct populations from Europe: Contribution of *Cx. quinquefasciatus* in Mediterranean populations. *Parasites & Vectors*, 9(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1333-8>
- Shakoori, F. R., Riaz, T., Ramzan, U., Feroz, A., & Shakoori, A. R. (2019). Toxicological effect of Esfenvalerate on carbohydrate metabolizing enzymes and macromolecules of a stored grain pest, *Trogoderma granarium*. *Pakistan Journal of Zoology*, 50(6). <https://doi.org/10.17582/journal.pjz/2018.50.6.2185.2192>
- Sharifi, R., Kiani, H., Farzaneh, M., & Ahmadzadeh, M. (2008). Chemical composition of essential oils of Iranian *Pimpinella anisum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller and their antifungal activity against postharvest pathogens. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11(5), 514-522. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2008.10643660>
- Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratnyek, C. A., Newhall, A. R., & Friedman, L. (1967). A method for sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid, and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analytical biochemistry*, 19(3), 514-528.
- Shinzawa, N., Kashima, C., Aonuma, H., Takahashi, K., Shimojima, M., Fukumoto, S., Saiki, E., Yamamoto, D. S., Yoshida, S., Matsuoka, H., Kawaoka, Y., & Kanuka, H. (2022). Generation of transgenic mosquitoes harboring a replication-restricted virus. *Frontiers in Tropical Diseases*, 3, 850111. <https://doi.org/10.3389/fitd.2022.850111>
- Shrief, A. I., Abdel-Hamid, A. A. M., Moustafa, A., & El-Mohandes, E. (2022). The possible protective role of *Pimpinella anisum* oil versus Selenium on aspartame induced changes in rat cerebellar cortex: Histological, immunohistochemical and electron microscopic study. *Ultrastructural Pathology*, 46(6), 497-510. <https://doi.org/10.1080/01913123.2022.2136809>
- Silva, N. B. D., Rangel, M. D. L., Castro, R. D. D., Lima, J. M. D., Castellano, L. R. C., Valença, A. M. G., & Cavalcanti, A. L. (2019). Anti-biofilm and hemolytic effects of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf Essential oil. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, 19(1), 1-10. <https://doi.org/10.4034/PBOCI.2019.191.103>
- Smith, J. L., & Fonseca, D. M. (2004). Rapid assays for identification of members of the *Culex pipiens* complex, their hybrids, and other sibling species (Diptera : Culicidae). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 70(4), 339.

- Sneha, K., Narayanankutty, A., Job, J. T., Olatunji, O. J., Alfarhan, A., Famurewa, A. C., & Ramesh, V. (2022). Antimicrobial and larvicidal activities of different Ocimum essential oils extracted by ultrasound-assisted hydrodistillation. *Molecules*, 27(5), 1456. <https://doi.org/10.3390/molecules27051456>
- Sofi, M. A., Nanda, A., Sofi, M. A., Maduraiveeran, R., Nazir, S., Siddiqui, N., Nadeem, A., Shah, Z. A., & Rehman, M. U. (2022). Larvicidal activity of *Artemisia absinthium* extracts with special reference to inhibition of detoxifying enzymes in larvae of *Aedes aegypti* L. *Journal of King Saud University - Science*, 34(7), 102248. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102248>
- Soliman, W. S., Salaheldin, S., & Amer, H. M. (2017). Chemical composition evaluation of Egyptian lemongrass, *Cymbopogon citratus*, essential oil. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 8(11), 630-634.
- Soltanbeiglu, S., Vahedi, M., Mohammadi-Bavani, M., & Chavshin, A. R. (2020). Molecular characterisation of Cytochrome Oxidase I and Internal Transcribed Spacer 2 fragments of *Culiseta longiareolata*. *Turkish Journal of Parasitology*, 44(4), 191-196. <https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2020.6886>
- Song, B., & Han, Z. (2020). Assessment of the biocontrol effects of three aromatic plants on multiple trophic levels of the Arthropod community in an agroforestry ecosystem. *Ecological Entomology*, 45(4), 831-839. <https://doi.org/10.1111/een.12858>
- Soonwera, M., & Phasomkusolsil, S. (2016). Effect of *Cymbopogon citratus* (lemongrass) and *Syzygium aromaticum* (clove) oils on the morphology and mortality of *Aedes aegypti* and *Anopheles dirus* larvae. *Parasitology Research*, 115(4), 1691-1703. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-4910-z>
- Souadia, A., Gourine, N., & Yousfi, M. (2020). Variability in phytochemical composition and antioxidant activity of *Saccocalyx satureioides* essential oils due to harvest period. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 26(4), 435-446. <https://doi.org/10.1080/10496475.2020.1749208>
- Souadia, A., Gourine, N., & Yousfi, M. (2021). Fingerprint and relationship composition-antioxidant activity of the essential oil of *Saccocalyx satureioides* Coss. & Dur. *Biochemical Systematics and Ecology*, 97, 104280. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2021.104280>
- Spanoudis, C. G., Andreadis, S. S., Bray, D. P., Savopoulou-Soultani, M., & Ignell, R. (2020). Behavioural response of the house mosquitoes *Culex quinquefasciatus* and *Culex pipiens molestus* to avian odours and its reliance on carbon dioxide. *Medical and Veterinary Entomology*, 34(2), 129-137. <https://doi.org/10.1111/mve.12429>
- Spielman, A (1964). Studies on autogeny in *Culex pipiens* populations in nature. I. Reproductive isolation between autogenous and anautogenous populations. *American Journal of Hygiene*, 80, 175-183.
- Stevens, K. C., Pereira, R. M., & Koehler, P. G. (2019). Mosquitocidal chips containing the insect growth regulator pyriproxyfen for control of *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(12), 2152.
- Suesdek, L. (2019). Microevolution of medically important mosquitoes – A review. *Acta Tropica*, 191, 162-171. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.12.013>
- Sun, W., Shahrajabian, M. H., & Cheng, Q. (2019). Anise (*Pimpinella anisum* L.), a dominant spice and traditional medicinal herb for both food and medicinal purposes. *Cogent Biology*, 5(1), 1673688. <https://doi.org/10.1080/23312025.2019.1673688>
- Sweeney, A. W., & Russell, R. C. (1973). Autogeny in *Anopheles amictus hilli*. 467-468. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19730511588>

- Tabbabi, A., & Bekhti, K. (2017).** A review of West Nile virus and its potential vector (*Culex pipiens*) in North Africa. *The Journal of Middle East and North Africa Sciences*, 3(6), 9-12.
- Takken, W., & Verhulst, N. O. (2013).** Host Preferences of Blood-Feeding Mosquitoes. *Annual Review of Entomology*, 58(1), 433-453. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153618>
- Tewfick, M. K., Abd El-Aziz, M. H., & Soliman, B. A. (2019).** Genetic diversity based on autogeny and ISSR markers in *Culex pipiens* mosquitoes from Northern Coast of Egypt. *African Entomology*, 27(1), 228. <https://doi.org/10.4001/003.027.0228>
- Thelma, J., & Balasubramanian, C. (2021).** Ovicidal, larvicidal and pupicidal efficacy of silver nanoparticles synthesized by *Bacillus marisflavi* against the chosen mosquito species. *PLOS ONE*, 16(12), e0260253. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260253>
- Thuong Nhan, N. P., Tan Thanh, V., Huynh Cang, M., Lam, T. D., Cam Huong, N., Hong Nhan, L. T., Thanh Truc, T., Tran, Q. T., & Bach, L. G. (2020).** Microencapsulation of Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) Essential oil via spray drying : Effects of feed emulsion parameters. *Processes*, 8(1), 40. <https://doi.org/10.3390/pr8010040>
- Tiron, G. V., Stancu, I. G., Dinu, S., Prioteasa, F. L., Fălcuță, E., Ceianu, C. S., & Cotar, A. I. (2021).** Characterization and host-feeding patterns of *Culex pipiens* s.l. Taxa in a West Nile Virus-Endemic area in Southeastern Romania. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 21(9), 713-719. <https://doi.org/10.1089/vbz.2020.2739>
- Toubal, S., El Haddad, D., Bouchenak, O., Sadaoui, N., Boumaza, S., Benhabyles, N., & Arab, K. (2022).** Isolation and identification of endophytic fungi from *Borago officinalis* l. And evaluation of their bioinsecticidal effect against mosquito larvae *Culiseta longiareolata* (Macquart). *Agrobiologia*, 12(1), 2834-2841.
- Tran, T. H., Nguyen, D. C., Phu, T. N. N., Ho, V. T. T., Vo, D. V. N., Bach, L. G., & Nguyen, T. D. (2019).** Research on lemongrass oil extraction technology (hydrodistillation, microwave-assisted hydrodistillation). *Indonesian Journal of Chemistry*, 19(4), 1000. <https://doi.org/10.22146/ijc.40883>
- Treviño-Cueto, D., Subbotin, S. A., & Sanchez-Peña, S. R. (2021).** Larvicidal activity of entomopathogenic nematodes isolated from Mexico against *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae). *Journal of Entomological Science*, 56(1), 12-23. <https://doi.org/10.18474/0749-8004-56.1.12>
- Van Pletzen, R., & Van der Linde, T. de K. (1981).** Studies on the biology of *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera : Culicidae). *Bulletin of Entomological Research*, 71(1), 71-79.
- Vanderheyden, A., Smitz, N., De Wolf, K., Deblauwe, I., Dekoninck, W., Meganck, K., Gombeer, S., Vanslembrouck, A., De Witte, J., ... Van Bortel, W. (2022).** DNA identification and diversity of the vector mosquitoes *Culex pipiens* and *Culex torrentium* in Belgium (Diptera : Culicidae). *Diversity*, 14(6), 486. <https://doi.org/10.3390/d14060486>
- Vazquez-Briones, M. D. C., Hernandez, L. R., & Guerrero-Beltran, J. A. (2015).** Physicochemical and antioxidant properties of *Cymbopogon citratus* essential oil. *Journal of Food Research*, 4(3), 36. <https://doi.org/10.5539/jfr.v4n3p36>
- Vecchio, M. G., Gulati, A., Minto, C., & Lorenzoni, G. (2016).** *Pimpinella Anisum* and *Illicium Verum* : The multifaceted role of Anise Plants. *The Open Agriculture Journal*, 10(1), 81-86. <https://doi.org/10.2174/1874331501610010084>
- Vinogradova, E. B. (2000).** *Culex pipiens pipiens* mosquitoes : Taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetic, applied importance and control. Pensoft Publishers.

- Vogels, C. B. F., Van De Peppel, L. J. J., Van Vliet, A. J. H., Westenberg, M., Ibañez-Justicia, A., Visser, T. M., & Koenraadt, C. J. M. (2015). Winter activity and aboveground hybridization between the two biotypes of the West Nile virus vector *Culex pipiens*. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 15(10), 619-626. <https://doi.org/10.1089/vbz.2015.1820>
- Vogels, C. B., Göertz, G. P., Pijlman, G. P., & Koenraadt, C. J. (2017). Vector competence of European mosquitoes for West Nile virus. *Emerging Microbes & Infections*, 6(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/emi.2017.82>
- Wahedi, J. A., Vincent, V. M., Pukuma, S. M., Bawa, I. S., Agboola, O. O., Aju-Ahmeh, C. O., Filgona, J., & Olowoyo, J. O. (2024). Phytochemical screening and larvicidal activities of *Cymbopogon citratus* and *Annona senegalensis* against *Culex quinquefasciatus*. *Scientific African*, 23, e02057. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2024.e02057>
- Waliwitiya, R., Kennedy, C. J. et Lowenberger, C. A. (2009). Larvicidal and oviposition-altering activity of monoterpenoids, trans -anithole and rosemary oil to the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae). *Pest Management Science*, 65(3), 241-248. <https://doi.org/10.1002/ps.1675>
- Weeraratne, T. C., Surendran, S. N., & Parakrama Karunaratne, S. H. P. (2018). DNA barcoding of morphologically characterized mosquitoes belonging to the subfamily Culicinae from Sri Lanka. *Parasites & Vectors*, 11(1), 266. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2810-z>
- WHO. (2020). Global vector control response: Progress in planning and implementation
- WHO. (2005). Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. Geneva: World Health Organization.
- Wu, Q., Guo, C., Li, X., Yi, B.-Y., Li, Q.-L., Guo, Z.-M., & Lu, J.-H. (2023). A meta-transcriptomic study of mosquito virome and blood feeding patterns at the human-animal-environment interface in Guangdong Province, China. *One Health*, 16, 100493. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2023.100493>
- Yahia, H., Djebbar, F., Mahdi, D., & Soltani, N. (2023). Insecticidal activity of *Eucalyptus globulus* (Labill) essential oil against *Culiseta longiareolata* (M., 1838) (Diptera : Culicidae). *Allelopathy Journal*, 59(1), 81-94. <https://doi.org/10.26651/allelo.j/2023-59-1-1433>
- Yasuoka, J., Mangione, T. W., Spielman, A., & Levins, R. (2006). Impact of education on knowledge, agricultural practices, and community actions for mosquito control and mosquito-borne disease prevention in rice ecosystems in Sri Lanka. *American journal of Tropical medicine and hygiene*, 74(6), 1034.
- Yazdani, E., Jalali Sendi, J., Aliakbar, A., & Senthil-Nathan, S. (2013). Effect of *Lavandula angustifolia* essential oil against lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lep : Pyralidae) and identification of its major derivatives. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 107(2), 250-257. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2013.08.002>
- Yazdani, E., Sendi, J. J., & Hajizadeh, J. (2014). Effect of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. essential oils on toxicity, food consumption, and biochemical properties of lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera : Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*, 54(1), 53-61. <https://doi.org/10.2478/jppr-2014-0008>
- 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*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 33, 407-417

- 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. https://doi.org/10.15666/aeer/2203_21492164
- Yokoyama, A. (2019).** Assessing impacts of insecticides on different embryonic stages of the nontarget aquatic insect *Cheumatopsyche brevilineata* (Trichoptera: Hydropsychidae). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 38(7), 1434-1445. <https://doi.org/10.1002/etc.4405>
- Youssefi, M. R., Tabari, M. A., Esfandiari, A., Kazemi, S., Moghadamnia, A. A., Sut, S., Dall'Acqua, S., Benelli, G. et Maggi, F. (2019).** Efficacy of two monoterpenoids, carvacrol and thymol, and their combinations against eggs and larvae of the West Nile vector *Culex pipiens*. *Molecules*, 24(10), 1867. <https://doi.org/10.3390/molecules24101867>
- Yurchenko, A. A., Masri, R. A., Khrabrova, N. V., Sibataev, A. K., Fritz, M. L., & Sharakhova, M. V. (2020).** Genomic differentiation and intercontinental population structure of mosquito vectors *Culex pipiens pipiens* and *Culex pipiens molestus*. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63305->
- 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. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2020.1860138>
- Zerroug, M. M., Laouer, H., Strange, R. N., & Nicklin, J. (2011).** The effect of essential oil of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. On the growth of and the production of solanapyrone a by *Ascochyta Rabiei* (Pass.) Labr. *Advances in Environmental Biology*, 5, 501-506.
- Zerroug, S. (2018).** Etude biométrique et histologique sur des larves de *Culex pipiens* Linnée, 1758 (Diptera, Culicidae) exposées aux extraits aqueux de plantes. Thèse de Doctorat LMD, Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie, 131p.
- Zhang, J., Lu, G., Li, J., Kelly, P., Li, M., Wang, J., Huang, K., Qiu, H., You, J., Zhang, R., Wang, Y., Zhang, Y., Wu, H., & Wang, C. (2019).** Molecular Detection of *Rickettsia felis* and *Rickettsia bellii* in Mosquitoes. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 19(11), 802–809. <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2456>
- Zhou, G., & Miesfeld, R. L. (2009).** Energy metabolism during diapause in *Culex pipiens* mosquitoes. *Journal of Insect Physiology*, 55(1), 40-46. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2008.10.002>
- Ziani, B. E. C., Barros, L., Boumehira, A. Z., Bachari, K., Heleno, S. A., Alves, M. J., & Ferreira, I. C. F. R. (2018).** Profiling polyphenol composition by HPLC-DAD-ESI/MSn and the antibacterial activity of infusion preparations obtained from four medicinal plants. *Food & Function*, 9(1), 149-159. <https://doi.org/10.1039/C7FO01315A>
- Zittra, C., Flechl, E., Kothmayer, M., Vitecek, S., Rossiter, H., Zechmeister, T., & Fuehrer, H.-P. (2016).** Ecological characterization and molecular differentiation of *Culex pipiens* complex taxa and *Culex torrentium* in eastern Austria. *Parasites & Vectors*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1495-4>
- Zittra, C., Waringer, J., Werblow, A., Melaun, C., & Fuehrer, H.-P. (2014).** Reconfirmation of *Culiseta* (Allotheobaldia) *longiareolata* (Macquart 1838) (Diptera: Culicidae) in Austria. The first sequence-confirmed findings in northeastern Austria. *Acta ZooBot Austria*, 150(151), 17-24.

Webographie

Monographie, (2020). Monographie de la Wilaya de Sétif; Wilaya de Sétif : Sétif, Algérie.

Annexes

Annexes

Publication

ARIBI, L., BOUNECHADA, M., KHENCHOUCHE, A., NABTI, I., BENSEBAA, F., & BOUDECHICHA, A. (2024). PHYTOCHEMICAL COMPOSITION AND LARVICIDAL ACTIVITY OF *SACCOCALYX SATUREIODES* COSS. ET DURIEU ESSENTIAL OIL AGAINST *CULEX PIFIENS* S.L. AND *CULISETA LONGIAREOLATA* (DIPTERA : CULICIDAE). *Natural Resources and Sustainable Development*, 14(1), 39-50. <https://doi.org/10.31924/nrsd.v14i1.148>

Communications internationales

ARIBI, L., BOUNECHADA, M., KHENCHOUCHE, A. (2024). Molecular differentiation of *Culex pipiens* forms (Diptera: Culicidae) in Setif, Algeria. 1st Pan Arab Symposium on Parasitology and Infectious Diseases, 18-19 Mai. Université de Relizane. Via Google meet.

ARIBI, L., BOUNECHADA, M., KHENCHOUCHE, A. (2023). Activités larviques des huiles essentielles de deux plantes médicinales contre les larves de *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae). First International Webinar on: Promotion and Exploitation of Plants of Ecological and Economic Interest, 15-16 Mars. Université Abbes Laghrour, Khenchela. Via Google meet.

Communications nationales

ARIBI, L., BOUNECHADA, M., KHENCHOUCHE, A. (2023). *Pimpinella anisum* essential oil as a repellent against *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae) mosquitoes. National Seminar On Phytotherapy And Pharmacognosy, 14-15 Mars. Université Farhat Abbes, Sétif.

ARIBI, L., BOUNECHADA, M., KHENCHOUCHE, A. (2023). Larvicidal acitivity of *Cymbopogon citratus* essential oil against *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae). National Seminar On Phytotherapy And Pharmacognosy, 14-15 Mars. Université Farhat Abbes, Sétif.

ARIBI, L., BOUNECHADA, M., KHENCHOUCHE, A. (2023). *Saccocalyx satureioides* : Composition chimique et activité larvicide contre le vecteur du virus West Nile *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae). 4th National Seminar between the Student and the Investor, 26-27 Avril. Université de Tlemcen.

PHYTOCHEMICAL COMPOSITION AND LARVICIDAL ACTIVITY OF *SACCOCALYX SATUREIODES* COSS. ET DURIEU ESSENTIAL OIL AGAINST *CULEX PIFIENS* S.L. AND *CULISETA LONGIAREOLATA* (DIPTERA: CULICIDAE)

Aribi Lamia*[#], Bounechada Mustapha*, Khenchouche Abdelhalim**^{ID}, Nabti
Ismahane***^{ID}, Bensebaa Fethi****^{ID}, Boudechicha Amel*****^{ID}

*University of Ferhat Abbas, Faculty of Nature and Life Sciences, Department of Biology and
Animal Physiology, Laboratory of Improvement and Development of Animal and Plant Production,
Setif 1, Algeria

**University of Ferhat Abbas, Faculty of Nature and Life Sciences, Department of Microbiology,
Laboratory of Applied Biochemistry, Setif 1, Algeria

***University of Relizane, Faculty of Sciences and Technology, Department of Biological Sciences,
Laboratory of Environment and Sustainable Development, Algeria

****University of Badji Mokhtar Annaba, System and Advanced Materials Laboratory (LSAM),
Algeria

*****University of Ferhat Abbas, Faculty of Nature and Life Sciences, Department of Microbiology,
Laboratory of Applied Microbiology, Setif 1, Algeria

Abstract

The aim of this study was to test the potential insecticidal properties of *Saccocalyx satureioides* (Lamiaceae) essential oil against the 4th instar larvae of *Culex pipiens* s.l. and *Culiseta longiareolata*, which constitute the most abundant mosquito species in Setif region (Northeast of Algeria). The essential oil was extracted from the plant through hydrodistillation of dried aerial parts in a yield of 2 % and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. The larvicidal effect of the obtained essential oil was thereafter tested according to the World Health Organization standard protocol. In result, the larvicidal tests revealed a Lethal Concentration causing 25 % mortality (LC₂₅) LC₂₅ = 45.43 Parts Per Million (ppm), Lethal concentration causing 50 % mortality (LC₅₀) LC₅₀ = 55.87 ppm and Lethal concentration causing 90 % mortality (LC₉₀) LC₉₀ = 84.52 ppm against *Cx. pipiens* s.l. and LC₂₅ = 52.6 ppm, LC₅₀ = 64.48 ppm and LC₉₀ = 96.91 ppm against *Cs. longiareolata*. Furthermore, the analysis of the essential oil (EO) composition led to the identification of 58 components representing 100 % of the total essential oil contents. The main chemical constituents identified were α -terpineol (23.95 %), thymol (18.15 %), and borneol (17.22 %). Ultimately the conducted experiments resulted in a potential larvicidal effect of the main compounds of *S. satureioides* essential oil against the tested mosquito species; these compounds could be utilized after been tested separately in mosquito control as an alternative to synthetic insecticides.

Key words: *Culex pipiens* s.l., *Culiseta longiareolata*, essential oil, Gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS), larvicidal activity, *Saccocalyx satureioides*

INTRODUCTION

Mosquitoes play a significant role in medical and veterinary entomology because of their importance as vectors of many pathogens causing deadly diseases including malaria, filariasis, dengue fever, chikungunya, Japanese encephalitis, Zika, and yellow fever. These mosquito-borne diseases (MBDs) are prevalent in over 100 countries and infect over

Corresponding author

700 million people worldwide each year, this in turn, resulted in negative social and economic impacts in regions with a high prevalence of MBDs (Amarasinghe et al., 2020; Sofi et al., 2022; Ganesan et al., 2023).

In order to control MBDs and improve the quality of the environment and human health, synthetic products have been commonly used for several decades as a pest management practice. These products are specifically designed to target and eliminate mosquitoes; however, their extensive use raises concerns about environmental pollution, their impact on non-targeted organisms and resistance problems (Pavela et al., 2019; Ajaegbu et al., 2022). Wherefore, researchers have been encouraged to adopt other strategies and alternative techniques that are selective, biodegradable, and eco-friendly (Pandiyan et al., 2019).

One of the most tested and promising alternative techniques to control mosquitoes is the use of plant extracts and their derivatives as bio-pesticides (Zeghib et al., 2020). Many plant extracts have been reported to possess insecticidal properties against mosquitoes, they are supposed to show ovicidal, larvicidal, pupicidal, and adulticidal potentials (Merabti et al., 2017; Yagoo et al., 2023; Areshi et al., 2023). So far, no evidence about resistance of mosquito species against bio-insecticides has been reported.

Saccocalyx satureioides Coss. et Durieu, known as “Zaatar el Sahara” (Laouer et al., 2006), belongs to the Lamiaceae family, and it is recognized by their medicinal properties (Souadia et al., 2020).

In this context, the present study aimed to evaluate the larvicidal potential of *S. satureioides* essential oil against the most representative mosquito species in Algeria, and more particularly in Setif region: *Culex pipiens* s.l. that constitutes the main vector of West Nile virus in the world, and *Culiseta longiareolata*, the likely vector of *Plasmodium* spp. in birds (Nabti and Bounechada, 2020; El-Kasem Bosly, 2022). Furthermore, we attempted to identify the oil components by GC/MS analysis, in order to determine the active ingredients responsible of the larvicidal activity in the essential oil.

MATERIAL AND METHOD

Plant material

The plant material used in this study consists of the aerial parts of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Durieu, Lamiaceae (Fig. 1), collected in March 2021 in Boussaada, M'sila province, which is located between the Salt Lake of El-Hodna and the Saharan Atlas Mountains (North Center of Algeria). Plant materials were identified and deposited in the herbarium with the voucher specimen assigned the code PUVIT-090030001, by Dr. Saouli N., at the Department of Biology and Plant Ecology, Ferhat Abbas University, Setif 1, Algeria.

A biomass of 80 g of the aerial parts was subjected to hydrodistillation for 3 h, in a Clevenger-type apparatus. The extracted oil was stored in an opaque bottle at a temperature of 4 °C. The essential oil yield, determined from three extractions and expressed as a percentage, is the ratio between the weight of the extracted oil and the weight of the dry matter of the plant. It was calculated according to the following formula (Bouabida and Dris, 2020):

$$Y = [\sum WB / \sum WA] \times 100; \quad [1]$$

where: Y = Yield of the essential oil in %;

WB = Oil weight in g;

WA = Dry matter weight of the plant in g.



Fig. 1. *Saccocalyx satureioides*

Essential oil analysis

The essential oil extracted from *Saccocalyx satureioides* was subjected to GC/MS analysis using Shimadzu GC/MS-TQ8040, equipped with a RTX5MS column (30 m × 0.25 mm and 0.25 μm film thickness). The initial column oven temperature was held at 60 °C for 8 min, then increased up to 250 °C during 10 min at rate of 3 °C min⁻¹. The injection was performed at 250 °C. The carrier gas used was helium, the flow rate was 1 ml min⁻¹, with injection of 1 μl of essential in split mode (10:1). The ionization of the components was carried out by electronic impact 70 eV. The essential oil compounds were identified by using the WILEY-NIST MS data library. The percentage composition of the essential oil was calculated based on the area of the chromatographic peaks. This technique was performed at the Center of Scientific and Technical Research in Physico-Chemical Analysis, Ouargla, Algeria.

Mosquito rearing

Larvae samples of *Culex pipiens* s.l. and *Culiseta longiareolata* were collected from different untreated breeding sites, transported to the laboratory, and kept in culture at an ambient temperature (27 ± 2 °C) in a

photoperiod of 12 h of light followed by 12 h of darkness. Their nutrition consists mainly of mixture of Biscuit-dried yeast (75:25 by weight) (Rehimi and Soltani, 1999).

Larvicidal activity test

The toxicity tests were carried out according to the standard method described by the World Health Organization guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides (WHO, 2005). The essential oil of *Saccocalyx saturoieides* obtained by hydrodistillation was diluted in ethanol to obtain a stock solution of 10 and 1 %. 25 larvae of the 4th stage of *Culex pipiens* s.l. and *Culiseta longiareolata* were exposed to different concentrations (40, 50, 60, 70, 80, 90 ppm for *Cx. pipiens* s.l. and 40, 60, 80, 100, 120 ppm for *Cs. longiareolata*), obtained by adding 0.1 - 1 ml (100-1000 µl) of stock solution to 100 ml of water. Concentrations that revealed between 10 and 95 % mortality were replicated four times. A range of controls was run simultaneously, by adding 1 ml of ethanol to 100 ml of water. Mortality was recorded after 24 h. Sublethal and lethal concentrations (LC₂₅, LC₅₀, LC₉₀) with the corresponding 95 % fiducial limits (95 % FL) and the Hill slope were determined using statistical tests.

Statistics analysis

Results were presented as the mean \pm SD. The non-linear regression expressed the percentage of mortality corrected according to the logarithm of the doses, made it possible to estimate the sublethal and the lethal concentrations, with their fiducial limits at 95 %. Further, we performed an analysis of variance (one-way ANOVA) and a post-hoc Tukey HSD test to determine the significance between different series (at 5 %). The homogeneity of variances was verified by the Bartlett and Brown-Forsythe tests. Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 8 software.

RESULTS AND DISCUSSION

Extraction yield

The hydrodistillation of the dried aerial parts of *Saccocalyx saturoieides* produced a pale-yellow oil with a very strong and persistent thyme odor and a yield of 2 %. These results were near to those obtained by Khaldi et al., 2017, Ammar et al., 2020 and Aouf et al., 2020 (the *S. saturoieides* yield reported was 2.8, 2.4 and 2.1 %, respectively). However, other publications noted higher percentage yields of 4.42, 3.5, 2.69 to 4.88 and 4.56 % for the same species *S. saturoieides* cultivated in Ain-Safra in Naama (Bendimerad et al., 2009), Bousaada in M'sila (Biondi et al., 2006), Zaafran and Ain Chouaha in Djelfa (Souadia et al., 2021; Draoui et al., 2022).

Otherwise, authors in other research papers reported a lower yield of 1.5 % (Laouer et al., 2006; Zerroug et al., 2011). Several factors could influence the biological activity of essential oils, their yield and their chemical composition. From the most influential of these factors, we could mention the method and the duration of the extraction, the drying period, the harvesting period, the soil quality, the plant maturity, the geographical location, the GC/MS conditions, etc. (Mohammedi et al., 2020; Kerbouche et al., 2021; Draoui et al., 2022).

Chemical composition of essential oil

GC/MS analysis led to the identification of 58 compounds, which represents 100 % of the total essential oil formulation. The percentages and retention times (RT) of the isolated constituents are mentioned in Table 1.

Table 1

Chemical composition of *S. satureioides*: retention time (RT) and area (%) of components identified

Compounds	RT (min)	Area (%)
5,5-Dimethyl-1-vinylbicyclo [2.1.1] hexane	6.08	0.05
α -Tricyclene	6.21	0.31
α -Thujene	6.41	0.78
2-Pinene	6.75	2.85
Camphene	7.47	4.7
2,4-Thujadiene	7.65	0.04
α -Sabinene	8.67	0.12
β -Pinene	8.82	0.84
3-Octanone	9.41	0.35
β -Myrcene	9.70	1.02
α -Phellandrene	10.36	0.06
3-Carene	10.69	0.05
α -Terpinene	11.08	0.96
Prehnitene	11.69	5.08
D-Limonene	11.85	2.1
β -cis-Ocimene	12.99	0.02
γ -Terpinene	13.58	2.51
(Z)-Sabinene hydrate	13.94	0.13
Linalool oxide	14.30	0.01
2-Norbornanone, 3,3-dimethyl-	14.78	0.02
α -Terpinolene	15.19	0.53
Linalool	15.97	2.07
trans-2-Menthenol	17.01	0.08
1,7,7-Trimethylbicyclo [2.2.1] hept-5-en-2-one	17.25	0.21
cis-Sabinol	17.92	0.24
(+)-2-Bornanone	18.18	0.38
3-Ketocamphor	18.47	0.32
borneol	19.99	16.98

L-4-terpineol	20.33	5.95
α -Terpineol	21.578	23.95
Bornyl formate	22.864	1.17
D-Carvone	23.973	0.31
Geraniol	24.895	0.11
p-Anethole	25.724	0.62
Thymol	26.652	18.15
Thymol acetate	29.137	1.25
Ethyltetramethylcyclopentadiene	29.995	0.25
Santovar O	30.675	0.07
(Z)-Jasmone	31.145	0.03
α -Gurgujene	31.569	0.11
Caryophyllene	31.995	0.51
Aromandendrene	32.848	0.42
α -Humulen	33.485	0.15
Alloaromadendrene	33.820	0.17
γ -Gurjunene	34.418	0.06
β -Selinene	34.945	0.07
Bicyclo [5.2.0] nonane, 2-methylene-4,8,8-trimethyl-4-vinyl-	35.360	0.24
γ -Cadinene	36.145	0.34
β -Cadinene	36.552	0.3
Davana ether	36.941	0.06
Succinic acid, tridec-2-yn-1-yl trans-hex-3-en-1-yl ester	37.619	0.03
Palustrol	38.340	0.04
Spatulenol	38.758	1.3
Junenol	40.845	0.05
τ -Cadinol	41.306	1.01
1,1,4,7-Tetramethyldecahydro-1H-cyclopropa[e]azulen-7-ol	42.445	0.02
Shyobunol	43.213	0.2
Cyclopentanecarboxylicacid, 3-methylene-, 1,7,7-trimethylbicyclo [2.2.1] hept-2-yl ester	47.720	0.02
Monoterpene hydrocarbons		22.02
Oxygenated monoterpenes		69.75
Sesquiterpene hydrocarbons		2.37
Oxygenated sesquiterpenes		2.71
Other		3.16
Total identified (%)		100

Oxygenated monoterpenes (69.75 %) and monoterpene hydrocarbons (22.02 %) were identified as the main constituent group, with a high content of α -terpineol (23.95 %), thymol (18.15 %) and borneol (17.22 %), while oxygenated and sesquiterpenes hydrocarbons represented just 5.08 % of all identified components with lower percentages of τ -cadinol and spathulenol (1.01 and 1.3 %, respectively). These results were in agreement with those reported in the literature, where α -terpineol, thymol, borneol, carvacrol were

identified as the major compounds of the *Saccocalyx satureioides* essential oil (32.7, 22.8, 11.6, 6.9 %, respectively) (Biondi et al., 2006). Indeed, the gradual variation in ingredient ratio corresponds to the results reported by Laouer et al., 2006 and Khaldi et al., 2017: α -terpineol (35.9, 32.65 % respectively), thymol (15.6, 22.26 %, respectively), borneol (12.4, 11.04 %, respectively). However, other researchers as Bendahou et al., 2008 and Bendimerad et al., 2009, have demonstrated variations in the chemical profile of Algerian *S. satureioides* essential oil. While the qualitative composition was the same, the authors reported major quantitative differences (borneol 27.4 %, 24.7 %; thymol 18.8 %, 21 %; α -terpineol 17.2 %, 19.1 % and camphene 7.8 %, 6.3 %, respectively). Ultimately, the Borneol/Thymol/ α -terpineol chemotype characterizes the essential oil of *S. satureioides* growing wild in Algeria.

Larvicidal activity

The results of the larvicidal activity of *Saccocalyx satureioides* essential oil against *Culex pipiens* s.l. and *Culiseta longiareolata* larvae after 24 hours of exposure are mentioned in Figure 2. One way ANOVA revealed a high significant difference between doses effect ($F_{5,18} = 276.2$, $p < 0.0001$ for *Cx. pipiens* s.l. and $F_{4,15} = 792.4$, $p < 0.0001$ for *Cs. longiareolata*). According to the LC values, the essential oil of *S. satureioides* was less effectively toxic to *Cs. longiareolata* larvae comparing to *Cx. pipiens* s.l. larvae (Table 2). In a similar study, Ammar et al., 2020 have reported a good efficiency of *S. satureioides* essential oil against *Cx. quinquefasciatus* ($LC_{50} = 62.8$ ppm and $LC_{90} = 94.4$ ppm); the authors suggested that thymol, α -terpineol, and borneol, as major components, have ensured the insecticidal properties of *S. satureioides* essential oil.

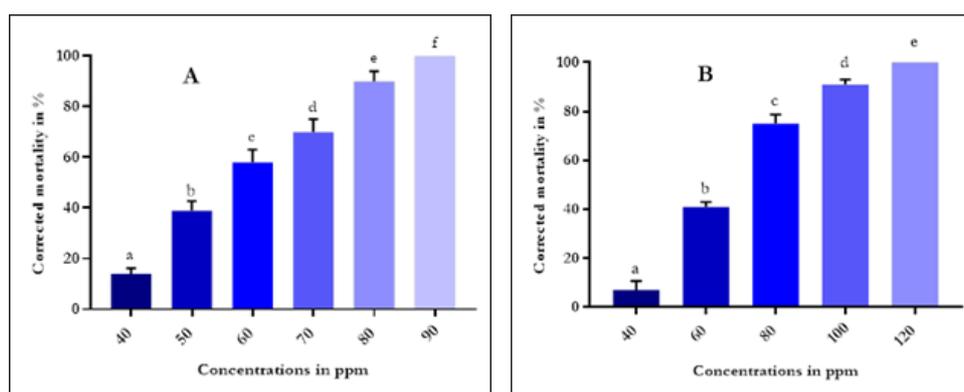


Fig. 2. Effect of *Saccocalyx satureioides* EO against 4th instar larvae of *Culex pipiens* s.l. (A) and *Culiseta longiareolata* (B) after 24h exposure (mean \pm SD, n = 4 each pools containing 25 larvae). Letters represent the concentration classification according to the Tukey HSD test ($p < 0.05$)

Table 2

Sublethal and lethal concentrations (ppm) of *Saccocalyx satureioides* EO applied on 4th instar larvae of *Culex pipiens* s.l. and *Culiseta longiareolata*

Larvae	LC ₂₅ (ppm) 95 % FL	LC ₅₀ (ppm) 95 % FL	LC ₉₀ (ppm) 95 % FL	Hill Slope	R ²
<i>Cx. pipiens</i> s.l.	45.43 (39.96 - 50.19)	55.87 (51.81 - 59.87)	84.52 (74.4 - 99.37)	5.31	0.976
<i>Cs. longiareolata</i>	52.6 (49.34 - 55.68)	64.48 (61.89 - 67.06)	96.91 (89.81 - 105.1)	5.39	0.997

R²- coefficient of determination;

95 % fiducial limits.

Considering the limited research on the insecticidal properties of *Saccocalyx satureioides*, particularly concerning its effectiveness against *Cx. pipiens* s.l. and *Cs. longiareolata* larvae, we deemed it necessary to compare our larvicidal activity results with existing studies conducted on plant extracts from diverse plant families. The toxicity of essential oils has been attributed to the presence of high concentrations of certain oxygenated monoterpenes, including borneol, α -terpineol, linalool, linalyl anthranilate, and camphor. This hypothesis has been confirmed by several studies. El-Kasem Bosly, 2022, demonstrated the toxic effect of *Rosemarinus officinalis*, and *Lavandula angustifolia* against *Cx. pipiens* s.l. (LC₅₀ = 214.97 ppm and 301.11 ppm, respectively); while Zeghib et al., 2020 and Asiri et al., 2020, reported a higher toxicity for the same plants against the same species (LC₅₀ = 51.33 ppm and 29.82 ppm, respectively). Likewise, Dris et al., 2017, reported that *Lavandula dentata* essential oil, rich on α -terpinolene and camphor, exhibits larvicidal activity against *Cx. pipiens* s.l. and *Cs. longiareolata* with LC₅₀ = 113.38 ppm and 77.09 ppm, respectively.

Simultaneously, thymol and carvacrol was declared as active ovicidal and larvicidal agents against *Cx. pipiens* s.l. with LC₅₀ values of 49 mg L⁻¹ and 14 mg L⁻¹, respectively (Youssefi et al., 2019). 1.8-cineole, isolongifolene, 3-carene, the major components of *Laurus nobilis* showed up an excellent larvicidal activity against *Cs. longiareolata* (LC₅₀ = 7.18 ppm) (Aissaoui et al., 2023), while eucalyptol main component of the same plant species showed up an LC₅₀ of 203.7 ppm after 24h of exposure (Bouzidi et al., 2020). Furthermore, Bouabida and Dris, 2022, tested the larvicidal activity of the essential oil extracted from *Ruta graveolens* and noted that *Cx. pipiens* s.l. larvae were more resistant (LC₅₀ = 70.95 ppm) than those of *Cs. longiareolata* (LC₅₀ = 39.41 ppm). Likewise, the studies of Nabti and Bounechada, 2019 and Vivekanandhan et al., 2020, have revealed that four mosquito species (*Cs. longiareolata*, *Cx. quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*) were sensitive to the larvicidal activity of the essential oil extracted from *Eucalyptus* with LC₅₀ equals to 95.83, 7.47, 13.58 and 30.20 ppm, respectively.

Finally, it is worth mentioning that according to the results of previous research, the lethal concentration values of essential oils tested against mosquito larvae decrease with the increasing of the exposure time: 24, 48, 72 h (Seghier et al., 2020; Kharoubi et al., 2021; Van Tuan et al., 2023).

In conclusion, the inference derived from the results indicates that the insecticidal efficacy of essential oils is contingent upon their chemical composition, the interactions among their constituents, and the specific mosquito species being targeted.

CONCLUSIONS

The current study presents the essential oil derived from *Saccocalyx satureioides*, featuring a noteworthy yield and prominent compounds such as α -terpineol, thymol, and borneol. These constituents display considerable larvicidal efficacy against *Culex pipiens* s.l. and *Culiseta longiareolata* larvae. Nevertheless, further investigations into the development of commercial insecticide products and their practical application in the field are essential prerequisites before advocating for the utilization of *S. satureioides* essential oil or one of their components as a viable natural alternative to chemical insecticides.

REFERENCES

1. Aissaoui L., Bouaziz A., Boudjelida H., Nazli A., 2023, 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, vol. 21, no. 1, pp. 287-300. https://doi.org/10.15666/aeer/2101_287300;
2. Ajaegbu E.E., Ikuesan A.J., Nduka F.O., Nwigwe J.O., Ezeagha C.C., Enyi N.C., Ezeagwu P.C., 2022, Mosquitoes' larvicidal activity of *Phoenix dactylifera* Linn extracts against *Aedes aegypti*. Journal of Entomology and Zoology Studies, vol. 10, no. 4, pp. 54-58. <https://doi.org/10.22271/j.ento.2022.v10.i4a.9035>;
3. Amarasinghe L.D., Wickramarachchi P.A.S.R., Aberathna A.A.A.U., Sithara W.S., De Silva C.R., 2020, Comparative study on larvicidal activity of green synthesized silver nanoparticles and *Annona glabra* (Annonaceae) aqueous extract to control *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). Heliyon, vol. 6, no. 6, p. e04322. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04322>;
4. Ammar S., Noui H., Djamel S., Madani S., Maggi F., Bruno M., Romano D., Canale A., Pavela R., Benelli G., 2020, Essential oils from three Algerian medicinal plants (*Artemisia campestris*, *Pulicaria arabica*, and *Saccocalyx satureioides*) as new botanical insecticides?. Environmental Science and Pollution Research, vol. 27, no. 21, pp. 26594-26604. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09064-w>;
5. Aouf A., Ali H., Al-Khalifa A.R., Mahmoud K.F., Farouk A., 2020, Influence of nanoencapsulation using high-pressure homogenization on the volatile constituents and anticancer and antioxidant activities of Algerian *Saccocalyx satureioides* Coss. Et Durieu. Molecules, vol. 25, no. 20, p. 4756. <https://doi.org/10.3390/molecules25204756>;

6. Areshi S., Mashlawi A.M., El-Shabasy A., Daim Z.A., Mohsen A., Salama S.A., 2023, Larvicidal, pupalicial and adulticial effects of *Artemisia absinthium* L. against dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Jazan region, KSA. Saudi Journal of Biological Sciences, vol. 30, no. 12, p. 103853. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103853>;
7. Asiri B.M., Al-Ansari S.Q., Edrees N.O., 2020, Evaluation of toxicological effects of some plant oils and diesel oil on some biological aspects of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) larvae. Life Science Journal, vol. 17, no. 9, pp. 57-70. <https://doi.org/10.7537/marslsj170920.08>;
8. Bendahou M., Benyoucef M., Muselli A., Desjobert J.M., Paolini J., Bernardini A.F., Costa J., 2008, Antimicrobial activity and chemical composition of *Saccocalyx satureioides* Coss. Et Dur. essential oil and extract obtained by microwave extraction. Comparison with hydrodistillation. Journal of Essential Oil Research, vol. 20, no. 2, pp. 174-178. <https://doi.org/10.1080/10412905.2008.9699984>;
9. Bendimerad N., Bekhechi C., Belmekki N., Fernandez X., 2009, Chemical analysis and antimicrobial activity of *Saccocalyx satureioides* Coss. Et Dur. essential oil from southwestern Algeria. International Journal of Essential Oil Therapeutics, vol. 3, pp. 1-5;
10. Biondi D.M., Sari M., Ghani Z.A., Ruberto G., 2006, Essential oil of Algerian *Saccocalyx satureioides* Coss. Et Durieu. Flavour and Fragrance Journal, vol. 21, no. 3, pp. 546-548. <https://doi.org/10.1002/ffj.1661>;
11. Bouabida H., Dris D., 2020, Effect of rue (*Ruta graveolens*) essential oil on mortality, development, biochemical and biomarkers of *Culiseta longiareolata*. South African Journal of Botany, vol. 133, pp. 139-143. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.07.005>;
12. Bouabida H., Dris D., 2022, Biological toxicity of *Ruta graveolens* essential oil against three species of diptera *Drosophila melanogaster*, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. Journal of Vector Borne Diseases, vol. 59, no. 4, pp. 320-326. <https://doi.org/10.4103/0972-9062.353272>;
13. Bouzidi O., Tine S., Hamaidia K., Tine-Djebbar F., Soltani N., 2020, Chemical composition and bioefficacy of essential oil from Bay Laurel Shrub (Laurales: Lauraceae) against *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera: Culicidae) larvae. Journal of Entomological Science, vol. 55, no. 2, pp. 262-272. <https://doi.org/10.18474/0749-8004-55.2.262>;
14. Draoui Y., Aksas H., Amghar F., 2022, Extraction and valorization of active principles of *Saccocalyx satureioides* collected in two wilayas of Algeria. Algerian Journal of Environmental Science and Technology, vol. 8, no. 2, pp. 2495-2505;
15. Dris D., Tine-Djebbar F., Soltani N., 2017, Lavandula dentata essential oils: chemical composition and larvicidal activity against *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). African Entomology, vol. 25, no. 2, pp. 387-394. <https://doi.org/10.4001/003.025.0387>;
16. El-Kasem Bosly H.A., 2022, Larvicidal and adulticial 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, vol. 29, no. 8, p. 103350. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103350>;
17. Ganesan P., Samuel R., Mutheeswaran S., Pandikumar P., Reagan A.D., Aremu A.O., Ignacimuthu S., 2023, Phytocompounds for mosquito larvicidal activity and their modes of action: A review. South African Journal of Botany, vol. 152, pp. 19-49. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.11.028>;

18. Kerbouche L., Hazzit M., Baaliouamer A., Akretche S., 2021, Distillation time effecting on the composition of *Origanum floribundum* essential oils and their antioxidant and antimicrobial activities. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, vol. 76, no. 3-4, pp. 153-160. <https://doi.org/10.1515/znc-2020-0102>;
19. Khaldi A., Moussaoui A., Benmehdi H., 2017, In vitro antifungal activities of essential oil of *Saccocalyx satureioides* Coss. Et Dur. on fungal species development. *Applied Biology in Saharan Areas*, vol. 1, no. 2, pp. 8-15;
20. 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*, vol. 24, no. 1, pp. 134-146. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1888158>;
21. Laouer H., Akkal S., Debarnot C., Canard B., Meierhenrich U.J., Baldovini N., 2006, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Saccocalyx satureioides* Coss. Et Dur. *Natural Product Communications*, vol. 1, no. 8, p. 1934578X0600100. <https://doi.org/10.1177/1934578X0600100809>;
22. Merabti B., Lebouz I., Ouakid M.L., 2017, Larvicidal activity and influence of Azadirachtin (neem tree extract) on the longevity and fecundity of mosquito species. *Acta Zoologica Bulgarica*, vol. 69, no. 3, pp. 429-435;
23. Mohammedi H., Mecherara-Idjeri S., Hassani A., 2020, Variability in essential oil composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Ruta montana* L. collected from different geographical regions in Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, vol. 32, no. 1, pp. 88-101. <https://doi.org/10.1080/10412905.2019.1660238>;
24. Nabti I., Bounechada M., 2019, Larvicidal activities of essential oils extracted from five Algerian medicinal plants against *Culiseta longiareolata* Macquart. larvae (Diptera: Culicidae). *European Journal of Biology*, vol. 78, no. 2, pp. 133-138. <https://doi.org/10.26650/EurJBiol.2019.0015>;
25. Nabti I., Bounechada M., 2020, Mosquito biodiversity in Setif region (Algerian high plains), density and species distribution across two climate zones. *Entomologie Faunistique-Faunistic Entomology*, vol. 73, no. 1-14, <https://doi.org/10.25518/2030-6318.4655>;
26. Pandiyan G.N., Mathew N., Munusamy S., 2019, Larvicidal activity of selected essential oil in synergized combinations against *Aedes aegypti*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 174, pp. 549-556. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.03.019>;
27. Pavela R., Maggi F., Iannarelli R., Benelli G., 2019, Plant extracts for developing mosquito larvicides: From laboratory to the field, with insights on the modes of action. *Acta Tropica*, vol. 19, pp. 236-271. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.01.019>;
28. Rehim N., Soltani N., 1999, Laboratory evaluation of Alsystin, a chitin synthesis inhibitor, against *Culex pipiens pipiens* L. (Dip., Culicidae): Effects on development and cuticle secretion. *Journal of Applied Entomology*, vol. 123, no. 7, pp. 437-441. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.1999.00388.x>;
29. Seghier H., Fouzia T.D., Loucif-Ayad W., Soltani N., 2020, Larvicidal and pupicidal activities of *Petroselinum crispum* seed essential oil on *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata* mosquitoes. *Transylvanian Review*, vol. 27, no. 47, pp. 14669-14677;
30. Sofi M.A., Nanda A., Sofi M.A., Maduraiveeran R., Nazir S., Siddiqui N., Nadeem A., Shah Z.A., Rehman M.U., 2022, Larvicidal activity of *Artemisia absinthium* extracts with special reference to inhibition of detoxifying enzymes in larvae of *Aedes aegypti* L. *Journal of King Saud University – Science*, vol. 34, no. 7, p. 102248. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102248>;

31. Souadia A., Gourine N., Yousfi M., 2020, Variability in phytochemical composition and antioxidant activity of *Saccocalyx satureioides* essential oils due to harvest period. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, vol. 26, no. 4, pp. 435-446. <https://doi.org/10.1080/10496475.2020.1749208>;
32. Souadia A., Gourine N., Yousfi M., 2021, Fingerprint and relationship composition-antioxidant activity of the essential oil of *Saccocalyx satureioides* Coss. & Dur. Biochemical Systematics and Ecology, vol. 97, p. 104280. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2021.104280>;
33. Van Tuan T., Huong L.T., Dung V.T., Dai D.N., Hung N.H., Avoseh O.N., Ogunwande I.A., 2023, Chemical compositions, antimicrobial activity and mosquito larvicidal actions of essential oils from the leaves and fruits of two Rutaceae family of plants from Vietnam. Journal of Essential Oil Bearing Plants, vol. 26, no. 4, pp. 1032-1045. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2023.2252831>;
34. Vivekanandhan P., Usha-Raja-Nanthini A., Valli G., Subramanian Shivakumar M., 2020, Comparative efficacy of *Eucalyptus globulus* (Labill) hydrodistilled essential oil and temephos as mosquito larvicide. Natural Product Research, vol. 34, no. 18, pp. 2626-2629. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1547290>;
35. WHO - World Health Organization, 2005, Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP13;
36. Yagoo A., Milton M.C.J., Vilvest J., Johnson I., Balakrishna K., 2023, Mosquito larvicidal, pupicidal and ovidical effects of the different extracts of the leaves of *Peltophorum pterocarpum* against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. Future Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 9, no. 1, p. 32. <https://doi.org/10.1186/s43094-023-00483-3>;
37. Youssefi M.R., Tabari M.A., Esfandiari A., Kazemi S., Moghadamnia A.A., Sut S., Dall'Acqua S., Benelli G., Maggi F., 2019, Efficacy of two monoterpenoids, carvacrol and thymol, and their combinations against eggs and larvae of the West Nile vector *Culex pipiens*. Molecules, vol. 24, no. 10, p. 1867. <https://doi.org/10.3390/molecules24101867>;
38. 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, vol. 23, no. 6, pp. 1463-1474. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2020.1860138>;
39. Zerroug M.M., Laouer H., Strange R.N., Nicklin J., 2011, The effect of essential oil of *Saccocalyx satureioides* Coss. Et Dur. On the growth of and the production of Solanapyrone A by *Ascochyta Rabiei* (Pass.) Labr. Advances in Environmental Biology, vol. 5, no. 2, pp. 501-506.

Received: February
09, 2024

Revised: February
24, 2024

Accepted: February
29, 2024

Published: May
30, 2024

تهدف هذه الدراسة لاستكشاف الخصائص البيئية والفسلوجية لـ أكثر نوعين من البعوض هيمنة في الجزائر *Culiseta longiareolata* و *Culex pipiens s.l.*، ناقلاً رئيسياً للعوامل الممرضة التي تشكل تحديات كبيرة للصحة العامة على الصعيد العالمي، إلا أنهما لم يحظيا بدراسة كافية في الجزائر. في هذه الدراسة، قمنا أولاً بدراسة التمايز البيئي بين *Cx. p. molestus* و *Cx. p. pipiens*، عضوان في مركب *Cx. pipiens*، معروفين باختلافاتهما السلوكية والفسلوجية الكبيرة. تمت كذلك دراسة خصائص التكاثر، بما في ذلك معدلات التوالد الذاتي. تم أخذ عينات من تسع مناطق من مختلف البيئات، حضرية أو ريفية، سطحية أو تحت أرضية. النتائج أوضحت أن *Cx. p. pipiens* فضل البيئات الريفية ومواقع التكاثر السطحية، وتميز بسلوك غير ذاتي التوالد. في المقابل، لم يُظهر كل من *Cx. p. molestus* والهجانن أي تفضيل لنوع معين من البيئات، سواء كانت حضرية أو ريفية، أو لمواقع التكاثر، سواء كانت سطحية أو تحت أرضية. ومع ذلك، فإنها تمتعت بقدرة ملحوظة على أن تكون ذاتية التوالد، خاصة في المواقع تحت أرضية. بالإضافة إلى ذلك، تؤكد التحليلات أن التوالد الذاتي يرتبط بشكل قوي بمواقع التكاثر تحت أرضية. في الوقت ذاته، كشفت التحليلات الجزيئية لـ *Cs. longiareolata* المأخوذة من أربعة مواقع سطحية عن وجود خمسة أنماط وراثية (haplotypes) مما يشير إلى تشابه جيني كبير داخل المجتمع المدروس. علاوة على ذلك، لم تُظهر هذه العينات أي سلوك توالد ذاتي. ركز الجزء الثاني من هذه الدراسة على تحديد الخصائص الكيميائية للزيوت الأساسية المستخلصة من ثلاث نباتات، وهي *Pimpinella anisum*، *Saccocalyx satuireioides*، و *Cymbopogon citratus*، بالإضافة إلى تقييم نشاطها القاتل ضد يرقات البعوض، *Cx. pipiens s.l.* و *Cs. longiareolata*. تم الحصول على الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي للأجزاء الهوائية المجففة، حيث كانت نسبة المرود 0.9% لـ *C. citratus*، و2% لـ *S. satuireioides*، و4% لـ *P. anisum*. تم تحليل الزيوت بواسطة التحليل الكيميائي الضوئي، إذ كشفت النتائج عن 48 مركباً لـ *C. citratus*، أهمها α -citral و β -citral؛ و58 مركباً لـ *S. satuireioides*، مع مركبات رئيسية مثل α -terpineol، thymol، borneol و 48 مركباً لـ *P. anisum*، مع anethole و D-limonene كمركبين سائدين. تم تقييم نشاط الزيوت القاتل وفقاً لبروتوكول منظمة الصحة العالمية، أظهرت النتائج أن يرقات *Cx. pipiens s.l.* هي الأكثر حساسية، وأن الزيت الأساسي لـ *P. anisum* كان الأكثر سمية. بالإضافة إلى ذلك، تم اختيار *S. satuireioides* لتحليل بيوكيميائي عميق نظراً لقلّة الدراسات حوله. كشف هذا التحليل عن انخفاض في وزن الجسم، وكذلك في تركيزات الكربوهيدرات والبروتينات، في حين ارتفع مستوى الدهون في النوعين المدروسين.

الكلمات المفتاحية: مركب *Culex pipiens s.l.*، *Culiseta longiareolata*، البيئة، التوالد الذاتي، COI، الميكروساتليت CQ11، مستخلصات النباتات، المكافحة البيولوجية، الجزائر.

Résumé

Cette étude a porté sur deux espèces les plus dominantes en Algérie *Culex pipiens s.l.* et *Culiseta longiareolata*. Ces deux vecteurs de pathogènes posent des défis majeurs pour la santé publique à l'échelle mondiale, mais ont été relativement peu étudiés en Algérie. Dans la présente recherche, nous avons dans un premier temps analysé la différenciation écologique entre *Culex pipiens pipiens* et *Culex pipiens molestus*, deux membres du complexe *Cx. pipiens*, connus pour leurs différences comportementales et physiologiques. Les caractéristiques de reproduction, notamment les taux d'autogénie, ont été également étudiées. Neuf populations de *Cx. pipiens s.l.* ont été échantillonnées dans divers habitats urbains et ruraux dans la région de Sétif, répartis entre des sites de reproduction en surface et souterrains. L'identification moléculaire des larves, réalisée à l'aide du locus microsatellite CQ11, a révélé que les trois biotypes (*Cx. p. pipiens*, *Cx. p. molestus* et leurs hybrides) coexistaient en sympatrie dans les sites de reproduction en surface et souterrains, la forme *molestus* étant dominante, suivie des hybrides et la forme *pipiens*. *Cx. p. pipiens* préférait les habitats ruraux et les sites de reproduction en surface, et se caractérisait par un comportement anautogène. En revanche, la forme *Cx. p. molestus* et les hybrides ne montraient aucune préférence spécifique pour un type particulier d'habitat ou de site de reproduction. Cependant, ces deux formes présentaient une capacité notable à être autogènes, particulièrement dans les sites de reproduction souterrains. De plus, les analyses confirmaient que l'autogénie était fortement corrélée aux sites de reproduction souterrains. Simultanément, une analyse moléculaire basée sur l'amplification du gène COI, suivie du séquençage des spécimens de *Cs. longiareolata* prélevés dans quatre sites épigés, a mis en évidence la présence de cinq haplotypes, suggérant une forte similarité au sein de la population étudiée. En outre, elle ne présentait aucun comportement autogène. Le second volet de cette recherche a porté sur la caractérisation chimique des huiles essentielles de trois plantes, *Cymbopogon citratus*, *Saccocalyx satuireioides* et *Pimpinella anisum*, ainsi que sur l'évaluation de leur activité larvicide contre les larves des deux espèces, *Cx. pipiens s.l.* et *Cs. longiareolata*. Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation des parties aériennes séchées, avec des rendements de 0,9 % pour *C. citratus*, 2 % pour *S. satuireioides*, et 4 % pour *P. anisum*. Les huiles ont été ensuite analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM), révélant 48 composés pour *C. citratus*, dont les principaux sont l' α -citral et le β -citral ; 58 composés pour *S. satuireioides*, avec l' α -tépinéol, le thymol et le bornéol comme composés majeurs ; et 49 composés pour *P. anisum*, dominés par l'anéthol et le D-limonène. L'activité larvicide de ces huiles a été ensuite évaluée conformément au protocole standard de l'Organisation Mondiale de la Santé, permettant d'estimer les concentrations létales (CL25, CL50, CL90). Les résultats ont révélé que *Cx. pipiens s.l.* était l'espèce la plus sensible, et que l'huile essentielle de *P. anisum* s'est avérée la plus toxique. De plus, *S. satuireioides* a été sélectionnée pour une analyse biochimique approfondie en raison de son statut peu étudié. Cette analyse a révélé que le poids corporel, ainsi que les concentrations en glucides et en protéines, diminuaient, tandis que le taux des lipides augmentait chez les deux espèces étudiées.

Mots clés : Complexe *Culex pipiens s.l.*, *Culiseta longiareolata*, Ecologie, Autogénie, COI, Microsatellite CQ11, Extraits de plantes, Lutte biologique, Algérie.

Abstract

This study focused on two of the most dominant mosquito species in Algeria: *Culex pipiens s.l.* and *Culiseta longiareolata*. Both of these pathogen vectors present significant public health challenges on a global scale but have been relatively understudied in Algeria. In this research, we first analyzed the ecological differentiation between *Culex pipiens pipiens* and *Culex pipiens molestus*, two members of the *Cx. pipiens* complex, known for their distinct behavioral and physiological characteristics. Reproductive traits, such as autogeny rates, were also studied. Nine populations of *Cx. pipiens s.l.* were sampled from various urban and rural habitats in the Setif region, distributed across aboveground and underground breeding sites. The molecular identification of larvae, carried out using the CQ11 microsatellite locus, revealed that the three biotypes (*Cx. p. pipiens*, *Cx. p. molestus*, and their hybrids) coexisted in sympatry in both aboveground and underground breeding sites, with the *molestus* form being dominant, followed by hybrids and the *pipiens* form. *Cx. p. pipiens* preferred rural habitats and surface breeding sites and was characterized by an anautogenous behavior. In contrast, *Cx. p. molestus* and hybrids showed no specific preference for a particular type of habitat or breeding site. However, these two forms exhibited a notable capacity to be autogenous, particularly in underground breeding sites. Furthermore, the analyses confirm that autogeny is strongly correlated with underground breeding sites. Simultaneously, a molecular analysis based on the amplification of the COI gene, followed by sequencing of *Cs. longiareolata* specimens collected from four aboveground breeding sites, revealed the presence of five haplotypes, suggesting a high degree of similarity within the studied population. Additionally, it displayed no autogenous behavior. The second part of this research focused on the chemical characterization of essential oils from three plants: *Cymbopogon citratus*, *Saccocalyx satuireioides*, and *Pimpinella anisum*, as well as on the evaluation of their larvicidal activity against the larvae of the two species, *Cx. pipiens s.l.* and *Cs. longiareolata*. The essential oils were extracted by hydrodistillation of dried aerial parts, with yields of 0.9% for *C. citratus*, 2% for *S. satuireioides*, and 4% for *P. anisum*. The oils were then analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), revealing 48 compounds in *C. citratus*, with α -citral and β -citral as the main components; 58 compounds in *S. satuireioides*, with α -terpineol, thymol, and borneol as major compounds; and 49 compounds in *P. anisum*, dominated by anethole and D-limonene. The larvicidal activity of these oils was assessed following the World Health Organization's standard protocol to estimate lethal concentrations (LC25, LC50, LC90). The results showed that *Cx. pipiens s.l.* was the most sensitive species and that *P. anisum* oil proved to be the most toxic. Additionally, *S. satuireioides* was selected for a detailed biochemical analysis due to its understudied status. This analysis revealed that body weight, as well as carbohydrate and protein concentrations, decreased, while lipid levels increased in both species studied.

Keywords: *Culex pipiens s.l.* complex, *Culiseta longiareolata*, Ecology, Autogeny, COI, Microsatellite CQ11, Plant extracts, Biological control, Algeria.