

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix - Travail - Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET

PHYSIOLOGIE ANIMALES

LABORATOIRE DE ZOOLOGIE



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace - Work - Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF ANIMAL

BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

LABORATORY OF ZOOLOGY

**Anopheles gambiae (Giles, 1902) : quelques aspects de son
écologie, influence de trois insecticides chimiques et effet
insecticide des huiles essentielles de trois plantes locales**

THESE

Présentée et soutenue publiquement en vue de l'obtention
du Doctorat/PhD en Biologie des Organismes Animaux

Par : **TSILA HENRI GABRIEL**

D.E.A en Zoologie

Sous la direction de

MESSI Jean

Maître de Conférences

Année Académique : 2016



UNIVERSITE DE YAOUNDE I FACULTE DES SCIENCES Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		The University of Yaoundé I Faculty of Science Division of Programming and follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS	LIST OF PERMENENT TEACHING STAFF	

ANNEE ACADEMIQUE 2014/2015
(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION : 10 Février 2015

ADMINISTRATION

DOYEN : BILONG Paul, Professeur

VICE-DOYEN / DPSAA : NJOPWOUO Daniel, Professeur

VICE-DOYEN / DSSE : DONGO Etienne, Professeur

VICE-DOYEN / DRC : ESSIMBI ZOBO Bernard, Professeur

Chef Division Affaires Académiques, Scolarité et Recherche : ABOSSOLO Monique,
Chargé de cours

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Marie C. F., Chargé de Cours

1- DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (41)			
N°	NOMS ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	ANVAM ZOLLO Paul Henri	Professeur	<i>RECTEUR UN</i>
2	MBACHAM Wilfried	Professeur	En poste
3	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
4	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
5	BENG née NINTCHOM PENLAP V.	Maître de Conférences	En poste
6	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
7	FEKAM BOYOM Fabrice	Maître de Conférences	En poste
8	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
9	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
10	MINKA Samuel	Maître de Conférences	En poste
11	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
12	ACHU Merci BIH	Chargé de Cours	En poste
13	ATOGHO Barbara Mma	Chargé de Cours	En poste
14	BELINGA née NDOYE FOE Marie C. Florentine	Chargé de Cours	Chef DAF / FS
15	BIGOGA JUDE	Chargé de Cours	En poste
16	DEMMANO Gustave	Chargé de Cours	En poste
17	DJOKAM TAMO Rosine	Chargé de Cours	En poste
18	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Chargé de Cours	En poste
19	EFFA ONOMO Pierre	Chargé de Cours	En poste
20	EVEHE BEBANDOUE Marie –Solange	Chargé de Cours	En poste
21	EWANE Cécile Anne	Chargé de Cours	En poste
22	MOFOR née TEUGWA Clautilde	Chargé de Cours	<i>IA4/MINESUP</i>
23	NGONDI Judith Laure	Chargé de Cours	En poste
24	NJAYOU Frédéric Nico	Chargé de Cours	En poste
25	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
26	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargé de Cours	En poste
27	WAKAM née NANA Louise	Chargé de Cours	En poste

28	AKINDEH MBUH NJI	Assistant	En poste
29	BEBEE FADIMATOU	Assistant	En poste
30	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Assistant	En poste
31	DAKOLE DABOY Charles	Assistant	En poste
32	DJUUKWO NKONGA Ruth Viviane	Assistant	En poste
33	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Assistant	En poste
34	KOTUE TAPTUE Charles	Assistant	En poste
35	FONKOUA Martin	Assistant	En poste
36	LUNGA Paul KAILAH	Assistant	En poste
37	MANANGA Marlyse Joséphine	Assistant	En poste
38	MBONG ANGIE MOUGANDE Mary Ann	Assistant	En poste
39	MBOUCHE FANMOE Marcelline Joëlle	Assistant	En poste
40	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Assistant	En poste
41	TIENTCHEU DJOKAM Léopold	Assistant	En poste

2- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (B.P.A.) (44)

1	BILONG BILONG Charles Félix	Professeur	Chef de Département
2	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
4	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
5	MIMPFOUNDI REMY	Professeur	En poste
6	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
7	NOLA Moïse	Professeur	En poste
8	TCHUEM TCHUENTE Louis	Professeur	<i>Coord. Progr. MINSANTE</i>
9	DJIETO Lordon Champlain	Maître de Conférences	En poste
10	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	
11	ESSOMBA née NTSAMA MBALLA	Maître de Conférences	<i>Chef dépt FMSB</i>
12	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	<i>CT2 MIN. ENERGIE</i>
13	KAMGANG René	Maître de Conférences	<i>C.E. MINRESI</i>
14	NJAMEN Dieudonné	Maître de Conférences	En poste
15	TAN Paul	Maître de Conférences	En poste
16	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste
17	AJEAGAH Gidéon AGHAINDOUM	Chargé de Cours	En poste
18	ALENE Désirée Chantal	Chargé de Cours	En poste
19	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
20	BILANDA Danielle Claude	Chargé de Cours	En poste
21	DJIOGUE Séfirin	Chargé de Cours	En poste
22	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargé de Cours	En poste
23	JATSA MEGAPTCHE Hermine	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
24	KEKEUNOU Sévilor	Chargé de Cours	En poste
25	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
26	MEGNEKOU Rosette	Chargé de Cours	En poste
27	MONY NTONE Ruth	Chargé de Cours	En poste
28	LEKEUFACK FOLEFACK Guy Benoît	Chargé de Cours	En poste
29	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Chargé de Cours	En poste
30	NGUEMBOCK	Chargé de Cours	En poste
31	TOMBI Jeannette	Chargé de Cours	En poste
32	ATSAMO Albert Donatien	Assistant	En poste
33	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste
34	KANDEDA KAVAYE Antoine	Assistant	En poste
35	KOGA MANG'Dobara	Assistant	En poste
36	MBENOUN MASSE Paul Serge	Assistant	En poste
37	MECHI DONGFACK Mireille Flore	Assistant	En poste
38	MOUNGANG NGAMENI Luciane	Assistant	En poste
39	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Assistant	En poste

40	NGOUATEU KENFACK Omer BEBE	Assistant	En poste
41	NJUA Clarisse YAFI	Assistant	En poste
42	OBI OBEN Esther	Assistant	En poste
43	TADU Zéphirin	Assistant	En poste
44	YEDE	Assistant	En poste

3-DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES (B. P. V.) (27)

1	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
2	AMBANG Zachée	Maître de Conférences	Vice-Doyen/FSE
3	BELL Joseph Martin	Maître de Conférences	En poste
4	DJOCGOUE Pierre François	Maître de Conférences	En poste
5	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
6	MOSSEBO Dominique Claude	Maître de Conférences	En poste
7	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
8	ZAPFACK Louis	Maître de Conférences	En poste
9	ANGONI Hyacinthe	Chargé de Cours	En poste
10	BIYE Elvire Hortense	Chargé de Cours	En poste
11	MALLA Armand William	Chargé de Cours	En poste
12	MBARGA BINDZI Marie Alain.	Chargé de Cours	<i>Inspecteur académ. N°1 MINESUP</i>
13	MBOLO Marie.	Chargé de Cours	En poste
14	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Chargé de Cours	En poste
15	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy Léonard	Chargé de Cours	En poste
16	NGOOU Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
17	NSOM ZAMO Annie Claude ép. Pial	Chargé de Cours	<i>Expert national./UNESCO</i>
18	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
19	TSOATA Esaïe	Chargé de Cours	En poste
20	DJEUANI Astride Carole	Assistant	En poste
21	GONMADGE Christelle	Assistant	En poste
22	MAHBOU SOMO TOUKAM Gabriel	Assistant	En poste
23	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Assistant	En poste
24	NGALLE Hermine BILLE	Assistant	En poste
25	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistant	En poste
26	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Assistant	En poste
27	ONANA Jean Michel	Assistant	En poste

4-DEPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (C.I.) (37)

1	KETCHA MBADCAM Joseph	Professeur	Chef de Département
2	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
3	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>Doyen/ UDS</i>
4	NJOPWOUO Daniel	Professeur	Vice-Doyen / DPSAA
5	AGWARA ONDOH Moïse	Maître de Conférences	<i>Insp Génér. MINPMEA</i>
6	AVOM Jérôme	Maître de Conférences	<i>Directeur au IAI Gabon</i>
7	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée mission P.R.</i>
8	DJOUFAC WOUUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
9	ELIMBI Antoine	Maître de Conférences	En poste
10	GHOGOMU Paul MINGO	Maître de Conférences	<i>Directeur Cabinet PM</i>
11	LAMINSI Samuel	Maître de Conférences	En poste
12	MELO née CHINJE Uphie F.	Maître de Conférences	<i>Directeur Mipromalo</i>
13	NANSEU Charles Péguy	Maître de Conférences	En poste
14	NENWA Justin	Maître de Conférences	En poste
15	NDIKONTAR Maurice KOR	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen/Ubda</i>
16	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	<i>S.G. MINESUP</i>

17	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
18	BAIZOUMI ZOUA	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINTOUR</i>
19	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
20	GWET Simon – Pierre	Chargé de Cours	En poste
21	KEUMEGNE MBOUGUEM Jean Claude	Chargé de Cours	En poste
22	KONG SAKEO	Chargé de Cours	C. M. Au P. M.
23	NJIOMOU Chantale épouse DJANGANG	Chargé de Cours	En poste
24	NJOYA Dayirou	Chargé de Cours	En poste
25	SIGNING Pierre	Chargé de Cours	En poste
26	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
27	CHEUMANI YONA Arnaud	Chargé de Cours	En poste
28	KAMGANG YOUBI Georges	Chargé de Cours	En poste
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargé de Cours	En poste
30	PABOUDAM GBAMBIE Awaou	Chargé de Cours	En poste
31	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
32	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Assistant	En poste
33	KENNE DEDZO Gustave	Assistant	En poste
34	MBEY Jean Aimé	Assistant	En poste
35	NCHIMI NONO Katia	Assistant	En poste
36	NDI Julius NSAMI	Assistant	En poste
37	NDOSIRI Bridget NDOYE	Assistant	En poste

5-DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (C.O.) (34)

1	DONGO Etienne	Professeur	En poste
2	GHOGOMU TIH ROBERT RALPH	Professeur	En poste
3	MBAFOR Joseph	Professeur	En poste
4	NGADJUI TCHALEU B.	Professeur	<i>Chef de dépt FMBS</i>
5	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	En poste
6	NKENGFAK Augustin Ephraïm	Professeur	Chef de Département
7	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Vice- Recteur UBda</i>
8	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur au MINESUP</i>
9	WANDJI Jean	Professeur	En poste
10	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>CS Rectorat/ UYI</i>
11	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	<i>VD/UB</i>
12	KAPNANG Henriette	Maître de Conférences	En poste
13	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
16	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
17	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>D.A.A.C. UYI</i>
18	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
19	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
20	AMBASSA Pantaleon	Chargé de Cours	En poste
21	EYONG Kenneth OBEN	Chargé de Cours	En poste
22	FOTSO WABO Ghislain	Chargé de Cours	En poste
23	KENMOGNE Marguerite	Chargé de Cours	En poste
24	MKOUNGA Pierre	Chargé de Cours	En poste
25	NGO MBING Joséphine	Chargé de Cours	En poste
26	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	En poste
27	NOTE LOUGBOT Olivier	Chargé de Cours	En poste
28	OUAHOUE WACHE Blandine Marlyse	Chargé de Cours	En poste
29	TABOPDA KUATE Turibio	Chargé de Cours	En poste
30	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste

31	ZONDEGOUNBA Ernestine	Chargé de Cours	En poste
32	KAMTO Eutrophe Ledoux	Assistant	En poste
33	NGINTEDO Dominique	Assistant	En poste
34	NGOMO Orléans	Assistant	En poste

6-DEPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (28)

1	TCHUENTE Maurice	Professeur	3- PCA UB
2	ATSA ETOUNDI Roger	Maître de Conférences	Chef de Département <i>Chef Division MINFOPRA</i>
3	FOTSO Pauline Laure	Maître de Conférences	<i>Vice-Recteur Uds</i>
4	FOUDA NDJODO Marcel	Maître de Conférences	<i>IA1 MINESUP/Chef Dpt ENS</i>
5	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
6	CHEDOM FOTSO Donatien	Chargé de Cours	En poste
7	KOUOKAM KOUOKAM Etienne Appolin	Chargé de Cours	En poste
8	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
9	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
11	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
12	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
13	ABESSOLO ALO'O Gislain	Assistant	En poste
14	AMINOUE Halilou	Assistant	En poste
15	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
16	DJAM Xaviera Youth KIMBI	Assistant	En poste
17	DJOUWE MEFFEJA Merline Flore	Assistant	En poste
18	EBELE Serge	Assistant	En poste
19	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
20	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistant	En poste
21	KAMGUEU Patrick Olivier	Assistant	En poste
22	KENFACK DONGMO Clauvice Viliane	Assistant	En poste
23	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
24	MAKEMBE S. Fritz Oswald	Assistant	En poste
25	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistant	En poste
26	MONTHE DJIADEU Valery Martial	Assistant	En poste
27	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
28	TAPAMO KENFACK Hyppolite	Assistant	En poste

7-DEPARTEMENT DE MATHEMATIQUES (MA) (37)

1	BEKOLLE David	Professeur	<i>Vice-Recteur UN</i>
2	BITJONG NDOMBOL	Professeur	<i>DIPD UY II</i>
3	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
4	NGUETSENG Gabriel	Professeur	<i>Chef de stages IUT-Bois,UYI</i>
5	NOUTCHEGUEME Norbert	Professeur	En poste
6	EMVUDU WONO Yves S.	Maître de Conférences	<i>Chef Cellule. MINESUP</i>
7	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
8	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
9	TCHAPNDA NJABO Sophonie Blaise	Maître de Conférences	En poste
10	TONGA Marcel	Maître de Conférences	En poste
11	WAMON François	Maître de Conférences	Chef de Département
12	AGHOUEKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	En poste
13	AYISSI Raoult Domingo	Chargé de Cours	En poste
14	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
15	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
16	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste

17	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
18	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
19	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
20	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
21	MBELE BEDIMA Martin	Chargé de Cours	En poste
22	MBIANDA Gilbert	Chargé de Cours	En poste
23	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
24	NGUEFACK Bertrand	Chargé de Cours	En poste
25	NGUIMTSA Charles	Chargé de Cours	En poste
26	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
27	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
28	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
29	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
30	TIAYA TSAGUE N. Anne- Marie	Chargé de Cours	En poste
31	BOGSO Antoine M	Assistant	En poste
32	DJIADEU NGAHA Michel	Assistant	En poste
33	DOUANLA YONTA Hermann	Assistant	En poste
34	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
35	NIMPA PEFOUKEU Romain	Assistant	En poste
36	TANG AHANDA Barnabé	Assistant	<i>Chef Serv. MINPLAMAT</i>
37	TETSADJIO TCHILEPECK Mesmin Erick	Assistant	En poste

8-DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MB) (13)

1	ETOA François-Xavier	Professeur	Chef de Département, CT / PM
2	ESSIA NGANG Jean Justin	Maître de Conférences	<i>Chef de Division recherche IMPM</i>
3	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
4	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
5	BOYOMO ONANA	Chargé de Cours	En poste
6	ENO Anna Arey	Chargé de Cours	En poste
7	ESSONO OBOUGOU Germain Gabriel	Chargé de Cours	En poste
8	NYEGUE Maximilienne Ascension	Chargé de Cours	En poste
9	RIWOM Sara Honorine	Chargé de Cours	En poste
10	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Chargé de Cours	En poste
11	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Assistant	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Assistant	En poste

9-DEPARTEMENT DE PHYSIQUE (PH) (40)

1	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
2	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	Chef de Département
3	NJOMO Donatien	Professeur	En poste
4	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen/Ubda</i>
5	WOAFO Paul	Professeur	En poste
6	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	En poste
7	BEN- BOLIE Germain Hubert	Maître de Conférences	En poste
8	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Dépt UN</i>
9	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Maître de Conférences	<i>Chef Serv. MINRESI</i>
10	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste
11	OUMAROU BOUBA	Maître de Conférences	<i>Recteur UY II</i>
12	PEMHA Elkana	Maître de Conférences	En poste
13	TCHAWOUA Clément	Maître de Conférences	En poste
14	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
15	BIYA MOTTO Frédéric	Chargé de cours	<i>Dir.Gén. B. MEKIM</i>

16	BODO Bernard	Chargé de Cours	En poste
17	DJUIDJE KENMOE Gemaine épouse ALOYEM KAZE	Chargé de Cours	En poste
18	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
19	EYEBE FOU DA Jean Sire	Chargé de Cours	En poste
20	FEWO Serge Ibraïd	Chargé de Cours	En poste
21	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	En Poste
22	HONA Jacques	Chargé de Cours	En poste
23	MBANE BIOUELE	Chargé de Cours	En poste
24	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
25	NANA NBENDJO Blaise	Chargé de Cours	En poste
26	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
27	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	En poste
28	SAIDOU	Chargé de Cours	En poste
29	SIEWE SIEWE Martin	Chargé de Cours	En poste
30	SIMO Elie	Chargé de Cours	En poste
31	TABI Conrad Bertrand	Chargé de Cours	En poste
32	TCHOFFO Fidèle	Chargé de Cours	En poste
33	VONDOU DERBETINI Appolinaire	Chargé de Cours	En Poste
34	WAKATA née BEYA Annie	Chargé de Cours	<i>Chef Serv. MINESUP</i>
35	WOULACHE Rosalie Laure	Chargé de Cours	En poste
36	ABDOURAHIMI	Assistant	En Poste
37	CHAMANI Roméo	Assistant	En Poste
38	ENYEGUE A NYAM Françoise épouse BELINGA	Assistant	En Poste
39	MBINACK Clément	Assistant	En Poste
40	MBOUSSI NKOMIDIO Aissatou	Assistant	En Poste

10- DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (S.T.) (44)

1	BILONG PAUL	Professeur	Doyen /Chef de Département
2	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
3	BITOM Dieudonné Lucien	Professeur	<i>Doyen / UN</i>
4	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Maître de Conférences	En poste
5	KAMGANG Pierre	Maître de Conférences	En poste
6	MEDJO EKO Robert	Maître de Conférences	<i>D.I.P.D. UYI</i>
7	MVONDO ONDOA Joseph	Maître de Conférences	En poste
8	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
9	NDJIGUI Paul-Désiré	Maître de Conférences	<i>CSMM</i>
10	NGOS III Simon	Maître de Conférences	<i>D.A.A.C./UM</i>
11	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
12	NKOUMBOU Charles	Maître de Conférences	En poste
13	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
14	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. MINFOF</i>
15	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Chargé de Cours	Chef DAASR
16	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
17	BISSO Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Directeur Projet Barage Memve'ele</i>
18	EKOMANE Emile	Chargé de Cours	<i>CS/MINMIDT</i>
19	ESSONO Jean	Chargé de Cours	<i>C.E.A. MINMIDT</i>
20	GANNO Sylvestre	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
21	GHOGOMU Richard TANWI	Chargé de Cours	En poste
22	LAMILEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
23	LIENOU Gaston	Chargé de Cours	En poste
24	MBIDA YEM	Chargé de Cours	<i>CS/LABOGENIE</i>
25	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	En poste

26	MOUAFO Lucas	Chargé de Cours	En poste
27	MOUNDI Amidou	Chargé de Cours	<i>Inspecteur 1 MINMIDT</i>
28	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargé de Cours	En poste
29	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargé de Cours	En poste
30	NGUEUTCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	En poste
31	NJOM Bernard de Lattre	Chargé de Cours	En poste
32	NYECK Bruno	Chargé de Cours	<i>S/Directeur/MINMIDT</i>
33	ONANA Vincent	Chargé de Cours	En poste
34	TCHAKOUNTE Jacqueline ép. NUMBEM	Chargé de cours	<i>CEA MINRESI</i>
35	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Chargé de Cours	En poste
36	ZO'O ZAME Philémon	Chargé de Cours	<i>S.G. MINTP</i>
37	ANABA ONANA Achille Basile	Assistant	<i>En Poste</i>
38	BINELI BETSI Thierry Olivier	Assistant	<i>En Poste</i>
39	FUH Calistus Gentry	Assistant	<i>Sec.d'Etat/ MINMIDT</i>
40	METANG Victor	Assistant	<i>En poste</i>
41	NOMO NEGUE Emmanuel	Assistant	En poste
42	TCHAPTCHET TCHATO De Pesquidoux I	Assistant	En poste
43	TEHNA Nathanaël	Assistant	<i>CS/ MINMIDT</i>
44	TEMGA Jean Pierre	Assistant	En poste

Répartition chiffrée des enseignants permanents par Département (10 Septembre 2014)

Département	Nombre d'enseignants				
	Pr	MC	CC	ASS	Total
BC	4 (0)	7 (2)	16 (10)	14 (6)	41 (18)
BPA	8 (0)	8 (0)	15 (7)	13 (5)	44 (12)
BPV	1 (0)	7 (0)	11 (3)	8 (6)	27 (9)
C.I.	4 (0)	13 (2)	14 (3)	6 (2)	37 (7)
C.O.	9 (0)	10 (2)	12 (6)	3 (0)	34 (8)
IN	1 (0)	4 (1)	7 (0)	16 (5)	28 (6)
MA	5 (0)	6 (0)	19 (1)	7 (1)	37 (2)
MB	1 (0)	2 (0)	7 (3)	3 (0)	13 (3)
PH	6 (0)	8 (0)	21 (3)	5 (2)	40 (5)
ST	3 (0)	11 (1)	22 (4)	7 (0)	44 (5)
Total	42 (0)	76 (8)	144 (40)	82 (27)	345 (75)

Soit un total de : 345 (75) dont
- Professeurs 42 (0)
- Maîtres de Conférences 76 (8)
- Chargés de Cours 144 (40)
- Assistants 82 (27)
- () = Nombre de femmes.

Le Doyen de la Faculté des Sciences
Et par ordre, le VD/DPSAA

Pr D. NJOPWOOU

DEDICACES

Je dédie ce travail à ma famille...

Cette Thèse est le fruit de la persévérance dans le soutien que vous m'avez apporté.

REMERCIEMENTS

Le travail que nous présentons a été réalisé au Laboratoire d'Entomologie du Centre de Biotechnologie et au Laboratoire de Zoologie du Département de Biologie et Physiologie Animales de la Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I (Cameroun) sous la direction du Professeur **Messi Jean**, Université de Yaoundé I.

Au moment où ce travail s'achève, je tiens à remercier tout particulièrement le Professeur **Messi Jean** qui depuis une dizaine d'année m'a pris sous son aile et m'a orienté à la recherche en entomologie en général et à l'étude des moustiques en particulier, « **Monsieur le Professeur Jean Messi, pendant ces années, j'ai fait des efforts pour mériter votre confiance. Professeur une fois de plus, merci !** ». Mes remerciements vont également à l'endroit du Professeur, Bilong Bilong C. Félix, Chef de Département de Biologie et Physiologie Animales pour votre soutien académique et moral, « **Monsieur le Professeur, une fois de plus, merci !** ».

J'exprime également toute ma gratitude :

- Au Professeur **Tamesse Joseph Lebel** et au Professeur **Tchuenguem Fohouo F. Nestor** pour leurs conseils et leurs encouragements ;
- Au Dr **Foko Dadjì Gisèle Aurelie** pour l'apport inestimable à la réalisation de ce travail;
- Au Professeur **Fekam Boyom Fabrice** qui m'a permis d'extraire les huiles essentielles des plantes que nous avons utilisé dans nos travaux ;
- A tous les Enseignants du Laboratoire de Zoologie de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I : Professeur **Djiéto L. C.**, Dr **Bapfubusa Benoît**, et **feue Dr Monayong Marthe** pour leurs conseils ;
- A tous les Enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I et en particulier le Professeur **Mimpfoundi Remy**, Professeur **Fomena Abraham**, **feu Professeur Njikam Njifutie**, Professeur **NGassam Pierre**, professeur **Essomba née Ntsama Claudine**, professeur **Zebaze Serge** pour leur encadrement ;
- A mes aînés de Laboratoire **Dr Alene Chantal**, **Dr Kekeunou Sévilor**, **Dr Atangana Jean**, **Mr, Fomekong André ...** pour leurs conseils et soutien ;

- Aux chercheurs de l'OCEAC **DrNkondjio Antonio C., DrAmbena – Awono Parfait et DrEtang Josiane** pour leurs conseils et leur soutien ;
- A mes camarades **DrAzo'o Ela Michelson, DrMissoup Alain Didier, feu DrDjemaï Hamadou, DrNwane Philippe Bienvenue, DrMeyabeme E. Alvine et DrNkengazong Lucia** pour leur soutien et leur collaboration ;
- Au **Dr AKono N. Patrick** pour son apport à l'analyse statistique de ce travail;
- A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

SOMMAIRE

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS -----	i
DEDICACES -----	ix
REMERCIEMENTS -----	x
SOMMAIRE -----	xii
LISTE DES ABREVIATIONS -----	xv
LISTE DES TABLEAUX -----	xvi
LISTE DES FIGURES -----	xix
ABSTRACT -----	xx
INTRODUCTION -----	1
CHAPITRE I : GENERALITES -----	4
I.1. PALUDISME ET VECTEURS-----	4
I.1.1. Position dans la systématique d' <i>Anopheles gambiae</i> Giles, 1902 -----	4
I.1.2. Paludisme-----	5
I.1.3. Vecteurs-----	7
I.2. METHODES DE LUTTE ANTIPALUDIQUE -----	13
I.2.1. Lutte contre le parasite -----	13
I.2.2. Lutte contre les vecteurs -----	14
I.3. RESISTANCE DES INSECTES AUX INSECTICIDES -----	21
I.3.1. Mécanismes de résistance -----	21
I.3.2. Gestion de la résistance -----	24
I.4. Généralites sur <i>Aframomum melegueta</i> , <i>Callistemon citrinus</i> ET <i>Monodora myristica</i> -----	25
I.4.1. <i>Aframomum melegueta</i> -----	25
I.4.2. <i>Callistemon citrinus</i> -----	26
I.4.3. <i>Monodora myristica</i> -----	27
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES -----	29
II.1. CADRE D'ETUDE -----	29
II.1.1. Sites de récoltes des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.l. -----	30
II.2. METHODE-----	32
II.2.1. Etude de la variation des abondances des larves et des nymphes d' <i>anopheles gambiae</i> s.l. dans les champs de cultures vivrières a nkolbisson de 2007 a 2008 -----	32
II.2.2. etude de l'influence de quelques facteurs ecologiques sur le developpement d' <i>an. gambiae</i> s.s. au laboratoire (centre de biotechnologie a nkolbisson) en 2007 -----	34

II.2.3. Etude de l'influence de la cyperméthrine, du diméthoate, et du méthyl-parathion (insecticides chimiques) sur le développement d' <i>An. gambiae</i> s.s. au laboratoire (centre de biotechnologie à Nkolbisson) en 2008-----	38
II.2.4. Effet insecticide d' <i>Aframomum melegueta</i> , de <i>Callistemon citrinus</i> et de <i>Monodora myristica</i> sur <i>An. gambiae</i> s.s. au laboratoire (centre de biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 -----	42
II.2.5. Analyses statistiques -----	48
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION -----	50
III.1. RESULTATS -----	50
III.1.1. Etude de la variation des abondances des larves et des nymphes d' <i>Anopheles gambiae</i> s.l. dans les champs de cultures vivrières à Nkolbisson de 2007 à 2008 ----	50
III.1.2. Etude de l'influence de quelques facteurs écologiques sur le développement d' <i>An. gambiae</i> s.s. au laboratoire (centre de biotechnologie à Nkolbisson) en 2007-----	66
III.1.3. Etude de l'influence de la densité des larves sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur leur mortalité, sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d' <i>An. gambiae</i> s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 -----	70
III.1.4. Etude de l'influence de la profondeur de l'eau du gîte sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur leur mortalité, sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d' <i>An. gambiae</i> s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 -----	73
III.1.5. Etude de l'influence du pH de l'eau du gîte sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur la mortalité, sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d' <i>An. gambiae</i> s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 -----	77
III.1.6. Etude l'influence de la cyperméthrine, du diméthoate et du méthyl-parathion sur le développement d' <i>An. Gambiae</i> au laboratoire (centre de biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 -----	81
III.1.7. Etude de l'influence du méthyl-parathion sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur leur mortalité, sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d' <i>An. gambiae</i> s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 -----	87
III.1.9. Etude de l'influence de la cyperméthrine sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur leur mortalité, sur la taille des adultes de 12 générations successives d' <i>An. gambiae</i> s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008-----	91
III.1.10. Etude de l'influence du diméthoate sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur leur mortalité, sur la taille des adultes de 12 générations successives d' <i>An. gambiae</i> s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 -----	94
III.1.11. Etude de l'influence du méthyl-parathion sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur leur mortalité, sur la taille des adultes de 12 générations successives chez <i>An. gambiae</i> s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008-----	97

III.1.12. EFFET INSECTICIDE D' <i>AFRAMOMUM MELEGUETA</i> , DE <i>CALLISTEMON CITRINUS</i> ET DE <i>MONODORA MYRISTICA</i> SUR <i>AN. GAMBLAE</i> . S.S AU LABORATOIRE (CENTRE DE BIOTECHNOLOGIE A NKOLBISSON) EN 2009 -----	100
III-2 DISCUSSION -----	118
CONCLUSION ET PERSPECTIVES -----	119
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES -----	119
ANNEXES -----	119

LISTE DES ABREVIATIONS

CL : concentrations létales

CYPs : Cytochrome P₄₅₀ oxydase

D.B.O: Demande Biologique en Oxygène

D.D.E : Dichloro-Diphényl-Ethane

D.D.T : Dichloro-Diphényl-Trichloroéthane

D.I.S.P: Département of Infrastructure and Service of Parks

De = dilution solution mère

GABA : acide gamma-amino-butyrique

GRF : Growth Retardant Factor

G.S.P : grande saison des pluies

G.S.S : grande saison sèche

G.S.Ts : glutathion-S-transférases

IRAC: Insecticide Resistance Action Committee

M.C : mortalité corrigée ;

M.E : mortalité des individus exposés à l'insecticide

M.T : mortalité des témoins

MTH : monoterpènes hydrocarbonés

M.T.O : monoterpènes oxygénés

N.A.D.P.H : Nicotinamide Adénosine Dinucléotide Phosphate Hydrogène

O.M.S : Organisation Mondiale de la Santé

OCEAC : Organisation pour la Coordination des Endémies en Afrique Centrale

P.N.L.P : Programme National de Lutte contre le Paludisme

P.O.P : polluants organiques persistants

P.S.P : petite saison des pluies

P.S.S : petite saison sèche

pH : potentiel d'hydrogène

STH : sesquitérpènes hydrocarbonés

Tkd : temps de «knock down»

V_{he} = Volume d'huile essentielle

V_t = Volume total

W.H.O: World Health Organization

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°I: données sur les insecticides retenus et utilisés au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson en 2008)à Nkolbisson en 2008. -----	39
Tableau n°II: Concentrations et volumes prélevés des insecticides chimiques au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson en 2008). -----	40
Tableau n°III: Familles botaniques, organes, dates et lieux de récolte d' <i>A. melegueta</i> , de <i>C. citrinus</i> et de <i>M.myristica</i> utilisées-----	42
Tableau n°IV : préparation des solutions expérimentales des huiles essentielles d' <i>A. melegueta</i> , de <i>C. citrinus</i> et de <i>M.myristica</i> au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 -----	45
Tableau n° V : abondances mensuelles des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans le champ de cultures vivrières non traité aux insecticides localisé dans les site 1 -----	51
Tableau n° VI: Comparaison multiple des productions mensuelles des larves de différents stades et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans le site 1 -----	52
Tableau n° VII : abondances saisonnières des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans le site 1 -----	53
Tableau n° VIII : abondances mensuelles des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans le site 2 -----	55
Tableau n° IX: Comparaison multiple des productions mensuelles des stades aquatiques d' <i>An. gambiaes</i> .l. dans le site 2 -----	56
Tableau n° X : abondances saisonnières des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans le site 2 -----	56
Tableau n° XI : abondances mensuelles des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans le site 3 -----	59
Tableau n°XII: Comparaison multiple des abondances mensuelles des stades de larves et de nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans le site 3 -----	60
Tableau n° XIII : abondances saisonnières des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans le site 3 -----	60
Tableau n°XIV : abondances mensuelles des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans les sites 1 et 2 à Nkolbisson de 2007 à 2008-----	63
Tableau n°XV: abondances mensuelles des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans les sites 1 et 2 à Nkolbisson de 2007 à 2008 -----	65
Tableau n° XVI : durée de développement et mortalité des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.s., nombre d'adultes obtenus en fonction des ressources alimentaires-----	67
Tableau n°XVII: taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d' <i>An. gambiae</i> s.s.-----	69
en fonction de la disponibilité des ressources alimentaires des larves-----	69
Tableau n° XVIII : durée de développement et mortalité des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.s., nombre d'adultes obtenus en fonction de la densité des larves -----	71
Tableau n°XIX : taille des ailes, fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs d' <i>An. gambiae</i> s.s. en fonction des densités larvaires-----	72
Tableau n° XX: durée de développement (en jours), mortalité des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.s. et nombre -----	75
d'adultes obtenus en fonction de la profondeur de l'eau du gîte-----	75
Tableau n°XXI : taille des adultes, fécondité des femelles et taux d'éclosion des œufs d' <i>An. gambiae</i> s.s. en fonction de la profondeur de l'eau du gîte -----	75

Tableau n°XXII : durée de développement (en jours) et mortalité des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.s., nombre d'adultes obtenus en fonction du pH de l'eau du gîte-----	79
Tableau n°XXIII : taille des adultes, fécondité des femelles et taux d'éclosion des œufs d' <i>An. gambiae</i> s.s. en fonction du pH de l'eau du gîte -----	79
Tableau n°XXIV: durée de développement (en jours) et mortalité des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.s., nombre d'adultes obtenus-----	82
Tableau XXV : taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d' <i>An. gambiae</i> s.s. -----	84
Tableau n° XXVI: durée de développement (en jours) et mortalité des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.s., nombre d'adultes obtenus -----	85
Tableau XXVII : Influence du diméthoate sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d' <i>An. gambiae</i> s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008-----	86
Tableau n°XXVIII: durée de développement (en jours) et mortalité des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.s. en fonction de la concentration du méthyl-parathion-----	88
Tableau XXIX : taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d' <i>An. gambiae</i> s.s. en fonction de la concentration du méthyl-parathion -----	89
Tableau n° XXX : durée de développement (en jours), mortalité des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.s. et nombre d'adultes obtenus après -----	93
12 générations successives en présence de la cyperméthrine à 0,0750 µg/l-----	93
Tableau n° XXXI : longueur des ailes d' <i>An. gambiae</i> s.s. de 12 générations successives en présence de la cyperméthrine à 0,0750 µg/l-----	93
Tableau n° XXXII : durée de développement (jours), mortalité des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.s. et nombre d'adultes obtenus de 12 générations successives en présence du diméthoate à 2000 µg/l-----	96
Tableau XXXIII: longueur des ailes d' <i>An. gambiae</i> s.s. de 12 générations successives en présence du diméthoate à 2000 µg/l-----	96
Tableau n° XXXIV : durée de développement (jours), mortalité des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.s. et nombre d'adultes obtenus après de 12 générations successives en présence du méthyl-parathion à 1,20 µg/l -----	99
Tableau XXXV : longueur des ailes d' <i>An. gambiae</i> s.s. de 12 générations successives en présence du méthyl-parathion 1,20 µg/l-----	99
Tableau n°XXXVI : rendement d'extraction des huiles essentielles d' <i>Aframomum melegueta</i> , de <i>Callistemon citrinus</i> et de <i>Mondora myristica</i> au laboratoire en 2009 -----	100
Tableau n°XXXVII: Composition chimique des huiles essentielles d' <i>A. melegueta</i> , de <i>C. citrinus</i> et de <i>M.myristica</i> au laboratoire en 2009 -----	103
Tableau XXXVIII: Mortalité des larves de premier stade d' <i>Anopheles gambiae</i> s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>A. melegueta</i> -----	104
Tableau XXXIX: Mortalité des larves de deuxième stade d' <i>Anopheles gambiae</i> s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>A. melegueta</i> -----	105
Tableau n°XXXX: Mortalité des larves de troisième stade d' <i>Anopheles gambiae</i> s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>A. melegueta</i> au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 -----	106
Tableau n°XXXXI: Mortalité des larves de quatrième stade d' <i>Anopheles gambiae</i> s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>A. melegueta</i> au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 -----	107

Tableau n°XXXXII: Mortalité des larves de premier stade d' <i>Anopheles gambiae</i> s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>C. citrinus</i> au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009-----	107
Tableau n°XXXXIII: Mortalité des larves de deuxième stade d' <i>Anopheles gambiae</i> s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>C. citrinus</i> au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 -----	108
Tableau n°XXXXIV: Mortalité des larves de troisième stade d' <i>Anopheles gambiae</i> s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>C. citrinus</i> au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 -----	109
Tableau n°XXXXV: Mortalité des larves de quatrième stade d' <i>Anopheles gambiae</i> s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>C. citrinus</i> au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 -----	110
Tableau n°XXXXVI: Mortalité des larves de premier stade d' <i>Anopheles gambiae</i> s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>M. myristica</i> au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 -----	111
Tableau n°XXXXVII: Mortalité des larves de deuxième stade d' <i>Anopheles gambiae</i> s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>M. myristica</i> au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 -----	111
Tableau n° XXXXVIII: Mortalité des larves de troisième stade d' <i>Anopheles gambiae</i> s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>M. myristica</i> au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 ---	112
Tableau XXXXIX: Mortalité des larves de quatrième stade d' <i>Anopheles gambiae</i> s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>M. myristica</i> au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 -----	113
Tableau n° L: Effet adulticide de l'huile essentielle d' <i>A. melegueta</i> à différentes concentrations sur les femelles d' <i>An. gambiae</i> s.s. -----	114
Tableau n° LI: Equations des droites de régression des temps de "knock-down" (Tkd) des femelles d' <i>An. gambiae</i> s.s. en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>A. melegueta</i> -----	114
Tableau n° LII: Effet adulticide de l'huile essentielle de <i>C. citrinus</i> à différentes concentrations sur les femelles d' <i>An. gambiae</i> s.s. -----	115
Tableau n° LIII : Equations des droites de régression des temps de "knock-down" (Tkd) des femelles d' <i>An. gambiae</i> s.s. en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>C. citrinus</i> au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009-----	116
Tableau n°LIV: Effet adulticide de l'huile essentielle de <i>M. myristica</i> à différentes concentrations sur les femelles d' <i>An. gambiae</i> s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 -----	116
Tableau n° LV: Equations des droites de régression des temps de "knock-down" (Tkd) des femelles d' <i>An. gambiae</i> s.s. en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>M. myristica</i> au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009-----	117

LISTE DES FIGURES

Figure n°1 : Cycle biologique de l'anophèle (Mochet et Carnevale, 1991). -----	9
Figure n°2: plants (a), inflorescence (b), fruits (c) et graines d' <i>Aframomum melegueta</i> (www.montorogardens.com) -----	26
Figure n°3: Feuilles et inflorescences de <i>Callistemon citrinus</i> (www.auJardin.info)-----	27
Figure n°4: Inflorescence(a) et fruits (b) de <i>Monodora myristica</i> (www.Top Tropica. Com) -	28
Figure n°5 : Carte de l'Arrondissement de Yaoundé 7 ^e (Centre national de cartographie) -	29
Figure n°6: champ de cultures vivrières non traité à la cyperméthrine abritant des gîtes larvaires d' <i>An. gambiae</i> s.l. localisé dans les bas-fonds du Centre de Biotechnologie à Nkolbisson (site n°1)-----	30
Figure n°7 : champ de cultures vivrières non traité à la cyperméthrine abritant des gîtes larvaires d' <i>An. gambiae</i> s.l. localisé derrière une scierie au lieu dit "Caramba" à Nkolbisson (Site n° 2). -----	31
Figure n°8: champ de cultures vivrières traité à la cyperméthrine, abritant des gîtes larvaires d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans les bas-fonds du Centre de Biotechnologie de Nkolbisson (Site n° 3)-----	31
Figure n°9: Récolte des larves et des nymphes de Culicidae à Nkolbisson de janvier 2007 à décembre 2008.-----	32
Figures n°10 : engorgement des femelles d' <i>An. gambiae</i> s.s au laboratoire(Centre de Biotechnologie à Nkolbisson)en2007: -----	36
Figure n°11: Dispositif d'élevage des larves au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007-----	38
Figure n°12: Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger au laboratoire de Phytochimie du Département de Biochimie de l'Université de Yaoundé I -----	43
Figure n° 13: Tests adulticides des huiles essentielles d' <i>A. melegueta</i> , de <i>C. citrinus</i> et de <i>M. myristica</i> sur les femelles d' <i>An. gambiae</i> s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009.-----	47
Figure n°14: Tests de la mortalité et de l'«effet knock-down » des femelles d' <i>An. gambiae</i> s.s. au laboratoire (Centre deBiotechnologie à Nkolbisson) en 2009. -----	48
Figure n°15: abondances mensuelles des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans le site 1 -----	50
Figure n°16: abondances mensuelles des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans le site 2-----	54
Figure n°17: Productions mensuelles des larves et des nymphes d' <i>An. gambiae</i> s.l. dans le champde cultures vivrières traité à la cyperméthrine (insecticide chimique) localisé dans les bas-fondsdu Centre de Biotechnologie à Nkolbisson de 2007 à 2008.-----	58

ABSTRACT

In Cameroon, malaria is the leading cause of mortality and morbidity, especially among children under 5 years. In the absence of a vaccine, vector control is the only known form of collective protection. It is confronted to the resistance of *Anopheles* to chemical insecticides conventionally used. The aim of this present work is to study some aspects of the biology of *An. Gambiae* in order to know the behaviour of this vector vis-à-vis the chemical and biological insecticides. We studied the production of larvae and pupae of *An. gambiae* s.l. in the absence and presence of cypermethrin in nature at Nkolbisson. In the laboratory, we studied the influence of some abiotic factors as well as that of cypermethrin, dimethoate and methyl-parathion on the larvae of *An. gambiae* s.s. and the insecticide effect of essential oils of *Aframomum melegueta*, *Callistemon citrinus* and *Monodora myristica*, three local plants on larvae and adults of *An. gambiae* S.S.

Harvests were made in 3 sites to determine the monthly and seasonal productions of individuals aquatic stages of *An. gambiae* s.l. Nkolbisson in 2007 and 2008. We compared the productions of individuals of aquatic stages of the untreated field to those of the field treated with cypermethrin. In the laboratory, from larvae of the first stage one day old, we studied the influence of some abiotic factors as well as those three chemical insecticides on the development of *An. gambiae* ss. We proceeded to the tests of essential oils of *Aframomum melegueta*, *Callistemon citrinus* and of *Monodora myristica* on the larvae of each stage and the females of *An. gambiae* s. s. to search their larvicidal and adulticide effects.

The study of productions of larvae and pupae in 2007 and 2008 at Nkolbisson shows that individuals of aquatic stages of *An. gambiae* s.l. are present during 8 months of each year which are: March, April, May, June, July, September, October and November. Productions of larvae and pupae is null for 4 months each year which are: January, February, August and December. The peaks of larvae and pupae productions are observed in June and October of each year. The peak in June is slightly lower (approximately 1,000 individuals) than in October (over 1100 individuals) in untreated fields. In the field treated with cypermethrin, peaks are low (about 300 individuals). The appearance of the aquatic stages of *An. gambiae* s.l. is correlated with rainfall in the short rainy season (March to June) and the long rainy season (September to November). The productions of individuals of aquatic stages were higher during the short rainy season (on average 2500 individuals in untreated fields with insecticides and 550 individuals in treated field cypermethrin) during the long rainy season (averaging 2000 individuals in untreated fields and 460 individuals in the fields treated with cypermethrin).

The study of the influence of some abiotic factors on the larvae of *A. gambiae* s.s. led us to notice that for a food ration of between 20 mg and 60 mg per 100 larvae, for larval densities between 50 and 150 per 100 ml of water, for a shelter water depth between 0.5 and 10 cm and for a shelter water pH between 5 and 10.5, the development of *An. gambiae* s.s. is harmonious. This harmonious development results in a development time of larvae and pupae less than 11 days, less than 20 % mortality, a male wing length larger than 3.10 mm and female wing length greater than 3.20 mm, a number of eggs laid per female greater than 100 eggs with a hatching rate higher than 95 %.

The study of the influence of chemical insecticides on larvae of *An. gambiae* s.s. has led us to observe that, for a cypermethrin concentration of less than 0.0250 g / l, a dimethoate concentration of less than 200 g / l and a methyl parathion concentration of less than 0.12 g / l, the development of *An. gambiae* s.s. is harmonious. From the above mentioned concentrations, the harmonious development of *An. gambiae* s.s. is significantly disrupted.

In the absence of chemical insecticides, the development of *An. gambiae* s.s. is harmonious with a larvae and pupae mortality rate of less than or equal to 2.50 %. Between the 1st and the 6th generation, the larvicidal effect of cypermethrin and methyl parathion on individuals aquatic stages of *An. gambiae* s.s. does not decrease significantly. From the 7th generation, the "tolerance" of *An. gambiae* s.s. to cypermethrin and methyl-parathion appears and the mortality rate decreases significantly. From the 8th generation, the "tolerance" *An. gambiae* s.s. to dimethoate appears, the larvae and pupae mortality records movements comparable to those of cypermethrin and methyl parathion; however, the larvae and pupae mortality rate remain high.

Seeds of *M. Myristica* (1.20 %) are approximately 2 times richer in essential oil than the leaves of *C. citrinus* (0.75 %) and more than 6 times richer in essential oil than the seeds of *A. melegueta* (0.19 %). Essential oils from *A. melegueta* and *C. citrinus* are rich in 1,8-cineole which is an oxygenated monoterpene and that of *M. Myristica* is rich in α -phellandrene which is a hydrocarbon monoterpene. The essential oil of *A. melegueta* causes total mortality of 1st larvae 4th of *An. gambiae* s.s. after 120 min. and the fourth larval stage after 180 min.; the LC95 of this oil is 27.38 ppm for the first stage larvae of and 41.42 ppm for the fourth larval stage. The essential oil of *C. citrinus* causes total mortality of the first stage larvae of *An. gambiae* s.s. after 140 min. and the fourth larval stage after 200 min.; the LC95 of this oil is 36.57 ppm for the first stage larvae of and 62.80 ppm for the fourth larval stage. The essential oil of *M. myristica* causes total mortality of the first stage larvae of *An. gambiae* s.s. after 120 min. and the fourth larval stage after 180 min.; the LC95 of this oil is 27.48 ppm for the first stage larvae of and 41.39 ppm for the fourth larval stage.

The essential oil of *A. melegueta* causes total mortality of females of *An. gambiae* s.s. at a concentration of 250 ppm; the LC95 is of 169.06 ppm. The essential oil of *C. citrinus* causes total mortality of female of *An. gambiae* s.s. at a concentration of 200 ppm; the LC95 is of 131.62 ppm. The essential oil of *M. myristica* causes total mortality of female of *An. gambiae* s.s. at a concentration of 250 ppm; the LC95 is of 168.47 ppm.

Keywords: *Anopheles gambiae*, ecologic factors, abundance, chemical insecticides, "tolerance", essential oil local plants, effect insecticide.

RESUME

Au Cameroun, le paludisme est la première cause de morbidité et de mortalité, particulièrement chez les enfants de moins de 5 ans. En absence de vaccin, la lutte antivectorielle est la seule forme de protection collective connue. Elle est confrontée à la résistance des anophèles aux insecticides chimiques conventionnellement utilisés. Le présent travail vise à étudier quelques aspects de la biologie d'*An. gambiae* afin de connaître le comportement de ce vecteur vis-à-vis des insecticides chimiques et biologiques. Nous avons étudié les productions des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. en absence et en présence de la cyperméthrine dans la nature à Nkolbisson. Au laboratoire, nous avons étudié l'influence de quelques facteurs abiotiques ainsi que celle de la cyperméthrine, du diméthoate et du méthyl-parathion sur les larves d'*An. gambiae* s.s. et l'effet insecticide des huiles essentielles d'*Aframomum melegueta*, de *Callistemon citrinus* et de *Monodora myristica*, trois plantes locales sur les larves et les adultes d'*An. gambiae* s.s.

Des récoltes ont été faites dans 3 sites pour déterminer les abondances mensuelles et saisonnières des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. à Nkolbisson en 2007 et en 2008. Ces sites sont deux champs non traités aux insecticides et un champ traité à la cyperméthrine. Au laboratoire, à partir des larves de 1^{er} stade âgées de 1 jour, nous avons étudié l'influence de quelques facteurs écologiques ainsi que celle de trois insecticides chimiques sur le développement d'*An. gambiae* s.s.. Nous avons procédé à des tests des huiles essentielles d'*Aframomum melegueta*, de *Callistemon citrinus* et de *Monodora myristica* sur les larves de chaque stade et sur les femelles d'*An. gambiae* s.s. pour rechercher leurs effets larvicide et adulticide.

L'étude des abondances des larves et des nymphes en 2007 et en 2008 à Nkolbisson nous a montré que les individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. sont présents pendant 8 mois de chaque année qui sont : mars, avril, mai, juin, juillet, septembre, octobre et novembre. Les pics des abondances des larves et des nymphes s'observent en juin et octobre de chaque année. Le pic de juin est légèrement plus faible (environ 1000 individus) que celui d'octobre (plus de 1100 individus) dans les champs non traités aux insecticides. Dans le champ traité à la cyperméthrine, les pics sont plus faibles (environ 300 individus) que dans les champs non traités (plus de 1000 individus). L'apparition des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. est positivement corrélée aux pluies de la petite saison des pluies (mars – juin) et de la grande saison des pluies (septembre-novembre). Les abondances des larves et des nymphes sont plus élevées pendant la petite saison des pluies (en moyenne 2500 individus dans les champs non traités aux insecticides et 550 individus dans le champ traité à la cyperméthrine) que pendant la grande saison des pluies (en moyenne 2000 individus dans les champs non traités aux insecticides et 460 individus dans le champ traité à la cyperméthrine).

L'étude de l'influence de quelques facteurs écologiques sur les larves d'*An. gambiae* s.s. nous a permis de constater que pour une ration comprise entre 20 mg et 60 mg d'aliment pour 100 larves, pour une densité des larves comprise entre 50 et 150 pour 100 ml d'eau, pour une profondeur de l'eau du gîte comprise entre 0,5 cm et 10 cm et pour un pH de l'eau du gîte compris entre 5 et 10,5, le développement d'*An. gambiae* s.s. est harmonieux, c'est-à-dire, une durée de développement des larves et des nymphes inférieure ou égale à 11 jours, une mortalité inférieure à 20%, une longueur de l'aile du mâle supérieure à 3,10 mm et celle de l'aile de la femelle supérieure à 3,20 mm, un nombre d'œufs pondus par femelle supérieur à 100 avec un taux d'éclosion supérieur à 95%.

L'étude de l'influence des insecticides chimiques sur les larves d'*An. gambiae* s.s. nous a permis de constater que pour des concentrations inférieures à 0,0250 µg/l pour la cyperméthrine, à 200 µg/l pour le diméthoate et à 0,12 µg/l pour le méthyl-parathion, le développement d'*An. gambiae* s.s. est harmonieux. A partir des concentrations sus mentionnées, le développement d'*An. gambiae* s.s. est perturbé de façon significative.

L'étude de l'influence des trois insecticides chimiques sur le développement de 12 générations successives d'*An. gambiae* s.s. nous a permis de constater qu'entre la 1^{ère} et la 6^e génération pour la cyperméthrine et le méthyl-parathion, et entre 1^{ère} et la 7^e génération pour le diméthoate, l'effet insecticide sur les individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.s. ne diminue pas de façon. La tolérance qui apparait au-delà des générations sus-citées pour chaque insecticide, se traduit par une diminution de la durée de développement des larves et des nymphes ainsi que de leur mortalité, une augmentation de la taille des adultes.

L'extraction des huiles essentielles nous a permis de constater que les graines de *M. myristica* (1,20%) sont environ 2 fois plus riches en huile essentielle que les feuilles de *C. citrinus* (0,75%) et plus de 6 fois plus riches en huile essentielle que les graines d'*A. melegueta* (0,19%). Les huiles essentielles d'*A. melegueta* et de *C. citrinus* sont riches en 1,8-cinéole qui est un monoterpène oxygéné et l'huile essentielle de *M. myristica* est plus riche en α -phellandrène qui est un monoterpène hydrocarboné.

Les tests sur les larves et les femelles nous ont permis de constater que l'huile essentielle d'*A. melegueta* provoque la mortalité totale des larves de 1^{er} d'*An. gambiae* s.s. après 120 min. et celle des larves de 4^e stade après 180 min. ; la CL95 de cette huile est de 27,38 ppm pour les larves de 1^{er} stade et 41,42 ppm pour les larves de 4^e stade. L'huile essentielle de *C. citrinus* provoque la mortalité totale des larves de 1^{er} stade d'*An. gambiae* s.s. après 140 min. et celle des larves de 4^e stade après 200 min. ; la CL95 de cette huile est de 36,57 ppm pour les larves de 1^{er} stade et 62,80 ppm pour les larves de 4^e stade. L'huile essentielle de *M. myristica* provoque la mortalité totale des larves de 1^{er} stade d'*An. gambiae* s.s. après 120 min. et celle des larves de 4^e stade après 180 min.; la CL95 de cette huile est de 27,48 ppm pour les larves de 1^{er} stade et 41,39 ppm pour les larves de 4^e stade. L'huile essentielle d'*A. melegueta* provoque la mortalité totale des femelles d'*An. gambiae* s.s. à la concentration de 250 ppm ; la CL95 est de 169,06 ppm. L'huile essentielle de *C. citrinus* provoque la mortalité totale des femelles d'*An. gambiae* s.s. à la concentration de 200 ppm ; la CL95 est de 131,62 ppm. L'huile essentielle de *M. myristica* provoque la mortalité totale des femelles d'*An. gambiae* s.s. à la concentration de 250 ppm ; la CL95 est de 168,47 ppm.

Mots clés : *Anopheles gambiae*, facteurs écologiques, abondance, insecticide chimiques, tolérance, huile essentielle, plantes locales, effet insecticide.

INTRODUCTION

Le paludisme est un problème de santé publique dans le monde entier en général et dans les régions intertropicales en particulier. Cette maladie est transmise à l'homme par les moustiques du genre *Anopheles* (Robert, 1984). D'après le rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.) de 2013, environ 207 millions de cas cliniques de paludisme ont été déclarés avec plus de 627 000 de morts. Cette maladie sévit surtout en Afrique intertropicale qui enregistre à elle seule 80% à 90% des cas. Les enfants de moins de 5ans et les femmes enceintes en sont les principales victimes. Au Cameroun, il apparaît qu'en 2011, le paludisme demeurait encore la première cause de mortalité avec 24% du total des décès, 40% à 45% des consultations médicales dont 52% chez les enfants de moins de 5 ans (MINSANTE, 2014). Chaque habitant de la zone endémique manifeste au moins une crise de paludisme par an. Par ailleurs, sur le plan économique, des études menées dans la ville de Yaoundé par Louis *et al.* (1992) montrent que les dépenses engagées dans la lutte contre les moustiques et dans le traitement du paludisme coûtent en moyenne 57000 francs CFA par an à chaque famille à revenu faible composée d'environ 4 personnes.

La lutte contre le paludisme constitue à cet effet l'une des priorités de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). A l'état actuel des recherches, faute de vaccin contre cette maladie, la lutte anti-vectorielle constitue le seul moyen de prévention collective (Mouchet *et al.*, 1991). Dans cette lutte antivectorielle, l'utilisation des insecticides est la méthode la plus courante. Ils sont utilisés aussi bien pour les pulvérisations intra et extra-domiciliaires que pour l'imprégnation des moustiquaires. L'apparition et le développement du phénomène de résistance des moustiques aux insecticides constituent un obstacle important à cette lutte antivectorielle. En Afrique, les premiers cas de résistance à un insecticide ont été observés au Nigeria en 1954 avec la dieldrine chez *Anopheles gambiae* s.l (Amstrong *et al.*, 1958). La résistance de ce moustique au DDT a été ensuite signalée par Hamon *et al.* (1968) au Burkina Faso ; elle s'est très rapidement répandue dans plusieurs pays d'Afrique de l'Ouest et du Centre suite à l'utilisation massive du DDT en agriculture et dans la campagne d'éradication des moustiques au cours des années 1950 (Guillet, 2001).

Dans leur environnement, les insectes sont exposés à un grand nombre de molécules d'origines biologique et chimique. A cet effet, ceux qui se développent dans les zones de cultures maraîchères comme les moustiques et plus précisément leurs larves, sont exposés aux pesticides (fongicides, herbicides, insecticides...). En agriculture, le moustique ne cause pas de dommages aux cultures et n'est de ce fait pas la cible des insecticides utilisés. Les dilutions de pesticides et notamment d'insecticides prescrits par les fabricants sont destinés aux ravageurs des plantes. Dans nos régions, les zones de cultures maraîchères abritent des gîtes larvaires suite à l'accumulation des eaux de ruissellement des pluies ou d'arrosage. Dans les champs traités aux

insecticides, les individus des stades aquatiques des moustiques se développent au contact des molécules actives de ces composés. Leur dilution permet d'éliminer les individus les plus sensibles. Chez les survivants, la présence de l'insecticide dans l'organisme peut induire des modifications métaboliques d'une grande importance comme l'activation et la surexpression des gènes de résistance (Poupardin 2011). A cet effet, des études montrent que des insecticides comme la perméthrine, la cyperméthrine ou bien le DDT sont capables d'induire l'expression des gènes CYPs impliqués dans le phénomène de résistance (Ranasinghe *et al.*, 1997 ; Brandt *et al.*, 2002 ; Zhu et Snodgrass, 2003 et Willoughby *et al.*, 2006). Ceci pourrait expliquer le fait que les moustiques deviennent de plus en plus résistants aux insecticides car les mêmes molécules actives sont utilisées aussi bien en agriculture que dans la lutte antivectorielle. Les travaux effectués par Etang *et al.* (2007) et Chouaïbou (2008) au Cameroun ont mis en évidence la résistance au DDT et aux pyréthrinoïdes chez certaines populations d'*An. gambiae* s.l. des zones de cultures maraîchères de Yaoundé et Mbalmayo dans la région du Centre, des zones agro-industrielles de Foumbot dans la région de l'Ouest et enfin des zones cotonnières de Garoua et de Pitoa dans la région du Nord. Ceci nous amène à penser que l'origine de la résistance des moustiques aux insecticides commence avec les larves des premières générations et se poursuit avec les adultes des générations successives. D'après Guillet *et al.* (1997) et Diabaté *et al.* (2002), le risque d'apparition de la résistance est le résultat d'une combinaison de facteurs propres aux insecticides et aux conditions de leur utilisation, ainsi qu'à la biologie des insectes. Les variations du milieu revêtent un caractère déterminant dans la compréhension de l'adaptabilité des organismes vivants (Issartel, 2007). La résistance observée s'explique par ce phénomène. Selon Guillet *et al.* (1997) pour élaborer une stratégie efficace de prévention et de gestion de la résistance, il est important de connaître les facteurs impliqués dans son apparition et son évolution. Il s'agit entre autres:

- de la nature de l'insecticide ;
- des mécanismes biologiques de l'insecte ;
- des mécanismes écologiques.

L'action négative des insecticides chimiques sur l'environnement et leur coût élevé nous amènent à recourir à une voie alternative, celle de l'emploi des insecticides biologiques. Ces derniers proviennent d'extraits et d'huiles de certains organes des plantes locales. A cet effet, des études récentes révèlent que plus de 2000 espèces de plantes sont capables de tuer ou de repousser les insectes ravageurs des cultures ou vecteurs des maladies. Ngassom *et al.* (2002), Saotoing (2005), Foko Dadjji (2007), Akono Ntonga (2011) et Bakwo (2012) ont respectivement montré que *Lippia rugosa*, *Eucalyptus saligna*, *Capsicum annuum*, *Ocimum canum*, *Cymbopogon citratus*,

Azadirachta indica présentent des propriétés insecticides ; ceci explique l'intérêt que nous avons porté sur *Aframomum melegueta* (Zingiberaceae), *Callistemon citrinus* (Mysteraceae) et *Monodora myristica* (Annonaceae) dont les huiles essentielles renferment des composés ayant des propriétés insecticides.

Le présent travail vise à étudier quelques aspects de la biologie d'*An. gambiae* s.l dans la nature et au laboratoire à Nkolbisson et l'influence des différentes concentrations de trois insecticides chimiques (la **cyperméthrine**, le **diméthoate** et le **méthyl-parathion**) puis des huiles essentielles de trois plantes locales (***Aframomum melegueta***, ***Callistemon citrinus*** et ***Monodora myristica***), sur les larves et les adultes d'*An. gambiae* s.s.

Le choix de ce vecteur repose sur le fait que des études épidémiologiques et entomologiques menées par les chercheurs de l'Organisme de Recherche Scientifique des Territoires d'Outre Mer (O.R.S.T.O.M), puis de l'Organisation pour la Coordination des Endémies en Afrique Centrale (O.C.E.A.C.) il ressort qu'*An. gambiae* s.l. est le principal vecteur du paludisme et se rencontre dans tous les écotypes du Cameroun.

Les objectifs spécifiques de ce travail sont les suivants :

- étudier les variations de l'abondance dans la nature des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans la localité de Nkolbisson ;
- comparer les abondances des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans deux champs de cultures vivrières non traités et un champ de cultures vivrières traité à la cyperméthrine, un insecticide chimique;
- étudier l'influence de la ration des larves, de leur densité, de la profondeur et du pH de l'eau du gîte sur le développement d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire ;
- étudier l'influence des trois insecticides chimiques (la cyperméthrine, le diméthoate et le méthyl-parathion) sur le développement larvaire d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire ;
- étudier l'influence des trois insecticides chimiques (la cyperméthrine, le diméthoate et le méthyl-parathion) sur les larves et les adultes d'*An. gambiae* s.s sur 12 générations successives au laboratoire;
- tester l'effet larvicide et adulticide des huiles essentielles de trois plantes locales (des graines d'*Aframomum melegueta* et de *Monodora myristica* ainsi que les feuilles de *Callistemon citrinus*) sur *Anopheles gambiae* s.s. au laboratoire.

GENERALITES

I.1. PALUDISME ET VECTEURS

I.1.1. Position dans la systématique d'*Anopheles gambiae* Giles, 1902

Embranchement des Arthropodes :

- présence d'une symétrie bilatérale;
- corps métamérisé et recouvert d'une cuticule;
- présence d'appendices articulés(Grassé, 1979).

Sous-Embranchement des Antennates :

- présence d'une paire d'antennes à rôle sensoriel ;
- présence d'une paire de mandibules(Grassé, 1979).

Classe des Insectes :

- corps divisé en trois tagmes : tête, thorax et abdomen(Grassé, 1979);
- respiration trachéenne ;
- présence de 3 paires de pattes thoraciques.

Sous-classe de Ptérygotes :

- présence d'ailes au moins à un stade de leur développement post-embryonnaire.

Section des Oligonéoptères :

- champ jugal évolué ;
- ailes repliées en arrière au repos (Martinov, 1923).

Super ordre des Mécoptéroïdes :

- pièces buccales de type piqueur ou suceur ;
- stipes des maxilles divisés transversalement (Brauer, 1885).

Ordre des Diptères (Linné, 1758) :

- présence d'une paire d'ailes ; ailes postérieures étant transformées en balanciers;
- pièces buccales de type piqueur-suceur ;
- tarse pentamère (Grassé, 1979).

Sous-Ordre des Nematocères (Latreille, 1825) :

- palpes grêles formés de deux articles ;
- abdomen étroit et souvent allongé avec un premier segment plus souvent visible;
- antennes longues, filiformes et à nombreux articles (Grassé, 1979).

Super famille des Culicoïdea (Malloch, 1917) :

- pronotum séparé du mésonotum par une suture transverse ;
- prothorax portant deux tubes respiratoires fermés ou non ;
- ailes arrondies au bout et pas toujours entourées d'un épaississement costal (Grassé, 1979).

Famille des Culicidae (Latreille, 1825) :

- corps recouvert d'écailles filiformes;
- bord postérieur des ailes frangé d'écailles;

- appareil buccal avec une trompe allongée, droite ou recourbée, toujours dirigée vers l'avant.

Sous-famille des Anophelinae (Théobald, 1905) :

- taches formées par les écailles claires et sombres sur la costa;
- corps couvert de poils allongés ;
- femelle hématophage, pièces buccales réunies en une trompe vulnérante ;
- base de la première nervure alaire sombre (Grassé, 1979).

Genre *Anopheles* (Meigen, 1818) :

- scutellum simple ;
- abdomen sans écaille.

Espèce *Anopheles gambiae* (Giles, 1902) :

- 3 bandes pâles sur le palpe des femelles, l'apical étant plus développé;
- 5 taches pâles sur la costale, le quart basal entièrement noir;
- fémur et tibias antérieurs largement tachetés;
- tarse postérieur étroitement annelé de bandes pâles aux articulations.

Anopheles gambiae s.l. est un complexe de sept espèces jumelles parmi lesquelles on trouve *Anopheles gambiae s.s.* Ces espèces sont morphologiquement semblables ; leur identification demande souvent de recourir aux critères cytogénétiques, biochimiques ou moléculaires (Coluzzi, 1992; Mouchet *et al.*, 2004).

I.1.2. Paludisme

I.1.2.1. Paludisme dans le monde

Le paludisme demeure dans le monde une préoccupation pour l'Organisation mondiale de la santé (O.M.S.). Le nombre de cas de paludisme par an est estimé à environ 207 millions avec plus de 627 000 de morts dont 90% des cas se trouvent en Afrique intertropicale (O.M.S., 2013). Cette maladie affecte également certains Vertébrés tels les Primates (Bray, 1957), les Ruminants (Bray, 1960), les Rongeurs (Vincke & Lips, 1948), et les Oiseaux (Huff, 1965).

Les parasites responsables du paludisme sont diversement répartis dans le monde. Ainsi, *Plasmodium falciparum* est très largement répandu autour de l'équateur touchant l'Afrique tropicale, l'Amérique tropicale, l'Asie du Sud-Est, l'Océanie Ouest, et une partie du Sud de l'Europe (Snow *et al.*, 2005).

Plasmodium vivax est rencontré en zone tropicale à l'exception de l'Afrique. Ses mérozoïtes ont une préférence pour les hématies jeunes. L'antigène Duffy localisé à la surface des globules rouges de certains individus interviendrait dans la pénétration des mérozoïtes de *P. vivax* dans les hématies humaines (Miller, 1975 ; Miller, 1977). D'après cet auteur, la rareté de cet antigène dans la race noire expliquerait la répartition géographique de *P. vivax*.

Plasmodium ovalae est très proche de *P. vivax* auquel il a été longtemps confondu. Cette espèce est rencontrée dans les zones où *P. vivax* est rare comme en Afrique noire. Ses mérozoïtes parasitent également les hématies jeunes ou réticulocytes (Greenwood *et al.*, 1991).

Plasmodium malariae se rencontre essentiellement en Afrique et en Asie. Il peut être responsable de syndromes néphrotiques graves. Sa période d'incubation dure environ 21 jours. Ses mérozoïdes ont une préférence pour les hématies âgées (Greenwood *et al.*, 1991).

P. falciparum est l'espèce la plus virulente de toutes et la plus répandue (Afrique tropicale, Asie orientale, Océanie, Amérique tropicale), suivie de *P. vivax* et *P. ovalae* (Greenwood *et al.*, 1991).

I.1.2.2. Paludisme en Afrique

Selon le rapport de l'O.M.S. de 2013, l'Afrique en générale et l'Afrique sub-saharienne en particulier demeure la partie du monde la plus affectée par le paludisme avec environ 90% des cas recensés dans le monde entier. On estime que cette maladie est l'une des causes majeures de la pauvreté dans cette région du continent. En effet, d'après le rapport de "Economic of Malaria center of development" de Havard Universty et de "The London School of Hygiene and Tropical Medecine", le PIB (Produit Intérieur Brute) des pays d'Afrique ausud du Sahara serait de 32 % supérieur à celui de l'an 2000, si le paludisme avait été éradiqué 35 ans plus tôt (Minsanté, 2002). Fort de ce constat, il a été mis sur pied, à Abudja au Nigéria en 1998, l'initiative Roll Back Malaria (RBM) dont l'objectif était de réduire de 75% le nombre de cas de paludisme en 2015 (O.M.S., 2013).

Les parasites responsables du paludisme en Afrique sont : *P. falciparum*(Snow *et al.*, 2005), *Plasmodium ovalae*(Greenwood *et al.*, 1991) et *Plasmodium malariae* (Greenwood *et al.*, 1991).

I.1.2.3. Paludisme au Cameroun

Le paludisme au Cameroun reste la première cause de morbidité et de mortalité avec 24% du total des décès, 40% à 45% des consultations médicales dont 52% chez les enfants de moins de 5 ans (MINSANTE, 2014).

Avant les années 1950, le Cameroun était dans une situation d'hyper ou d'holoendémicité palustre ; toutes les régions à l'exception de certaines régions de forêt et des Hauts Plateaux de l'Ouest avaient des taux élevés de prévalence de la maladie (Languillon, 1957).

Toutefois, cette évaluation était éronée car les études récentes menées dans la région des Hauts Plateaux de l'Ouest révèlent que le paludisme y a toujours prévalu mais seulement, très peu d'enquêtes épidémiologiques y ont été menées (Tchuinkam *et al.*,2003 ; Atangana *et al.*,

2009 et Akono Ntonga, 2011). Selon l'opinion classiquement répandue, l'altitude et le climat (notamment les basses températures) de cette région constituent un obstacle à l'implantation des anophèles et à la transmission de la maladie.

Le traitement et la prophylaxie contre le paludisme étaient basés sur la prise hebdomadaire de la chloroquine et de la quinine. Selon Same-Ekobo (1997), la lutte à grande échelle a été entreprise pour la première fois entre 1953 et 1961 avec la campagne pilote d'éradication du paludisme. Les villes pilotes étaient Maroua, Kaélé et Yagoua pour le Nord-Cameroun, Yaoundé et Douala dans le Sud-Cameroun. Cette campagne reposait sur des aspersion intradomiciliaires du D.D.T. (dichloro-diphényl-trichloroéthane) et de la diéldrine. A cette lutte contre le vecteur, était associée la chimioprophylaxie (prise hebdomadaire de la chloroquine et de la quinine) contre le plasmodium. Cette campagne a stabilisé le fléau, ramenant le Cameroun en 1969 au statut mésoendémique (taux de prévalence moyen) et même hypoendémique (faible taux de prévalence) pour certaines régions. Toutefois, suite à une prise abusive de la chloroquine, *P. falciparum* est devenu résistant à ce médicament (Louis *et al.*, 1992). Du côté du vecteur, on a également observé la résistance d'*An. gambiae s.l.* à la diéldrine (Mouchet & Cavalié, 1959). En outre, le coût et l'insuffisance des infrastructures de lutte antivectorielle n'ont pas permis une surveillance adéquate. C'est ainsi que vers les années 1980, le paludisme a connu une recrudescence vertigineuse, avec des indices plasmodiques compris entre 25% et 40% (Anomah Ngu, 1987).

En ce début du 21^e siècle, le paludisme reste la première cause de morbidité et de mortalité au Cameroun avec 30% à 35 % des décès, desquels 40% concernent les enfants de moins de 5 ans (Minsanté, 2002). Dans le souci de contrôler cette maladie, le gouvernement camerounais a mis en place en 1996 le Programme National de Lutte contre le Paludisme (P.N.L.P.) dont l'objectif principal est de réduire la morbidité et la mortalité liées au paludisme au niveau le plus bas possible, à défaut de son éradication. Pour ce faire, le P.N.L.P. s'est fixé un certain nombre d'objectifs tels l'amélioration de la prise en charge des cas cliniques dans les formations sanitaires, le renforcement de la chimioprophylaxie chez les femmes enceintes, la formation du personnel soignant sur la prise en charge des cas cliniques, la sensibilisation des populations au paludisme, et la vulgarisation des mesures de protection individuelle et communautaire contre les vecteurs grâce surtout à l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides chimiques (Minsanté, 2002).

I.1.3. Vecteurs

Les vecteurs obligatoires et exclusifs des plasmodiums humains sont des insectes de l'ordre des Diptères appartenant au genre *Anopheles* (Robert, 1984).

Les anophèles sont des vecteurs de nombreuses maladies. Toutefois, leur rôle épidémiologique est plus important dans la transmission du paludisme humain (Teklehaimanot & Herath, 1991). Selon les mêmes auteurs, plus de 400 espèces d'anophèles ont été recensées dans le monde, parmi lesquels 70 sont capables de transmettre le paludisme. En Afrique tropicale, les vecteurs du paludisme les plus courants sont : *Anopheles gambiae* (Giles, 1902), *An funestus* (Giles, 1900), *Anophèles moucheti* (Evans, 1925), *Anopheles nili* (Théobalt, 1904) et *Anopheles pharoensis* (Théobalt, 1901).

I.1.3.1. Cycle biologique des anophèles

Le cycle biologique des anophèles comporte une phase aquatique et une phase aérienne (figure n°1).

Au cours de la phase aquatique, les œufs sont pondus isolément à la surface de l'eau (Holstein, 1949); leur développement dure 1 à 3 jours selon les espèces et les conditions du milieu. L'œuf éclot par une déhiscence de son capuchon apical (Mouchet *et al*, 1991) et libère la larve de premier stade. Après 3 mues consécutives, on obtient d'abord la larve de deuxième stade, puis celle de troisième stade et finalement celle de quatrième stade. Cette dernière mue et se transforme en nymphe. La durée de la vie larvaire et nymphale varie d'une espèce à l'autre, et varie aussi avec les conditions du milieu c'est-à-dire l'environnement. Au terme de la vie nymphale survient la mue imaginale qui libère l'adulte.

La phase aérienne commence avec l'émergence de l'adulte qui se repose quelques heures au bord du gîte avant de s'envoler. La maturation des organes reproducteurs et le durcissement de la cuticule se poursuivent pendant un ou deux jours chez le mâle et trois jours chez la femelle (Klein, 1977). L'accouplement a lieu deux à trois jours après l'émergence ; par la suite, les femelles cherchent un repas sanguin chez un hôte vertébré. Deux à trois jours après le repas sanguin, la ponte a lieu.

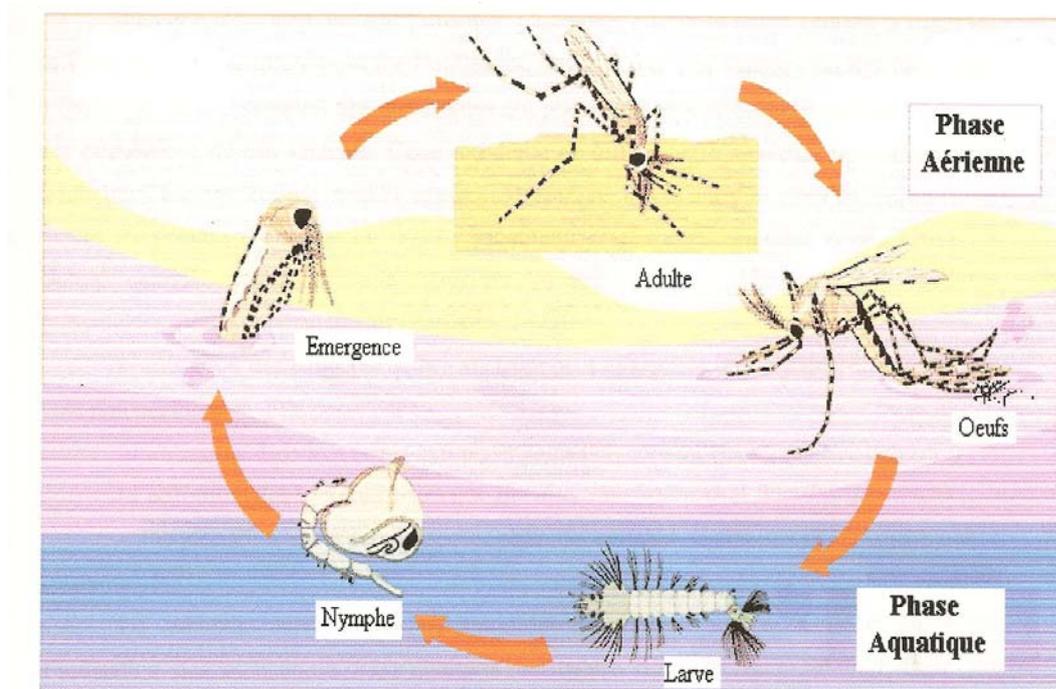


Figure n°1 : Cycle biologique de l'anophèle (Mochet et Carnevale, 1991).

I.1.3.2. Quelques aspects de l'écologie des anophèles

I.1.3.2.1. Gîtes des larves et des nymphes

Les gîtes des larves sont des collections d'eau dans lesquelles les moustiques peuvent pondre ; les œufs après leur éclosion donnent des larves dont le développement aboutit à individus adultes (Service, 1977 ; Danis & Mouchet, 1991). Les gîtes larvaires d'*Anopheles spp* présentent des caractéristiques variées.

Généralement, les moustiques du genre *Anopheles* pondent dans les eaux claires et non polluées. Certaines espèces d'anophèles préfèrent des habitats ensoleillés (*An. gambiae* s.l.), d'autres comme *An. funestus*, les milieux ombragés (Service, 1977 ; Danis & Mouchet, 1991 ; Janovy & Larry, 2000).

Selon le Department of Infrastructure and Service of Parks (D.I.S.P., 2005), les gîtes naturels englobent entre autres, les marécages, les étangs, les ruisseaux, les flaques d'eaux de pluies, les mangroves. Ceux des zones de cultures maraîchères sont constitués des eaux des sillons et d'irrigation. Les gîtes des zones industrielles comprennent les eaux d'irrigation des champs industriels, des effluents d'eaux des usines, etc. ; ceux qui sont résiduels sont formés des eaux accumulées dans les boîtes, les pneus, les barils et autres récipients abandonnés.

Les gîtes peuvent être temporaires, semi-permanents ou permanents. La première catégorie est faite des flaques d'eau périodiques qui s'assèchent quelques jours après leur formation. La deuxième catégorie est représentée par des points d'eau qui peuvent persister pendant toute la saison des pluies. Enfin les gîtes permanents persistent toute l'année.

I.1.3.2.2. Paramètres physico-chimiques des gîtes

Les principaux paramètres physico-chimiques des gîtes larvaires d'anophèles sont principalement le pH, la température, l'oxygène dissout, la demande biologique en oxygène ou DBO (Robert *et al.*, 1998 ; Piyarature *et al.*, 2005).

➤ pH

Le pH des collections d'eau naturelle est compris entre 6,5 et 8,5. Proche de la neutralité, il est favorable au développement des larves d'anophèles (Anonyme, 2002).

➤ Température

La température est aussi un facteur important qui influence la durée du développement des organismes aquatiques, parmi lesquels les individus des stades aquatiques des anophèles. A 25 ° C, le développement des larves et des nymphes des anophèles dure de 10 à 20 jours selon les espèces ; il prend plus de temps à basse température (Darriet, 1998).

➤ Oxygène dissout

L'oxygène dissout correspond à celui libre et disponible dans l'eau. La concentration de l'oxygène dissout est la seule caractéristique de l'eau qui est directement corrélée à la diversité de la vie aquatique ; une eau qui abrite une grande diversité et une forte abondance d'organismes est une eau de très bonne qualité (Anonyme, 2002).

➤ Demande biologique en oxygène ou D.B.O.

La demande biologique en oxygène ou D.B.O. est positivement corrélée à la densité des organismes animaux aquatiques qui consomment l'oxygène. Elle est directement influencée par la quantité d'oxygène dissout dans l'eau (Anonyme, 2002).

I.1.3.2.3. Facteurs influençant la distribution spatiale et la densité des anophèles

Les facteurs influençant la distribution spatiale et la densité des anophèles sont l'altitude, la présence ou l'absence de l'homme ou du bétail, la distance séparant les gîtes des maisons d'habitation, la présence des gîtes larvaires, le degré d'urbanisation, la qualité de l'eau, etc.

➤ Altitude

Selon Service (1977), les gîtes larvaires ont été rencontrés à des altitudes allant jusqu'à 5500 m. Les moustiques ont été également capturés à ces altitudes. Les travaux de Manga *et al.* (1992), Maxwell *et al.* (2003), Drakeley *et al.* (2005), Akono Ntonga (2011), montrent que l'intensité de la transmission du paludisme en hautes altitudes est bien plus faible qu'en basses

altitudes. Dans la région du Mont Cameroun, par exemple, Wanji *et al.* (2003) n'ont capturé aucun vecteur à 1200 m d'altitude.

➤ **Présence de l'homme et du bétail**

La présence d'une source de sang est indispensable pour le développement des moustiques dans une région donnée; ce liquide renferme des substances nécessaires à la maturation des œufs. Minakawa *et al.* (2002) ont à cet effet trouvé que la présence ou l'absence de l'homme ou du bétail affecte l'abondance relative des larves d'anophèles dans une zone donnée. En général, l'agressivité culicidienne est plus élevée chez l'homme que chez d'autres Vertébrés à sang chaud (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2002). Dans certaines régions, on observe le phénomène inverse (Killen *et al.*, 2001). Dans d'autres régions comme celle du Mont Cameroun, Wanji *et al.* (2003) ont constaté que malgré la présence de nombreux autres hôtes potentiels, l'agressivité culicidienne est exclusivement humaine.

➤ **Présence des gîtes larvaires**

La présence des gîtes larvaires est déterminée par deux facteurs :

- les conditions climatiques notamment la pluviométrie. Les flaques et mares d'eau apparaissent lorsque l'intensité et surtout la fréquence des pluies augmentent ;
- le type de sol. Un sol très peu perméable retient longtemps les eaux après la pluie, permettant ainsi la formation des gîtes pour un meilleur développement des larves ; par contre, un sol poreux ne permet ni la formation de gîtes larvaires, ni la présence des moustiques (Bioley, 1991).

➤ **Distance séparant les gîtes des maisons d'habitation**

La distance séparant les gîtes des maisons d'habitation est déterminante dans la distribution des espèces d'anophèles et pour leur densité dans une région donnée. La densité des moustiques est élevée dans les zones où les gîtes sont favorables au développement des larves ; c'est le cas de ceux se trouvant à proximité des maisons d'habitation (Fondjo *et al.*, 1992 ; Minakawa *et al.*, 2002). Samé-Ekobo *et al.* (2001) ont noté aussi que la densité des adultes baisse quand les gîtes larvaires sont éloignés des maisons d'habitation.

➤ **Degré d'urbanisation**

Le degré d'urbanisation, par les activités humaines qui l'accompagnent, influence la densité des populations d'anophèles. Les activités humaines réduisent le nombre de gîtes larvaires et polluent les gîtes existants (Trape *et al.*, 1987 ; Sattler *et al.*, 2005). Les populations d'anophèles sont refoulées dans les zones périphériques des centres urbains où l'eau des gîtes

est moins polluée et est ainsi propice au développement des larves. L'agriculture dans ces zones modifie l'environnement en créant de nouveaux gîtes (Wanderli *et al.*, 1998).

➤ **Qualité de l'eau**

La qualité de l'eau des gîtes est un facteur important de la variation de la taille des populations de vecteurs ; elle détermine le développement des larves et des nymphes et dépend en grande partie de la composition chimique du sol. La pollution par les agents externes peut apparaître et modifier les concentrations des ions déjà présents ; elle peut aussi apporter des ions nouveaux (Chapman, 1996) comme l'ion chlorure de l'eau de robinet qui est défavorable au développement des larves d'*An. gambiae* s.s. (Foko Dadjé *et al.*, 2007).

➤ **Principaux vecteurs du paludisme au Cameroun**

Les principaux vecteurs du paludisme au Cameroun dépendent de la zone d'étude. En zone forestière, les principaux vecteurs du paludisme sont *Anopheles gambiae* s.l. (Manga *et al.*, 1992), *Anopheles moucheti* Evans (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2002), *An. funestus* (Mouchet et Gariou, 1961), *Anopheles nili* (Carnevale *et al.*, 1992) et *Anopheles ovengensis* (Awono-Ambene *et al.*, 2004). Dans la zone de savane en général, *Anopheles gambiae* s.l. (Ripert *et al.*, 1990) et *An. funestus* (Mouchet & Gariou, 1961) sont les principaux vecteurs. Sur la bande côtière, la transmission est assurée principalement par *Anopheles gambiae* s.l. (Josse *et al.*, 1990), *Anopheles nili* (Rey *et al.*, 1992) et *Anopheles funestus* (Robert *et al.*, 1993). Dans les hauts plateaux de l'Ouest, *Anopheles gambiae* s.l. et *Anopheles funestus* sont les principaux vecteurs (Tchuinkam *et al.*, 2010 ; Akono Ntonga, 2011). Enfin, dans la zone soudano-saharienne, les principaux vecteurs du paludisme sont *Anopheles arabiensis* (Couprie *et al.*, 1985), *Anopheles funestus* (Josse *et al.*, 1987), *Anopheles pharoensis* (Audibert *et al.*, 1990) et *Anopheles gambiae* s.l. (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2008).

I.1.3.2.5. Complexe *An. gambiae*

Anopheles gambiae s.l. constitue un complexe de sept espèces jumelles morphologiquement semblables. Leur identification fait recours aux critères cytogénétique, biochimiques ou moléculaires (Coluzzi, 1992 ; Mouchet *et al.*, 2004). Cinq des sept espèces du complexe *Anopheles gambiae* s.l. se rencontrent exclusivement dans les eaux douces et deux dans les eaux saumâtres. Les espèces du premier groupe sont : *An. gambiae* s.s. Giles 1902, *An. arabiensis* Patton 1905, *An. bwambae* White 1985, *An. quadriannulatus* A Theobald 1911 et *An. quadriannulatus* B Hunt *et al.* 1998.

Anopheles gambiae s.s. et *An. arabiensis* assurent à plus de 90% la transmission du paludisme humain en Afrique intertropicale (Robert *et al.*, 1992). *An. gambiae* s.s. se rencontre majoritairement dans les zones humides alors qu'*An. arabiensis* se retrouve dans les zones

sèches jusqu'en bordure du Sahara (Coetzee *et al.*, 2000). L'aire de recouvrement de ces deux espèces est très grande (Coz, 1973). Ces deux espèces sont bien adaptées à l'homme (Coluzzi, 2002).

Les deux espèces d'*An. quadriannulatus* A et B sont exclusivement zoophiles; leurs femelles se nourrissent sur des vertébrés autres que l'homme et ne participent par conséquent pas à la transmission du paludisme humain (Coetzee *et al.*, 2000). Elles se rencontrent en Afrique méridionale et orientale (White *et al.*, 1980; Sharp *et al.*, 1984; Hunt *et al.*, 1998).

An. bwambae a une répartition très localisée et n'est connu qu'au Nord-Est de l'Ouganda (White, 1985).

Les deux espèces inféodées aux eaux saumâtres sont : *An. merus* Dönitz 1902, *An. melas* Theobald 1911. Elles se retrouvent respectivement sur les côtes Ouest et Est-africaines (Ayala & Coluzzi, 2005).

Au Cameroun, *An. gambiae* s.s. présentent deux formes chromosomiques : la forme "Forêt" ou forme M et la forme "Savane" ou forme S (Simard *et al.*, 2009). La forme M se rencontre principalement dans la zone équatoriale alors que la forme S couvre presque toute l'étendue du territoire, à l'exception de la zone soudano-sahélienne occupée par *An. arabiensis* (Simard *et al.*, 2009). Dans la zone de transition forêt-savane, la forme S domine et ses larves colonisent les gîtes saisonniers et temporaires (Ndjemai, 2011).

I.2. METHODES DE LUTTE ANTIPALUDIQUE

Les méthodes de lutte antipaludique, comme celle contre les maladies transmises par les Arthropodes en général visent à détruire l'agent pathogène et à s'attaquer au vecteur pour diminuer la transmission à défaut de l'éradiquer. Ces deux volets sont complémentaires (Tawatsin *et al.*, 2001).

I.2.1. Lutte contre le parasite

La lutte contre le parasite passe par la thérapie et la prophylaxie.

I.2.1.1. Thérapie

La thérapie du paludisme repose sur l'utilisation des antipaludiques de synthèse. Pendant longtemps, le traitement de la maladie a consisté à la prise de la chloroquine et de la quinine. Suite à la prise abusive et mal contrôlée de la chloroquine, *P. falciparum*, l'espèce parasite la plus redoutable et la plus répandue dans le monde, est devenue résistante par rapport à l' amino-4-quinoléine ou chloroquine. Ce constat a été fait dès les années 1950 en Asie du Sud, en Amérique latine et en Afrique sub-saharienne. Toutefois, la chloroquine est restée jusqu'à très récemment l'antipaludique le plus largement utilisé dans la plupart des zones endémiques d'Afrique (Trape, 2001). Du constat de la résistance du parasite à la chloroquine, de nouvelles

molécules ont été recommandées à partir des années 2001 (WHO, 2001). La combinaison artémether-luméfantine (coartem) est actuellement la combinaison la plus utilisée dans le cas du traitement du paludisme non sévère en Afrique sub-saharienne (Borrmann *et al.*, 2010). L'artémether et la luméfantine sont des anti-paludiques qui empêchent la multiplication du parasite dans les hématies de l'homme. L'artémether est un composé sémi-synthétique dérivé de l'artémisinine qui interfère avec le transport des protéines du parasite (le *Plasmodium*) pour bloquer la formation des gamétocytes dans l'hématie humaine (Hietala *et al.*, 2010). La luméfantine est un composé synthétique dérivé de la fluorine et apparenté à la halofantrine qui interfère avec la conversion de l'hème dans le processus de formation de l'hémoglobine de l'hématie ; l'hémoglobine devient toxique pour le parasite (Hietala *et al.*, 2010).

I.2.1.2. Prophylaxie

La prophylaxie contre le plasmodium au Cameroun se résumait autrefois à la prise hebdomadaire de la chloroquine et laquinine (Anomah Ngu, 1987). A la suite de l'apparition de la résistance de *P. falciparum* à la chloroquine, cette méthode a été proscrite (Same-Ekobo, 2005). Depuis lors, les efforts sont tournés vers la mise au point d'un vaccin contre le paludisme. Bien que les modèles efficaces chez les animaux se soient révélés peu concluants chez l'homme, la recherche vaccinale est sur une voie optimiste d'après des essais cliniques menés sur l'homme à l'Université d'Oxford (Richie et Saul, 2002).

I.2.2. Lutte contre les vecteurs

La lutte contre les vecteurs du paludisme est la seule méthode de prévention collective en l'absence de vaccin contre la maladie (Mouchet *et al.*, 1991). Elle regroupe toutes les méthodes physiques, chimiques ou biologiques utilisées pour rompre la chaîne épidémiologique au niveau d'un vecteur particulier, l'objectif étant de réduire la densité des populations vectrices à un niveau très bas ou de limiter le contact homme-vecteur (Carnevale & Mouchet, 1990). La lutte contre le vecteur a donc deux aspects: la protection de l'homme contre les risques des piqûres de moustiques et l'élimination du vecteur.

I.2.2.1. Protection de l'homme contre les piqûres des moustiques

La protection de l'homme contre les piqûres des moustiques consiste à utiliser des moustiquaires imprégnées de substances répulsives ou des substances insecticides chimiques (Carnevale & Mouchet, 1990). Cette méthode est la plus vulgarisée par le Programme National de Lutte contre le Paludisme en abrégé (P.N.L.P) du Cameroun.

I.2.2.1.1. Elimination des vecteurs

L'élimination des vecteurs peut se faire à tous les stades de développement, des larves aux adultes.

La lutte contre les larves peut être mécanique (physique), chimique ou biologique (Carnevale & Mouchet, 1990).

Au début du 20^e siècle, la lutte chimique antilarvaire a consisté en l'épandage à la surface des gîtes larvaires d'hydrocarbures tels l'huile de moteur usée, le pétrole et ses dérivés. Leur action a été augmentée par l'addition du D.D.T. (Holstein, 1949). Depuis la deuxième moitié du 20^e siècle, cette lutte contre les larves des moustiques recourt à l'emploi des larvicides, surtout le « Temophos » (abate®). Ce dernier est très efficace contre *Anopheles gambiae* avec une rémanence de 16 jours dans sa formulation granulée flottante (Carnevale & Mouchet, 1990).

Dans le souci de protéger l'environnement, le Laboratoire de Zoologie de l'université de Yaoundé I a entrepris dès 1996 des travaux de recherche afin de mettre au point des larvicides biologiques c'est-à-dire biodégradables. C'est ainsi que Messi & Foko (1998) ont montré que les extraits aqueux des fruits de *Capsicum annuum* (Solanaceae) ou encore une suspension de la poudre ont un effet larvicide sur *Anopheles gambiae*. Les travaux de Messi et Akono (2011) et ceux de Messi et Bakwo (2012) ont révélé que les huiles essentielles d'*Ocimum canum* et d'*Azadirachta indica* présentent un effet larvicide important.

La lutte contre les anophèles adultes se fonde sur des méthodes physiques, chimiques ou biologiques (Carnevale & Mouchet, 1990).

La lutte physique consiste essentiellement à débroussailler et à niveler les terrains des alentours des habitations sur plusieurs centaines de mètres car les anophèles utilisent les basses plantes, les buissons, les replis de terrain comme lieux de repos (Holstein, 1949).

La lutte chimique recourt principalement aux insecticides. Au Cameroun, des campagnes de pulvérisation intra-domiciliaire ont été organisées au Nord et au Sud dans les années 1950. Les insecticides utilisés à cet effet étaient le Dichloro-diphényl-trichloro-éthane en abrégé D.D.T., la Diéldrine (P.N.L.P., 2001). De nos jours l'utilisation des insecticides est familiale et se fait avec des bombes à aérosols. Dans le souci de protéger l'environnement, le Laboratoire de Zoologie de l'université de Yaoundé I effectue également des tests de molécules biologiques sur les adultes. A cet effet, l'huile essentielle d'*Ocimum canum* s'est révélé un excellent adulticide (Akono, 2011).

La lutte génétique emploie toutes les méthodes de traitement susceptibles de réduire le potentiel reproductif des formes nuisibles d'anophèles. Elle vise une altération ou un remplacement du matériel héréditaire. Curtis *et al.* (1998) préconisent le remplacement les

populations anophéliennes vectrices par d'autres non vectrices par transgénèse qui rend l'anophèle réfractaire au développement du plasmodium. Au laboratoire, les moustiques transgéniques augurent un succès dans le contrôle des maladies à transmission vectorielle (Catteruccia *et al.*, 2000 ; Ito *et al.*, 2002). Cependant, des études sur leur reproduction et leur adaptation en milieu naturel font encore l'objet de nombreuses recherches (Böete & Koella, 2003). L'utilisation effective des individus transgéniques dans les conditions naturelles pose de nombreux problèmes éthiques. D'après Kumar et Rai (1991), la lutte génétique peut également se faire par la méthode des lâchers des mâles stérilisés. La stérilisation des mâles peut se faire avec les rayonnements X, β ou γ , les chimio-stérilisants tels que les agents alkylants (apholate, tétramine, tépa, etc.), les anti-métabolites (fluoro-désosyridine, azauridine...). Ces composés chimio-stérilisants peuvent être combinés à un attractif. Malheureusement ces produits sont très toxiques pour l'homme.

I.2.2.3. Composés chimiques et biologiques utilisés en santé publique

Les composés chimiques et biologiques utilisés en santé publique dans la lutte antivectorielle sont les insecticides et les toxines bactériennes.

I.2.2.3.1. Insecticides

Les insecticides sont des substances biologiques ou chimiques capables de tuer les insectes. Ils agissent par contact ou par ingestion (Blooquist, 1999). Plusieurs critères sont pris en compte dans le choix d'un produit comme insecticide: son prix d'achat, sa rapidité d'action, sa rémanence c'est-à-dire la durée de persistance de l'activité toxique, sa biodégradabilité c'est-à-dire sa facilité dégradable par des processus biologiques, son effet irritant par contact et/ou son effet répulsif par vapeur ; ceux-ci doivent être les plus faibles possibles afin d'éviter une modification du comportement de l'insecte cible, l'absence de résistance physiologique du vecteur au produit, sa toxicité élevée vis-à-vis de l'insecte cible mais réduite pour l'homme et la faune non cible, sa stabilité après la mise en circulation, sa facilité d'emploi.

On distingue deux grands groupes d'insecticides : les insecticides chimiques et les insecticides biologiques.

➤ Insecticides chimiques

Les insecticides chimiques sont regroupés en quatre principales familles : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoïdes.

✓ **Organochlorés**

Les organochlorés comptent parmi les plus anciens composés utilisés en agriculture et en santé publique. Ils regroupent le DDT (dichloro-diphényl-trichloroéthane) et ses analogues, les cyclodiènes (dieldrine, endosulfan), le lindane ou hexachloro-cyclohexane.

Le D.D.T., l'insecticide le plus connu de cette famille est synthétisé pour la première fois en 1873 par Otmar Zeidler à Strasbourg. Son efficacité a été découverte en 1939 par Müller et son efficacité démontrée pendant la seconde guerre mondiale (Nàjera-Morrondo, 1991).

Les organochlorés sont actuellement considérés comme des polluants organiques persistants (P.O.P.) ,raison pour laquelle ils ont été interdits par le sixième protocole de 2003 relatif à la convention sur la pollution atmosphérique.

✓ **Organophosphorés**

Les organophosphorés sont des dérivés organiques de l'acide phosphorique ou de l'acide thio-phosphorique. Ils sont moins toxiques que les organochlorés. Synthétisés pour la première fois dans les années 1940 (Robert, 1984), les organophosphorés ont été largement utilisés en santé publique notamment pour le traitement des gîtes larvaires de moustiques (Carnevale & Mouchet, 1990). Les plus connus sont le parathion, le malathion, le bromophos et le chlopyréphos. Des études expérimentales ont montré que les moustiquaires imprégnées par une combinaison d'organophosphorés et de pyréthrinoïdes étaient très efficaces (Guillet *et al.*, 2001).

✓ **Carbamates**

Les carbamates sont des dérivés de l'acide carbamique et ont été synthétisés au cours des années 1960 (Robert, 1984). Les plus connus sont le propoxur, le carbamyl, le bendiocarb et le carbo-sulfan. Ces composés sont moins rémanents que les organochlorés et les organophosphorés. Cette famille d'insecticides est moins utilisée en santé publique du fait de la toxicité et du coût élevé de ces composés (Guillet *et al.*, 1997).

✓ **Pyréthrines et pyréthrinoïdes**

Les pyréthrines sont des composés naturels, extraits des fleurs de chrysanthème (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). Ce sont des esters formés à partir de deux acides (chrysanthémique et pyréthrique) et trois alcools (pyréthrolone, cynérolone et jasmolone). Les pyréthrines sont caractérisées par un effet insecticide très rapide et une faible toxicité pour les mammifères. Cependant, elles sont instables et se dégradent rapidement à la lumière (Elliot, 1989) ; elles sont de ce fait utilisées sous forme de bombes insecticides.

Les pyréthriinoïdes sont des dérivés synthétiques des pyréthrines dont ils diffèrent par une plus grande photostabilité. Les premières molécules de cette famille ont été synthétisées vers 1948 mais étaient photolabiles comme les pyréthrines (Elliot, 1989). Les pyréthriinoïdes sont apparus sur le marché dans les années 1970. Les premiers composés étaient la fenprothrine, la fenvalérate et la perméthrine. Ils constituent les pyréthriinoïdes de type I. Par la suite, de nouveaux composés plus efficaces que les pyréthriinoïdes de type I ont été synthétisés et représentent le type II. Il s'agit de la deltaméthrine, la cyperméthrine, la cyfluthrine, la cyhalothrine. Ils sont obtenus par addition d'un groupement cyano en position α de la liaison ester sur la structure des pyréthriinoïdes de type I. Des isomères plus actifs tels le α et β -cyperméthrine et λ - cyhalothrine ont été également synthétisés.

Les pyréthriinoïdes sont actuellement les insecticides les plus utilisés en santé publique parce qu'ils agissent à faibles doses, sont peu toxiques pour les mammifères et ne s'accumulent pas dans les chaînes alimentaires (Guillet *et al.*, 1997).

➤ Insecticides biologiques

Les insecticides biologiques sont principalement d'origine végétale. Il s'agit des plantes entières, des organes de plantes entiers ou de leurs extraits (feuilles, écorce, fruits, graines). Il s'agit aussi des huiles végétales et enfin des huiles essentielles.

Plusieurs familles de plantes possèdent des propriétés insecticides. Les plus connues sont les familles des Lamiaceae, des Asteraceae, des Cyperaceae et des Annonaceae.

Les extraits aqueux de feuilles de tabac (*Nicotina tabacum*) ont pendant longtemps servi d'insecticides en Europe et en Amérique ; la nicotine est l'un des principaux composés actifs (Nkunya, 1992). Au Cameroun, les extraits aqueux des feuilles du "faux tabac" (*Lobelia colummaris*), de papayer (*Carica papaya*), du tabac (*Nicotina tabacum ou rustica*) et des fruits du piment (*Capsicum frutescens*) sont utilisés par les paysans pour protéger les cultures contre les ravageurs (sources orales).

Les huiles végétales sont obtenues par pression ou par broyage de certains organes des plantes. En ajoutant de l'eau au broyat, on obtient une solution qui est portée à ébullition. Une partie de l'eau s'échappe par évaporation et on recueille l'huile végétale à la surface. Cette huile est constituée majoritairement de corps gras (Enan, 2000).

Les huiles essentielles sont différentes des huiles végétales (Mazen, 2002). Les huiles essentielles sont obtenues par distillation et dans notre cas à la vapeur d'eau. Elles sont volatiles, solubles dans l'alcool et dans l'huile mais pas dans l'eau. Ce sont des substances odorantes. Celles des organes de plusieurs espèces végétales ont révélé une importante activité insecticide. Nous pouvons citer les feuilles de *Lippia rugosa* (Ngassom *et al.*, 2002),

d'*Eucalyptus saligna* (Saotoing, 2005), d'*Ocimum canum* (Akono 2010), d'*Azadirachta indica* (Bakwo, 2012) et des fruits de *Capsicum annuum* (Foko Dadj, 2007). Ces huiles essentielles se forment dans les organes de la plante au cours de la photosynthèse par deux voies métaboliques secondaires (Bernard *et al.*, 1988): la voie des composés terpéniques à partir du pyrophosphate d'isopentenyle et la voie des composés odorants de type phénylpropanoïde. Cette dernière emprunte la voie de biosynthèse dite de l'acide shikimique qui conduit à la synthèse de la lignine.

Les terpènes représentent la majeure partie (environ 90%) de ces composants (Mohan & Ramaswamy, 2007). On distingue dans cette famille les monoterpènes et les sesquiterpènes. Les huiles essentielles contiennent aussi des molécules d'autres familles biochimiques (chémotypes) comme les alcools, les esters, les oxydes, les coumarines, les cétones, les aldéhydes, etc...

La présence dans les cellules des plantes des molécules volatiles est à l'origine des parfums qu'exhalent ces organismes. Ces substances volatiles désignées par le terme « essence » sont des sécrétions élaborées par les plantes (Bernard *et al.*, 1988). Leur caractère visqueux et hydrophobe et leur solubilité dans les huiles et les graisses leur confèrent le nom « d'huile essentielle ». Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal dans des proportions relativement faibles (généralement <1%), et peuvent cependant atteindre un taux de 15% chez certaines espèces (Bernard *et al.*, 1988). On les retrouve dans les organes végétaux : les écorces, les racines, les rhizomes, les fruits, le bois (Ikan, 1969). La composition des essences peut varier d'un organe à un autre chez la même plante (Mazen, 2002).

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Ils contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes (monoterpènes, sesquiterpènes...). L'effet de ces composés purs est différent de celui obtenu par des extraits de plantes (Enan, 2000).

I.2.2.3.2. Toxines bactériennes

Des espèces bactériennes telles *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus sphaericus* produisent des cytotoxines qui agissent au niveau des cellules du tube digestif des larves de Diptères et sont utilisées comme larvicides (Nicolas *et al.*, 1987 ; De Barjac & Sutherlang, 1991).

I.2.2.3.4. Mode d'action des insecticides chimiques

➤ Organochlorés et les pyréthriinoïdes

Les organochlorés et les pyréthriinoïdes sont en général des composés liposolubles. Grâce à cette propriété, ils traversent rapidement la cuticule et la paroi lipidique des neurones, d'où leur rapidité d'action. Ils agissent par contact en bloquant ouverts les canaux sodiques qui perturbent le transfert des ions Na^+ à travers la membrane du neurone. Cette action modifie la conduction de l'influx nerveux dans le système nerveux central et périphérique (Bloomquist, 1999). Le D.D.T., l'organochloré le plus connu provoque l'ouverture périodique d'un grand nombre de canaux sodiques et des décharges répétées de potentiels d'action qui tuent l'insecte.

Les pyréthriinoïdes de type I ont le même mode d'action que le D.D.T. Les pyréthriinoïdes de type II provoquent l'ouverture permanente des canaux sodiques qui entraîne une dépolarisation continue de la membrane des neurones d'où les mouvements non coordonnés de l'insecte. Selon Guillet (1994), les pyréthriinoïdes auraient également un effet secondaire au niveau des récepteurs GABA et de l'acétylcholinestérase.

➤ Organophosphorés et carbamates

Les organophosphorés inhibent l'acétylcholinestérase (enzyme de dégradation de l'acétylcholine) entraînant l'accumulation de l'acétylcholine (neuromédiateur exciteur) dans les fentes synaptiques. Ce fait induit une hyper-excitation du système nerveux central et provoque la paralysie, puis la mort de l'insecte (Bloomquist, 1999).

Les carbamates ont le même mode d'action que les organophosphorés (Bloomquist, 1999).

I.2.2.3.5. Mode d'action des huiles essentielles

L'effet insecticide des huiles essentielles s'effectue à travers la cuticule et le système nerveux.

➤ Effet des huiles essentielles à travers la cuticule

L'effet insecticide des huiles essentielles à travers la cuticule affecte la croissance, la mue, la fécondité, l'appétit, le développement des insectes et des acariens. Les travaux de Keane & Ryan (1999) montrent que les monoterpènes inhibent l'acétylcholinestérase.

➤ Effet des huiles essentielles sur le système nerveux

L'effet des huiles essentielles sur le système nerveux se fait par blocage des neurotransmetteurs comme l'octopamine qui est un neuro-modulateur spécifique des arthropodes. Cette molécule a un effet régulateur sur les battements du cœur, la motricité, la ventilation, le vol et le métabolisme des invertébrés. Enan (2000) et Isman (2000) ont démontré le lien qui existe entre l'application de l'eugénol, de l'alpha-terpinéol et de l'alcool cinnamique et le blocage des sites accepteurs de l'octopamine. Enan (2005) a également démontré un effet sur la tyramine, un autre neuro-transmetteur des insectes.

En général, les huiles essentielles sont des neuro-toxiques à effets aigus qui interfèrent avec les transmetteurs octopa-minergiques des arthropodes. Ces huiles sont peu toxiques pour les animaux à sang chaud (Enan, 2000).

I.3. RESISTANCE DES INSECTES AUX INSECTICIDES

La résistance à un produit toxique (insecticide, médicament, fongicide, herbicide, etc) est définie comme la faculté qu'ont certains individus de survivre lorsqu'ils sont exposés à des doses de produits normalement létales (Brown, 1973). Sur le plan génétique, la résistance correspond à toute diminution héréditaire de la sensibilité, aussi faible soit-elle (Guillet, 1995).

Les individus résistants aux insecticides possèdent un équipement enzymatique ou physiologique leur permettant de survivre à des doses létales. Le développement de la résistance dépend de la diversité génétique de la population d'insectes cibles et de la pression sélective exercée par l'insecticide (Guillet *et al.*, 1997). La pression de cette sélection est d'autant plus forte que l'on utilise des insecticides à forte rémanence et que la proportion de la population exposée à l'insecticide est grande (Guillet *et al.*, 1996; Diabaté *et al.*, 2002). Un insecte peut être résistant à un insecticide, une famille ou plusieurs familles d'insecticides ; ces insecticides ont le même mode d'action ou les mêmes cibles (Hemingway & Ranson, 2000).

I.3.1. Mécanismes de résistance

Les mécanismes de résistance sont définis comme l'ensemble des processus susceptibles de limiter ou d'empêcher l'action des insecticides (Guillet *et al.*, 1997). Du contact avec le corps de l'organisme jusqu'à l'organe cible, chaque étape franchie est sous le contrôle d'au moins un gène pouvant présenter des variances, ou allèles. Ces derniers résultent d'une mutation (Poirié & Pasteur, 1991). Les effets des allèles mutants de la résistance peuvent être :

- une augmentation de la dégradation ou détoxification suivie de l'excrétion de l'insecticide (résistance métabolique);

- une modification du comportement de l'insecte qui lui permet d'éviter le contact avec l'insecticide (résistance comportementale);
- une modification de la cible qui empêche à l'insecticide d'atteindre son site d'action (résistance par modification de la cible);
- une diminution de la pénétration de l'insecticide.

La modification du comportement, la diminution de la pénétration et l'augmentation de l'excrétion de l'insecticide sont des mécanismes assez rares (Hemingway, 1998). La résistance métabolique et la résistance par modification de la cible sont les plus rencontrés.

I.3.1.1. Résistance métabolique

La résistance métabolique est liée à la dégradation des insecticides par des systèmes enzymatiques lors de leur pénétration dans l'organisme ou de leur transport dans l'hémolymphe. L'accroissement de la dégradation de l'insecticide qui confère la résistance résulte soit d'une modification de la configuration de l'enzyme par des mutations ponctuelles (Bergé, 1987), soit d'une surproduction enzymatique consécutive à une amplification génique (Poirié & Pasteur, 1991). Dans ce dernier cas, l'insecte résistant possède plusieurs dizaines voire plusieurs centaines de copies du gène de l'enzyme responsable de la détoxification de l'insecticide.

Les enzymes identifiées responsables de la dégradation des insecticides appartiennent à trois principaux groupes ou super familles: les mono-oxygénases à cytochromes P₄₅₀ (CYPs), les glutathion-S-transférases (GSTs) et les estérases (Heminway *et al.*, 2004).

I.3.1.1.1. Mono-oxydases à cytochromes P₄₅₀

Les mono-oxydases à cytochromes P₄₅₀ sont des systèmes enzymatiques comprenant plusieurs groupes de molécules protéiques comme le cytochrome P₄₅₀ et la NADPH-cytochrome P₄₅₀ réductase. Le cytochrome P₄₅₀ assure la liaison enzyme-substrat et la NADPH-cytochrome P₄₅₀ réductase transfère les électrons du NADPH₂ au cytochrome P₄₅₀. Ces systèmes enzymatiques interviennent surtout dans la résistance aux pyréthrinoïdes. Ils catalysent les oxydations, les désulfurations et les hydroxylations des molécules actives de l'insecticide les rendant généralement moins toxiques et facilement excrétables par l'organisme (Scott, 1999).

Les mono-oxydases à cytochromes P₄₅₀ ou CYPs sont codées par 70 familles de gènes comptant 130 sous-familles (Scott, 1996). Les CYPs sont classés en fonction de leur séquence protéique. Les CYPs de la même famille présentent 40% d'acides aminés identiques et ceux de la même sous-famille présentent plus de 55% d'acides aminés identiques (Feyereisen, 2005).

La taille des familles des CYPs varie en fonction des espèces d'insectes. Chez la plupart des insectes, le génome compte une centaine de gènes CYPs. Chez *Drosophila melanogaster*, *An. gambiae* et *Ae aegypti*, par exemple, on a identifié respectivement 86, 105 et 160 gènes (Tijet *et al.*, 2001 ; Ranson *et al.*, 2002 et Strode *et al.*, 2008).

Les niveaux de résistance que ces enzymes confèrent sont parfois très élevés et peuvent aboutir à des échecs opérationnels comme ce fût le cas en Afrique du Sud avec *An. funestus* (Hargreaves *et al.*, 2000).

I.3.1.1.2. Glutathion-S-transférases

Les glutathion-S-transférases (GSTs) sont des enzymes généralement impliquées dans la résistance aux organophosphorés, aux organochlorés notamment le DDT (Ranson *et al.*, 2001) et accessoirement aux pyréthriinoïdes (Vontas *et al.*, 2001; Vontas *et al.*, 2002). Ces systèmes enzymatiques catalysent la conjugaison des insecticides avec le glutathion sous la forme réduite, formant des métabolites moins toxiques. Il existe plusieurs enzymes dans cette famille mais la D.D.T-dihydrochlorinase (D.D.T-ase) qui transforme le D.D.T. (dichloro-diphényl-trichloroéthane) en D.D.E. (dichloro-diphényl-éthane) est la plus connue (Ranson *et al.*, 2001). Ces systèmes enzymatiques n'ont pas de rôle direct dans le métabolisme des pyréthriinoïdes. La résistance aux pyréthriinoïdes que ces enzymes confèrent est liée à la dégradation des produits issus de la peroxydation lipidique induite par les pyréthriinoïdes (Vontas *et al.*, 2001).

I.3.1.1.3. Carboxyl-estérases ou estérases

Les carboxyl-estérases dégradent les composés esters et jouent de ce fait un rôle important dans le métabolisme des organophosphorés, des carbamates et des pyréthriinoïdes ; elles dégradent rapidement les isomères trans de ces insecticides. La résistance liée aux estérases est due:

- soit à une augmentation de l'activité des estérases consécutive à leur surproduction. Les moustiques résistants peuvent présenter jusqu'à 500 fois plus d'estérases que les moustiques sensibles. Cette surproduction a été attribuée à une amplification génique (Mouchéset *et al.*, 1986; Rooker *et al.*, 1996);
- soit à une protéine qui confère une résistance spécifique au malathion, la malathion carboxylestérase. Ce type de résistance a été observé chez *An. arabiensis*, *An. culicifacies*, *An. stephensi* et *Culex tarsalis* (Hemingway, 1998).

Chez *An. gambiae*, *Drosophila melanogaster* et *Aedes aegyption* a identifié respectivement 51, 36 et 49 carboxylestérases (Ranson *et al.*, 2002; Strode *et al.*,2008). Les estérases peuvent dans une moindre mesure conférer une résistance aux pyréthrinoïdes (Vulule *et al.*, 1999).

I.3.1.2. Résistance par modification de la cible

La résistance par modification de la cible est liée au changement de la configuration de la molécule sur laquelle l'insecticide agit. Les principales cibles des insecticides sont les récepteurs GABA pour les cyclodiènes, l'acétylcholinestérase (AChE) pour les organophosphorés et les carbamates, les protéines des canaux sodiques des cellules nerveuses pour le D.D.T. et les pyréthrinoïdes (Bloomquist, 1999). Les modifications au niveau des cibles sont dues à une ou plusieurs mutations ponctuelles des gènes des protéines concernées. Les modifications de la configuration des protéines cibles diminuent leur affinité avec l'insecticide d'où la résistance (Bergé & Pasteur, 1996).

La substitution d'une alanine par une sérine serait la seule mutation à l'origine de la résistance liée à la modification des récepteurs GABA (Bergé & Pasteur, 1996). Au niveau de l'acétylcholinestérase, les mutations concernent les acides aminés voisins de la sérine 276 (site de fixation des insecticides) modifiant la voie d'accès à ce site (Mutero *et al.*, 1994 ; ffrench-Constant *et al.*, 2004). La mutation kdr qui confère la résistance aux pyréthrinoïdes et au D.D.T. concerne les protéines des canaux sodiques des neurones. Cette mutation induit le remplacement de la leucine par la phénylalanine au niveau du segment 6 du domaine II de la séquence protéique (Ranson *et al.*, 2000). Les allèles de ce gène ont été localisés sur l'autosome n°3 et s'expriment aussi bien chez les larves que chez les adultes (Bergé & Pasteur, 1996).

I.3.2. Gestion de la résistance

La gestion de la résistance est l'ensemble des méthodes qui permettent de réduire voire d'éradiquer la résistance au sein d'une population d'insectes (Leeper *et al.*, 1986). L'évolution de la résistance est un processus complexe qui dépend à la fois de facteurs biologiques et génétiques de l'insecte et des facteurs opérationnels (Georghiou, 1980). La gestion de la résistance s'appuie essentiellement sur les facteurs opérationnels plus accessibles qui englobent la structure chimique de l'insecticide et son rapport avec les insecticides antérieurs, la persistance des résidus, le dosage, le mode d'application, etc. Les stratégies de gestion de la résistance ont pour objectif de la prévenir ou de ralentir son développement afin d'éviter qu'elle soit à l'origine d'échecs opérationnels (Leeper *et al.*, 1986). D'une manière générale, on distingue trois méthodes de gestion de la résistance chez les insectes: la gestion par modération, la gestion par saturation et enfin la gestion par combinaison d'insecticides.

I.3.2.1. Gestion par modération

La gestion par modération vise à minimiser la pression de sélection exercée sur un gène de résistance. Elle consiste à diminuer la fréquence d'applications ou les doses d'insecticides, ou encore à utiliser les produits peu rémanents qui se dégradent rapidement dans l'environnement (Leeper *et al.*, 1986).

I.3.2.2. Gestion par saturation

La gestion par saturation utilise les doses d'insecticides suffisamment fortes pour éliminer les individus hétérozygotes résistants (Roush, 1989). Cette méthode nécessite le maintien d'une zone non traitée pour permettre la migration des individus sensibles de la population et diminue, à chaque génération la proportion d'individus homozygotes résistants (Curtis, 2001).

I.3.2.3. Gestion par combinaison

La gestion par combinaison utilise des insecticides ayant des modes d'action différents. Ceux-ci peuvent être utilisés de façon simultanée (séquences) ou de façon alternée dans le temps (rotations) et dans l'espace (mosaïque) (Tabashnik, 1989). Les rotations d'insecticides et les mosaïques limitent l'accroissement de la fréquence du gène de résistance à un insecticide (Tabashnik, 1989) alors que les mélanges d'insecticides réduisent la probabilité d'apparition d'une résistance à plusieurs composés (Curtis, 1985).

I.4. Généralités sur *Aframomum melegueta*, *Callistemon citrinus* ET *Monodora myristica*

I.4.1. *Aframomum melegueta*

Aframomum melegueta Schum, 1904 est une espèce appartenant à la famille des Zingiberaceae. Cette plante est commune à la forêt tropicale humide africaine et se rencontre du Nigeria au Gabon. Dans les régions du centre, Sud, Est du Cameroun et au Gabon, cette plante est appelée "Ndong". Il s'agit d'une plante herbacée constituée d'un système de rhizomes d'où partent des rameaux aériens.

Les rameaux d'*A. melegueta* peuvent atteindre 1m de hauteur. Des feuilles alternes de 20 cm de longueur et 3 cm de largeur peuvent s'y insérer (figure n°2a). Les inflorescences sessiles plus ou moins solitaires prennent naissance au niveau du système racinaire (figure n°2b). Le fruit est plus ou moins ovoïde avec un calice persistant (figure n°2c). Ce fruit frais de couleur rouge devient brun sombre après séchage. La capsule est constituée de parois minces et renferme des graines noir brun, petites et anguleuses (figure 2d).



Figure n°2: plants (a), inflorescence (b), fruits (c) et graines d'*Aframomum melegueta*(www.montorogardens.com)

Sur le plan pharmacologique, les graines d'*A.melegueta* sont utilisés pour le traitement de plusieurs maux et maladies tels les faiblesses sexuelles, les douleurs abdominales, les maux de dents, les pneumonies. Les feuilles sont utilisées pour le traitement des angines et la hernie ombilicale (Abondo & Amvam Zollo, 1995).

I.4.2. *Callistemon citrinus*

Callistemon citrinus Skeels, 1913 ou rince-bouteille est une plante de la famille des Myrtaceae. Il s'agit d'un arbuste dont la taille peut aller au-delà de 5 m dans la région Ouest africaine. Les plantes du genre *Callistemon* sont largement distribuées dans les régions tropicales humides du monde notamment en Australie (continent d'origine), en Amérique du Sud, en Asie et en Afrique tropicale (Spencer *et al.*, 1991).

Les feuilles, très aromatiques, sont effilées (40-70 mm de longueur et 3-6 mm de largeur). Les fleurs de couleur rouge vif ont la forme d'une brosse rince-bouteille dont la taille varie entre 40 et 150 mm (figure n°3). Ces fleurs sont très riches en nectar et attirent de nombreux oiseaux (Spencer *et al.*, 1991).



Figure n°3: Feuilles et inflorescences de *Callistemon citrinus* (www.auJardin.info)

C. citrinus est surtout utilisé comme plante ornementale. Dans les jardins, les plantes du genre *Callistemon* empêchent la poussée de mauvaises herbes. En médecine chinoise, les plantes de ce genre sont utilisées dans le traitement des hémorroïdes (Ji, 2009). L'huile essentielle de *C. citrinus* possède également des propriétés antibactériennes (Opeoluwa et al., 2009).

I.4.3. *Monodora myristica*

Monodora myristica Dunal, plus connu sous le nom de calebassier ou de muscadier est une plante de la famille des Annonaceae. Elle est commune aux forêts tropicales humides d'Afrique occidentale, du Libéria jusqu'en Angola. Dans les régions du Centre, Sud, Est du Cameroun et au Gabon, cette plante est appelée "Nding". Elle est domestiquée dans d'autres régions du monde voire cultivée.

Le calebassier est un arbre persistant de 20 m de hauteur aux feuilles elliptiques (15-45 cm de longueur et 5-20 cm de largeur). Les fleurs sont solitaires, pendantes (longuement pédonculées), aux sépales lancéolés (35 mm de longueur), aux pétales externes jaunes, tachetés de rouge (figure n°4a). Les syncarpes sphériques de diamètre variant de 10 à 15 cm sont cannelés et protégés par une coque très rigide (figure n°4b) (Weiss, 2002).

Les graines, à senteur de noix de muscade, sont surtout utilisées comme épice par les populations de l'Afrique de l'Ouest. En pharmacopée traditionnelle, elles sont utilisées dans le traitement de plusieurs affections : maux de ventre, maux de tête, fièvres, diarrhées et hypertension (Koudou et al., 2001).



Figure n°4: Inflorescence(a) et fruits (b) de *Monodora myristica* ([www.Top Tropicals. Com](http://www.TopTropicals.com))

MATERIEL ET METHODES

II.1. CADRE D'ETUDE

Le cadre de notre étude est la localité de Nkolbisson situé à environ 8 km à l'ouest de Yaoundé, entre les latitudes 3°51' et 3°53' Nord et les longitudes 11°25' et 11°27' Est (Ambassa, 1990). Cette localité est un vaste interfluve en forme de plateau aux versants échancrés par les axes de drainage et par les axes des affluents des rivières qui le bordent. Son point culminant se situe à 813 mètres (Ambassa 1990).

Nkolbisson est un quartier de la ville de Yaoundé appartenant à l'arrondissement de Yaoundé 7^e (figure n°5). Cette localité est traversée dans sa partie sud par la rivière Mefou.

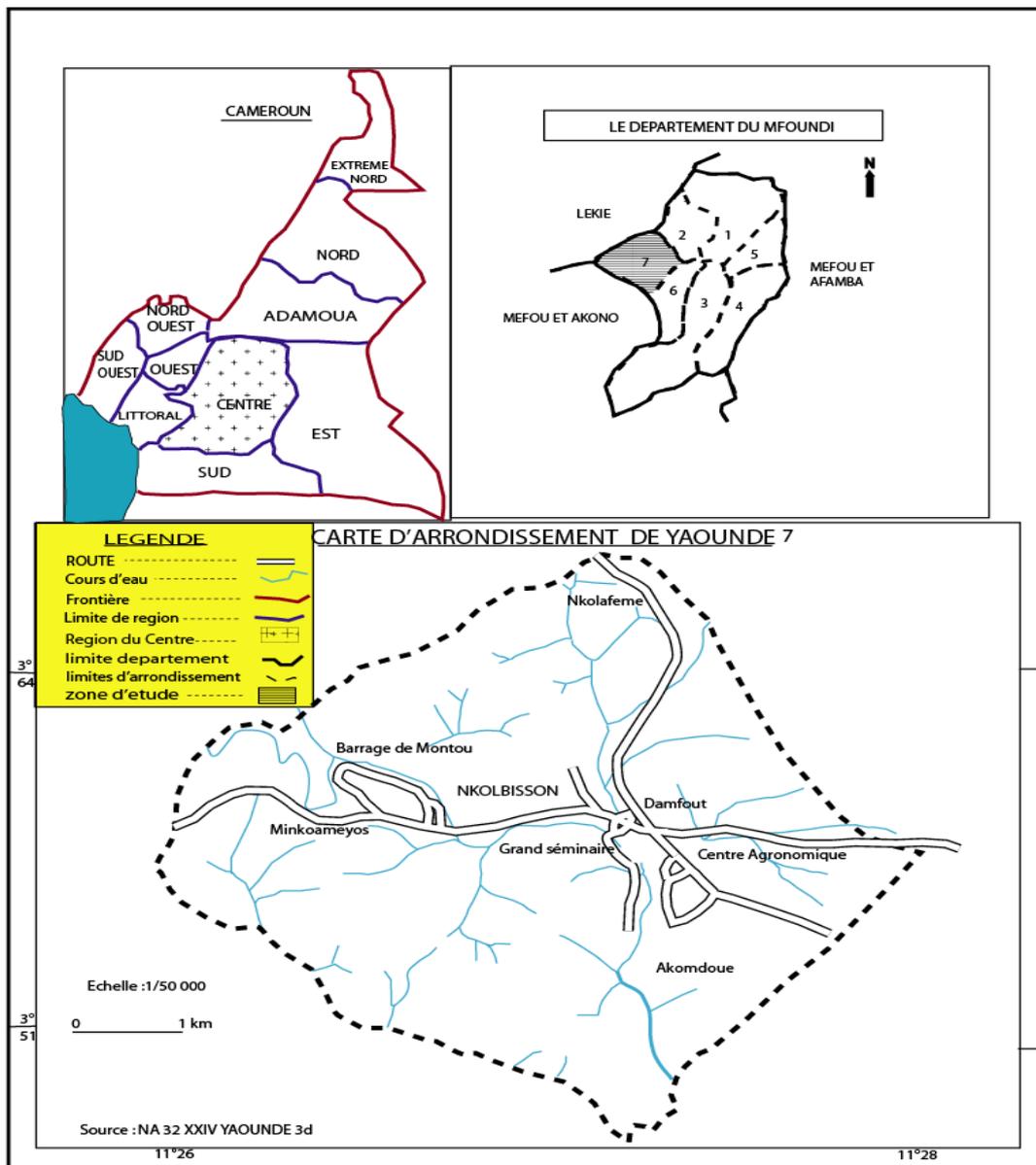


Figure n°5 : Carte de l'Arrondissement de Yaoundé 7^e(Centre national de cartographie)

Nkolbisson fait partie du domaine équatorial et son climat est du type guinéen. Deux principales masses d'air balaiant la localité : la mousson qui vient de l'Océan Atlantique au Sud-Ouest et l'harmattan en provenance des régions chaudes continentales du Nord. Les quatre saisons du climat guinéen sont : deux saisons des pluies alternant avec deux saisons sèches. La grande saison sèche va de décembre à février, la petite saison des pluies de mars à juin, la petite

saison sèche de juillet à août et enfin la grande saison des pluies de septembre à novembre (Suchel, 1987). La pluviosité annuelle varie de 1500 mm à 2000 mm et la température moyenne est de $25^{\circ} \pm 2,4^{\circ}$ C.

II.1.1. Sites de récoltes des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l.

Les sites de récolte des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. sont des champs de cultures vivrières dont l'un est traité à la cyperméthrine alors que les deux autres sont non traités aux insecticides.

II.1.1.1. Champ de cultures vivrières non traité aux insecticides localisé dans les bas-fonds du Centre de Biotechnologie à Nkolbisson de 2007 à 2008 (site n° 1)

Le champ de cultures vivrières non traité aux insecticides localisé dans les bas-fonds du Centre de Biotechnologie à Nkolbisson de 2007 à 2008 est situé dans un vallon entre le Centre de Biotechnologie de l'Université de Yaoundé I et le Commissariat de Sécurité Publique de Nkolbisson. Il s'agit d'un champ labouré sur les berges de la Mefou selon la technique culturale billons-sillons. Les gîtes larvaires sont des eaux accumulées dans les sillons. Les cultures sont principalement le manioc, le maïs et la patate (figure n°6).



Figure n°6: champ de cultures vivrières non traité à la cyperméthrine abritant des gîtes larvaires d'*An. gambiae* s.l. localisé dans les bas-fonds du Centre de Biotechnologie à Nkolbisson (site n°1)

II.1.1.2. Champ de cultures vivrières non traité aux insecticides localisé derrière une scierie au lieu dit "Caramba" à Nkolbisson de 2007 à 2008 (site n° 2)

Le champ de cultures vivrières non traité aux insecticides localisé derrière une scierie au lieu dit "Caramba" à Nkolbisson de 2007 à 2008 est situé sur la route de nkolbisson-Zamengoe à environ 5 km des sites n° 1 et n° 3. Il s'agit d'un champ également labouré sur les berges de la Mefou selon la technique culturale billons-sillons. Les gîtes larvaires sont des eaux accumulées dans les sillons (figure n°7). Les plantes cultivées ici sont le maïs, l'arachide, la patate et le manioc.



Figure n°7 : champ de cultures vivrières non traité à la cyperméthrine abritant des gîtes larvaires d'*An. gambiae* s.l. localisé derrière une scierie au lieu dit "Caramba" à Nkolbisson (Site n° 2).

II.1.1.3. Champ de cultures vivrières traité à la cyperméthrine localisé dans les bas-fonds du Centre de Biotechnologie à Nkolbisson (site n° 3)

Le champ de cultures vivrières traité à la cyperméthrine localisé dans les bas-fonds du Centre de Biotechnologie à Nkolbisson est situé à environ 5m du site n° 1 (les deux champs sont séparés par une piste). Son traitement a commencé dès l'apparition des premières feuilles de la première génération des plants et s'est poursuivi pendant les deux années d'études. Il s'agit d'une jachère de 3 ans ; ce qui nous a permis d'éliminer toute hypothèse des traces d'insecticides. La technique de labour reste la même (figure n°8). Les eaux des pluies s'accumulent dans les sillons et forment des gîtes larvaires de Culicidae. La laitue constitue ici la principale culture. On y retrouve aussi des carrés de "folon " et de tomate, des pieds de maïs et de gombo.



Figure n°8: champ de cultures vivrières traité à la cyperméthrine, abritant des gîtes larvaires d'*An. gambiae* s.l. dans les bas-fonds du Centre de Biotechnologie de Nkolbisson (Site n° 3)

II.2. METHODE

II.2.1. Etude de la variation des abondances des larves et des nymphes d'*Anopheles gambiae* s.l. dans les champs de cultures vivrières a nkolbisson de 2007 a 2008

Cette étude nous a permis de déterminer les abondances mensuelles et saisonnières des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. en milieu naturel. Nous avons retenu dans chaque site 10 gîtes de récoltes.

II.2.1.1. Etude de la variation des abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans les sites retenus

Les récoltes des larves de Culicidae sont suivies de leur identification et de leur comptage.

II.2.1.1.1. Récolte des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l.

La récolte des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. a été faite par la méthode de « dipping » qui consiste après localisation des larves et des nymphes de Culicidae et à les puiser à l'aide d'une louche. L'eau et les larves sont transférées dans un bac en polystyrène de 3 litres. Ensuite à l'aide d'une pipette, nous avons introduit les larves et nymphes de Culicidae dans une bouteille en polystyrène pour le transport au laboratoire. Ce travail est effectué dans chaque gîte de récoltes (figure n°9).

Les récoltes sont faites tous les 15 jours, soit 2 récoltes par mois et pendant 24 mois. Elles commencent le matin aux environs de 8 heures et s'achèvent au plus tard à 13 heures.



Figure n°9: Récolte des larves et des nymphes de Culicidae à Nkolbisson de janvier 2007 à décembre 2008.

II.2.1.1.2. Identification et comptage des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l.

II.2.1.1.2.1. Identification des larves et des nymphes d'*An. gambiae*s.l.

L'identification des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. est faite au laboratoire. Elle comporte plusieurs étapes :

- la séparation des larves et des nymphes d'Anophelinae de celles des Culicinae à l'aide de la clef d'identification de Holstein (1949). Selon cet auteur, les larves d'anophèle adoptent une position horizontale à la surface de l'eau et sont dépourvues de siphon respiratoire alors que celles des Culicinae sont pourvues de siphon respiratoire et adoptent plutôt une posture oblique par rapport à la surface de l'eau. La séparation des nymphes est principalement basée sur leur coloration ; les nymphes ont la couleur que les larves de la même espèce.

- la séparation des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. de celle des autres Anophelinae à l'aide des clefs d'identification de Gillies & De Meillon (1968) et Gillies & Coetzee (1987). Selon ces auteurs, la coloration des larves d'*An. gambiae* s.l. est beige alors que celle des larves des autres espèces est différente. La coloration des larves de premier et deuxième stades n'apparaît qu'à la loupe alors que celle des larves de troisième et quatrième stades s'observe à l'œil nu. La tête et le thorax des larves de premier et de deuxième stade ont sensiblement les mêmes dimensions. Le thorax des larves de troisième et de quatrième stade est plus large que la tête (Gillies & De Meillon, 1968). Les soies du mésothorax sont simples chez *An. gambiae* s.l. mais ramifiées chez les autres espèces d'anophèles. Les plaques tergaux abdominales sont plus réduites chez *An. gambiae*s.l.

La nymphe de Culicidae se distingue de la larve par sa forme en virgule. La séparation des nymphes d'*An. gambiae*s.l. des nymphes des autres Anophelinae est également basée sur sa coloration beige.

II.2.1.2.2.2. Comptage des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l.

Le comptage des larves et des nymphes d'*An. gambiae*s.l. est fait par stade de développement. La séparation des stades larvaires est basée principalement sur la longueur des individus. Celle-ci correspond à la longueur séparant l'extrémité antérieure de la bouche à l'extrémité postérieure du dernier segment abdominal. Elle est d'environ 1 mm à 1,50 mm pour la larve de premier stade, d'environ 1,51 mm à 2,50 mm pour la larve de deuxième stade, d'environ 2,51 mm à 4,20 mm pour la larve de troisième stade et d'environ 4,21 mm à 6,30 mm pour la larve de quatrième stade (Holstein, 1952).

II.2.1.2. Etude de la variation des abondances saisonnières des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans les sites retenus

L'étude de la variation des abondances saisonnières des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans les sites retenus est faite selon le protocole décrit plus haut. Les données obtenues ont été ensuite regroupées en saisons selon le découpage indiqué précédemment.

II.2.2. etude de l'influence de quelques facteurs ecologiques sur le developpement d'*an. gambiae* s.s. au laboratoire (centre de biotechnologie a nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence de quelques facteurs écologiques à savoir la ration alimentaire, la densité des larves, la profondeur et le pH de l'eau du gîte sur les productions des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 est faite sur une souche d'*An. gambiae* s.s. entretenue au laboratoire de Zoologie de l'Ecole Normale Supérieure de l'Université de Yaoundé I. Le choix de ces facteurs est basé sur les caractéristiques des gîtes larvaires d'*An. gambiae* s.l. dans la nature. Les larves d'*An. gambiae* s.l. affectionnent des gîtes temporaires, de petites dimensions comme les empreintes des sabots de bœufs (Manga *et al.*, 1991). Dans ces conditions, il se pose des problèmes de la disponibilité des ressources alimentaires, de la densité des larves et des nymphes, de la profondeur des gîtes et du pH de l'eau.

Les paramètres que nous avons retenus sont ceux qui déterminent selon nous, la production des populations d'*An. gambiae*. Il s'agit de la durée du développement et de la mortalité des larves et des nymphes, de la taille des adultes notamment celle des femelles liée à leur fécondité (nombre d'œufs pondus par femelle) (Briegel, 1990; Karino *et al.*, 2004) ainsi que du taux d'éclosion des œufs. Les larves sont nourries quotidiennement au Tetraminn®.

Chaque expérience est répliquée 5 fois afin de minimiser un éventuel « effet bac » ou « effet cage » c'est-à-dire la modification de certains paramètres biologiques des organismes liée à leur confinement dans un environnement artificiel réduit. La réplique qui présente des résultats fortement décalés des autres est éliminée. Ces expériences sont réalisées à la température de la salle c'est-à-dire $25,5^{\circ}\text{C} \pm 2,6^{\circ}\text{C}$. L'eau de source utilisée est une eau qui jaillie des fissures d'une roche à Nkolbisson et dont le pH est de $6,7 \pm 0,8$.

II.2.2.1. Etude de l'influence de la ration alimentaire sur de développement d'*An. gambiae* s.s.

Ces expériences sont réalisées avec les larves de premier stade. Pour chaque expérience, 100 larves âgées de 1 jour (les œufs âgés de 2 jours sont trempés dans un bac contenant l'eau de source pour l'éclosion à 17 heures et les larves obtenues sont transférées dans les bacs d'expérimentation à 8 heures le lendemain) sont élevées dans un bac de 10 cm de diamètre et 7 cm de hauteur contenant 1000 ml de l'eau de source. Les rations alimentaires des larves que

nous avons retenues sont : 5 mg, 10 mg, 20 mg, 35 mg et 60 mg par bac d'élevage. Afin de réduire les risques de pollution dans les expériences de 35 mg et 60 mg, nous changeons l'eau d'élevage tous les 2 jours.

La densité des larves et des nymphes est fixée à 100 individus par litre d'eau, la profondeur de l'eau des bacs d'élevage à 5 cm et le pH de l'eau à $6,7 \pm 0,8$ (pH de l'eau de source).

II.2.2.1.1. Etude de l'influence de la ration alimentaire sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire

La détermination de la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. est basée sur la méthode de Dempster (1961) ; selon celle-ci, la durée de développement d'un stade correspond à l'apparition des 2/3 des individus du stade suivant. Quotidiennement, les larves sont déterminées et comptées à l'œil nu. Nous avons ainsi déterminé la durée de développement des larves de premier stade, de deuxième stade, de troisième stade, de quatrième stade et des nymphes.

II.2.2.1.2. Etude de l'influence de la ration alimentaire sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s.

L'étude de l'influence de la ration alimentaire sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 a consisté à déterminer pour chaque stade, la mortalité des larves et des nymphes. Quotidiennement, les individus morts sont sortis des bacs puis sont comptés à l'œil nu.

II.2.2.1.3. Etude de l'influence de la ration alimentaire des larves sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s.

L'étude de l'influence de la ration alimentaire des larves sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 a consisté à mesurer la longueur et la largeur des ailes des mâles et des femelles. Selon Lyimo *et al.* (1992), la taille des moustiques adultes peut être évaluée à partir de celle des ailes des individus. La longueur de l'aile correspond à la distance qui sépare son point d'insertion au corps à la frange de soies de l'extrémité distale ; la plus grande largeur de cet appendice est également prise. Ces mesures sont faites à l'aide d'une loupe binoculaire de marque Wild® dont l'un des objectifs est muni d'un micromètre. Nous avons converti les unités micrométriques en millimètres à l'aide d'une lame d'étalonnage graduée. Nous avons mesuré ainsi les ailes de 50 mâles et de 50 femelles provenant des larves nourries avec chaque ration alimentaire.

II.2.2.1.4. Etude de l'influence de la ration alimentaire des larves sur la fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s.

3 jours après l'émergence des adultes, nous isolons 50 femelles d'*An. gambiae* s.s. de chaque ration alimentaire qui sont réparties dans 5 cages protégées par le tulle moustiquaire. Ces femelles sont nourries quotidiennement à une solution de sucrose à 10%. Nous les gorgeons sur un lapin attaché en *decubitus* ventral sur un cadre en bois largement ouvert au centre. Les pattes du lapin sont maintenues à l'aide des ficelles. Ce dispositif est posé sur la cagerenfermant les femelles d'*An. gambiae* s.s. à engorger (figure n°10a). Le ventre du lapin repose sur le tulle moustiquaire permettant ainsi aux femelles de se gorger du sang du lapin à travers les mailles (figure n°10b). Nous retirons le dispositif d'engorgement lorsque toutes les femelles sont gorgées. 2 jours après le repas de sang des femelles, nous introduisons les pondoirs dans les cages. Il s'agit des boîtes de Pétri de 10 cm de diamètre, renfermant du coton imbibé d'eau et recouvert d'un papier filtre. Après la ponte, nous comptons les œufs à l'aide d'une loupe. Le nombre total d'œufs pondus est divisé par le nombre de femelles afin de déterminer le nombre d'œufs pondus par femelle.

Nous prélevons 100 œufs de chaque cage et nous les trempons dans de l'eau de source contenue dans une boîte de Pétri. Après l'éclosion, nous comptons le nombre de larves de premier stade obtenues. Le rapport entre le nombre de larves de premier stade et le nombre d'œufs trempés nous permet de déterminer le taux d'éclosion des œufs. Le tableau de l'influence de la ration alimentaire des larves sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire est ainsi dressé.



(a)



(b)

Figures n°10 : engorgement des femelles d'*An. gambiae* s.s au laboratoire(Centre de Biotechnologie à Nkolbisson)en2007:

- (a) dispositif d'engorgement;
- (b) femelles engorgées.

II.2.2.2. Etude de l'influence de la densité des larves sur le développement d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire

Les larves âgées d'un jour sont élevées dans des bocaux en polystyrène de 8,5 x 3,5 x 3,5 cm contenant 100 ml de l'eau de source.

Nous avons retenu les densités des larves suivantes : 50, 150, 300, 500, 800 et 1500 individus par bocal. La ration alimentaire est de 10 mg pour 50 larves, 30 mg pour 150 larves, 60 mg pour 300 larves, 100 mg pour 500 larves, 160 mg pour 800 larves et 300 mg pour 1500 larves. Nous réduisons cette ration en fonction de la mortalité des larves dans les bocaux. Pour réduire les risques de pollution dans les expériences de densité supérieure à 150 larves, nous changeons l'eau des bocaux après 24 heures. La profondeur de l'eau des expériences est fixée à 5 cm et le pH de l'eau au début de l'expérience à $6,7 \pm 0,8$ (pH de l'eau de source).

L'étude de l'influence de la densité des larves sur leur durée de développement et leur mortalité, sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs est faite selon les protocoles décrits plus haut.

II.2.2.3. Etude de l'influence de la profondeur de l'eau du gîte sur le développement d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire

Nous avons retenu les profondeurs de l'eau suivantes : 0,5 cm, 1 cm, 3 cm, 6 cm, 10 cm, 15 cm, 20 cm et 25 cm. Pour chaque expérience, 100 larves âgées de 1 jour (les œufs âgés de 2 jours sont trempés pour l'éclosion à 17 heures et les larves obtenues sont transférées dans les expériences à 8 heures le lendemain) sont élevées dans des bacs de 10 cm de diamètre et de 30 cm de hauteur (la hauteur des bacs des autres expériences est de 7 cm. La ration alimentaire des larves est fixée à 20 mg par bocal et le pH de l'eau $6,7 \pm 0,8$ (pH de l'eau de source).

L'étude de l'influence de la profondeur de l'eau du gîte la durée de développement et la mortalité des larves et des nymphes, sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs est faite selon les protocoles décrits plus haut.

II.2.2.4. Etude de l'influence du pH de l'eau du gîte sur le développement d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire

Les expériences de pH acide sont préparées à l'aide d'une solution d'acide acétique pure et de l'eau distillée, et les expériences de pH basique sont préparées à l'aide d'une solution de soude pure et de l'eau distillée. Nous avons étalonné les différentes expériences à l'aide d'un pH mètre. Nous avons retenu les pH suivants :

- pH acides : 4, 4,5, 5, 5,5, 6 et 6.5
- pH neutre : 7
- pH basiques : 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10,5, 11,5 et 12.

Pour chaque expérience, 100 larves âgées de 1 jour (les œufs âgés de 2 jours sont trempés pour l'éclosion à 17 heures et les larves obtenues sont transférées dans les expériences à 8 heures le lendemain) sont élevées dans un bac de 10 cm de diamètre et 7 cm de hauteur contenant 1000 ml de solution de pH déterminé (figure n°11).

La ration alimentaire des larves est fixée à 20 mg par bac, la densité des larves et des nymphes à 100 individus par litre de solution et la profondeur de l'eau à 5 cm.



Figure n°11: Dispositif d'élevage des larves au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

II.2.3. Etude de l'influence de la cyperméthrine, du diméthoate, et du méthyl-parathion (insecticides chimiques) sur le développement d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (centre de biotechnologie à nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence de la cyperméthrine, du diméthoate et du méthyl-parathion (insecticides chimiques) sur les productions des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) de 2007 à 2008 est faite sur la même souche d'*An. gambiae* s.s. précédente. Les paramètres retenus sont également les mêmes.

II.2.3.1. Choix des d'insecticides chimiques utilisés au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson en 2008) : la cyperméthrine, le diméthoate et le méthyl-parathion

Le choix des trois insecticides chimiques utilisés au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson en 2008) est basé sur 2 enquêtes. Les trois insecticides sont : la cyperméthrine, le diméthoate et le méthyl-parathion. La première enquête est réalisée auprès des cultivateurs des champs de cultures vivrières de la localité de Nkolbisson. La seconde est réalisée à Yaoundé et à Mbalmayo avec le service d'entomologie médicale de l'Organisation pour la Coordination des Endémies en Afrique Centrale (OCEAC), section lutte contre les vecteurs et mécanismes de résistance aux insecticides.

Il ressort de ces enquêtes que les insecticides chimiques les plus utilisés appartiennent à trois familles : les Pyréthriinoïdes (cyperméthrine), les Organophosphorés (diméthoate) et les Carbamates méthyl-parathion). Dans chacune des trois familles nous avons retenu l'insecticide le plus accessible aux cultivateurs en tenant compte de sa disponibilité et de son coût (tableau n°I).

Tableau n°I: données sur les insecticides retenus et utilisés au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson en 2008) à Nkolbisson en 2008.

Familles	Noms commerciaux	Molécule active	Mode de diffusion
Pyréthriinoïdes	Cypercal (50g/l)	cyperméthrine	systémique
Organophosphorés	Callidim (400g/l)	Diméthoate	Contact et systémique
Carbamates	Penncap. M (240g/l)	Méthyl-parathion	contact

II.2.3.2. Préparation des concentrations des insecticides chimiques au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson en 2008)

La préparation des concentrations des insecticides chimiques au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson en 2008) est faite à partir d'une solution mère. Cette dernière est obtenue en diluant 10 µl d'insecticide chimique dans 1 litre d'eau de source. Connaissant la masse de la molécule active dans 1 l d'insecticide chimique, nous déterminons la masse de la molécule active dans la solution mère (m_i). La concentration massique de la molécule active dans une expérience est calculée à partir de la formule suivante :

$$C_m = \frac{m_i \cdot v}{V_i \cdot V_e}$$

- C_m : concentration de l'insecticide chimique en µg/l ;
- m_i : masse de l'insecticide pour 10 µl de la solution mère ;
- v : volume de la solution mère prélevée;
- V_i : volume total de la solution mère (1l);
- V_e : volume d'eau de source (1l – v).

Le tableau n°II donne les concentrations et les volumes d'insecticides chimiques prélevés.

Tableau n°II: Concentrations et volumes prélevés des insecticides chimiques au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson en 2008).

Cyperméthrine (50 g/l)		Diméthoate (400g/l)		Méthyl-parathion (240 g/l)	
Concent.	v	Concent.	v	Concent.	v
$2,5 \cdot 10^{-3} \mu\text{g/l}$	5 μl	$2 \cdot 10^2 \mu\text{g/l}$	50 ml	$1,2 \cdot 10^{-1} \mu\text{g/l}$	50 μl
$5 \cdot 10^{-3} \mu\text{g/l}$	10 μl	$6 \cdot 10^2 \mu\text{g/l}$	150 ml	$3,6 \cdot 10^{-1} \mu\text{g/l}$	150 μl
$2,5 \cdot 10^{-2} \mu\text{g/l}$	50 μl	$1,2 \cdot 10^3 \mu\text{g/l}$	300 ml	$8,4 \cdot 10^{-1} \mu\text{g/l}$	350 μl
$5 \cdot 10^{-2} \mu\text{g/l}$	100 μl	$2 \cdot 10^3 \mu\text{g/l}$	500 ml	$1,08 \cdot 10^0 \mu\text{g/l}$	450 μl
$7,5 \cdot 10^{-2} \mu\text{g/l}$	150 μl	$2,8 \cdot 10^3 \mu\text{g/l}$	700 ml	$1,2 \cdot 10^0 \mu\text{g/l}$	500 μl
$1 \cdot 10^{-1} \mu\text{g/l}$	200 μl	$3,6 \cdot 10^3 \mu\text{g/l}$	900 ml	$1,44 \cdot 10^0 \mu\text{g/l}$	600 μl

Concent.: Concentration, v: volume de la solution mère prélevée

II.2.3.3. Choix des concentrations des insecticides chimiques au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson en 2008)

Le choix des concentrations des insecticides chimiques au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) de 2007 à 2008 est fait par le "screening". Cette méthode consiste à tester les différentes concentrations préparées en laissant les larves de premier stade d'*An. gambiae* s.s. âgées de 1 jour séjourner dans les solutions d'insecticides pendant 24 heures avant l'expérimentation. Seules les concentrations pour lesquelles la mortalité des larves est inférieure à 100% sont retenues. Ces concentrations nous ont permis d'étudier l'influence de la cyperméthrine, du diméthoate et du méthyl-parathion sur la durée de développement et la mortalité des larves et des nymphes, sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s.

II.2.3.4. Etude de l'influence de la cyperméthrine, du diméthoate et du méthyl-parathion sur le développement d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire

L'étude de l'influence de la cyperméthrine, du diméthoate et du méthyl-parathion sur le développement d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire est faite à la ration alimentaire de 20 mg par bac ; quantité d'aliment permettant un développement harmonieux des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. avec un faible risque d'induire la pollution du milieu, à la profondeur de l'eau de 5 cm et au pH $6,7 \pm 0,8$ et dans une salle dont la température est de $25,5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2,6 \text{ }^\circ\text{C}$.

Nous avons transféré les solutions précédemment préparées dans des bacs d'élevage de 10 cm de diamètre et de 7 cm de hauteur. Nous avons ensuite introduit 100 larves de premier stade âgées de 1 jour (les œufs âgés de 2 jours sont trempés pour l'éclosion à 17 heures et les larves obtenues sont transférées dans les expériences à 8 heures le lendemain) dans chaque expérience. Nous avons déterminé la durée de développement des larves et des nymphes, leur mortalité, la taille des adultes, la fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs des différentes concentrations de chaque insecticide selon les protocoles décrits plus haut. Ces données ont été ensuite comparées à celle du témoin négatif. Ce dernier est un bac d'élevage

contenant 1 l de l'eau de source dans laquelle nous avons introduit 100 larves de premier stade âgées de 1 jour. Pour la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s., lorsque le taux du témoin est compris entre 5 et 20%, nous appliquons la formule corrigée d'Abott (1925):

$$MC = 100 (ME - MT) / (100 - MT)$$

MC : mortalité corrigée ;

ME : mortalité des larves exposées à l'insecticide ;

MT : mortalité des larves témoins.

Dans le cas où la mortalité des témoins est supérieure à 20 %, l'expérience est reprise.

Chaque expérience est répliquée simultanément 5 fois afin de minimiser l'« effet bac » ou « effet cage ». La réplique qui présente des résultats fortement décalés des autres est éliminée.

II.2.3.4.1. Etude de l'influence de la cyperméthrine sur le développement d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire

L'étude de l'influence de la cyperméthrine sur le développement d'*An. gambiae* s.s. est faite avec les concentration en cyperméthrine suivantes : 0 µg/l (témoin), 0,0025 µg/l, 0,0050 µg/l, 0,0250 µg/l, 0,0500µg/l, 0,0750 µg/l et 0,1000 µg/l.

II.2.3.4.2. Etude de l'influence du diméthoate sur le développement d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire

L'étude de l'influence du diméthoate sur le développement d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire est faite avec les concentration en diméthoate suivantes : 0 µg/l (témoin), 200 µg/l, 600µg/l, 1200 µg/l, 2000µg/l, 2800µg/l et 3600µg/l

II.2.3.4.3. Etude de l'influence du méthyl-parathion sur le développement d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire

L'étude de l'influence du méthyl-parathion sur le développement d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire est faite avec les concentration en méthyl-parathion suivantes : 0 µg/l (témoin), 0,12 µg/l, 0,36 µg/l, 0,84µg/l, 1,08µg/l, 1,20 µg/l et 1,44 µg/l

II.2.3.5. Etude de l'influence de la cyperméthrine, du diméthoate, du méthyl-parathion sur 12 générations successives d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (centre de biotechnologie a nkolbisson) en 2008

Ce volet de l'étude est fait avec la concentration de l'insecticide qui a donné un taux de survie des larves et des nymphes compris entre 40 % et 60% ; le nombre de survivant permettra l'étude des paramètres retenus surtout chez les adultes. Ces concentrations sont : 0,0750 µg/l pour la cyperméthrine, 2000 µg/l pour le diméthoate et 1,20 µg/l pour le méthyl-parathion. Nous avons ainsi suivi l'influence de ces trois insecticides sur 12 générations successives d'*An. gambiae* s.s. Nous avons retenu les paramètres suivants : la durée de développement et la mortalité des larves et des nymphes, la taille des adultes. La fécondité des femelles et le taux

d'éclosion des œufs n'ont pas été retenus parce que la fécondité des femelles est corrélée à leur taille d'une part et d'autre part, le taux d'éclosion des œufs également corrélé à la fécondité des femelles (Briegel, 1990; Karino *et al.*, 2004). Nous avons déterminé ces différents paramètres selon les protocoles décrits plus haut. Les données des différentes générations ont été ensuite comparées à celle de la première génération considérée comme témoin.

Les expériences sont réalisées à la température de la salle c'est-à-dire à $25,5 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,6 \text{ }^{\circ}\text{C}$. La ration alimentaire est fixée à 20 mg par bac, la profondeur de l'eau à 5 cm et le pH à $6,5 \pm 0,8$.

Nous avons transféré les solutions précédemment préparées dans des bacs d'élevage de 10 cm de diamètre et de 7 cm de hauteur. Nous introduisons 100 larves de premier stade âgées de 1 jour (les œufs âgés de 2 jours sont trempés pour l'éclosion à 17 heures et les larves obtenues sont transférées dans les expériences à 8 heures le lendemain) dans chaque expérience.

Chaque expérience est répliquée 5 fois et la réplique qui présente des résultats fortement décalés des autres est éliminée.

II.2.4. Effet insecticide d'*afmomum melegueta*, de *callistemon citrinus* et de *monodora myristica* sur *an. gambiae* s.s. au laboratoire (centre de biotechnologie a nkolbisson) en 2009

II.2.4.1. Familles botaniques, organes du végétal, dates et lieux de récolte des plantes

La famille botanique, les organes du végétal, la date et le lieu de récolte des plantes utilisées sont consignés dans le tableau n° III.

Tableau n°III: Familles botaniques, organes, dates et lieux de récolte d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M. myristica* utilisées

Espèce végétale	Famille botanique	organes	Date de récolte	Lieu de récolte
<i>M. myristica</i>	Annonaceae	Graines	22/10/10	Ebolowa
<i>A. melegueta</i>	Zingiberaceae	Graines	24/10/10	Ebolowa
<i>C. citrinus</i>	Myrtaceae	Feuilles	17/11/10	Yaoundé

II.2.4.2. Extraction des huiles essentielles d'*Aframomum melegueta*, de *Callistemon citrinus* et de *Mondora myristica* et identification de leurs composés.

II.2.4.2.1. Extraction des huiles essentielles d'*Aframomum melegueta*, de *Callistemon citrinus* et de *Mondora myristica* au laboratoire

L'extraction des huiles essentielles des graines d'*A. melegueta*, de *M. myristica* et des feuilles de *C. citrinus* est faite par la méthode classique d'hydro-distillation à l'aide d'un appareil de

type Clevenger au Laboratoire de phyto-chimie du Département de Biochimie de l'Université de Yaoundé I (figure n°15).

Les graines séchées d'*A. melegueta* et de *M. myristica* sont pesées, écrasées dans un mortier et sont ensuite introduites dans le ballon avec une quantité d'eau d'environ 3 à 5 fois le poids des graines. Les feuilles de *C. citrinus* sont également pesées avant d'être introduites dans le ballon. Le contenu du ballon est porté à ébullition à l'aide d'une calotte chauffante pendant 5 heures. La vapeur d'eau chargée d'huile essentielle monte dans la colonne, se condense au niveau du réfrigérant (où circule de façon continue l'eau de robinet) et retombe dans la colonne à décanter. Il se forme deux phases :

- une phase organique supérieure odoriférante constituée d'huile essentielle, et recueillie dans un bécher grâce au robinet ;
- une phase aqueuse inférieure constamment recyclée.

Les traces d'eau sont ensuite éliminées dans cette huile par filtration au sulfate de sodium anhydre. L'essence obtenue est mise dans des flacons et conservée à basse température (autour de 4°C).

Nous avons calculé le rendement de l'extraction des huiles essentielles par le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal.

$$\text{Rdt} = \frac{\text{Masse du végétal}}{\text{Masse huile essentielle}} \times 100$$



Figure n°12: Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger au laboratoire de Phytochimie du Département de Biochimie de l'Université de Yaoundé I

II.2.4.2.2. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles d'*Aframomum melegueta*, de *Callistemon citrinus* et de *Mondora myristica*

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles est faite par chromatographie en phase gazeuse et par couplage chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse (CPG/SM) au Laboratoire de l'Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM) de Montpellier en France.

• Chromatographie en phase gazeuse des huiles essentielles

La chromatographie en phase gazeuse des huiles est faite à l'aide d'un chromatographe de type Varian CP-3380 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme et d'une colonne capillaire (longueur 30 m, diamètre interne 0,25 mm) avec une phase stationnaire apolaire de type méthyl-silicone (DB-1, épaisseur du film 0,25 μ). L'azote est utilisé comme gaz vecteur avec un débit de 0,8 ml.min⁻¹. La température de l'injecteur est de 220 °C alors que le détecteur est réglé à 250 °C. Le four est programmé de 50 °C à 200°C avec un gradient de température de 5 °C.min⁻¹. Les indices de rétention des différents constituants ont été calculés par rapport aux temps de rétention d'une série de n-alcane et leurs pourcentages relatifs calculés par intégration électronique en considérant que leurs facteurs de réponse sont tous égaux à 1 (Adams, 2001).

• Couplage chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse des huiles essentielles

Le couplage chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse des huiles essentielles est réalisé à l'aide d'un appareillage de marque Hewlett Packard HP 5970 A, équipé d'une colonne capillaire apolaire (30 m x 0,25 mm) en silice fondue de type HP-1 (épaisseur du film 0,25 μ) et d'un détecteur de type quadripôle (énergie d'ionisation 70 eV). La température de l'injecteur est de 220 °C et celle de la zone d'interface à 210 °C (injection en mode split (1/100) de 1 μ l d'une solution d'huile essentielle à 10 % dans le dichloro-méthane). La température du four est programmée de 70 °C à 200 °C avec un gradient de 10 °C.min⁻¹. Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 0,6 ml.min⁻¹ (Adams, 2001).

• Identification des constituants des huiles essentielles

L'identification des constituants des huiles essentielles est faite en comparant leur indice de rétention et leur spectre de masse (Mc Lafferty, 1994) avec les données de Joulain *et al.*, (1998) et de Adams, (2001). Les indices de rétention sont calculés à partir d'alcane C₁₅ – C₁₈ Adams, (2001). Les pourcentages des composés chimiques identifiés dans les huiles essentielles sont calculés à partir de l'aire des pics obtenus en chromatographie en phase gazeuse GPC/FID sans aucun facteur de correction.

II.2.4.3. Effet larvicide des huiles essentielles d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M.myristica* sur *An. gambiae* s.s. au laboratoire

II.5.3.1. Préparation des concentrations des huiles essentielles

La préparation des concentrations des huiles essentielles au laboratoire est faite suivant le protocole de World Health Organization (2005). Nous avons dilué les huiles essentielles dans un solvant organique (l'alcool éthylique à 95°). Ces dilutions sont : 10, 30, 50, 100, 150, 200 et 250 ppm en volume. Nous les avons préparés à partir d'une solution mère obtenue en diluant 2000 µl d'huile essentielle dans 6000 µl d'alcool absolu. Ce qui nous a donné une dilution de la solution mère au 1/4. Sur la base de cette solution mère, nous avons préparé les autres dilutions avec de l'alcool éthylique à 95° selon la formule suivante :

$$\text{Dilution} = (V_{he} / V_t) \times D_e$$

V_{he} = Volume d'huile essentielle ;

V_t = Volume d'huile essentielle + Volume du solvant ;

D_e = dilution solution mère.

Le tableau n°IV indique les volumes de la solution mère et d'alcool éthylique pur que nous avons prélevé pour les dilutions. Ces dernières sont faites dans des tubes à essai, puis introduites dans les bacs d'élevage des larves mesurant 5 cm de diamètre et 7 cm de profondeur. Chaque bac contient 99 ml d'eau de source auquel on ajoute 1 ml d'huile essentielle. Nous avons également préparé des bacs témoin en remplaçant l'huile essentielle par l'alcool à 95°.

Tableau n°IV : préparation des solutions expérimentales des huiles essentielles d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M.myristica* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

Solution mère (µl)	Ethanol (µl)	Volume final (µl)	Dilutions	Concentrations (ppm)
2250	250	2500	9/40	250
2000	500	2500	1/5	200
1500	1000	2500	3/20	150
1000	1500	2500	1/10	100
500	2000	2500	1/20	50
300	2200	2500	3/100	30
100	2400	2500	1/100	10
0	2500	2500	0	0

II.2.4.3.2. Protocole des tests des huiles essentielles d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M.myristica* sur les larves d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

Le protocole des tests des huiles essentielles d'*A. melegueta*, *C. citrinus* et de *M. myristica* sur les larves d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 est inspiré de celui du W.H.O. (2005).

Nous avons évalué l'effet larvicide de l'huile essentielle de chaque plante sur *An. gambiae* s.s. à partir de la mortalité des larves. Nous avons évalué cette mortalité larvaire toutes les 20 minutes pendant 24 heures.

Dans chaque expérience, nous avons introduit 100 larves de chaque stade de développement dans chaque concentration d'huile essentielle préparée.

Chaque expérience est répliquée 5 fois, la réplique dont les résultats sont fortement décalés des autres est éliminée.

II.2.4.4. Effet adulticide des huiles essentielles d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M. myristica* sur *An. gambiae* au laboratoire

II.2.4.4.1. Préparation des concentrations des huiles essentielles et imprégnation des fragments de tulle moustiquaire

II.2.4.4.1.1. Préparation des concentrations des huiles essentielles

La préparation des concentrations des huiles essentielles est faite suivant la méthode décrite précédemment. Les dilutions que nous avons retenues sont : 50, 100, 150, 200 et 250 ppm.

II.2.4.4.1.2. Imprégnation des fragments de tulle moustiquaire

L'imprégnation des fragments de tulle moustiquaire au laboratoire est faite conformément au protocole du W.H.O. (2005). Nous avons imprégné 25 fragments de tulle moustiquaire de 10 x 10cm (à raison de 5 fragments par concentration d'huile essentielle) suivant la méthode de trempage (« dipping »). Chaque fragment de tulle moustiquaire est introduit à l'aide de pinces dans la boîte de Pétri en verre contenant la solution diluée d'huile essentielle pendant 15 min. Le fragment est ensuite sorti et séché horizontalement afin d'éviter d'éventuel écoulement.

Nous avons également imprégné un fragment témoin dans l'alcool à 95° et séché suivant la méthode précédemment décrite pour chaque expérience.

II.2.4.4.2. Protocole des tests des huiles essentielles d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M. myristica* sur les adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire

Le protocole des tests des huiles essentielles d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M. myristica* sur les adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire est également inspiré de celui du W.H.O. (2005). Le fragment de tulle moustiquaire imprégné et séché est ajusté sur le cône-OMS et est maintenu à l'aide d'un ruban adhésif. Chaque expérience est répliquée 5 fois. Ces cônes sont introduits dans les orifices de la plaque en "plexiglas" puis recouverts d'une autre plaque en "plexiglas". Ce dispositif est déposé sur un support incliné d'environ 45° (figure n° 16). A l'aide d'un aspirateur, nous avons introduit 20 anophèles femelles d'*An. gambiae* s.s. dans chaque cône dont le sommet est immédiatement bouché à l'aide du coton hydrophile.



Figure n° 13: Tests aduIticides des huiles essentielles d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M. myristica* sur les femelles d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009.

3 minutes après le contact avec le fragment de tulle moustiquaire imprégné d'huile essentielle, nous sortons les moustiques à l'aide de l'aspirateur et nous les transférons dans des gobelets en plastique recouverts d'un fragment de tulle moustiquaire non imprégné pour l'observation (figure n° 17). Ces moustiques nourris à une solution de saccharose à 10% sont observés pendant 24 heures. Pour chaque concentration d'huile essentielle, nous avons associé un témoin. Le lot témoin est constitué de 20 moustiques exposés au fragment de tulle moustiquaire imprégné à l'alcool à 95°.

Lorsque le taux de mortalité des individus du lot témoin dépasse 20 %, le test est repris. Mais lorsque ce taux de mortalité est compris entre 5% et 20%, nous appliquons la formule d'Abott (1925) pour corriger la mortalité observée.

Nous avons évalué l'effet « Knock-down » ou (kd) des huiles essentielles chez les femelles d'*An. gambiae* s.s.. L'expression « knock-down » est de la langue anglaise qui signifie « assommé ». L'effet "knock-down" est défini par l'O.M.S. (1991) comme un effet aduIticide particulier des différentes concentrations des huiles essentielles sur les femelles d'*An. gambiae* s.s.. Cet effet est évalué pendant les 60 minutes qui suivent l'exposition des femelles aux huiles essentielles. L'effet « knock-down » traduit la paralysie des muscles et du système nerveux des femelles qui précède leur mort (Organisation Mondiale de la Santé, 1991). Cet effet met en évidence la vitesse d'action de l'huile essentielle. Toutes les 5 minutes pendant 60 minutes, nous comptons dans chaque gobelet, le nombre de femelles assommées, c'est-à-dire immobiles.



Figure 14: Tests de la mortalité et de l'«effet knock-down» des femelles d'*An. gambiae s.s.* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009.

II.2.5. Analyses statistiques

Les données statistiques sont saisies dans Microsoft Excel et sont analysées à l'aide du logiciel SPSS pour Windows version 12.0.

II.2.5.1. Tests de comparaison

Nous avons utilisé le test de l'Analyse des variances (ANOVA) pour comparer les moyennes des variables à caractère continu : la durée de développement des larves et des nymphes, les mensurations des ailes des adultes. Si la différence est significative, nous procédons à une comparaison multiple (comparaison deux à deux des groupes d'observation) à l'aide du test de Tukey.

Nous avons utilisé le test non paramétrique de Kruskal-Wallis pour comparer les moyennes des variables à caractère discontinu : les effectifs des larves et des nymphes récoltées toutes les 2 semaines, le taux de mortalité des individus, la fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs. Si la différence est significative, nous procédons à une comparaison multiple à l'aide du test de Wilcoxon.

Nous avons utilisé le test de Chi-carré pour comparer les productions mensuelles des larves et des nymphes des 3 champs.

II.2.5.2. Tests de corrélation

Les tests de corrélation utilisés sont les tests de Pearson et de Spearman.

Nous avons utilisé le test de corrélation de Pearson pour déterminer la corrélation entre les variations de la longueur et de la largeur des ailes des adultes.

Nous avons utilisé le test de corrélation de Spearman pour déterminer la corrélation entre les productions des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae s.l.* et la pluviométrie,

entre les mensurations des ailes des femelles et leur fécondité, entre la fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs.

II.2.5.3. Détermination des concentrations létales et des temps de « knock-down » (Tkd)

Nous avons déterminé les concentrations létales (CL) par la méthode des Probits de Finney (1971) à l'aide du programme Dslp version 4.5. Les CL₅₀, CL₉₀ et CL₉₅ sont respectivement, les concentrations théoriques permettant de tuer 50%, 90 % et 95% des larves ou des femelles exposées aux huiles essentielles. Nous avons calculé ces concentrations létales à partir de la table de transformation des probits et des droites de régression pondérées.

Le temps de « knock down » (Tkd) ou effet choc est le temps théorique après lequel un moustique exposé à une concentration d'huile essentielle déterminée est assommé. Les Tkd₅₀, Tkd₉₀ et Tkd₉₅ sont respectivement, les temps théoriques pour lesquels 50%, 90 % et 95% des moustiques adultes sont assommés lorsqu'ils sont exposés à une concentration d'huile essentielle. Nous avons calculé ces temps à partir de la table de transformation des probits et des droites de régression pondérées.

RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. RESULTATS

III.1.1. Etude de la variation des abondances des larves et des nymphes d'*Anopheles gambiae* s.l. dans les champs de cultures vivrieres a nkolbisson de 2007 a 2008

III.1.1.1. Etude de la variation des abondances des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 1

III.1.1.1.1. Etude de la variation des abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 1

Les abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 1 sont données le tableau n° V et la figure n°18 qui nous montrent que les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. sont présentes durant 8 mois sur 12 mois de chaque année d'étude. Il s'agit des mois allant de mars à juillet et de septembre à novembre.

- **Abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. année 2007**
De janvier à décembre, nous avons récolté 4737 individus
- **Abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. année 2008**
De janvier à décembre, nous avons récolté 4604 individus.

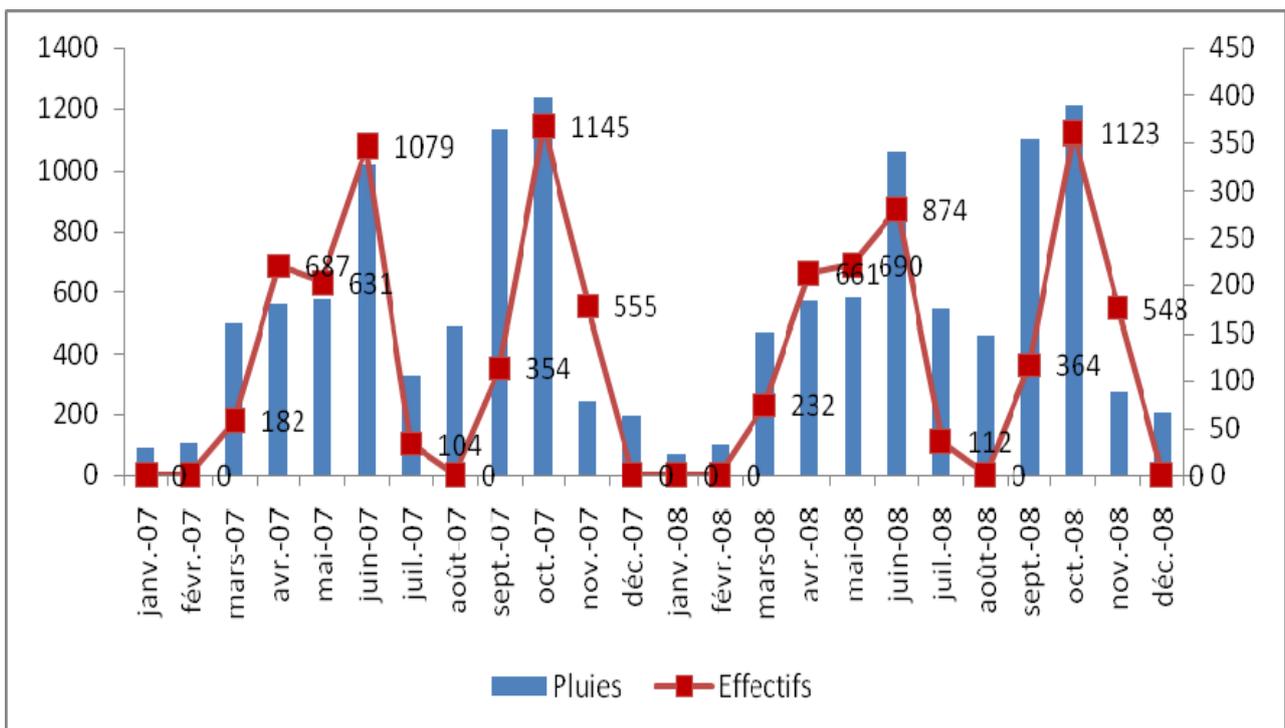


Figure n°15: abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 1

Tableau n° V : abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le champ de cultures vivrières non traité aux insecticides localisé dans le site 1

Mois et années	Effectifs stades aquatiques	Effectifs larves 1 ^{er} stade	Effectifs larves 2 ^e stade	Effectifs larves 3 ^e stade	Effectifs larves 4 ^e stade	Effectifs nymphes
Janvier 07	0	0	0	0	0	0
Février 07	0	0	0	0	0	0
Mars 07	182	70 (38,46%)	45 (24,72%)	33 (18,13%)	27 (14,83%)	7 (3,84%)
Avril 07	687	256 (37,26%)	160 (23,28%)	142 (20,60%)	95 (13,82%)	34 (4,94%)
Mai 07	631	240 (38,03%)	154 (24,40%)	130 (20,60%)	85 (13,47%)	22 (3,48%)
Juin 07	1079	477 (44,20%)	277 (25,67%)	164 (15,19%)	121 (11,21%)	40 (3,70%)
Juillet 07	104	55 (52,88%)	17 (16,34%)	9 (8,65%)	12 (11,53%)	11 (10,57%)
Août 07	0	0	0	0	0	0
Septembre 07	354	170 (48,02%)	81 (22,88%)	53 (14,97%)	37 (10,45%)	13 (3,67%)
Octobre 07	1145	510 (44,54%)	315 (27,51%)	169 (14,75%)	118 (10,30%)	33 (2,88%)
Novembre 07	555	227 (40,90%)	130 (23,42%)	93 (16,75%)	65 (11,71%)	40 (7,20%)
Décembre 07	0	0	0	0	0	0
Janvier 08	0	0	0	0	0	0
Février 08	0	0	0	0	0	0
Mars 08	232	102 (43,96%)	61 (26,29%)	35 (15,08%)	24 (10,34%)	10 (4,31%)
Avril 08	661	273 (41,13%)	167 (25,26%)	104 (15,73%)	79 (11,95%)	38 (5,74%)
Mai 08	690	317 (45,94%)	160 (23,18%)	108 (15,65%)	63 (9,13%)	42 (6,08%)
Juin 08	874	423 (48,39%)	202 (23,11%)	121 (13,84%)	80 (9,15%)	48 (5,49%)
Juillet 08	112	60 (53,57%)	20 (17,85%)	9 (8,03%)	12 (10,71%)	11 (9,82%)
Août 08	0	0	0	0	0	0
Septembre 08	364	163 (44,78%)	91 (25,00%)	53 (14,56%)	37 (10,16%)	13 (3,57%)
Octobre 08	1123	489 (42,70%)	353 (30,82%)	152 (13,27%)	106 (9,25%)	45 (3,93%)
Novembre 08	548	220 (40,14%)	130 (23,72%)	93 (16,97%)	65 (11,86%)	40 (7,29%)
Décembre 08	0	0	0	0	0	0
H	31,835	30,932	31,329	31,080	31,708	30,252
p	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

NB : % : proportion des individus du stade donné par rapport à la population totale

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

➤ d'après le test de Kruskal-Wallis, les abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. varient de façon significative dans ce site (H = 31,835; p < 0,0001) avec des pics en juin et en octobre de chaque année (juin 2007 : 1079 individus, octobre 2007 : 1145

individus, juin 2008 : 874 individus et octobre 2008 : 1123 individus); l'évolution est de ce fait cyclique ;

➤ il existe une corrélation hautement positive entre les abondances des larves et des nymphes récoltées et la forte pluviométrie ($r = 0,857$; $p < 0,0001$) (figure 18);

➤ lorsque les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. étaient présentes, le nombre d'individus d'un stade de développement est plus élevé que celui des stades suivants (tableau n°V) ;

➤ d'après le test de comparaison multiple de Wilcoxon, les abondances des larves des différents stades et des nymphes varient de façon significative d'un stade de développement à l'autre (tableau n° VI).

Tableau n° VI: Comparaison multiple des productions mensuelles des larves de différents stades et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 1

	L1-L2	L1-L3	L1-L4	L1-N	L2-L3	L2-L4	L2-N	L3-L4	L3-N	L4-N
Z	-4,015	-4,015	-4,015	-4,015	-3,807	-3,980	-4,015	-3,634	-3,948	-4,016
p	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

L1 : larves de premier stade, L2 : larves de deuxième stade, L3 : larves de troisième stade, L4 : larves de quatrième stade, N : nymphes

III.1.1.1.2. Etude de la variation des abondances saisonnières des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 1

Les abondances saisonnières des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 1 sont données par les résultats consignés dans le tableau n° VII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

➤ d'après le test de Kruskal-Wallis, les abondances saisonnières des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. varient de façon significative ($H = 22,079$; $p < 0,0001$);

➤ les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. sont présentes pendant les deux saisons des pluies et pendant la petite saison sèche de chaque année ;

➤ les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. sont plus abondantes pendant les petites saisons des pluies (2007 : 2569 individus et 2008 : 2567 individus);

➤ d'après le test de Wilcoxon, les abondances des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. ne varient pas de façon significative entre les saisons de même type des années 2007 et 2008 (entre les grandes saisons sèches 2007 et 2008 : $Z = 0$; $p = 1$, entre les petites saisons de pluies 2007 et 2008 : $Z = 0,143$; $p = 0,705$, entre les petites saisons sèches 2007 et 2008 : $Z = 0,137$; $p = 0,712$ et enfin entre les grandes saisons de pluies 2007 et 2008 : $Z = 0,141$; $p = 0,705$).

Tableau n° VII : abondances saisonnières des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 1

Saisons et années	Effectifs stades aquatiques	Effectifs larves 1 ^{er} stade	Effectifs larves 2 ^e stade	Effectifs larves 3 ^e stade	Effectifs larves 4 ^e stade	Effectifs nymphes
Grande saison sèche (partie 2) 07	00	00	00	00	00	00
Petite saison des pluies 07	2569	1048 (40,79%)	636 (24,75%)	469 (18,25%)	328 (12,76%)	93 (3,62%)
Petite saison sèche 07	104	55 (52,88%)	17 (16,34%)	9 (8,65%)	12 (11,53%)	11 (10,57%)
Grande saison des pluies 07	2567	870 (47,56%)	502 (27,44%)	230 (12,57%)	158 (8,63%)	69 (3,77%)
Grande saison sèche (décembre) 07	00	00	00	00	00	00
Grande saison sèche (partie 2) 08	00	00	00	00	00	00
Petite saison des pluies 08	2567	1227 (47,79%)	583 (22,71%)	387 (15,07%)	238 (9,27%)	132 (5,14%)
Petite saison sèche 08	112	60 (53,57%)	20 (17,85%)	09 (8,03%)	12 (10,71%)	11 (9,82%)
Grande saison des pluies 08	1839	900 (48,93%)	536 (29,14%)	315 (17,12%)	220 (11,96%)	86 (4,67%)
Grande saison sèche (décembre) 08	00	00	00	00	00	00

III.1.1.2. Etude de la variation des abondances des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 2

III.1.1.2.1. Etude de la variation des abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 2

Les abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 2 sont données le tableau n° VIII et la figure n°19 qui nous montrent que les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. sont présentes durant 8 mois sur 12 mois de chaque année d'étude. Il s'agit des mois allant de mars à juillet et de septembre à novembre.

- **Abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae*s.l. année 2007**

De janvier à décembre, nous avons récolté 4572 individus.

- **Abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. année 2008**

De janvier à décembre, nous avons récolté 4656 individus.

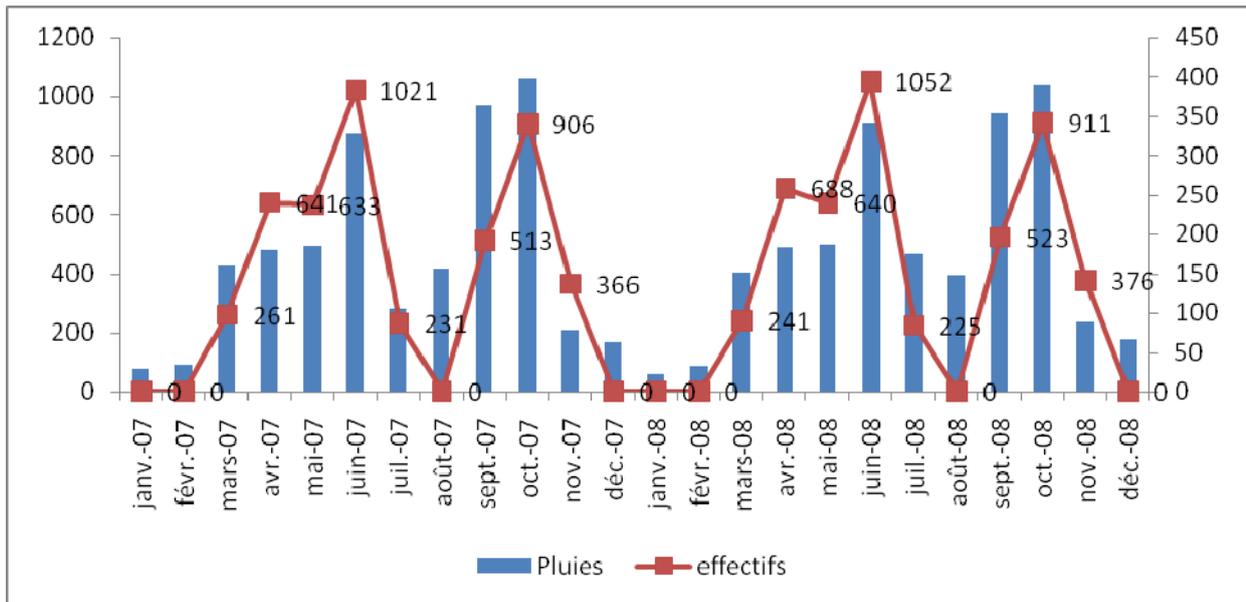


Figure 16: abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae*s.l. dans le site 2

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, les abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. varient de façon significative ($H= 30,223$; $p < 0,0001$) avec des pics en juin et en octobre de chaque année (juin 2007 : 1021 individus, octobre 2007 : 906 individus, juin 2008 : 1052 individus et octobre 2008 : 911 individus); l'évolution est de ce fait cyclique ;
- il existe une corrélation hautement positive entre les abondances des larves et des nymphes récoltées et la forte pluviométrie ($r = 0,852$; $p < 0,0001$) (figure n°26);
- lorsque les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. sont présentes, le nombre d'individus d'un stade de développement est plus élevé que celui des stades suivants (tableau n°VIII) ;
- d'après le test de comparaison multiple de Wilcoxon, les abondances des larves des différents stades et des nymphes varient de façon significative d'un stade de développement à l'autre (tableau n°VIII).

Tableau n° VIII : abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 2

Mois et années	Effectifs stades aquatiques	Effectifs larves 1 ^{er} stade	Effectifs larves 2 ^e stade	Effectifs larves 3 ^e stade	Effectifs larves 4 ^e stade	Effectifs nymphes
Janvier 07	00	00	00	00	00	00
Février 07	00	00	00	00	00	00
Mars 07	261	104 (39,84%)	58 (22,22%)	52 (19,92%)	35 (13,40%)	12 (4,59%)
Avril 07	641	279 (43,52%)	139 (21,68%)	113 (17,62%)	69 (10,76%)	41 (6,39%)
Mai 07	633	292 (46,12%)	132 (20,85%)	100 (15,79%)	83 (13,11%)	26 (4,11%)
Juin 07	1021	528 (51,71%)	242 (23,70%)	135 (13,22%)	83 (8,12%)	33 (3,23%)
Juillet 07	231	105 (45,45%)	39 (16,88%)	42 (18,18%)	30 (13%)	15 (6,49%)
Août 07	00	00	00	00	00	00
Septembre 07	513	207 (40,35%)	106 (20,66%)	80 (15,59%)	33 (6,43%)	24 (4,68%)
Octobre 07	906	498 (54,96%)	170 (18,76%)	131 (14,45%)	74 (8,16%)	33 (3,64%)
Novembre 07	366	173 (47,26%)	93 (25,40%)	41 (11,20%)	36 (9,83%)	23 (6,28%)
Décembre 07	00	00	00	00	00	00
Janvier 08	00	00	00	00	00	00
Février 08	00	00	00	00	00	00
Mars 08	241	92 (38,17%)	60 (24,89%)	44 (18,25%)	35 (14,52%)	10 (4,14%)
Avril 08	688	295 (42,87%)	173 (25,14%)	128 (18,60%)	54 (7,84%)	38 (5,52%)
Mai 08	640	270 (42,18%)	159 (24,84%)	92 (14,37%)	77 (32,08%)	42 (6,56%)
Juin 08	1052	498 (47,33%)	255 (24,23%)	167 (15,87%)	83 (7,88%)	49 (4,65%)
Juillet 08	225	110 (48,88%)	41 (18,22%)	42 (18,66%)	30 (13,33%)	15 (6,66%)
Août 08	00	00	00	00	00	00
Septembre 08	523	280 (53,53%)	186 (35,56%)	80 (15,29%)	33 (6,30%)	24 (4,58%)
Octobre 08	911	482 (52,90%)	170 (18,66%)	141 (15,47%)	85 (9,33%)	33 (3,62%)
Novembre 08	376	173 (46,01%)	103 (27,39%)	41 (10,90%)	36 (9,57%)	23 (6,11%)
Décembre 08	00	00	00	00	00	00
H	30,223	30,243	30,343	29,884	27,573	29,195
p	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

NB : % : proportion des individus du stade donné par rapport à la population totale

Tableau n° IX: Comparaison multiple des productions mensuelles des stades aquatiques d'*An. gambiae*s.l. dans le site 2

	L1-L2	L1-L3	L1-L4	L1-N	L2-L3	L2-L4	L2-N	L3-L4	L3-N	L4-N
Z	-4,015	-4,015	-4,015	-4,015	-3,911	-4,015	-4,015	-3,980	-4,015	-4,015
p	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

L1 : larves de premier stade, L2 : larves de deuxième stade, L3 : larves de troisième stade, L4 : larves de quatrième stade, N : nymphes

III.1.1.2.2. Etude de la variation des abondances saisonnières des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 2

Les abondances saisonnières des larves et nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 2 sont données par les résultats consignés dans le tableau n° X.

Tableau n° X : abondances saisonnières des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 2

Saisons et années	Effectifs stades aquatiques	Effectifs larves 1 ^{er} stade	Effectifs larves 2 ^e stade	Effectifs larves 3 ^e stade	Effectifs larves 4 ^e stade	Effectifs nymphes
Grande saison sèche (partie 2) 07	00	00	00	00	00	00
Petite saison des pluies 07	2556	1203 (47,06%)	571 (22,34%)	400 (15,64%)	270 (10,56%)	112 (4,38%)
Petite saison sèche 07	231	105 (45,45%)	39 (16,88%)	42 (18,18%)	30 (13%)	15 (6,49%)
Grande saison des pluies 07	1784	941 (52,74%)	369 (20,68%)	252 (14,12%)	142 (7,95%)	80 (4,48%)
Grande saison sèche (décembre) 07	00	00	00	00	00	00
Grande saison sèche (partie 2) 08	00	00	00	00	00	00
Petite saison des pluies 08	2621	1155 (44,06%)	647 (24,68%)	431 (16,44%)	249 (9,50%)	138 (5,26%)
Petite saison sèche 08	225	115 (47,13%)	42 (17,21%)	42 (17,21%)	30 (12,29%)	15 (6,14%)
Grande saison des pluies 08	1810	920 (50,82%)	526 (29,06%)	325 (17,95%)	220 (11,96%)	86 (4,67%)
Grande saison sèche (décembre) 08	00	00	00	00	00	00

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, les abondances saisonnières des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. varient de façon significative ($H = 20,962$; $p < 0,0001$);
- les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. sont présentes pendant les deux saisons des pluies et pendant la petite saison sèche de chaque année d'étude;

➤ les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. sont plus abondantes pendant les petites saisons des pluies (2007 : 2556 individus et 2008 : 2621 individus);

➤ d'après le test de Wilcoxon, les abondances des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. ne varient pas de façon significative entre les saisons de même type des années 2007 et 2008 (entre les grandes saisons sèches 2007 et 2008 : $Z = 0$; $p = 1$, entre les petites saisons de pluies 2007 et 2008 : $Z = 0,133$; $p = 0,752$, entre les petites saisons sèches 2007 et 2008 : $Z = 0,142$; $p = 0,705$ et enfin entre les grandes saisons de pluies 2007 et 2008 : $Z = 0,143$; $p = 0,705$).

III.1.1.3. Etude de la variation des abondances des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 3

III.1.1.3.1. Etude de la variation des abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 3

Les abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 2 sont données le tableau n° XI et la figure n°20 qui nous montrent que les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. sont présentes durant 8 mois sur 12 mois de chaque année d'étude. Il s'agit des mois allant de mars à juillet et de septembre à novembre.

- **Abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. année 2007**

De janvier à décembre, nous avons récolté 1020 individus.

- **Abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. année 2008**

De janvier à décembre, nous avons récolté 1118 individus.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

➤ d'après le test de Kruskal-Wallis les abondances des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. varient de façon significative dans ce site ($H = 31,523$; $p < 0,0001$) avec des pics en juin et en octobre (juin 2007 : 188 individus, octobre 2007 : 262 individus, juin 2008 : 233 individus et octobre 2008 : 254 individus);

➤ il existe une corrélation hautement positive entre les abondances des larves et des nymphes récoltées et la forte pluviométrie ($r = 0,831$; $p < 0,0001$);

➤ lorsque les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. sont présentes, le nombre d'individus d'un stade de développement est plus élevé que celui des stades évolués (tableau n°XI);

➤ d'après le test de comparaison multiple de Wilcoxon, les abondances des larves des différents stades et des nymphes varient de façon significative d'un mois à l'autre et d'un stade de développement à l'autre (tableau n°XII).

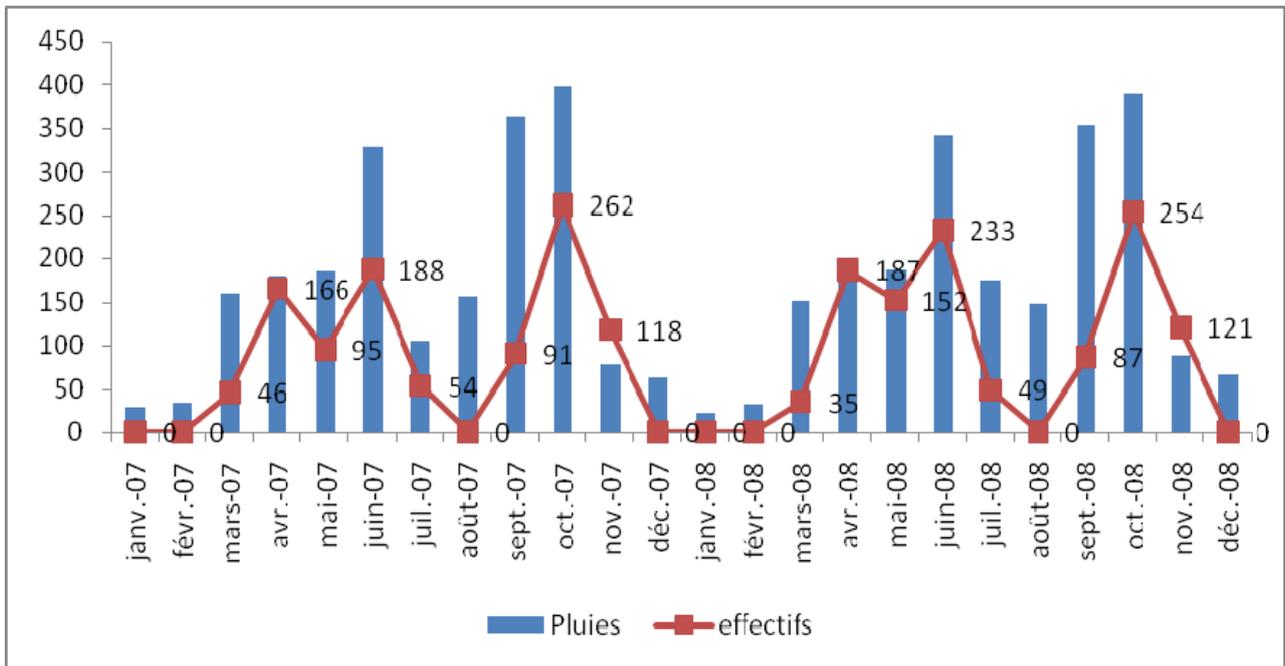


Figure n°17: Productions mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le champ de cultures vivrières traité à la cyperméthrine (insecticide chimique) localisé dans les bas-fonds du Centre de Biotechnologie à Nkolbisson de 2007 à 2008.

Tableau n° XI : abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 3

Mois et années	Effectifs stades aquatiques	Effectifs larves 1 ^{er} stade	Effectifs larves 2 ^e stade	Effectifs larves 3 ^e stade	Effectifs larves 4 ^e stade	Effectifs nymphes
janvier07	00	00	00	00	00	00
février07	00	00	00	00	00	00
mars07	46	25 (54,34% ^o)	10 (21,73%)	06 (13,04%)	04 (8,69%)	01 (2,17%)
avril07	166	102 (61,44%)	30 (18,07%)	13 (7,83%)	12 (7,23%)	09 (1,05%)
mai07	95	68 (68,42%)	18 (18,94%)	03 (3,15%)	05 (5,26%)	01 (3,48%)
juin07	188	155 (84,69%)	18 (9,83%)	09 (4,91%)	05 (2,73%)	01 (0,54%)
juillet07	54	31 (57,40%)	11 (20,37%)	06 (11,11%)	04 (7,40%)	02 (3,70%)
août07	00	00	00	00	00	00
septembre 07	91	57 (62,63%)	20 (21,97%)	07 (12,96%)	05 (5,49%)	02 (3,70%)
octobre07	262	186 (70,99%)	33 (12,59%)	20 (7,63%)	13 (4,96%)	10 (3,81%)
novembre07	118	73 (61,86%)	18 (15,25%)	13 (11,01%)	08 (6,77%)	06 (5,08%)
décembre 07	00	00	00	00	00	00
janvier08	00	00	00	00	00	00
février08	00	00	00	00	00	00
mars08	35	27 (77,14%)	06 (17,15%)	02 (5,71%)	00 (0%)	00 (0%)
avril08	187	122 (65,24%)	33 (17,64%)	16 (8,55%)	10 (6,77%)	06 (3,20%)
mai08	152	317 (45,94%)	160 (23,18%)	108 (15,65%)	63 (9,13%)	42 (6,08%)
juin08	233	139 (59%)	44 (18,88%)	24 (10,30%)	15 (6,43%)	11 (4,72%)
juillet08	49	31 (75,60%)	09 (18,36%)	04 (8,16%)	03 (6,12%)	02 (4,08%)
Août08	00	00	00	00	00	00
septembre 08	87	53 (60,91%)	20 (23%)	07 (8,08%)	05 (5,74%)	02 (2,30%)
octobre08	254	175 (68,89%)	37 (14,56%)	19 (7,48%)	13 (5,11%)	10 (3,93%)
novembre08	121	73 (60,33%)	21 (17,35%)	13 (10,74%)	08 (6,61%)	06 (4,95%)
décembre08	00	00	00	00	00	00
H	31,523	31,884	30,420	28,825	28,880	29,555
p	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

Tableau n°XII: Comparaison multiple des abondances mensuelles des stades de larves et de nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 3

	L1-L2	L1-L3	L1-L4	L1-N	L2-L3	L2-L4	L2-N	L3-L4	L3-N	L4-N
Z	-4,015	-4,018	-4,015	-4,015	-4,023	-4,021	-4,021	-2,963	-3,542	-3,510
p	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

L1 : larves de premier stade, L2 : larves de deuxième stade, L3 : larves de troisième stade, L4 : larves de quatrième stade, N : nymphes

III.1.1.3.2. Etude de la variation des abondances saisonnière des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 3

Les abondances saisonnières des larves et nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 3 sont données par les résultats consignés dans le tableau n°XIII.

Tableau n° XIII : abondances saisonnières des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le site 3

Saisons et années	Effectifs stades aquatiques	Effectifs larves 1 ^{er} stade	Effectifs larves 2 ^e stade	Effectifs larves 3 ^e stade	Effectifs larves 4 ^e stade	Effectifs nymphes
Grande saison sèche (partie 2) 07	0	0	0	0	0	0
Petite saison des pluies 07	501	360 (71,85%)	76 (15,16%)	27 (5,38%)	26 (5,18%)	12 (2,39%)
Petite saison sèche 07	54	31 (57,40%)	11 (20,37%)	06 (11,11%)	04 (7,40%)	02 (3,70%)
Grande saison des pluies 07	471	316 (67,09%)	71 (15,07%)	40 (8,49%)	26 (5,52%)	18 (3,82%)
Grande saison sèche (décembre)07	00	00	00	00	00	00
Grande saison sèche (partie 2) 08	00	00	00	00	00	00
Petite saison des pluies 08	608	386 (63,48%)	105 (17,26%)	56 (9,51%)	37 (6,08%)	24 (3,94%)
Petite saison sèche 08	49	31 (75,60%)	09 (18,36%)	04 (8,16%)	03 (6,12%)	02 (4,08%)
Grande saison des pluies 08	462	305 (66,01%)	73 (15,80%)	40 (8,65%)	26 (8,65%)	18 (3,89%)
Grande saison sèche (décembre) 08	00	00	00	00	00	00

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, les abondances saisonnières des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. varient de façon significative ($H = 21,000$; $p < 0,0001$);
- les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. sont présentes pendant les deux saisons des pluies et pendant la petite saison sèche de chaque année;

➤ les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. sont plus abondantes pendant les petites saisons des pluies (2007 : 501 individus et 2008 : 608 individus);

➤ d'après le test de Wilcoxon, les abondances des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. ne varient pas de façon significative entre les saisons de même type des années 2007 et 2008 (entre les grandes saisons sèches 2007 et 2008 : $Z = 0$; $p = 1$, entre les petites saisons de pluies 2007 et 2008 : $Z = 0,138$; $p = 0,712$, entre les petites saisons sèches 2007 et 2008 : $Z = 0,124$; $p = 0,722$ et enfin entre les grandes saisons de pluies 2007 et 2008 : $Z = 0,139$; $p = 0,705$).

III.1.1.4. Etude comparative des abondances des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans deux champs de cultures vivrières non traitées aux insecticides et le champ de cultures vivrières traité à la cyperméthrine (insecticide chimique) à Nkolbisson de 2007 à 2008

L'étude comparative des abondances des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans deux champs de cultures vivrières non traités aux insecticides et le champ de cultures vivrières traité à la cyperméthrine (insecticide chimique) porte sur:

- les abondances des larves et des nymphes dans le champ de cultures vivrières non traité aux insecticides localisé dans les bas-fonds du Centre de Biotechnologie (site n°1) et dans le champ de cultures vivrières non traité aux insecticides localisé derrière une scierie de "Caramba" (site n°2) qui sont distants d'environ 5 km;

- les productions des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le champ de cultures vivrières non traité aux insecticides (site n°1) et dans le champ de cultures vivrières traité à la cyperméthrine (site n°3) localisés dans les bas-fonds du Centre de Biotechnologie.

III.1.1.4.1. Etude comparative des abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans deux champs de cultures vivrières non traités aux insecticides à Nkolbisson de 2007 à 2008

L'étude comparative des abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans deux champs de cultures vivrières non traités aux insecticides à Nkolbisson de 2007 à 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XIV.

• Abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. année 2007

De janvier à décembre, nous avons récolté 4737 individus dans le champ de cultures vivrières non traité aux insecticides localisé dans les bas-fonds du Centre de Biotechnologie (site n°1) et 4572 individus dans le champ de cultures vivrières non traité aux insecticides localisé derrière une scierie de Nkolbisson (site n°2).

- **Abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. année 2008**

De janvier à décembre, nous avons récolté 4604 individus dans le site n°1 et 4656 individus dans le site n°2.

Ces résultats nous ont permis de dégager l'observation ci-après :

➤ d'après le test de Chi-carré, les abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans les champs de cultures vivrières non traités ne diffèrent pas de façon significative ($X^2 = 0,04$; ddl = 2 ; p = 0,827).

Tableau n°XIV : abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans les sites 1 et 2 à Nkolbisson de 2007 à 2008

Mois et années	sites	Effectifs stades aquatiques	Effectifs larves 1 ^{er} stade	Effectifs larves 2 ^e stade	Effectifs larves 3 ^e stade	Effectifs larves 4 ^e stade	Effectifs nymphes
Année 2007							
janvier 2007	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 2	0	0	0	0	0	0
février 2007	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 2	0	0	0	0	0	0
mars 2007	Site 1	182	70	45	33	27	7
	Site 2	261	104	58	52	35	12
avril 2007	Site 1	687	256	160	142	95	34
	Site 2	641	279	139	113	69	41
mai 2007	Site 1	631	240	154	130	85	22
	Site 2	633	292	132	100	83	26
juin 2007	Site 1	1079	477	277	164	121	40
	Site 2	1021	528	242	135	83	33
juillet 2007	Site 1	104	55	17	9	12	11
	Site 2	231	105	39	42	30	15
août 2007	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 2	0	0	0	0	0	0
septembre 2007	Site 1	354	170	81	53	37	13
	Site 2	513	207	106	80	33	24
octobre 2007	Site 1	1145	510	315	169	118	33
	Site 2	906	498	170	131	74	33
novembre 2007	Site 1	555	227	130	93	65	40
	Site 2	366	173	93	41	36	23
décembre 2007	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 2	0	0	0	0	0	0
Année 2008							
janvier 2008	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 2	0	0	0	0	0	0
février 2008	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 2	0	0	0	0	0	0
mars 2008	Site 1	232	102	61	35	24	10
	Site 2	241	92	60	44	35	10
avril 2008	Site 1	661	273	167	104	79	38
	Site 2	688	261	153	118	54	28
mai 2008	Site 1	690	317	160	108	63	42
	Site 2	648	270	159	92	77	50
juin 2008	Site 1	874	423	202	121	80	48
	Site 2	1052	498	255	167	83	43
juillet 2008	Site 1	112	60	20	9	12	11
	Site 2	225	110	41	42	30	15
août 2008	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 2	0	0	0	0	0	0
septembre 2008	Site 1	364	163	91	53	37	13
	Site 2	523	280	186	80	33	24
octobre 2008	Site 1	1123	489	353	152	106	45
	Site 2	911	482	170	141	85	33
novembre 2008	Site 1	548	220	130	93	65	40
	Site 2	376	173	103	41	36	23
décembre 2008	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 2	0	0	0	0	0	0

III.1.1.4.2. Etude comparative des abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le champ de cultures vivrières non traité aux insecticides (site n°1) et dans le champ de cultures vivrières traité à la cyperméthrine (insecticide chimique) localisés dans les bas-fonds du Centre de biotechnologie (site n°3)

Ces deux champs sont distants de 5 m. Nous avons donné précédemment les productions mensuelles des larves et des nymphes du site n°1 mais nous les rappelons ici pour une meilleure lisibilité.

L'étude comparative des abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans deux champs de cultures vivrières non traités aux insecticides à Nkolbisson de 2007 à 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XV.

- **Abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. année 2007**

De janvier à décembre, nous avons récolté 4737 individus dans le site n°1 et 1020 individus dans le champ de cultures vivrières traité à la cyperméthrine (insecticide chimique) (site n°2).

- **Abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. année 2008**

De janvier à décembre, nous avons récolté 4604 individus dans le site n°1 et 1118 individus dans le site n°3.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Chi-carré, les abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le champ de cultures vivrières non traité aux insecticides (site n°1) et dans le champ de cultures vivrières traité à la cyperméthrine diffèrent de façon significative ($\chi^2 = 21,00$; ddl = 2 ; $p < 0,0001$) ;

- à l'exception des mois de janvier, février, août et décembre pendant lesquels nous n'avons récolté ni de larves ni de nymphes dans les deux sites, les abondances des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans le champ de cultures vivrières traité à la cyperméthrine (site n°3) sont inférieures à celle du champ non traité aux insecticides (site n°1) pour tous les autres mois.

Tableau n°XV: abondances mensuelles des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. dans les sites 1 et 2 à Nkolbisson de 2007 à 2008

mois et années	sites	Effectifs stades aquatiques	Effectifs larves 1 ^{er} stade	Effectifs larves 2 ^e stade	Effectifs larves 3 ^e stade	Effectifs larves 4 ^e stade	Effectifs nymphes
Année 2007							
janvier 2007	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 3	0	0	0	0	0	0
février 2007	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 3	0	0	0	0	0	0
mars 2007	Site 1	182	70	45	33	27	7
	Site 3	46	25	10	6	4	1
avril 2007	Site 1	687	256	160	142	95	34
	Site 3	166	102	30	13	12	9
mai 2007	Site 1	631	240	154	130	85	22
	Site 3	95	68	18	3	5	1
juin 2007	Site 1	1079	477	277	164	121	40
	Site 3	188	155	18	9	5	1
juillet 2007	Site 1	104	55	17	9	12	11
	Site 3	54	31	11	6	4	2
août 2007	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 3	0	0	0	0	0	0
septembre 2007	Site 1	354	170	81	53	37	13
	Site 3	91	57	20	7	5	2
octobre 2007	Site 1	1145	510	315	169	118	33
	Site 3	262	186	33	20	13	10
novembre 2007	Site 1	555	227	130	93	65	40
	Site 3	118	73	18	13	8	6
décembre 2007	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 3	0	0	0	0	0	0
Année 2008							
janvier 2008	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 3	0	0	0	0	0	0
février 2008	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 3	0	0	0	0	0	0
mars 2008	Site 1	232	102	61	35	24	10
	Site 3	35	27	6	2	0	0
avril 2008	Site 1	661	273	167	104	79	38
	Site 3	187	122	33	16	10	6
mai 2008	Site 1	690	317	160	108	63	42
	Site 3	152	317	160	108	63	42
juin 2008	Site 1	874	423	202	121	80	48
	Site 3	233	139	44	24	15	11
juillet 2008	Site 1	112	60	20	9	12	11
	Site 3	49	31	9	4	3	2
août 2008	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 3	0	0	0	0	0	0
septembre 2008	Site 1	364	163	91	53	37	13
	Site 3	87	53	20	7	5	2
octobre 2008	Site 1	1123	489	353	152	106	45
	Site 3	254	175	37	19	13	10
novembre 2008	Site 1	548	220	130	93	65	40
	Site 3	121	73	21	13	8	6
décembre 2008	Site 1	0	0	0	0	0	0
	Site 3	0	0	0	0	0	0

III.1.2. Etude de l'influence de quelques facteurs ecologiques sur le developpement d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (centre de biotechnologie a nkolbisson) en 2007

III.1.2.1. Etude de l'influence de la ration alimentaire sur la durée développement, sur la mortalité des larves et des nymphes, sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire

Nous rappelons que dans chaque expérience nous avons introduit 100 larves de premier stade âgées de 1 jour (500 larves pour les cinq expériences) dans 500 ml d'eau, la profondeur de l'eau des expériences est fixée à 5 cm et le pH de l'eau à $6,5 \pm 0,8$

III.1.2.2. Etude de l'influence de la ration alimentaire sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence de la ration alimentaire sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XVI.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA), la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. diminue de façon significative d'une ration à l'autre ($F = 36,87$; $p < 0,0001$) ; elle diminue lorsque la ration alimentaire augmente (à la plus petite ration qui est de 5 mg, nous avons obtenu $20,72 \pm 3,35$ jours ; à la plus grande ration qui est de 60 mg, nous avons obtenu $9,62 \pm 0,20$ jours) ;
- les comparaisons multiples précisent que la durée de développement des larves et des nymphes ne diffère pas de façon significative de la ration de 35 mg à la ration de 60 mg ;
- la ration de 20 mg apparaît la meilleure pour un développement harmonieux des larves et des nymphes.

III.1.2.3. Etude de l'influence de la ration alimentaire sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence de la ration alimentaire sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n° XVI.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. varie de façon significative d'une ration des larves à l'autre ($H = 16$; $p = 0,003$). Nous avons constaté que cette mortalité diminue lorsque leur ration alimentaire augmente (à

la plus petite ration qui est de 5 mg, nous avons obtenu 81,75% ;à la plus grande ration qui est de 60 mg,nous avons obtenu 1,50%) ;

➤ les comparaisons multiples précisent que cette mortalité ne diffère pas de façon significative de la ration de 20 mg à la ration de 60 mg ;

➤ le sexe-ratio chez *An. gambiae* s.s. est en faveur des femelles dans le cas où le taux de mortalité des larves et des nymphes est inférieur à 50% et dans le cas contraire, il est en faveur des mâles.

Tableau n° XVI : durée de développement et mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s., nombre d'adultes obtenus en fonction des ressources alimentaires

Rations	5 mg	10 mg	20 mg	35 mg	60 mg
Durée des larves et nymphes(jours)	20,72±3,35	15,82±0,84	11,01±0,64	9,89±0,18	9,62±0,20
Mortalité des larves et nymphes	81,75%	25,70%	4,25 %	2,75%	1,50%
Nombre adultes	18,25±2,17	74,30±3,41	95,75±2,24	97,25±2,32	98,50±2,71
Nombre mâles	11,45±1,62	36,10±2,14	36,47±1,84	33,74±1,36	35,85±3,25
Nombre femelles	6,80±2,23	38,20±1,75	59,28±3,20	63,50±3,42	62,65±2,57

III.1.2.4.Etude de l'influence de la ration alimentaire des larves sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence de la ration alimentaire des larves sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XVII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

➤ d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA), la longueur et la largeur de l'aile d'*An. gambiae* s.s. diffèrent de façon significative d'une ration des larves à l'autre chez le mâle (F = 179,34 ; p < 0,0001 pour la longueur et F = 128,43; p < 0,0001 pour la largeur) et chez la femelle (F = 128,43; p < 0,0001 pour la longueur et F = 128,43; p < 0,0001 pour la largeur) ; elles augmentent avec la disponibilité des ressources alimentaires (à la plus petite ration qui est de 5 mg, nous avons obtenu 2,71 ± 0,12 mm de longueur chez le mâle et 2,85 ± 0,15 mm de longueur chez la femelle ; à la plus grande ration qui est de 60 mg,nous avons obtenu 3,44 ± 0,09 mm de longueur chez le mâle et 3,64 ± 0,08 mm de longueur chez la femelle) ;

➤ les comparaisons multiples précisent que les longueurs et les largeurs des ailes d'*An. gambiae* s.s. ne diffèrent pas de façon significative de la ration de 5 mg à la ration de 10 mg.

III.1.2.5. Etude de l'influence de la ration alimentaire des larves sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence de la ration alimentaire des larves sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XVII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le nombre d'œufs pondus par femelle et le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. diffèrent de façon significative d'une ration des larves à l'autre ($H = 116,91$; $p < 0,0001$ pour le nombre d'œufs pondus par femelle et $H = 118,31$; $p < 0,0001$ pour le taux d'éclosion des œufs) ; ils augmentent avec la disponibilité des ressources alimentaires des larves (à la plus petite ration qui est de 5 mg, nous avons obtenu $70,24 \pm 3,64$ œufs pondus par femelle avec un taux d'éclosion de 81,52% ; à la plus grande ration qui est de 60 mg nous avons obtenu $125,50 \pm 11,06$ œufs pondus par femelle avec un taux d'éclosion de 99,28%) ;
- les comparaisons multiples précisent que cette augmentation n'est pas significative de la ration de 5 mg à la ration de 10 mg d'une part, et d'autre part de la ration de 20 mg à la ration de 35 mg.

Tableau n°XVII: taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la disponibilité des ressources alimentaires des larves

Rations		5 mg	10 mg	20 mg	35 mg	60 mg
Taille aile mâle (mm)	Longueur	2,71 ± 0,12	2,75 ± 0,07	3,10 ± 0,17	3,26 ± 0,12	3,44 ± 0,09
	Largeur	0,64 ± 0,09	0,65 ± 0,01	0,75 ± 0,07	0,82 ± 0,05	0,90 ± 0,03
Taille aile femelle (mm)	Longueur	2,85 ± 0,15	2,87 ± 0,11	3,22 ± 0,14	3,48 ± 0,14	3,64 ± 0,08
	Largeur	0,67 ± 0,12	0,69 ± 0,02	0,80 ± 0,06	0,90 ± 0,04	0,96 ± 0,02
Fécondité des femelles (nombre d'œufs par femelle)		70,20 ± 3,64	70,40 ± 4,33	117,50 ± 13,38	117,80 ± 13,60	125,50 ± 11,06
Taux d'éclosion (%)		81,52%	82,63%	98,74%	98,91%	99,28%

III.1.3. Etude de l'influence de la densité des larves sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur leur mortalité, sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

Nous rappelons que nous avons introduit dans chaque expérience les larves de premier stade âgée de 1 jour dans 100 ml d'eau, la ration alimentaire des larves est fixée à 0,2mg par larve (10 mg d'aliment pour 50 larves, 30 mg pour 150 larves, 60 mg pour 300 larves, 100 mg pour 500 larves, 160 mg pour 800 larves, 300 mg pour 1500 larves), la profondeur de l'eau des expériences à 5 cm et le pH de l'eau à $6,5 \pm 0,8$.

III.1.3.1. Etude de l'influence de la densité des larves sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence de la densité des larves sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n° XVIII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA), la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative d'une densité des larves à l'autre ($F = 64,14$; $p < 0,0001$) ; elle augmente avec la densité (à la plus petite densité qui est de 50 larves, nous avons obtenu $11,13 \pm 0,80$ jours ; à la plus grande densité qui est de 1500 larves, nous avons obtenu $16,15 \pm 0,62$ jours) ;
- les comparaisons multiples précisent que la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. ne diffère pas de façon significative de la densité de 50 larves à la densité de 300 larves ;
- les densités inférieures à 300 larves permettent un développement harmonieux des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s..

III.1.3.2. Etude de l'influence de la densité des larves sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence de la densité des larves sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XVIII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative d'une densité des larves à l'autre ($H = 21,50$; $p = 0,001$) ; elle augmente avec la densité des larves (à la plus petite densité qui est de 50 larves, nous avons obtenu 0,50% des individus, à la densité la plus grande qui est de 1500 larves, nous avons obtenu 92,70% des individus);
- les comparaisons multiples précisent que cette augmentation n'est pas significative de la densité de 50 larves à la densité de 300 larves ;
- le sexe-ratio chez *An. gambiae* s.s. est en faveur des femelles dans le cas où le taux de mortalité des larves et des nymphes est inférieur à 50% et dans le cas contraire, il est en faveur des mâles.

Tableau n° XVIII : durée de développement et mortalité des larves et des nymphes d' *An. gambiae* s.s., nombre d'adultes obtenus en fonction de la densité des larves

Densité larves (larves/100ml)	50	150	300	500	800	1500
Durée des larves et nymphes (jours)	11,13±0,80	11,08±0,80	14,59±0,21	15,33±0,37	15,98±0,99	16,15±0,62
Mortalité des larves et nymphes	0,45% (0,22)	6,15% (9,23)	12,92 % (38,76)	47,13% (235,65)	56,80 % (454,40)	92,70 % (1390,50)
Nombre adultes	49,78 ±0,12	140,77 ±7,24	261,24 ±17,19	264,35 ±18,29	345,60 ±22,45	109,50 ±12,27
Nombre mâles	17,50 ± 2,39	48,84 ±5,52	114,80±7,23	125,18±3,59	185,21±17,63	66,57±8,53
Nombre femelles	32,00±3,24	91,93±4,98	146,44±9,25	139,17±6,84	110,39±10,26	42,93±3,98

() : nombre moyen de morts

III.1.3.3. Etude de l'influence de la densité des larves sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence de la densité des larves sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) de 2007 à 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XIX.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA), la longueur et la largeur de l'aile d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative d'une densité des larves à l'autre chez le mâle ($F = 6,02$; $p < 0,002$ pour la longueur et $F = 8,43$; $p < 0,002$ pour la largeur) et chez la femelle ($F = 31,41$; $p < 0,0001$ pour la longueur et $F = 28,27$; $p < 0,0001$ pour la largeur) ; ces mensurations diminuent lorsque la densité des larves augmente (à la plus petite densité qui est de 50 larves, nous avons obtenu 3,30±0,21 mm de longueur chez le mâle et 3,59 ± 0,14 mm de longueur chez la femelle ; à la plus grande densité qui est de

1500 larves, nous avons obtenu $2,99 \pm 0,13$ mm de longueur chez le mâle et $3,13 \pm 0,20$ mm de longueur chez la femelle);

➤ la comparaison multiple précise que cette diminution n'est pas significative de la densité de 50 larves à la densité de 300 larves.

III.1.3.4. Etude de l'influence de la densité des larves sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence de la densité des larves sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n° XX.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

➤ d'après le test de Kruskal-Wallis, le nombre d'œufs pondus par femelle et le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. diffèrent de façon significative d'une densité larvaire à l'autre ($H = 24,43$; $p < 0,0001$ pour le nombre d'œufs pondus par femelle et $H = 21,50$; $p < 0,0001$ pour le taux d'éclosion des œufs) ; ces paramètres diminuent lorsque la densité larvaire augmente (à la plus petite densité qui est de 50 larves, nous avons obtenu $112,60 \pm 5,31$ œufs d'œufs pondus par femelle avec un taux d'éclosion de 97,33% ; à la plus grande densité qui est de 1500 larves, nous avons obtenu $38,00 \pm 6,04$ œufs pondus par femelle avec un taux d'éclosion de 69,74%) ;

➤ les comparaisons multiples précisent que cette diminution n'est pas significative de la densité de 50 larves à la densité de 300 larves.

Tableau n°XIX : taille des ailes, fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. en fonction des densités larvaires

Densité larves (larves/100ml)		50	150	300	500	800	1500
Taille aile mâle (mm)	Longueur	$3,30 \pm 0,21$	$3,24 \pm 0,17$	$3,18 \pm 0,18$	$3,13 \pm 0,12$	$3,06 \pm 0,21$	$2,99 \pm 0,13$
	Largeur	$0,87 \pm 0,09$	$0,85 \pm 0,08$	$0,76 \pm 0,04$	$0,75 \pm 0,06$	$0,71 \pm 0,09$	$0,68 \pm 0,05$
Taille aile femelle (mm)	Longueur	$3,59 \pm 0,14$	$3,59 \pm 0,15$	$3,46 \pm 0,24$	$3,32 \pm 0,06$	$3,26 \pm 0,20$	$3,13 \pm 0,20$
	Largeur	$0,98 \pm 0,06$	$0,98 \pm 0,06$	$0,88 \pm 0,09$	$0,84 \pm 0,08$	$0,81 \pm 0,10$	$0,75 \pm 0,07$
Fécondité des femelles (nombre d'œufs par femelle)		$112,60 \pm 5,13$	$108,50 \pm 6,80$	$90,00 \pm 5,15$	$74,70 \pm 7,67$	$39,20 \pm 5,31$	$38,00 \pm 6,04$
Taux d'éclosion (%)		97,33%	95,56%	82,63%	78,63%	74,84%	69,74%

III.1.4. Etude de l'influence de la profondeur de l'eau du gîte sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur leur mortalité, sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

Nous rappelons que dans chaque expérience nous avons introduit 100 larves de premier stade âgées de 1 jour (500 larves pour les cinq expériences) dans 1000 ml d'eau, la ration alimentaire est fixée à 20 mg par bac d'élevage et le pH de l'eau à $6,8 \pm 0,5$.

III.1.4.1. Etude de l'influence de la profondeur de l'eau du gîte sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence de la profondeur de l'eau du gîte sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXI.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA), la durée de développement des larves et des nymphes chez *An. gambiae* s.s. diffère de façon significative en général d'une profondeur de l'eau du gîte à l'autre ($F = 12,28$; $p < 0,0001$) ; elle augmente avec la profondeur de l'eau du gîte (à la profondeur de 3 cm, nous avons obtenu $10,16 \pm 0,45$ jours ; à la plus grande profondeur qui est de 25 cm, nous avons obtenu $13,23 \pm 0,65$ jours) ;
- les comparaisons multiples précisent que cette augmentation n'est pas significative de la profondeur de 0,5 cm à la profondeur de 15 cm;
- une profondeur de l'eau du gîte inférieure ou égale à 10 cm est la meilleure pour un développement harmonieux des larves d'*An. gambiae* s.s..

III.1.4.2. Etude de l'influence de la profondeur de l'eau du gîte sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence de la profondeur de l'eau du gîte sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. ne varie pas de façon significative avec la profondeur de l'eau du gîte ($H = 6,65$; $p = 0,47$) ;
- Le sexe-ratio est en faveur des femelles quelle que soit la profondeur de l'eau du gîte.

Tableau n° XX: durée de développement (en jours), mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. et nombre d'adultes obtenus en fonction de la profondeur de l'eau du gîte

Profondeur	0,5 cm	1 cm	3 cm	6 cm	10 cm	15 cm	20 cm	25 cm
Durée des larves et nymphes (jours)	11,05±0,52	11,18±0,28	10,16±0,45	10,64±0,28	11,03±0,35	12,37±0,84	12,24±0,51	13,23±0,65
mortalité des larves et nymphes	5,00%	6,00%	3,00%	1,50%	5,50%	8,50%	6,00%	8,50%
Nombre adultes	95,00±0,15	94,00±0,25	97,00±0,50	98,50±0,75	94,50±0,50	91,50±0,25	94,00±0,75	91,50±0,50
Nombre mâles	34,96±1,52	36,64±2,76	35,58±1,36	37,27±2,35	35,79±1,28	34,75±2,47	37,25±1,59	35,85±2,14
Nombre femelles	60,04±1,75	57,36±3,25	61,42±2,54	61,23±2,84	58,71±2,31	56,75±2,78	56,75±2,14	55,65±2,25

Tableau n°XXI : taille des adultes, fécondité des femelles et taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la profondeur de l'eau du gîte

Profondeur eau (cm)		0.5	1	3	6	10	15	20	25
Taille aile mâle (mm)	Longueur	3,13 ± 0,09	3,14 ± 0,16	3,14 ± 0,17	3,15 ± 0,18	3,11 ± 0,12	2,95 ± 0,11	2,84 ± 0,10	2,82 ± 0,18
	Largeur	0,75 ± 0,04	0,75 ± 0,07	0,75 ± 0,04	0,75 ± 0,08	0,74 ± 0,05	0,72 ± 0,04	0,70 ± 0,03	0,68 ± 0,07
Taille aile femelle (mm)	Longueur	3,25 ± 0,11	3,33 ± 0,15	3,35 ± 0,18	3,33 ± 0,18	3,30 ± 0,16	3,19 ± 0,11	3,19 ± 0,16	3,17 ± 0,17
	Largeur	0,81 ± 0,04	0,83 ± 0,06	0,85 ± 0,08	0,83 ± 0,08	0,83 ± 0,07	0,78 ± 0,08	0,78 ± 0,06	0,77 ± 0,07
Fécondité des femelles (nombre d'œufs par femelle)		110,53 ± 12,29	111,78 ± 15,30	114,61 ± 21,30	109,81 ± 11,80	108,60 ± 19,42	82,65 ± 16,31	75,00 ± 9,38	74,60 ± 10,34
Taux d'éclosion des œufs (%)		97,87%	96,76%	99,54%	97,68%	98,07%	87,95%	73,50%	62,03%

III.1.4.3. Etude de l'influence de la profondeur de l'eau du gîte sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence de la profondeur de l'eau du gîte sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXIII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA), la longueur et la largeur de l'aile d'*An. gambiae* s.s. diffèrent de façon significative en général d'une profondeur de l'eau du gîte à l'autre chez le mâle ($F = 24,64$; $p < 0,0001$ pour la longueur et $F = 24,03$; $p < 0,0001$ pour la largeur) et chez la femelle ($F = 15,26$; $p < 0,0001$ pour la longueur et $F = 15,92$; $p < 0,0001$ pour la largeur). Nous avons noté que la taille des ailes des adultes de cette espèce de moustique (à la profondeur de profondeur de 3 cm, nous avons obtenu $3,14 \pm 0,17$ mm de longueur chez le mâle et $3,35 \pm 0,18$ mm de longueur chez la femelle ; à la plus grande profondeur qui est de 25 cm, nous avons obtenu $2,82 \pm 0,18$ mm de longueur chez le mâle et $3,17 \pm 0,17$ mm de longueur chez la femelle) ;
- les comparaisons multiples précisent que cette diminution n'est pas significative de la profondeur de 0,5 cm à la profondeur de 15 cm.

III.1.4.4. Etude de l'influence de la profondeur de l'eau du gîte sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence de la profondeur de l'eau du gîte sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXIV.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le nombre d'œufs pondus par femelle et le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. diffèrent de façon significative d'une profondeur de l'eau du gîte à l'autre ($H = 18,17$; $p < 0,0001$ pour le nombre d'œufs pondus par femelle et $H = 21,57$; $p < 0,0001$ pour le taux d'éclosion des œufs). Nous avons noté que la fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs diminuent lorsque la profondeur de l'eau du gîte augmente (à la profondeur de 3 cm, nous avons obtenu $114,61 \pm 21,30$ œufs d'œufs pondus par femelle avec un taux d'éclosion de 99,54% ; à la plus grande profondeur qui est

de 25 cm, nous avons obtenu $74,60 \pm 10,34$ œufs pondus par femelle avec un taux d'éclosion de 62,03% ;

➤ les comparaisons multiples précisent que cette diminution n'est pas significative de la profondeur de 1 cm à la profondeur de 15 cm.

III.1.5. Etude de l'influence du pH de l'eau du gîte sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur la mortalité, sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

Nous rappelons que dans chaque expérience nous avons introduit 100 larves de premier stade âgées de 1 jour (500 larves pour les cinq expériences) dans 1000 ml d'eau, la ration alimentaire est fixée à 20 mg par bac d'élevage et la profondeur de l'eau à 5 cm.

III.1.5.1. Etude de l'influence du pH de l'eau du gîte sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence du pH de l'eau du gîte larvaire sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXIV.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

➤ d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA), la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative d'un pH à l'autre ($F = 93,28$; $p < 0,0001$) ;

➤ Les comparaisons multiples indiquent que la durée de développement des larves et des nymphes diminue de façon significative du pH 4 au pH 5, puis elle ne varie pas de façon significative du pH 5 au pH 9,5 et enfin elle augmente de façon significative du pH 9,5 au pH 11,5 (au pH le plus acide qui est pH 4, nous avons obtenu $13,79 \pm 0,29$ jours, au pH 6,5 nous avons obtenu $9,75 \pm 0,11$ jours et au pH le plus basique qui est le pH 11,5, nous avons obtenu $14,17 \pm 0,40$ jours).

III.1.5.2. Etude de l'influence du pH de l'eau du gîte sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence du pH de l'eau du gîte sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXIV.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative du pH à l'autre ($H = 42,41$; $p < 0,0001$) ;
- les comparaisons multiples montrent que ce taux de mortalité diminue du pH 4 au pH 5,5, puis il ne varie pas de façon significative du pH 5 au pH 9,5 et enfin augmente de façon significative du pH 9,5 au pH 11,5 (au pH le plus acide qui est le pH4, nous avons obtenu 71,25% ; au pH 6,5, nous avons obtenu 13,90% ; au pH 11,5, nous avons obtenu 65,00%) ;
- le sexe-ratio chez *An. gambiae* s.s. est en faveur des femelles dans le cas où le taux de mortalité des larves et des nymphes est inférieur à 50% et dans le cas contraire, il est en faveur des mâles.

Tableau n°XXII : durée de développement (en jours) et mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s., nombre d'adultes obtenus en fonction du pH de l'eau du gîte

pH	4	4,5	5	5,5	6,5	7	8,5	9	9,5	10,5	11,5
Durée des larves et nymphes (jours)	13,79±0,29	12,69±0,51	10,05±0,24	9,90±0,13	9,75±0,11	10,04±0,41	10,00±0,32	9,97±0,09	10,39±0,47	10,95±0,06	14,17±0,40
mortalité des larves et nymphes	71,25%	63,0%	20,50%	14,35%	13,90%	15,00%	15,75%	10,00%	19,92%	18,00%	65,00%
Nombre adultes	28,75±3,6	37,00±5,4	79,50±7,1	85,65±3,4	86,10±2,8	85,00±1,8	84,25±1,2	90,00±1,5	80,08±1,6	82,00±2,82	35,00±3,20
Nombre mâles	16,70±4,87	17,98±5,47	38,64±6,89	32,84±3,80	31,18±4,75	34,00±5,36	33,23±5,80	35,23±3,21	34,83±4,71	33,45±5,74	20,33±3,69
Nombre femelles	12,05±3,79	19,02±3,47	40,86±1,40	52,81±6,84	54,92±6,25	51,00±9,75	51,02±4,28	54,77±7,58	45,25±2,97	48,55±4,63	14,67±2,50
	71,25%	63,0%	20,50%	14,35%	13,90%	15,00%	15,75%	10,00%	19,92%	18,00%	65,00%

Tableau n°XXIII : taille des adultes, fécondité des femelles et taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. en fonction du pH de l'eau du gîte

pH de l'eau		4	4,5	5	5,5	6,5	7	8,5	9	9,5	10,5	11,5
Taille aile mâle (mm)	Longueur	3,18±0,12	3,23±0,13	3,34±0,09	3,33±0,08	3,36±0,10	3,38±0,10	3,39±0,08	3,38±0,1	3,39±0,06	3,04±0,12	2,99±0,11
	Largeur	0,73±0,06	0,75±0,05	0,79±0,02	0,79±0,02	0,80±0,03	0,82±0,05	0,83±0,02	0,82±0,1	0,83±0,04	0,67±0,05	0,65±0,04
Taille aile femelle (mm)	Longueur	3,47±0,13	3,53±0,11	3,61±0,12	3,63±0,05	3,61±0,07	3,64±0,09	3,66±0,07	3,65±0,4	3,66±0,06	3,42±0,08	3,40±0,08
	Largeur	0,89±0,03	0,91±0,03	0,92±0,03	0,93±0,01	0,93±0,03	0,92±0,02	0,93±0,02	0,92±0,1	0,93±0,04	0,89±0,03	0,88±0,03
Fécondité des femelles (nombre d'œufs)		70,80 ± 4,31	73,20± 5,98	109,10 ± 9,01	113,10 ± 9,03	114,40 ± 5,79	107,90 ± 7,30	112,80 ± 8,21	121,80 ± 7,87	119,43 ± 5,80	91,90 ± 6,15	69,40± 3,66
Taux d'éclosion		75,91%	78,40%	95,53 %	95,43 %	96,23 %	94,51 %	95,38 %	97,87 %	97,51 %	92,52 %	75,83%

III.1.5.3. Etude de l'influence du pH de l'eau du gîte sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence du pH de l'eau du gîte sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXV.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA), la longueur et la largeur de l'aile d'*An. gambiae* s.s. diffèrent de façon significative d'un pH à l'autre chez le mâle ($F = 63,00$; $p < 0,0001$ pour la longueur et $F = 59,63$; $p < 0,0001$ pour la largeur) et chez la femelle ($F = 31,41$; $p < 0,0001$ pour la longueur et $F = 15,90$; $p < 0,0001$ pour la largeur);
- les comparaisons multiples indiquent que la taille des ailes augmente du pH 4 au pH 5, puis elles ne varient pas de façon significative du pH 5 au pH 9,5 et enfin elles diminuent de façon significative du pH 9,5 au pH 11,5 (au pH le plus acide qui est le pH 4, nous avons obtenu $3,18 \pm 0,12$ mm de longueur chez le mâle et $3,47 \pm 0,13$ mm chez la femelle, au pH 8,5 nous avons obtenu $3,39 \pm 0,08$ mm de longueur chez le mâle et $3,66 \pm 0,40$ mm de longueur chez la femelle, au pH le plus basique qui est le pH 11,5, nous avons obtenu $2,99 \pm 0,11$ mm de longueur chez le mâle et $3,40 \pm 0,08$ mm de longueur chez la femelle).

III.1.5.4. Etude de l'influence du pH de l'eau du gîte sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007

L'étude de l'influence du pH de l'eau du gîte sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2007 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXV.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le nombre d'œufs pondus par femelle et le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. diffèrent de façon significative d'un pH à l'autre ($H = 242,64$; $p < 0,0001$ pour le nombre d'œufs pondus par femelle et $H = 232,87$; $p < 0,0001$ pour le taux d'éclosion des œufs) ;
- les comparaisons multiples indiquent que ces paramètres augmentent du pH 4 au pH 5, puis ne varient pas de façon significative du pH 5 au pH 9,5 et enfin augmentent de façon significative du pH 9,5 au pH 11,5 (au pH le plus acide qui est le pH 4, nous avons obtenu $70,80 \pm 4,31$ œufs pondus par femelle avec un taux d'éclosion de 75,91% ; au pH 9

nous avons obtenu $121,80 \pm 7,87$ œufs pondus par femelle avec un taux d'éclosion de 97,87% ; au pH le plus basique qui est le pH 11,5, nous avons obtenu $69,40 \pm 3,66$ œufs pondus par femelle avec un taux d'éclosion de 75,83%).

III.1.6. Etude l'influence de la cyperméthrine, du diméthoate et du méthyl-parathion sur le développement d'*An. Gambiae* au laboratoire (centre de biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

III.1.6.1. Etude de l'influence de la cyperméthrine sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur leur mortalité, sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

III.1.6.2. Etude de l'influence de la cyperméthrine sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence de la cyperméthrine sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXVI.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de l'Analyse des Variations (ANOVA), la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative selon la concentration de la cyperméthrine ($F = 12,88$; $p < 0,0001$) ; elle augmente avec la concentration en cyperméthrine (à la concentration de 0 µg/l qui est le témoin, nous avons obtenu $9,53 \pm 0,12$ jours ; à la concentration maximale qui est de 0,1000 µg/l, nous avons obtenu $12,62 \pm 0,40$ jours) ;
- les comparaisons multiples précisent que cette augmentation n'est pas significative de la concentration en cyperméthrine de 0,0025 µg/l à 0,0250 µg/l.

III.1.6.2. Etude de l'influence de la cyperméthrine sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence de la cyperméthrine sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXVI.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après:

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative selon la concentration de la cyperméthrine ($H = 38,87$; $p < 0,0001$) ; elle augmente avec la concentration en cyperméthrine (à la

concentration de 0 µg/l qui est le témoin, nous avons obtenu 2,50 des individus ; à la concentration maximale qui est de 0,1000 µg/l, nous avons obtenu 75,90%).

- les comparaisons multiples précisent que cette augmentation n'est pas significative de la concentration en cyperméthrine de 0,0025 µg/l à 0,0250 µg/l ;
- le sexe-ratio chez *An. gambiae* s.s. est en faveur des femelles dans le cas où le taux de mortalité des larves et des nymphes est inférieur à 50% et dans le cas contraire, il est en faveur des mâles.

Tableau n°XXIV: durée de développement (en jours) et mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s., nombre d'adultes obtenus

Concentrations (µg/l)	témoin	0,0025	0,0050	0,0250	0,0500	0,0750	0,1000
Durée des larves et nymphes (j)	9,53±0,12	10,10±0,34	11,33±0,32	11,77±0,38*	12,19±0,42*	12,34±0,30*	12,62±0,40*
mortalité des larves et nymphes	2,50%	0,26% (2,75%)	0,51% (3,00%)	22,66% (24,60%)*	31,79% (33,50%)*	51,54% (52,75%)*	75,90% (76,50%)*
Nombre adultes	97,50±2,50	97,25±0,15	97,00±0,25	75,40±3,50	66,50±5,75	47,25±5,36	23,50±15,53
Nombre mâles	39,50±2,50	37,30±1,57	40,76±1,57	28,69±3,25	30,61±2,50	27,40±3,28	14,10±5,65
Nombre femelles	58,00±4,50	59,95±2,41	57,24±2,52	46,71±2,35	35,89±5,25	19,85±2,77	9,40±3,50

(): mortalité totale non corrigée

* : différence significative

III.1.6.3. Etude de l'influence de la cyperméthrine sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence de la cyperméthrine sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXVII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA), la longueur et la largeur de l'aile d'*An. gambiae* s.s. diffèrent de façon significative selon la concentration de la cyperméthrine chez le mâle (F = 14,08; p < 0,0001 pour la longueur et F = 16,47; p < 0,0001) et chez la femelle (F = 10,50; p < 0,0001 pour la longueur et F = 10,50; p < 0,0001 pour la largeur); elles diminuent lorsque la concentration en cyperméthrine augmente à la concentration de 0 µg/l qui est le témoin, nous avons obtenu 3,48 ± 0,08 mm chez le mâle et 3,66 ± 0,08 mm chez la femelle ; à la concentration maximale qui est de 0,1000 µg/l, nous avons obtenu 3,20 ± 0,09 mm chez le mâle et 3,53 ± 0,13 mm chez la femelle).

➤ les comparaisons multiples précisent que cette augmentation n'est pas significative de la concentration en cyperméthrine de 0,0025 µg/l à 0,0250 µg/l.

III.1.6.4. Etude de l'influence de la cyperméthrine sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence de la cyperméthrine sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n° XXVII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

➤ d'après le test de Kruskal-Wallis, le nombre d'œufs pondus par femelle et le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. diffèrent de façon significative selon la concentration de la cyperméthrine ($H = 22,11$; $p < 0,0001$ pour le nombre d'œufs pondus par femelle et $H = 21,50$; $p < 0,0001$ pour le taux d'éclosion des œufs); ils diminuent lorsque la concentration en cyperméthrine augmente (à la concentration de 0 µg/l qui est le témoin, nous avons obtenu $121,80 \pm 8,21$ œufs pondus par femelle avec un taux d'éclosion de 97,51% ; à la concentration maximale qui est de 0,1000 µg/l, nous avons obtenu $78,16 \pm 4,3$ œufs pondus par femelle avec un taux d'éclosion de 90,06%) ;

➤ les comparaisons multiples précisent que cette augmentation n'est pas significative de la concentration en cyperméthrine de 0,0025 µg/l à 0,0250 µg/l.

Tableau XXV : taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s.

Concentration (µg/l).		témoin	0,0025	0,0050	0,0250	0,0500	0,0750	0,1000
Taille aile mâle (mm)	longueur	3,48 ± 0,08	3,47 ± 0,11	3,46 ± 0,54	3,24 ± 0,09*	3,22 ± 0,09*	3,21 ± 0,10*	3,20 ± 0,09*
	largeur	0,90 ± 0,02	0,90 ± 0,04	0,89 ± 0,03	0,81 ± 0,05*	0,79 ± 0,06*	0,79 ± 0,06*	0,79 ± 0,09*
Taille aile femelle (mm)	longueur	3,66 ± 0,08	3,66 ± 0,10	3,64 ± 0,09	3,59 ± 0,11*	3,56 ± 0,14*	3,54 ± 0,13*	3,53 ± 0,13*
	largeur	0,93 ± 0,02	0,93 ± 0,03	0,94 ± 0,02	0,90 ± 0,04*	0,90 ± 0,02*	0,89 ± 0,03*	0,89 ± 0,04*
Fécondité (nombre d'œufs)		121,80 ± 8,21	121,53 ± 7,37	119,10 ± 6,51	94,00 ± 5,94*	90,33 ± 4,61*	87,83 ± 4,58*	78,16 ± 4,30*
Taux d'éclosion		97,51 %	97,48 %	98,74 %	93,34%*	93,44%*	91,40%*	90,06%*

*différence significative

III.1.6.5. Etude de l'influence du diméthoate sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur leur mortalité, sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

III.1.6.5.1. Etude de l'influence du diméthoate sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence du diméthoate sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXVIII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

➤ d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA), la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative selon la concentration du diméthoate ($F = 12,23$; $p < 0,0001$) ; elle augmente avec la concentration de cet insecticide (à la concentration de 0 µg/l qui est le témoin, nous avons obtenu $9,09 \pm 0,25$ jours ; à la concentration maximale qui est de 3600 µg/l, nous avons obtenu $12,29 \pm 0,38$ jours) ;

➤ les comparaisons multiples indiquent cette augmentation est graduelle avec la concentration de l'insecticide.

III.1.6.5.2. Etude de l'influence du diméthoate sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence du diméthoate sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXVIII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après:

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative selon la concentration du diméthoate ($H = 30,34$; $p < 0,0001$) ; elle augmente avec la concentration de l'insecticide (à la concentration 0 $\mu\text{g/l}$ qui est le témoin nous avons obtenu 2,25% des individus ; à la concentration maximale qui est de 3600 $\mu\text{g/l}$, nous avons obtenu 85,93% des individus) ;
- les comparaisons multiples indiquent cette augmentation est graduelle avec la concentration de l'insecticide ;
- le sexe-ratio chez *An. gambiae* s.s. est en faveur des femelles dans le cas où le taux de mortalité des larves et des nymphes est inférieur à 50% et dans le cas contraire, il est en faveur des mâles.

Tableau n° XXVI: durée de développement (en jours) et mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s., nombre d'adultes obtenus

Concentrations ($\mu\text{g/l}$)	témoin	200	600	1200	2000	2800	3600
Durée des larves et nymphes(j)	9,09 \pm 0,25	10,35 \pm 0,41*	10,72 \pm 0,51*	11,30 \pm 0,42*	11,64 \pm 0,58*	12,17 \pm 0,27*	12,29 \pm 0,38*
mortalité des larves et nymphes	2,25%	5,37% * (7,50%)	7,93% * (10,00%)	33,00% * (34,50%)	43,22% * (44,50%)	72,89% * (73,50%)	85,93%* (86,25%)
Nombre adultes	97,75 \pm 1,25	92,50 \pm 3,15	90,00 \pm 4,75	65,50 \pm 2,25	55,50 \pm 5,75	26,50 \pm 4,24	13,75 \pm 6,27
Nombre mâles	37,50 \pm 2,50	38,25 \pm 1,57	36,27 \pm 1,57	31,44 \pm 1,25	27,33 \pm 1,50	16,03 \pm 2,28	8,44 \pm 5,65
Nombre femelles	62,50 \pm 4,50	54,25 \pm 2,41	53,73 \pm 2,52	34,06 \pm 2,75	28,17 \pm 3,25	10,47 \pm 2,53	5,31 \pm 3,50

(): mortalité totale non corrigée

* : différence significativ

III.1.6.5.3. Etude de l'influence du diméthoate sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence du diméthoate sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXIX.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA) la longueur et la largeur de l'aile d'*An. gambiae* s.s. diffèrent de façon significative selon la concentration du diméthoate chez le mâle ($F = 10,08$; $p < 0,0001$ pour la longueur et $F = 15,32$; $p < 0,0001$ pour la largeur) et chez la femelle ($F = 12,50$; $p < 0,0001$ pour la longueur et $F = 10,50$; $p < 0,0001$ pour la largeur) ; elles diminuent lorsque la concentration en diméthoate augmente (à la concentration de $0 \mu\text{g/l}$ qui est le témoin, nous avons obtenu $3,49 \pm 0,06$ mm de longueur chez le mâle et $3,66 \pm 0,06$ mm de longueur chez la femelle ; à la concentration maximale qui est de $3600 \mu\text{g/l}$, nous avons obtenu $3,23 \pm 0,11$ mm de longueur chez le mâle et $3,52 \pm 0,12$ mm de longueur chez la femelle) ;
- les comparaisons multiples indiquent cette diminution est graduelle des concentrations inférieures aux concentrations supérieures.

Tableau XXVII : Influence du diméthoate sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

Concentration ($\mu\text{g/l}$).	t	200	600	1200	2000	2800	3600	
Taille aile mâle (mm)	Longueur	$3,49 \pm 0,06$	$3,38 \pm 1,39^*$	$3,35 \pm 0,10^*$	$3,27 \pm 0,11^*$	$3,20 \pm 0,12^*$	$3,21 \pm 0,08^*$	$3,23 \pm 0,11^*$
	Largeur	$0,90 \pm 0,01$	$0,85 \pm 0,04^*$	$0,84 \pm 0,02^*$	$0,77 \pm 0,05^*$	$0,74 \pm 0,06^*$	$0,74 \pm 0,04^*$	$0,75 \pm 0,05^*$
Taille aile femelle (mm)	Longueur	$3,66 \pm 0,06$	$3,56 \pm 0,10^*$	$3,54 \pm 0,11^*$	$3,50 \pm 0,15^*$	$3,35 \pm 0,11^*$	$3,53 \pm 0,15^*$	$3,55 \pm 0,12^*$
	Largeur	$0,94 \pm 0,01$	$0,92 \pm 0,02^*$	$0,90 \pm 0,01^*$	$0,90 \pm 0,04^*$	$0,86 \pm 0,06^*$	$0,90 \pm 0,02^*$	$0,90 \pm 0,05^*$
Fécondité (nombre d'œufs)		$120,50 \pm 5,91$	$97,33 \pm 3,15^*$	$92,50 \pm 2,08^*$	$87,00 \pm 3,05^*$	$85,00 \pm 3,11^*$	$82,00 \pm 4,39^*$	$78,05 \pm 4,23^*$
Taux d'éclosion		98,74%	92,41%*	91,84%*	87,84%*	85,52%*	83,90%*	80,1%*

➤ * : différence significative

III.1.6.5.4. Etude de l'influence du diméthoate sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence du diméthoate sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n° XXIX.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le nombre d'œufs pondus par femelle et le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. diffèrent de façon significative selon la concentration du diméthoate ($H = 17,11$; $p < 0,0001$ pour le nombre d'œufs pondus par femelle et $H = 19,50$; $p < 0,0001$ pour le taux d'éclosion des œufs); ils diminuent lorsque la concentration en diméthoate augmente (à la concentration de $0 \mu\text{g/l}$ qui est le témoin, nous avons obtenu $120,50 \pm 5,91$ œufs pondus par femelle avec un taux d'éclosion de $98,74\%$; à la concentration maximale qui est de $3600 \mu\text{g/l}$, nous avons obtenu $78,05 \pm 4,23$ œufs pondus par femelle avec un taux d'éclosion de $80,10\%$);
- les comparaisons multiples indiquent cette diminution est graduelle des concentrations inférieures aux concentrations supérieures.

III.1.7. Etude de l'influence du méthyl-parathion sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur leur mortalité, sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

III.1.7.1. Etude de l'influence du méthyl-parathion sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence du méthyl-parathion sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXX.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA), la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative selon la concentration du méthyl-parathion ($F = 15,23$; $p < 0,0001$); elle augmente avec la concentration de l'insecticide (à la concentration de $0 \mu\text{g/l}$ qui est le témoin, nous avons obtenu $9,41 \pm 0,05$

jours ; à la concentration maximale qui est de 1,44 µg/l, nous avons obtenu 12,29 ± 0,19 jours) ;

➤ les comparaisons multiples indiquent que cette augmentation est graduelle avec la concentration de l'insecticide.

Tableau n°XXVIII: durée de développement (en jours) et mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae*s.s. en fonction de la concentration du méthyl-parathion

Concentrations (µg/l)	témoin	0,120	0,360	0,840	1,08	1,20	1,44
Durée des larves et nymphes (j)	9,41±0,05	10,10±0,06*	10,66±0,07*	11,06±0,12*	11,58±0,05*	12,11±0,14*	12,52±0,19*
modes larves et nymphes	2,50%	2,56%* (8,00%)	10,25%* (12,50%)	28,72%* (30,50%)	32,82%* (34,50%)	51,79%* (53,00%)	62,56%* (63,50%)
Nombre adultes	97,50±1,27	92,00±3,25	87,50±2,00	69,50±4,25	65,50±5,75	47,00±3,42	33,50±5,53
Nombre mâles	38,50±2,50	39,67±1,57	38,94±2,32	29,72±3,25	27,14±2,50	25,77±3,28	19,69±2,65
Nombre femelles	59,00±4,50	52,33±2,41	48,56±2,52	39,78±2,35	38,36±5,25	21,23±2,77	13,81±3,50

- (): mortalité totale non corrigée
- * : différence significative

III.1.7.2. Etude de l'influence du méthyl-parathion sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence du méthyl-parathion sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXI.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après:

➤ d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative avec la concentration en méthyl-parathion ($H = 27,17; p < 0,0001$) (à la concentration de 0 µg/l qui est le témoin, nous avons obtenu 2,50% des individus ; à la concentration maximale qui est de 1,44µg/l, nous avons obtenu 62,56% des individus) ;

➤ le sexe-ratio chez *An. gambiae* s.s. est en faveur des femelles dans le cas où le taux de mortalité des larves et des nymphes est inférieur à 50% et dans le cas contraire, il est en faveur des mâles.

III.1.7.3. Etude de l'influence du méthyl-parathion sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence du méthyl-parathion sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXVI.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA), la longueur et la largeur de l'aile d'*An. gambiae* s.s. diffèrent de façon significative selon la concentration du méthyl-parathion chez le mâle ($F = 12,78$; $p < 0,0001$ pour la longueur et $F = 14,30$; $p < 0,0001$ pour la largeur) et chez la femelle ($F = 13,20$; $p < 0,0001$ pour la longueur et $F = 10$, $p < 0,0001$ pour la largeur) ; elle diminuent lorsque la concentration de l'insecticide augmente (à la concentration de $0 \mu\text{g/l}$ qui est le témoin, nous avons obtenu $3,35 \pm 0,06$ mm de longueur chez le mâle et $3,66 \pm 0,11$ mm de longueur chez la femelle ; à la concentration maximale qui est de $1,44 \mu\text{g/l}$, nous avons obtenu $3,17 \pm 0,05$ mm de longueur chez le mâle et $3,42 \pm 0,11$ mm de longueur chez la femelle) ;
- la comparaison multiple précise que cette augmentation n'est pas significative de la concentration en méthyl-parathion de $0,120 \mu\text{g/l}$ à $0,840 \mu\text{g/l}$.

Tableau XXIX : taille des adultes, sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la concentration du méthyl-parathion

Concentration ($\mu\text{g/l}$).	t	0,120	0,360	0,840	1,08	1,2	1,44	
Taille aile mâle (mm)	Longueur	$3,35 \pm 0,06$	$3,34 \pm 0,09$	$3,34 \pm 0,08$	$3,24 \pm 0,06^*$	$3,19 \pm 0,06^*$	$3,18 \pm 0,09^*$	$3,17 \pm 0,05^*$
	largeur	$0,80 \pm 0,01$	$0,80 \pm 0,02$	$0,79 \pm 0,03$	$0,76 \pm 0,04^*$	$0,76 \pm 0,04^*$	$0,76 \pm 0,06^*$	$0,76 \pm 0,02^*$
Taille aile femelle (mm)	Longueur	$3,66 \pm 0,11$	$3,62 \pm 0,10$	$3,62 \pm 0,11$	$3,49 \pm 0,11^*$	$3,47 \pm 0,12^*$	$3,44 \pm 0,12^*$	$3,42 \pm 0,11^*$
	largeur	$0,94 \pm 0,02$	$0,92 \pm 0,04$	$0,93 \pm 0,10$	$0,90 \pm 0,04^*$	$0,89 \pm 0,02^*$	$0,88 \pm 0,01^*$	$0,88 \pm 0,38^*$
Fécondité (nombre d'œufs)		$119,82 \pm 8,21$	$109,30 \pm 7,10$	$104,20 \pm 6,87$	$97,00 \pm 5,28^*$	$96,80 \pm 3,55^*$	$95,40 \pm 4,52^*$	$93,30 \pm 3,28^*$
Taux d'éclosion		98,71 %	93,43 %	94,51 %	90,81 %*	88,85%*	84,85%*	83,53 %*

➤ * : différence significative

III.1.7.4. Etude de l'influence du méthyl-parathion sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence du méthyl-parathion sur la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) de 2007 à 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau^o XXXI.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le nombre d'œufs pondus par femelle et le taux d'éclosion des œufs d'*An. gambiae* s.s. diffèrent de façon significative selon la concentration du méthyl-parathion ($H = 19,32$; $p < 0,0001$ pour le nombre d'œufs pondus par femelle et $H = 20,63$; $p < 0,0001$ pour le taux d'éclosion des œufs) ; ils diminuent lorsque la concentration en méthyl-parathion augmente (à la concentration de $0 \mu\text{g/l}$ qui est le témoin, nous avons obtenu $119,82 \pm 8,21$ œufs pondus par femelle avec un taux d'éclosion de $98,71\%$; à la concentration maximale qui est de $1,44 \mu\text{g/l}$, nous avons obtenu $93,30 \pm 3,28$ œufs pondus par femelle avec un taux d'éclosion de $83,53\%$) ;
- la comparaison multiple précise que cette augmentation n'est pas significative de la concentration en méthyl-parathion de $0,120 \mu\text{g/l}$ à $0,840 \mu\text{g/l}$.

III.1.8. ETUDE DE L'INFLUENCE DE LA CYPERMETHRINE, DU DIMETHOATE, DU METHYL-PARATHION SUR 12 GENERATIONS SUCCESSIVES D'*AN. GAMBIAE*S.S. AU LABORATOIRE (CENTRE DE BIOTECHNOLOGIE A NKOLBISSON) EN 2008

L'étude de l'influence de la cyperméthrine, du diméthoate, du méthyl-parathion sur 12 générations successives d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (centre de biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 a pris en compte les paramètres suivants : la durée de développement des larves et des nymphes, la mortalité des larves et des nymphes, la longueur des ailes des adultes. L'analyse statistique nous a révélé qu'il existe une corrélation positive entre la longueur et la largeur de l'aile d'*An. gambiae* s.s. chez le mâle ($r = 0,95$; $p = 0,01$) et chez la femelle ($r = 0,97$; $p = 0,01$), entre la taille des femelles et le nombre d'œufs pondus par celles-ci ($r = 0,85$; $p = 0,01$) et entre le nombre d'œufs pondus par femelle et le taux d'éclosion des œufs ($r = 0,76$; $p = 0,01$).

III.1.9. Etude de l'influence de la cyperméthrine sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur leur mortalité, sur la taille des adultes de 12 générations successives d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

III.1.9.1. Etude de l'influence de la cyperméthrine sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence de la cyperméthrine sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA), la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. en présence de la cyperméthrine (à la concentration en cyperméthrine de 0,0750 µg/l), diffère de façon significative ($F = 10,96$; $p < 0,0001$) selon les générations;
- les comparaisons multiples montrent que cette durée fluctue légèrement de la 1^{ère} à la 6^e génération et diminue de façon significative à partir de la 7^e génération (à la 1^{ère} génération, nous avons obtenu $12,34 \pm 0,47$ jours ; à la 12^e génération, nous avons obtenu $10,56 \pm 0,25$ jours).

III.1.9.2. Etude de l'influence de la cyperméthrine sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence de la cyperméthrine sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. en présence de la cyperméthrine (à la concentration en cyperméthrine de 0,0750 µg/l), diffère de façon significative ($H = 42,57$; $p < 0,0001$) selon les générations;
- les comparaisons multiples montrent que cette mortalité fluctue légèrement de la 1^{ère} à la 6^e génération et diminue de façon significative à partir de la 7^e génération (à la 1^{ère} génération, nous avons obtenu 46,21% des individus ; à la 12^e génération, nous avons obtenu 14,81% des individus) ;

➤ le sexe-ratio chez *An. gambiae* s.s. est en faveur des femelles dans le cas où le taux de mortalité des larves et des nymphes est inférieur à 50% et dans le cas contraire, il est en faveur des mâles.

III.1.9.3. Etude de l'influence de la cyperméthrine sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence de la cyperméthrine sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXIII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

➤ d'après le test de l'Analyse des variances (ANOVA), la longueur de l'aile d'*An.gambiae* s.s. en présence de la cyperméthrine (à la concentration en cyperméthrine de 0,0750 µg/l), diffère de façon significative chez le mâle ($F = 19,53$; $p < 0,0001$) et chez la femelle ($F = 15,90$; $p < 0,0001$) selon les générations ;

➤ les comparaisons multiples montrent cette longueur fluctue légèrement de la 1^{ère} à la 6^e génération et augmente de façon significative à partir de la 7^e génération avec $3,23 \pm 0,08$ mm de longueur à la 1^{ère} génération et $3,39 \pm 0,07$ mm de longueur à la 12^e génération) et la 5^e génération avec $3,41 \pm 0,13$ mm de longueur à la 1^{ère} génération et $3,62 \pm 0,08$ mm de longueur à la 12^e génération).

Tableau n° XXX : durée de développement (en jours), mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. et nombre d'adultes obtenus après 12 générations successives en présence de la cyperméthrine à 0,0750 µg/l

Génération	G0 (absence d'insecticide)	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12
Durée larves et nymphes	9,53±0,12	12,34 ± 0,47	12,41 ± 0,54	12,31 ± 0,45	12,69 ± 0,51	11,76 ± 0,39	11,92 ± 0,42	11,46 ± 0,37 *	11,22 ± 0,29 *	11,08 ± 0,31 *	10,97 ± 0,27 *	11,05 ± 0,24 *	10,56 ± 0,25 *
mortalité larves et nymphes	2,50%	46,21%	44,93 %	45,44 %	42,56%	43,33 %	41,68%	23,51%*	22,47%*	19,10%*	16,88 %*	21,33%*	14,81 %*
Nombre d'adultes	97,50±1,50	53,79 ± 5,65	55,07 ± 4,79	54,56 ± 6,28	57,44 ± 4,89	56,67 ± 5,78	58,32± 5,46	66,49 ± 4,59	77,53 ± 3,68	80,90 ± 3,02	83,12 ± 2,87	78,67 ± 3,27	85,19 ± 2,07
Nombre de mâles	39,50±2,50	24,45± 2,98	27,37± 3,24	25,02 ± 3,56	23,74 ± 3,28	26,73 ± 3,25	30,76 ± 4,28	26,54 ± 3,28	26,90 ± 2,74	32,36 ± 2,58	28,84 ± 1,63	29,81 ± 2,07	33,14 ± 1,56
Nombre de femelles	58,00±4,50	29,34 ± 3,12	27,70± 3,18	29,54 ± 5,17	33,70 ± 2,98	29,94 ± 3,17	36,56 ± 3,86	39,95 ± 3,74	50,62 ± 2,01	48,54 ± 2,14	54,28 ± 2,69	48,85 ± 2,47	52,05 ± 2,14

* : différence significative par rapport à G₁

Tableau n° XXXI : longueur des ailes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives en présence de la cyperméthrine à 0,0750 µg/l

génération	G0 (absence d'insecticide)	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12
Longueur aile mâle (mm)	3,48 ± 0,08	3,23 ± 0,08	3,20 ± 0,08	3,22 ± 0,09	3,19 ± 0,07	3,29 ± 0,10	3,26 ± 0,10	3,31 ± 0,09 *	3,35 ± 0,11 *	3,37 ± 0,05 *	3,38 ± 0,10 *	3,40 ± 0,09 *	3,39 ± 0,07 *
Longueur aile femelle (mm)	3,66 ± 0,08	3,41 ± 0,13	3,43 ± 0,12	3,42 ± 0,12	3,45 ± 0,09	3,52 ± 0,08	3,54 ± 0,10	3,56 ± 0,14 *	3,58 ± 0,10 *	3,62 ± 0,08 *	3,60 ± 0,07 *	3,61 ± 0,05 *	3,62 ± 0,08 *

* : différence significative par rapport à G₁

III.1.10. Etude de l'influence du diméthoate sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur leur mortalité, sur la taille des adultes de 12 générations successives d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

III.1.10.1. Etude de l'influence du diméthoate sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence du diméthoate sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXIV.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

➤ d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA), la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. ne diffère pas de façon significative avec la concentration en diméthoate après douze générations successives ($F = 0,83$; $p = 0,603$).

III.1.10.2. Etude de l'influence du diméthoate sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. sur 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence du diméthoate sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXIV.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

➤ d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. en présence du diméthoate (à la concentration en diméthoate de 2000 µg/l), diffère de façon significative ($H = 29,024$; $p = 0,002$) selon les générations ;

➤ les comparaisons multiples montrent que ce taux de mortalité fluctue légèrement de la 1^{ère} à la 7^e génération puis diminue de façon significative à partir de la 8^e génération (à la 1^{ère} génération, nous avons obtenu 45,25% des individus ; à la 12^e génération, nous avons obtenu 35,01% des individus).

➤ le sexe-ratio chez *An. gambiae* s.s. est en faveur des femelles dans le cas où le taux de mortalité de larves et des nymphes est inférieur à 50% et dans le cas contraire, il est en faveur des mâles.

III.1.10.3. Etude de l'influence du diméthoate sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence du diméthoate sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n° XXXV.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de l'Analyse des variances (ANOVA), la longueur de l'aile d'*An. gambiae* s.s. en présence du diméthoate (à la concentration en diméthoate de 2000 µg/l), diffère de façon significative chez le mâle ($F = 7,438$; $p < 0,0001$) et chez la femelle ($F = 10,41$; $p < 0,0001$) selon les générations ;
- les comparaisons multiples montrent que cette longueur fluctue légèrement de la 1^{ère} à la 7^e génération et augmente de façon significative à partir de la 8^e génération ; nous avons enregistré chez le mâle $3,19 \pm 0,12$ mm de longueur à la 1^{ère} génération et $3,32 \pm 0,08$ mm de longueur à la 12^e génération, chez la femelle $3,34 \pm 0,09$ mm de longueur à la 1^{ère} génération et $3,44 \pm 0,06$ mm de longueur à la 12^e génération.

Tableau n° XXXII : durée de développement (jours), mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiaes.s.* et nombre d'adultes obtenus de 12 générations successives en présence du diméthoate à 2000 µg/l

Génération	G0 (absence d'insectici de)	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12
Durée larves et nymphes	9,09± 0,25	11,53 ± 0,36	11,50 ± 0,21	11,63 ± 0,39	11,49 ± 0,43	11,51 ± 0,33	11,50 ± 0,37	11,59 ± 0,37	11,38 ± 0,38	11,25 ± 0,30	11,32 ± 0,38	11,21 ± 0,32	11,22 ± 0,37
mortalité larves et nymphes	2,25%	45,25%	47,75%	45,50%	43,86 %	49,73%	47,32%	42,98%	39,16%*	38,42%*	34,68 %*	37,77%*	35,01%*
Nombre d'adultes	97,75± 1,25	54,75 ± 4,78	52,25 ± 3,98	54,50 ± 3,14	56,14 ± 4,58	50,27 ± 4,34	52,68 ± 5,32	57,02 ± 5,59	60,84 ± 4,68	61,58 ± 3,52	65,02 ± 4,87	62,23 ± 3,27	64,99 ± 4,07
Nombre de mâles	37,50± 2,50	25,85± 3,48	24,37± 3,24	24,52 ± 3,26	26,74 ± 3,28	23,73 ± 3,25	23,76 ± 4,35	26,54 ± 3,28	24,90 ± 3,44	25,36 ± 2,58	28,64 ± 3,63	27,71 ± 2,07	29,14 ± 2,56
Nombre de femelles	62,50± 4,50	28,90 ± 3,12	27,88± 3,42	29,98 ± 4,87	29,40 ± 3,91	26,54 ± 3,17	28,92 ± 3,86	30,48 ± 3,74	35,94 ± 4,01	36,22 ± 4,14	36,38 ± 2,69	34,52 ± 2,47	35,85 ± 2,14

* : différence significative par rapport à G₁

Tableau XXXIII: longueur des ailes d'*An. gambiae s.s.* de 12 générations successives en présence du diméthoate à 2000 µg/l

génération	G0 (absence d'insecticide)	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12
Longueur aile mâle (mm)	3,49 ± 0,06	3,19 ± 0,12	3,18 ± 0,11	3,21 ± 0,12	3,19 ± 0,08	3,18 ± 0,11	3,17 ± 0,10	3,20 ± 0,11	3,23 ± 0,10 *	3,26 ± 0,09 *	3,31 ± 0,10 *	3,29 ± 0,09 *	3,32 ± 0,08 *
Longueur aile femelle (mm)	3,66 ± 0,06	3,35 ± 0,09	3,35 ± 0,10	3,36 ± 0,10	3,37 ± 0,09	3,35 ± 0,11	3,34 ± 0,10	3,36 ± 0,11	3,40 ± 0,07 *	3,42 ± 0,04 *	3,43 ± 0,06 *	3,41 ± 0,09 *	3,44 ± 0,06 *

* : différence significative par rapport à G₁

III.1.11. Etude de l'influence du méthyl-parathion sur la durée de développement des larves et des nymphes, sur leur mortalité, sur la taille des adultes de 12 générations successives chez *An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

III.1.11.1. Etude de l'influence du méthyl-parathion sur la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence du méthyl-parathion sur la durée de développement des larves et des nymphes de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXVI.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de l'Analyse des Variances (ANOVA), la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. en présence du méthyl-parathion (à la concentration en méthyl-parathion de 1,20 µg/l), diffère de façon significative selon les générations ($F = 47,993$; $p < 0,0001$);
- les comparaisons multiples montrent que cette durée fluctue légèrement de la 1^{ère} à la 6^e génération puis diminue de façon significative à partir de la 7^e génération (à la 1^{ère} génération, nous avons obtenu $11,67 \pm 0,18$ jours ; à la 12^e génération, nous avons obtenu $10,47 \pm 0,26$ jours).

III.1.11.2. Etude de l'influence du méthyl-parathion sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence du méthyl-parathion sur la mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. sur 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXVI.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. en présence du méthyl-parathion (à la concentration en méthyl-parathion de 1,20 µg/l), diffère de façon significative ($H = 38,898$; $p < 0,0001$) selon les générations ;
- les comparaisons multiples montrent que cette mortalité fluctue légèrement de la 1^{ère} à la 6^e génération et diminue de façon significative à partir de la 7^e génération (à la 1^{ère} génération, nous avons obtenu 43,00% ; à la 12^e génération, nous avons obtenu 18,50%) ;

➤ le sexe-ratio chez *An. gambiae* s.s. est en faveur des femelles dans le cas où le taux de mortalité de larves et des nymphes est inférieur à 50% et dans le cas contraire, il est en faveur des mâles.

III.1.11.3. Etude de l'influence du méthyl-parathion sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008

L'étude de l'influence du méthyl-parathion sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2008 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n° XXXVII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

➤ d'après le test de l'Analyse des variances (ANOVA), la longueur de l'aile d'*An. gambiae* s.s. en présence du méthyl-parathion (à la concentration en méthyl-parathion de 1,20 µg/l), diffère de façon significative selon les générations chez le mâle ($F = 6,627$; $p < 0,0001$) et chez la femelle ($F = 8,41$; $p < 0,0001$) ;

➤ les comparaisons multiples montrent que cette longueur fluctue légèrement de la 1^{ère} à la 6^e génération et augmente de façon significative à partir 7^e génération chez le mâle et chez la femelle ; nous avons enregistré chez le mâle $3,21 \pm 0,09$ mm de longueur à la 1^{ère} génération et $3,35 \pm 0,11$ mm de longueur à la 12^e génération, chez la femelle $3,41 \pm 0,12$ mm de longueur à la 1^{ère} génération et $3,56 \pm 0,13$ mm de longueur à la 12^e génération.

Tableau n° XXXIV : durée de développement (jours), mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. et nombre d'adultes obtenus après de 12 générations successives en présence du méthyl-parathion à 1,20 µg/l

Génération	G0 (absence d'insectici de)	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12
Durée larves et nymphes	9,41± 0,05	11,67 ± 0,18	11,68 ± 0,14	11,98 ± 0,11	11,85 ± 0,48	11,77 ± 0,35	11,82 ± 0,44	11,50 ± 0,33 *	11,18 ± 0,32 *	11,16 ± 0,36 *	10,45 ± 0,22 *	10,58 ± 0,27 *	10,47 ± 0,26 *
mortalité larves et nymphes	2,50%	43,00 %	42,27%	41,25%	45,50%	44,00%	40,75%	30,17%*	27,00 %*	24,00%*	18,40%*	13,50%*	18,50*
Nombre d'adultes	97,50± 1,27	57,00 ± 4,27	57,73 ± 4,59	58,75 ± 5,24	54,50 ± 4,69	56,00 ± 4,23	59,25 ± 4,46	69,83 ± 4,27	73,00 ± 4,68	76,00 ± 3,02	81,60 ± 2,87	86,50 ± 3,27	81,50 ± 3,07
Nombre de mâles	38,50± 2,50	25,47± 2,59	26,43± 3,24	27,02 ± 3,51	25,85 ± 3,38	25,75 ± 3,15	27,56 ± 3,28	28,84 ± 3,39	30,78 ± 3,64	32,56 ± 2,58	34,92 ± 4,63	35,85 ± 4,07	34,44 ± 3,56
Nombre de femelles	59,00± 4,50	31,53 ± 3,01	31,30± 4,24	31,73 ± 4,32	28,65 ± 4,48	30,25 ± 3,37	31,69 ± 3,66	40,99 ± 3,64	42,22 ± 3,01	43,44 ± 3,14	46,68 ± 3,69	50,65 ± 5,47	47,06 ± 5,14

* : différence significative par rapport à G₁

Tableau XXXV : longueur des ailes d'*An. gambiae* s.s. de 12 générations successives en présence du méthyl-parathion 1,20 µg/l

génération	G0 (absence d'insecticide)	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12
Longueur aile mâle (mm)	3,49 ± 0,06	3,21 ± 0,09	3,20 ± 0,08	3,21 ± 0,10	3,23 ± 0,10	3,20 ± 0,10	3,22 ± 0,08	3,27 ± 0,10 *	3,29 ± 0,07 *	3,32 ± 0,11 *	3,34 ± 0,08 *	3,33 ± 0,12 *	3,35 ± 0,11 *
Longueur aile femelle (mm)	3,66 ± 0,06	3,41 ± 0,12	3,42 ± 0,10	3,40 ± 0,12	3,45 ± 0,09	3,39 ± 0,10	3,41 ± 0,09	3,48 ± 0,05 *	3,52 ± 0,12 *	3,55 ± 0,07 *	3,55 ± 0,10 *	3,53 ± 0,09 *	3,56 ± 0,13 *

* : différence significative par rapport à G₁

III.1.12. EFFET INSECTICIDE D'*AFRAMOMUM MELEGUETA*, DE *CALLISTEMON CITRINUS* ET DE *MONODORA MYRISTICA* SUR *AN. GAMBIAE*. S.S AU LABORATOIRE (CENTRE DE BIOTECHNOLOGIE A NKOLBISSON) EN 2009

III.1.12.1. Extraction des huiles essentielles d'*Aframomum melegueta*, de *Callistemon citrinus* et de *Monodora myristica* et identification de leurs composés.

III.1.12.1.1 Extraction des huiles essentielles d'*Aframomum melegueta*, de *Callistemon citrinus* et de *Monodora myristica* au laboratoire

L'extraction des huiles essentielles est faite par hydro-distillation des graines d'*A. melegueta* et de *M. myristica*, des feuilles de *C. citrinus*.

Nous rappelons que le rendement de l'extraction des huiles essentielles est le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal introduite dans l'hydro-distillateur.

L'hydro-distillation de 6500 g de graines d'*A. melegueta* a produit 12,50 g d'huile essentielle de couleur brun sombre pour un rendement de 0,19%. L'hydro-distillation de 3000 g de feuilles de *C. citrinus* a donné 22,50 g d'huile essentielle de couleur jaune clair pour un rendement de 0,75%. L'hydro-distillation de 2500 g de graines de *M. myristica* a produit 30 g d'huile essentielle de couleur jaune clair pour un rendement de 1,20% (tableau n°XXXVIII).

Tableau n°XXXVI : rendement d'extraction des huiles essentielles d'*Aframomum melegueta*, de *Callistemon citrinus* et de *Mondora myristica* au laboratoire en 2009

Espèce végétale	Famille botanique	Masse végétale	Masse Huile essentielle	Couleur de l'huile essentielle	Rendement d'extraction (%)
<i>A. melegueta</i>	Zingiberaceae	6500 g	12,5 g	Brun sombre	0,19
<i>C. citrinus</i>	Myrtaceae	3000 g	22,5g	Jaune-clair	0,75
<i>M. myristica</i>	Annonaceae	2500 g	30 g	Jaune-clair	1,20

III.1.12.1.2. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles d'*Aframomum melegueta*, de *Callistemon citrinus* et de *Monodora myristica* au laboratoire en 2009

III.1.12.1.3. Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle des graines d'*A. melegueta* au laboratoire en 2009

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle des graines d'*A. melegueta* au laboratoire en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n° XXXIX. Nous avons identifié 24 composés chimiques répartis en 3 classes fonctionnelles :

- 9 molécules de la classe des monoterpènes hydrocarbonés (MTH) dont le composé dominant est le α -Phellandrène (14,7% des 32,30% de composés de la classe) ;

- 10 molécules de la classe des monoterpènes oxygénés (MTO) dont le composé dominant est le 1,8-cinéole (41,5% des 63,70% de composés de la classe) ;
- 5 composés de la classe des sesquitérpènes hydrocarbonés (STH) dont le composé dominant est la germacrène D (1,4% des 2,70% de composés de la classe).

III.1.12.1.4. Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *C. citrinus*

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *C. citrinus* nous a donné les résultats consignés dans le tableau n° XXXIX. Nous avons identifié 19 composés chimiques répartis en 3 classes fonctionnelles :

- 6 molécules de la classe des monoterpènes hydrocarbonés (MTH) dont le composé dominant est le α -Pinène (13,4% des 21,80% de composés de la classe) ;
- 9 molécules de la classe des monoterpènes oxygénés (MTO) dont le composé dominant est le 1,8-cinéole (67,50% des 76,00% de composés de la classe) ;
- 5 molécules de la classe des sesquitérpènes hydrocarbonés (STH) dont le composé dominant est la germacrène D (0,80% de 1,50% de composés de la classe).

III.1.12.1.5. Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle des graines de *M. myristica*

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle des graines de *M. myristica* nous a donné les résultats consignés dans le tableau n° XXXIX. Nous avons identifié 20 composés chimiques répartis en 3 classes fonctionnelles :

- 9 molécules de la classe des monoterpènes hydrocarbonés (MTH) dont le composé dominant est le α -Phellandrène (34,40% des 74,50% de composés de la classe) ;
- 6 molécules de la classe des monoterpènes oxygénés (MTO) dont le composé dominant est le Pinocarvéol (6,30% des 14,40% de composés de la classe) ;
- 6 composés de la classe des sesquitérpènes hydrocarbonés (STH) dont le composé dominant est la germacrène D (1,40% des 2,90% de composés de la classe).

III.1.12.1.6. Etude comparative de la composition chimique des huiles essentielles d'*Aframomum melegueta*, de *Callistemon citrinus* et de *Monodora myristica*

L'étude comparative de la composition chimique des huiles essentielles d'*Aframomum melegueta*, de *Callistemon citrinus* et de *Monodora myristica* nous a permis de constater que les huiles

essentielles des trois plantes renferment les mêmes classes fonctionnelles de composés volatiles mais à des taux différents. Les huiles essentielles d'*A. melegueta* et de *C. citrinus* sont plus riches en monoterpènes oxygénés (MTO) avec respectivement 63,60% et 76,00% des composés chimiques identifiés contre 14,40% pour l'huile essentielle de *M. myristica* ; cette dernière quant à elle est plus riche en monoterpènes hydrocarbonés (MTH) avec 74,50% des composés chimiques identifiés contre 32,30% et 21,80% respectivement pour les huiles essentielles de d'*A. melegueta* et de *C. citrinus*. L'analyse des molécules des huiles essentielles des trois plantes nous a permis de constater que ces huiles ont en commun :

- 3 MTH : le α -pinène, le β -pinène et le α -Phellandrène ;
- 3 MTO : le 1,8-cinéole, le α -terpinéol et le linalol ;
- 4 STH : le β -caryophyllène, la germacrène D, le δ -cadinène et le γ -cadinène.

Les molécules particulières sont les suivantes :

- huile essentielle d'*A. melegueta*: le camphre (MTH), le camphène (MTO) et le gingérol (MTO) ;
- huile essentielle de *C. citrinus* : le α -terpinène (MTH), l'eugénol (MTO) et l'acétate de geranyl (MTO) ;
- huile essentielle de *M. myristica* : le β -phellandrène (MTH) et le thymol (MTO).

Tableau n°XXXVII: Composition chimique des huiles essentielles d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M.myristica* au laboratoire en 2009

Composés		Pourcentage (%) des composés		
		<i>A. melegueta</i>	<i>C. citrinus</i>	<i>M.myristica</i>
Monoterpènes	IK	95,90	97,80	88,90
Monoterpènes hydrocarbonés		32,30	21,80	74,50
α -Thujène	933	1,40	-	1,80
α -Pinène	937	12,60	13,40	6,30
Camphène	948	0,40	-	-
Sabinène	950	-	-	0,10
β -pinène	976	0,30	4,70	0,30
Myrcène	989	1,40	0,20	4,90
α -Phellandrène	1004	14,70	2,00	34,40
p-Cymène	1016	1,30	-	22,20
β -Phellandrène	1026	-	-	0,50
Limonène	1029	0,60	-	4,00
α -Terpinène	1016	-	0,90	-
Terpinolène	1085	0,20	0,60	-
Monoterpènes oxygénés		63,60	76,00	14,40
1,8-Cinéole	1027	41,40	67,50	0,20
Linalol	1096	0,40	0,60	3,10
Fenchone	1109	-	0,10	-
Pinocarvéol	1138	12,20	-	6,30
Camphre	1140	0,20	-	-
Terpinène-4-ol	1168	0,80	2,0	-
α -Terpinéol	1187	2,00	4,20	1,0
\square Gingerol $\square\square$	1214	3,40	-	-
citronellol	1228	0,40	0,20	-
Géraniol	1244	0,60	0,90	-
eugenol	1361	-	0,20	-
Acétate de géranyle	1381	-	0,30	-
Thymol	1295	-	-	0,20
Carvacrol	1300	2,30	-	3,60
Sesquiterpènes				
Sesquiterpènes hydrocarbonés		2,70	1,50	2,90
β -Caryophyllène	1432	0,60	0,40	0,80
γ \square -Muuroène	1477	0,20	-	0,30
Germacrène D	1490	1,20	0,80	1,40
γ -Cadinène	1509	0,30	0,20	0,10
δ \square -Cadinène	1525	0,40	0,10	0,30
autres		1,40	0,70	8,20

IK : Indice de rétention par ordre de dilution sur colonne DB-1

III.1.12.2. Effet larvicide des huiles essentielles d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M. myristica* sur *An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

III.1.12.2.1. Etude de la mortalité des larves d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. melegueta* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

III.1.12.2.2. Etude de la mortalité des larves de premier stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. melegueta* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'étude de la mortalité des larves de premier stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. melegueta* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXX.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves de premier stade d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative à la fois en fonction de la concentration de l'huile essentielle ($H = 10,258$; $p < 0,0001$) et de la durée d'exposition des larves à cette huile ($H = 10,258$; $p < 0,0001$) ; il augmente avec la concentration en huile essentielle d'*A. melegueta* d'une part et d'autre part avec la durée d'exposition de ces larves ;
- l'analyse des probits et la droite de régression $y = 3,458x + 1,669$ (figure n° 1 annexe) nous ont permis de déterminer les concentrations létales des larves de premier stade d'*An. gambiae* s.s.. Nous avons obtenu la CL_{50} à 9,19 ppm, la CL_{90} à 21,55 ppm et la CL_{95} à 27,38 ppm.

Tableau XXXVIII: Mortalité des larves de premier stade d'*Anopheles gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. melegueta*

concentrations	temps					
	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	120 min
témoin	0%	0%	0%	0%	0%	0%
10 ppm	0%	17,00%	26,25%	64,25%	83,50%	100%
30 ppm	29,75%	47,25%	74,50%	96,75%	100%	/
50 ppm	42,50%	75,00%	97,25%	100%	/	/
100 ppm	81,75%	100%	/	/	/	/
150 ppm	100%	/	/	/	/	/

III.1.12.2.3. Etude de la mortalité des larves de deuxième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. melegueta* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'étude de la mortalité des larves de deuxième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. melegueta* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXXXI.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves de deuxième stade d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative à la fois en fonction de la concentration de l'huile essentielle ($H = 26,328$; $p < 0,0001$) et de la durée d'exposition des larves à cette huile ($H = 10,125$; $p < 0,0001$) ; il augmente avec la concentration en huile essentielle d'*A. melegueta* d'une part et d'autre part avec la durée d'exposition de ces larves ;
- l'analyse des probits et la droite de régression dont l'équation est $y = 3,458x + 1,665$ (figure n° 1 annexe) nous ont permis de déterminer les concentrations létales des larves de deuxième stade d'*An. gambiae* s.s.. Nous avons obtenu la CL₅₀ à 9,21 ppm, la CL₉₀ à 21,60 ppm et la CL₉₅ à 27,46 ppm.

Tableau XXXIX: Mortalité des larves de deuxième stade d'*Anopheles gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. melegueta*

concentrations	temps					
	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	120 min
témoin	0%	0%	0%	0%	0%	0%
10 ppm	0%	16,50%	26,25%	61,75%	83,00%	100%
30 ppm	28,00%	45,75%	74,50%	96,75%	100%	/
50 ppm	42,50%	75,00%	97,25%	100%	/	/
100 ppm	81,00%	100%	/	/	/	/
150 ppm	100%	/	/	/	/	/

III.1.12.2.4. Etude de la mortalité des larves de troisième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. melegueta* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'étude de la mortalité des larves de troisième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. melegueta* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXXXII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

➤ d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves de troisième stade d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative à la fois en fonction de la concentration de l'huile essentielle ($H = 32,342$; $p < 0,0001$) et de la durée d'exposition des larves à cette huile ($H = 13,258$; $p < 0,0001$); il augmente avec la concentration en huile essentielle d'*A. melegueta* d'une part et d'autre part avec la durée d'exposition de ces larves ;

➤ l'analyse des probits et la droite de régression $y = 4,007x + 0,163$ (figure n° 3 annexe) nous ont permis de déterminer les concentrations létales des larves de troisième stade d'*An. gambiae* s.s.. Nous avons obtenu la CL₅₀ à 16,11 ppm, la CL₉₀ à 33,62 ppm et la CL₉₅ à 41,34 ppm.

Tableau n°XXXX: Mortalité des larves de troisième stade d'*Anopheles gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. melegueta* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

concentrations	temps								
	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	120 min	140 min	160 min	180 min
témoin	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
10 ppm	0%	0%	12,25%	16,50%	29,50%	51,75%	67,00%	86,25%	100%
30 ppm	22,50%	35,50%	55,50%	69,75%	79,75%	94,50%	100%		
50 ppm	25,75%	47,75%	64,25%	78,50%	97,50%	100%			
100 ppm	37,50%	81,75%	100%						
150 ppm	84,50%	100%							

III.1.12.2.5. Etude de la mortalité des larves de quatrième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. melegueta* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'étude de la mortalité des larves de quatrième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. melegueta* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXIII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

➤ d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves de quatrième stade d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative à la fois en fonction de la concentration de l'huile essentielle ($H = 32,354$; $p < 0,0001$) et de la durée d'exposition des larves à cette huile ($H = 12, 587$; $p < 0,0001$); il augmente avec la concentration en huile essentielle d'*A. melegueta* d'une part et d'autre part avec la durée d'exposition de ces larves ;

➤ l'analyse des probits et la droite de régression $y = 4,007x + 0,161$ (figure n° 4 annexe) nous ont permis de déterminer les concentrations létales des larves de quatrième stade d'*An. gambiae* s.s.. Nous avons obtenu la CL₅₀ à 16,13 ppm, la CL₉₀ à 33,67 ppm et la CL₉₅ à 41,42 ppm.

Tableau n°XXXXI: Mortalité des larves de quatrième stade d'*Anopheles gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. melegueta* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

concentrations	temps								
	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	120 min	140 min	160 min	180 min
témoin	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
10 ppm	0%	0%	11,25%	16,50%	26,50%	49,75%	65,75%	84,75%	100%
30 ppm	21,00%	33,50%	55,50%	67,75%	78,25%	94,00%	100%		
50 ppm	24,25%	46,00%	64,25%	78,50%	97,50%	100%			
100 ppm	56,50%	81,75%	100%						
150 ppm	82,50%	100%							

III.1.12.3. Etude de la mortalité des larves d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. citrinus* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

III.1.12.3.1. Etude de la mortalité des larves de premier stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. citrinus* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'étude de la mortalité des larves de premier stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. citrinus* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXXIV.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves de premier stade d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative à la fois en fonction de la concentration de l'huile essentielle ($H = 28,634$; $p < 0,0001$) et de la durée d'exposition des larves à cette huile ($H = 11,321$; $p < 0,0001$) ; il augmente avec la concentration en huile essentielle de *C. citrinus* d'une part et d'autre part avec la durée d'exposition de ces larves ;
- l'analyse des probits et la droite de régression $y = 3,809X + 0,686$ (figure n° 1 annexe) nous ont permis de déterminer les concentrations létales des larves de premier stade d'*An. gambiae* s.s.. Nous avons obtenu la CL₅₀ à 13,57 ppm, la CL₉₀ à 29,41 ppm et la CL₉₅ à 36,57 ppm.

Tableau n°XXXXII: Mortalité des larves de premier stade d'*Anopheles gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. citrinus* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

concentrations	temps						
	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	120 min	140 min
témoin	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
10 ppm	0%	9,50%	19,25%	44,25%	68,75%	82,25%	100%
30 ppm	21,75%	36,25%	67,50%	76,75%	82,50%	100%	
50 ppm	39,50%	60,50%	86,75%	100%	/	/	
100 ppm	76,75%	100%	/	/	/	/	
150 ppm	100%	/	/	/	/	/	

III.1.12.3.2. Etude de la mortalité des larves de deuxième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. citrinus* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'étude de la mortalité des larves de deuxième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. citrinus* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXXV.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves de deuxième stade d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative à la fois en fonction de la concentration de l'huile essentielle ($H = 28,289$; $p < 0,0001$) et de la durée d'exposition des larves à cette huile ($H = 11,745$; $p < 0,0001$); il augmente avec la concentration en huile essentielle de *C. citrinus* d'une part et d'autre part avec la durée d'exposition de ces larves;
- l'analyse des probits et la droite de régression $y = 3,809X + 0,683$ (figure n° 1 annexe) nous ont permis de déterminer les concentrations létales des larves de deuxième stade d'*An. gambiae* s.s.. Nous avons obtenu la CL₅₀ à 13,59 ppm, la CL₉₀ à 29,47 ppm et la CL₉₅ à 36,64 ppm.

Tableau n°XXXIII: Mortalité des larves de deuxième stade d'*Anopheles gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. citrinus* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

	20 mn	40 mn	60 mn	80 mn	100 mn	120 mn	140 mn
témoin	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
10 ppm	0%	9,50%	19,00%	42,75%	68,50%	82,00%	100%
30 ppm	21,75%	36,25%	66,50%	74,75%	82,50%	100%	
50 ppm	36,50%	59,50%	86,00%	100%	/	/	
100 ppm	73,75%	100%	/	/	/	/	
150 ppm	100%	/	/	/	/	/	

III.1.12.3.3. Etude de la mortalité des larves de troisième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. citrinus* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'étude de la mortalité des larves de troisième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. citrinus* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXXVI.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves de troisième stade d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative à la fois en fonction de la concentration de l'huile

essentielle ($H = 13,745$; $p < 0,0001$) et de la durée d'exposition des larves à cette huile ($H = 10,258$; $p < 0,0001$) ; il augmente avec la concentration en huile essentielle de *C. citrinus* d'une part et d'autre part avec la durée d'exposition de ces larves ;

➤ l'analyse des probits et la droite de régression $y = 5,742X - 3,680$ (figure n° 3 annexe) nous ont permis de déterminer les concentrations létales des larves de troisième stade d'*An. gambiae* s.s.. Nous avons obtenu la CL_{50} à 32,48 ppm, la CL_{90} à 54,27 ppm et la CL_{95} à 62,70 ppm.

Tableau n°XXXXIV: Mortalité des larves de troisième stade d'*Anopheles gambiae* s.s. en

concentrat	temps									
	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	120 min	140 min	160 min	180 min	200 min
témoin	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
10 ppm	0%	0%	0%	8,5%	16,00%	24,75%	54,00%	72,00%	89,00%	100%
30 ppm	9,50%	18,50%	33,75%	54,00%	63,75%	72,00%	86,25%	95,50%	100%	
50 ppm	20,75%	40,7%	60,50%	72,50%	87,50%	100%				
100 ppm	37,50%	69,75%	79,25%	95,50%	100%					
150 ppm	74,50%	85,50%	100%							

fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. citrinus* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

III.1.12.3.4. Etude de la mortalité des larves de quatrième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. citrinus* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'étude de la variation des taux mortalité des larves de quatrième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. citrinus* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXXVII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

➤ d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux demortalité des larves de quatrième stade d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative à la fois en fonction de la concentration de l'huile essentielle ($H = 28,348$; $p < 0,0001$) et de la durée d'exposition des larves à cette huile ($H = 13,368$; $p < 0,0001$) ; il augmente avec la concentration en huile essentielle de *C. citrinus* d'une part et d'autre part avec la durée d'exposition de ces larves ;

➤ l'analyse des probits et la droite de régression $y = 5,742X - 3,684$ (figure n° 3 annexe) nous ont permis de déterminer les concentrations létales des larves de quatrième stade d'*An. gambiae* s.s.. Nous avons obtenu la CL_{50} à 32,53 ppm, la CL_{90} à 54,36 ppm et la CL_{95} à 62,80 ppm.

Tableau n°XXXXV: Mortalité des larves de quatrième stade d'*Anopheles gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. citrinus* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

concentrations	temps									
	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	120 min	140 min	160 min	180 min	200 min
témoin	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
10 ppm	0%	0%	0%	7,5%	16,00%	23,50%	54,00%	71,50%	87,75%	100%
30 ppm	9,00%	18,00%	33,00%	52,75 %	63,75%	71,75%	86,00%	95,50%	100%	
50 ppm	20,00%	40,75%	60,50%	72,00%	87,50%	100%				
100 ppm	37,00%	69,75%	79,00%	95,50%	100%					
150 ppm	74,50%	83,50%	100%							

III.1.12.4. Etude de la mortalité des larves d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. myristica* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

III.1.12.4.1. Etude de la mortalité des larves de premier stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. myristica* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'étude de la mortalité des larves de premier stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. myristica* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°XXXXVIII.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves de premier stade d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative à la fois en fonction de la concentration de l'huile essentielle ($H = 24,639$; $p < 0,0001$) et de la durée d'exposition des larves à cette huile ($H = 10,418$; $p < 0,0001$); il augmente avec la concentration en huile essentielle de *M. myristica* d'une part et d'autre part avec la durée d'exposition de ces larves ;
- l'analyse des probits et la droite de régression $y = 3,462X + 1,658$ (figure n° 1 annexe) nous ont permis de déterminer les concentrations létales des larves de premier stade d'*An. gambiae* s.s.. Nous avons obtenu la CL₅₀ à 9,23 ppm, la CL₉₀ à 21,55 ppm et la CL₉₅ à 27,48 ppm.

Tableau n°XXXXVI: Mortalité des larves de premier stade d'*Anopheles gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. myristica* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

concentrations	temps					
	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	120 min
témoin	0%	0%	0%	0%	0%	0%
10 ppm	0%	13,50%	25,25%	62,25%	81,75%	100%
30 ppm	26,75%	45,25%	73,75%	94,75%	100%	
50 ppm	40,50%	75,00%	96,25%	100%	/	/
100 ppm	79,75%	100%	/	/	/	/
150 ppm	100%	/	/	/	/	/

III.1.12.4.2. Etude de la mortalité des larves de deuxième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. myristica* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'étude de la mortalité des larves de deuxième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. myristica* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°L.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves de deuxième stade d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative à la fois en fonction de la concentration de l'huile essentielle ($H = 24,639$; $p < 0,0001$) et de la durée d'exposition des larves à cette huile ($H = 10,418$; $p < 0,0001$); il augmente avec la concentration en huile essentielle de *M. myristica* d'une part et d'autre part avec la durée d'exposition de ces larves ;
- l'analyse des probits et la droite de régression $y = 3,462X + 1,655$ (figure n° 2 annexe) nous ont permis de déterminer les concentrations létales des larves de deuxième stade d'*An. gambiae* s.s.. Nous avons obtenu la CL_{50} à 9,25 ppm, la CL_{90} à 21,67 ppm et la CL_{95} à 27,53 ppm.

Tableau n°XXXXVII: Mortalité des larves de deuxième stade d'*Anopheles gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. myristica* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

concentrations	temps					
	20 mn	40 mn	60 mn	80 mn	100 mn	120 mn
témoin	0%	0%	0%	0%	0%	0%
10 ppm	0%	13,50%	24,75%	63,00%	81,00%	100%
30 ppm	25,75%	46,00%	72,75%	94,75%	100%	
50 ppm	38,50%	73,00%	94,75%	100%	/	/
100 ppm	77,50%	100%	/	/	/	/
150 ppm	100%	/	/	/	/	/

III.1.12.4.3. Etude de la mortalité des larves de troisième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. myristica* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'étude de la mortalité des larves de troisième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. myristica* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°L.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves de troisième stade d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative à la fois en fonction de la concentration de l'huile essentielle ($H = 32,564$; $p < 0,0001$) et de la durée d'exposition des larves à cette huile ($H = 13,289$; $p < 0,0001$); il augmente avec la concentration en huile essentielle de *M. myristica* d'une part et d'autre part avec la durée d'exposition de ces larves ;
- l'analyse des probits et la droite de régression $y = 4,025X + 0,093$ (figure n° 3 annexe) nous ont permis de déterminer les concentrations létales des larves de troisième stade d'*An. gambiae* s.s.. Nous avons obtenu la CL_{50} à 16,56 ppm, la CL_{90} à 34,45 ppm et la CL_{95} à 42,32 ppm.

Tableau n° XXXXVIII: Mortalité des larves de troisième stade d'*Anopheles gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. myristica* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

concentrations	temps								
	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	120 min	140 min	160 min	180 min
témoin	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
10 ppm	0%	0%	11,00%	15,50%	28,25%	49,75%	66,00%	86,00%	100%
30 ppm	20,75%	35,00%	54,50%	67,50%	79,75%	94,00%	100%		
50 ppm	24,75%	47,00%	65,75%	78,50%	97,50%	100%			
100 ppm	35,50%	82,75%	100%						
150 ppm	81,50%	100%							

III.1.12.4.4. Etude de la mortalité des larves de quatrième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. myristica* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'étude de la mortalité des larves de quatrième stade d'*An. gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. myristica* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n°LI.

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, le taux de mortalité des larves de quatrième stade d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative à la fois en fonction de la concentration de l'huile

essentielle ($H = 32,564$; $p < 0,0001$) et de la durée d'exposition des larves à cette huile ($H = 13,289$; $p < 0,0001$); il augmente avec la concentration en huile essentielle de *M. myristica* d'une part et d'autre part avec la durée d'exposition de ces larves ;

➤ L'analyse des probits et la droite de régression $y = 4,025X + 0,090$ (figure n° 4 annexe) nous ont permis de déterminer les concentrations létales des larves de quatrième stade d'*An. gambiae* s.s.. Nous avons obtenu la CL₅₀ à 16,59 ppm, la CL₉₀ à 34,50 ppm et la CL₉₅ à 42,39 ppm.

Tableau XXXXIX: Mortalité des larves de quatrième stade d'*Anopheles gambiae* s.s. en fonction de la durée d'exposition à différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. myristica* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

concentrations	temps								
	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	120 min	140 min	160 min	180 min
témoin	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
10 ppm	0%	0%	10,00%	13,50%	27,75%	49,75%	66,00%	85,50%	100%
30 ppm	16,00%	33,00%	54,00%	65,50%	79,75%	95,00%	100%		
50 ppm	24,75%	46,00%	65,00%	78,50%	97,00%	100%			
100 ppm	35,00%	82,00%	100%						
150 ppm	81,00%	100%							

III.1.12.5 Etude de l'effet adulticide des huiles essentielles d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M. myristica* à différentes concentrations sur les femelles d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'effet adulticide des huiles essentielles d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M. myristica* à différentes concentrations sur les femelles d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 prend en compte :

- l'effet adulticide des huiles essentielles d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M. myristica* sur les femelles d'*An. gambiae* s.s. à différentes concentrations pendant 24 heures d'observation;
- L'effet "knock-down" défini par l'OMS (1991) comme un effet adulticide particulier à différentes concentrations des huiles essentielles sur les femelles d'*An. gambiae* s.s.. Il consiste à exposer les individus pendant 3 minutes aux huiles essentielles et à les observer pendant 60 minutes.

III.1.12.6. Etude de l'effet adulticide de l'huile essentielle d'*A. melegueta* à différentes concentrations sur les femelles d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'étude de l'effet adulticide de l'huile essentielle d'*A. melegueta* à différentes concentrations sur les femelles d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n° LII.

Tableau n° L: Effet adulticide de l'huile essentielle d'*A. melegueta* à différentes concentrations sur les femelles d'*An. gambiae* s.s.

<i>A. melegueta</i>								
Concentrations (ppm)	t	50	100	150	200	250	H	p
Taux de mortalité des femelles	0	0%	58,75%	63,50%	85,00%	100%	22,72	< 0,0001

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, l'effet adulticide de l'huile essentielle d'*A. melegueta* sur les femelles d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative ($H = 22,72$; $p < 0,0001$) selon la concentration ; il augmente avec la concentration de l'huile essentielle (à la concentration de 0 ppm qui est le témoin, nous avons obtenu 0% ; à la concentration de 250 ppm qui est la concentration maximale, nous avons obtenu 100% des individus) ;
- l'analyse des probits et la droite de régression $y = 6,626x - 8,123$ (figure n° 5 annexe) nous ont permis de déterminer les concentrations létales des femelles d'*An. gambiae* s.s.. Nous avons obtenu la CL₅₀ à 95,62 ppm, la CL₉₀ à 154,83 ppm et la CL₉₅ à 169,06 ppm.
- L'analyse des probits et les équations des droites de régression (tableau n° LIII) nous ont permis de déterminer les Tkd₅₀, Tkd₉₀ et Tkd₉₅ des femelles d'*An. gambiae* s.s. en présence de l'huile essentielle d'*A. melegueta*. Ces temps sont respectivement :
 - concentration de 50 ppm : pas d'effet "knock-down" ;
 - concentration de 100 ppm : Tkd₅₀ à 54 min. 7 s., Tkd₉₀ à 16 min. 28 s., Tkd₉₅ à 5 min. 52 s. ;
 - concentration de 150 ppm : Tkd₅₀ à 85 min. 42s., Tkd₉₀ à 24 min. 45 s., Tkd₉₅ à 7 min 36 s. ;
 - concentration de 200 ppm : Tkd₅₀ à 191 min. 7 s., Tkd₉₀ à 48 min. 53 s., Tkd₉₅ à 8 min. 53s. ;
 - concentration de 250 ppm : toutes les femelles sont assommées.

Tableau n° LI: Equations des droites de régression des temps de "knock-down" (Tkd) des femelles d'*An. gambiae* s.s. en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. melegueta*

<i>A. melegueta</i>					
Concentrations (ppm)	50	100	150	200	250
Equations droites de régression	$y = 1,91$	$y = -0,034x + 6,840$	$y = -0,021x + 6,800$	$y = -0,009x + 6,720$	$y = 8,72$

III.1.12.7. Etude de l'effet adulticide de l'huile essentielle de *C. citrinus* à différentes concentrations sur les femelles d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'étude de l'effet adulticide de l'huile essentielle de *C. citrinus* à différentes concentrations sur les femelles d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n° LIV.

Tableau n° LII: Effet adulticide de l'huile essentielle de *C. citrinus* à différentes concentrations sur les femelles d'*An. gambiae* s.s.

Concentrations (ppm)	<i>C.citrinus</i>						H	p
	t	50	100	150	200	250		
Taux de mortalité des femelles	0	0%	72,50%	92,50 %	100%	100%	22,33	< 0,0001

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, l'effet adulticide de l'huile essentielle de *C. citrinus* sur les femelles d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative selon la concentration ($H = 22,33$; $p < 0,0001$) ; il augmente avec la concentration de l'huile essentielle (à la concentration de 0 ppm qui est le témoin, nous avons obtenu 0% ; à la concentration de 250 ppm qui est la concentration maximale, nous avons obtenu 100% des individus) ;
- l'analyse des probits et la droite de régression $y = 6,385X - 6,892$ (figure n° 5 annexe) nous ont permis de déterminer les concentrations létales des femelles adultes d'*An. gambiae* s.s.. Nous avons obtenu la CL_{50} à 72,86 ppm, la CL_{90} à 115,60 ppm et la CL_{95} à 131,62 ppm.
- l'analyse des probits et les équations des droites de régression (tableau n° LV) nous ont permis de déterminer les Tkd_{50} , Tkd_{90} et Tkd_{95} des femelles d'*An. gambiae* s.s. en présence de l'huile essentielle de *C. citrinus*. Ces temps sont respectivement :
 - concentration de 50 ppm : pas d'effet "knock-down";
 - concentration de 100 ppm : Tkd_{50} à 60 min. 4 s., Tkd_{90} à 19 min. 23 s., Tkd_{95} à 6 min. 58 s.;
 - concentration de 150 ppm : Tkd_{50} à 116 min. 55 s., Tkd_{90} à 82 min. 19 s., Tkd_{95} à 72 min. 35s.;
 - concentration de 200 ppm : toutes les femelles sont assommées;
 - concentration de 250 ppm : toutes les femelles sont assommées.

Tableau n° LIII : Equations des droites de régression des temps de "knock-down" (Tkd) des femelles d'*An. gambiae* s.s. en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de *C. citrinus* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

<i>C.citrinus</i>					
Concentrations (ppm)	50	100	150	200	250
Equations droites de régression	$y = 1,72$	$y = -0,029X + 6,857$	$y = -0,037X + 9,326$	$y = 8,72$	$y = 8,72$

III.1.12.8. Etude de l'effet adulticide de l'huile essentielle de *M. myristica* à différentes concentrations sur les femelles d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

L'étude de l'effet adulticide de l'huile essentielle de *M. myristica* à différentes concentrations sur les femelles d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009 nous a donné les résultats consignés dans le tableau n° LVI.

Tableau n°LIV: Effet adulticide de l'huile essentielle de *M. myristica* à différentes concentrations sur les femelles d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

<i>M.myristica</i>								
Concentrations (ppm)	t	50	100	150	200	250	H	p
Taux de mortalité des femelles	0	0%	60,50%	87,50%	98,75%	100%	22,73	< 0,0001

Ces résultats nous ont permis de dégager les observations ci-après :

- d'après le test de Kruskal-Wallis, l'effet adulticide de l'huile essentielle de *M. myristica* sur les femelles d'*An. gambiae* s.s. diffère de façon significative selon la concentration ($H = 22,73$; $p < 0,0001$) ; il augmente avec la concentration de l'huile essentielle (à la concentration de 0 ppm qui est le témoin, nous avons obtenu 0% ; à la concentration de 250 ppm qui est la concentration maximale, nous avons obtenu 100% des individus) ;
- l'analyse des probits et la droite de régression $y = 6,626x - 8,113$ (figure n° 5 annexe) nous ont permis de déterminer les concentrations létales des femelles d'*An. gambiae* s.s. CL₅₀ à 95,28 ppm ; CL₉₀ à 148,66 ppm et CL₉₅ à 168,47 ppm.
- l'analyse des probits et les équations des droites de régression (tableau n° LVII) nous ont permis de déterminer les Tkd₅₀, Tkd₉₀ et Tkd₉₅ des femelles d'*An. gambiae* s.s. en présence de l'huile essentielle de *M. myristica*. Ces temps sont respectivement :
 - concentration de 50 ppm : pas d'effet "knock-down";

- concentration de 100 ppm :Tkd₅₀ à 54 min. 37 s., Tkd₉₀ à 16 min. 58s., Tkd₉₅ à 6 min. 38 s.;
- concentration de 150 ppm :Tkd₅₀ à 87 min. 8 s., Tkd₉₀ à 26 min. 11s., Tkd₉₅ à 12 min. 20s.;
- concentration de 200 ppm:Tkd₅₀ à 194 min. 33s., Tkd₉₀ à 52 min. 20 s.,Tkd₉₅ à 12 min. 20 s.;
- concentration de 250 ppm : toutes les femelles sont assommées.

Tableau n° LV: Equations des droites de régression des temps de "knock-down" (Tkd) des femelles d'*An. gambiae* s.s. en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. myristica* au laboratoire (Centre de Biotechnologie à Nkolbisson) en 2009

<i>M.myristica</i>					
Concentrations (ppm)	50	100	150	200	250
Equations droites de régression	$y = 1,91$	$y = -0,034x + 6,840$	$y = -0,021x + 6,830$	$y = -0,009x + 6,751$	$y = 8,72$

III-2 DISCUSSION

La production des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. s'observe pendant 8 mois de chacune des années 2007 et 2008 ; ces mois sont: mars, avril, mai, juin, juillet, septembre, octobre et novembre. Pendant les mois de janvier, de février, d'août et de décembre, les productions des larves et des nymphes sont nulles. A l'exception du mois de juillet, les autres mois pendant lesquels nous avons observé les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. à Nkolbisson sont les mois de pluies. Il existe à cet effet une corrélation positive entre les productions des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. et la pluviométrie. Au Cameroun, Robert *et al.* (1992) dans la région du Nord, Manga *et al.* (1992), Antonio-Nkondjio *et al.* (2005) dans la région du Centre, Tchinkam *et al.* (2010), Akono *et al.* (2010) dans la région de l'Ouest et Bakwo (2012) dans la région du Sud, ont obtenu des résultats similaires. En Côte d'Ivoire, dans la ville de Bouaké, Dossou *et al.* (1998) ont révélé une corrélation de même nature entre les productions des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. et la pluviométrie. Nos travaux antérieurs (mémoire de D.E.A., 2003) sur les productions des individus des stades aquatiques d'*An. funestus* à Nkolbisson ont révélé une corrélation négative entre les productions des individus des stades aquatiques et la pluviométrie qui se justifie par le phénomène de lessivage des individus des stades aquatiques apporté par les fortes pluies.

Les mois de mars, avril, mai et juin correspondent à la petite saison des pluies dans la région forestière du Cameroun (Suchel, 1987). Nous avons noté une production croissante des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. de mars à juin avec un pic en juin. Les faibles productions des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. du début de la petite saison des pluies, c'est-à-dire, en mars, s'expliquent par l'apparition des premiers gîtes à partir de la 2^e quinzaine du mois de mars ; toutefois, leur nombre reste faible. Les mois de sécheresse de janvier et de février, c'est-à-dire, de la fin de la grande saison sèche, précèdent le mois de mars, début de la petite saison des pluies. Les premières pluies de mars n'engendrent pas de gîtes suite à l'absorption de l'eau de pluies par le sol asséché. Au fur et à mesure que les pluies s'intensifient, l'absorption de l'eau par le sol diminue ; un sol imbibé d'eau retient les eaux de pluie, permettant ainsi la formation des gîtes pour un bon développement des individus des stades aquatiques (Bioley, 1991). Des faits similaires ont été observés par Akono (2011) à l'Ouest Cameroun, Wanderli *et al.* (2002) au Brésil. Dans le cas d'*An. gambiae* s.l., le développement complet des stades aquatiques requiert au moins 10 jours (Diop & Molez 1998; Foko *et al.*, 2007). Les productions des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s. l. que nous avons

obtenues au mois de mars correspondent effectivement à la seule récolte de la fin de ce mois. Plusieurs travaux ont montré que les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l., principal vecteur du paludisme en Afrique sub-saharienne en général et au Cameroun en particulier, affectionnent les collections d'eau fraîche, claire et ensoleillée, des gîtes temporaires de petite taille (Holstein, 1952; Gillies et al., 1968 ; Manga et al., 1992 et Caldas del Castro et al., 2004 ; Akono, 2011). Ces caractéristiques des gîtes font de la petite saison des pluies, la période la plus productive des individus des stades aquatiques de ce complexe d'espèces de moustique. Pendant cette saison, les jours de pluie sont suivis des jours d'ensoleillement ; ceci stimule l'activité reproductrice des femelles d'*An. gambiae* s.l. (Caldas del Castro et al., 2004). En outre, les pluies ne sont pas très fortes ; ce qui limite le phénomène de lessivage des œufs, des larves et des nymphes de Culicidae. Le lessivage des œufs, des larves et des nymphes correspond à leur drainage par les forts courants des eaux de pluie. Le pic de production des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. que nous avons observé en juin s'explique par l'augmentation du nombre de gîtes suite à une meilleure rétention des eaux de pluie par le sol.

Nous avons également observé les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. pendant le mois de juillet qui correspond au premier mois de la petite saison sèche dans la région forestière du Cameroun (Suchel, 1987). Ce fait se justifie par la persistance des gîtes et partant, des larves et des nymphes de Culicidae au-delà du mois de juin. En effet, les individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. sont présents pendant les deux premières semaines du mois de juillet, c'est-à-dire, le début de la petite saison sèche où les pluies deviennent extrêmement rares.

Nous avons enfin observé les productions des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. pendant les mois de septembre, octobre et novembre. Ces mois correspondent à la grande saison des pluies dans la région forestière du Cameroun. Les gîtes apparaissent 2 à 3 semaines après le début des pluies. Le pic de production des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. pendant la grande saison des pluies s'observe en octobre. Toutefois, malgré l'abondance et la régularité des pluies, les productions des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. sont moins élevées pendant la grande saison des pluies. Ce phénomène s'explique par le lessivage des individus des stades aquatiques de Culicidae pendant cette saison. En effet, les pluies de la mi-octobre et du début du mois de novembre sont des pluies battantes engendrant de forts courants d'eau qui entraînent les œufs, les larves et les nymphes des gîtes temporaires et des gîtes permanents. Le faible nombre des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. que nous avons observé résulte du lessivage des individus de ces stades. Au

Cameroun, les résultats similaires ont été observés par Robert (1989), Manga *et al.* (1992) dans la région du Centre, par Akono *et al.* (2010) dans la région de l'Ouest et par Bakwo (2012) dans la région du Sud.

L'analyse des productions des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l. à différents stades de développement nous a permis de constater que les productions des larves de premier stade sont toujours plus élevées, suivies respectivement des larves de deuxième stade, puis des larves de troisième stade et de quatrième stade, et enfin des nymphes. En Afrique sub-saharienne, Service (1977), Robert (1984), Ripert *et al.* (1990), Danis *et al.* (1991) ont observé des faits similaires. Contrairement à nos résultats, Manga *et al.* (1992) ont obtenu au cours de leurs travaux à Yaoundé, à la fin de la saison des pluies, plus de larves de quatrième stade que de larves de premier stade d'*An. gambiae* s.l. Pour ces auteurs, vers la fin des saisons de pluies, l'intensité des pontes diminue; les productions des individus des stades aquatiques avancés (larves de troisième stade, larves de quatrième stade et nymphes) deviennent supérieures à celles des individus des stades précoces (larves de premier stade et de deuxième stade). Les fortes productions des individus des stades précoces témoignent d'une intense activité de ponte des femelles d'*An. gambiae* s.l. pendant les saisons de pluies.

Les faibles productions des individus des stades aquatiques avancés (larves de quatrième stade et nymphes) sont liées à plusieurs facteurs : l'émergence des imagos, la mortalité des larves au cours de leur développement suite à des infections par des bactéries à l'instar de *Bacillus thuringiensis* (Robert *et al.*, 1987), ou des infections par des Protozoaires à l'instar de *Nosema* (Robert *et al.*, 1996) et enfin le cannibalisme par des congénères (Koenraadt & Takken, 2003), par les larves d'autres espèces à l'instar des larves d'Odonates (Fincke *et al.*, 1997) etc.

L'influence de l'utilisation des insecticides chimiques en agriculture sur les productions des individus des stades aquatiques des Culicidae est à l'origine des faibles productions des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. dans le champ des cultures vivrières traité à la cyperméthrine. Au contraire, les productions des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. du champ non traité aux insecticides sont plus élevées. Antonio-Nkondjio *et al.* (2011), au cours des travaux réalisés à Yaoundé et Douala au Cameroun, Diabaté *et al.*, (2002) en Côte d'Ivoire, Awola *et al.* (2009) au Nigéria, ont fait des observations similaires. La présence de l'insecticide dans l'eau des gîtes du champ traité est responsable de la mortalité des larves et des nymphes dans ce champ (Awolola *et al.*, 2009; Antonio-Nkondjio *et al.*, 2011). En outre, le nombre important des larves de premier stade dans le champ traité à la cyperméthrine nous donne à penser que les pontes s'effectuent normalement dans tous les gîtes du champ traité,

mais, très peu de larves achèvent leur développement à cause des effets de la cyperméthrine. D'après les informations recueillies auprès des agriculteurs, l'utilisation des insecticides est permanente et les doses utilisées dépendent essentiellement de l'ampleur des dégâts constatés sur les plantes. Les insecticides parviennent au niveau des gîtes suite à leur lessivage par les eaux pendant les saisons des pluies. La faible production des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. dans le champ traité traduit l'élimination des individus sensibles à la cyperméthrine. Cependant, la présence des individus des stades avancés montre qu'une proportion, bien que très faible des larves et des nymphes, parvient à achever leur développement malgré la présence de la cyperméthrine. Ces individus constituent des souches tolérantes à cet insecticide, à partir desquelles se développe une résistance au sein d'une population d'*An. gambiae* s.l. dans une localité ; nos résultats concordent avec les résultats obtenus par Nohal *et al.* (1994) en Côte d'Ivoire.

Notre étude montre que les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.s. sont sensibles à leur environnement. Les variations de la quantité de l'aliment, c'est-à-dire, la ration alimentaire, de la densité des larves, de la profondeur et du pH de l'eau du gîte ont une influence sur le développement des larves et des nymphes et sur les adultes. Lors du développement des larves et des nymphes, une ration alimentaire quotidienne supérieure ou égale à 20 mg pour 100 larves, permet un développement plus rapide des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.s.. Une ration alimentaire inférieure à la valeur précédente rallonge la durée de développement. Lyimo *et al.* (1992) ont fait des observations similaires. La rallonge de la durée de développement s'explique par la combinaison de la compétition intraspécifique qui naît entre les congénères et l'inaptitude des larves des premiers stades, notamment les larves de premier stade à s'alimenter. Dès le deuxième stade, l'appareil buccal des larves devient plus développé, et les larves sont plus aptes à se nourrir d'aliment sous la forme granulée (Fish & Carpenter, 1982). Ainsi, nous avons observé que la durée de développement des larves de premier stade est plus longue pour les rations alimentaires inférieures à 20 mg.

Le développement optimal des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s est observé lorsque la densité des individus des stades aquatiques est inférieure à 300 individus pour 100 ml d'eau ; au-delà de cette densité, nous avons observé une augmentation de la durée de développement des larves et des nymphes. Ce fait s'explique par l'apparition de la compétition intraspécifique par interférence de type passif (Issartel, 2007). Par ce phénomène, les larves, dans les conditions de forte densité sécrètent des substances nocives pour leurs congénères. Moore & Fischer (1969), Kuno & Moore (1975), Reisen & Emory (1977a), Suleman (1982) et

Nekrasova *et al.* (2004) ont mis en évidence un facteur dénommé GRF (Growth Retardant Factor), produit dans les conditions de forte densité des populations de larves. La fonction écologique de cette substance est de réduire la compétition pour l'aliment, en retardant le développement des larves (Robert, 1998).

Le développement des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.s. est optimal pour une profondeur de l'eau inférieure ou égale à 15 cm. Une profondeur de l'eau du gîte supérieure à la valeur précédente, rallonge de façon significative la durée de développement. L'influence de la profondeur sur la durée développement est liée à la dépense énergétique occasionnée par le déplacement des larves. Dans les gîtes naturels, les larves consomment les particules alimentaires provenant de la décomposition microbienne de la matière organique des fonds des gîtes (Fish & Carpenter, 1982). Dans le cas de l'élevage au laboratoire, l'aliment sédimente au fond des bacs d'élevage. Dans les deux cas, les larves remontent à la surface pour respirer ; la dépense énergétique occasionnée par ces déplacements augmente avec la profondeur de l'eau du gîte. Ces résultats sont en accord avec ceux de Tchuinkam *et al.* (2001) et de Phelan & Roitberg (2013). Dans les conditions naturelles, on a constaté que les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. ne se rencontrent que dans des gîtes temporaires de faible profondeur. Timmermann & Briegel (1993) montrent que le développement des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* n'est possible que si la profondeur du gîte est inférieure ou égale à 5 cm. Le pH de l'eau du gîte favorable au développement des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.s. est compris entre 5 et 10.

Le développement optimal des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. est observé pour les pH de l'eau compris entre 5,5 et 9,5 avec un optimum à 6,5. Notre étude nous a permis de constater que les individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.s. présentent une grande tolérance vis-à-vis du pH du milieu. Edillo *et al.* (2006) avaient remarqué que les larves d'*An. gambiae* se rencontrent dans des gîtes où le pH de l'eau varie entre 6,8 et 8,9. Dans la nature, les écarts de pH sont rarement importants, c'est-à-dire, le pH varie généralement de 6,5 à 8,5 en l'absence de tout facteur exogène (Anonyme, 2002). A cet effet, Edillo *et al.* (2006) ont estimé que le pH n'influence pas la distribution des larves d'*An. gambiae* s.l. dans la nature.

La sensibilité des individus des stades aquatiques aux conditions défavorables se traduit surtout par une augmentation du taux de mortalité. Seule, la profondeur de l'eau du gîte n'influence pas de façon significative le taux de mortalité des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.s. ; tous les autres facteurs, à savoir, la ration alimentaire, la densité des populations des larves et le pH de l'eau du gîte induisent une forte mortalité des individus

lorsque les conditions sont défavorables. Les rations alimentaires inférieures à 20 mg pour 100 larves entraînent une mortalité élevée. La compétition intraspécifique pour la nourriture explique nos observations. Compte tenu du faible développement des pièces buccales des larves de premier stade (Holstein, 1952), une partie importante de ces larves meurt suite aux difficultés de se nourrir ; l'autre partie atteint le deuxième stade de développement. La forte mortalité des larves des stades avancés (troisième et quatrième stades) dans les cas des faibles rations alimentaires s'explique aussi par le phénomène de cannibalisme. Bien que Koenraad et Takken (2003) estiment que ce phénomène soit facultatif chez les Anophelinae, nous avons prélevés dans les bacs d'élevage des individus morts amputés. Selon Alabi *et al.* (2009), le cannibalisme est le résultat de phénomènes adaptatifs dans les cas d'insuffisance de nourriture. Bien que la nymphe ne se nourrisse pas, nous avons toutefois observé une influence de la ration des larves sur la mortalité des nymphes. Selon van Handel (1986) ; Timmermann & Briegel (1993), Telan *et al.* (2004), les larves au cours de leur croissance, accumulent des réserves métaboliques dites ténérales (réserves nutritionnelles accumulées pendant le développement larvaire), notamment des protéines et des lipides. Selon les mêmes auteurs, la masse de la nymphe représente la biomasse accumulée pendant la phase larvaire. Ces réserves permettent à la nymphe, de survivre sans se nourrir, pendant 2 à 3 jours avant l'émergence de l'imago.

La mortalité élevée des larves d'*An. gambiae* s.s. que nous avons observée pour les densités supérieures à 300 larves, s'explique aussi par la compétition intraspécifique. La GRF (Growth Retardant Factor) produite par les larves dans les conditions de fortes densités a pour fonction écologique de réduire cette compétition en augmentant leur mortalité (Robert, 1998).

La mortalité élevée des larves d'*An. gambiae* s.s. enregistrée dans les milieux très acides (pH inférieurs à 5,5) ou très basiques (pH supérieurs 9,5) du fait d'une perturbation des réactions enzymatiques. Selon Edillo *et al.* (2006), les pH très acides ou très basiques dénaturent les protéines en général, et les enzymes en particulier.

La taille de l'adulte d'*An. gambiae* s.s. dépend des conditions du milieu de développement des larves et des nymphes. Les mâles et les femelles de grande taille sont issus des milieux favorables au développement des individus des stades aquatiques, c'est-à-dire, les milieux où la ration est supérieure à 20 mg, la densité inférieure à 300 individus, la profondeur de l'eau inférieure à 15 cm et le pH de l'eau compris entre 5,5 et 9,5. Ces résultats sont similaires à ceux de Kweka *et al.* (2012). La taille de l'adulte, dépend étroitement de l'accumulation de la biomasse pendant la croissance des larves, la nymphe ne se nourrissant pas.

Nos résultats concordent avec les résultats obtenus par Timmermann & Briegel, (1993) puis Telan *et al.* (2004).

Au laboratoire, la ration alimentaire des larves, leur densité, la profondeur et le pH de l'eau influencent la fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs. La fécondité est élevée chez les femelles issues des milieux favorables au développement des individus des stades aquatiques. Toutefois, l'influence des conditions du milieu de développement des larves et des nymphes sur la fécondité des femelles, est indirecte. Notre étude a montré qu'il existe une corrélation positive entre la fécondité et la taille des femelles. Briegel (1990) et Karino *et al.* (2004) ont obtenu des résultats similaires. Selon Steinwaschen (1982), Schneider *et al.* (2000), les femelles de grande taille ingèrent de grandes quantités de sang et le nombre de leurs ovocytes matures est plus élevé.

L'étude de l'influence de la cyperméthrine sur les productions des larves et des nymphes d'*An. gambiae*s. au laboratoire nous a permis de constater que les concentrations inférieures à 0,0250 µg/l n'ont pas une influence significative sur la durée de développement des individus des stades aquatiques, sur leur mortalité, sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs. A l'inverse, les concentrations supérieures ou égales à 0,0250 µg/l influencent de façon significative tous les paramètres étudiés. L'effet insecticide de la cyperméthrine augmente la durée de développement des individus des stades aquatiques, augmente leur taux de mortalité, diminue la taille des adultes, diminue la fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs. L'effet de la cyperméthrine s'exerce déjà à très faible concentration comme l'ont indiqué les Rapports de W.H.O. de 1980 et de 2000 et les travaux de Guillet *et al.* (1997).

L'étude de l'influence du diméthoate sur la production des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire nous a permis de constater que toutes les concentrations de diméthoate influencent de façon significative tous les paramètres étudiés. L'effet du diméthoate prolonge la durée de développement des individus des stades aquatiques, augmente leur taux de mortalité, diminue la taille des adultes, diminue la fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs. L'effet du diméthoate s'exerce à des concentrations élevées comme l'ont indiqué les Rapports de W.H.O. de 1980 et de 2000 d'une part, et d'autre part les travaux de Diabaté *et al.* (2002), Etang *et al.* (2007b).

L'étude de l'influence du méthyl-parathion sur les productions des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire nous a permis de constater que toutes les concentrations de méthyl-parathion influencent de façon significative la durée de développement des individus

des stades aquatiques et leur mortalité. Les concentrations supérieures ou égales à 0,840 µg/l ont une influence significative sur la taille des adultes, sur la fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs. L'effet du méthyl-parathion prolonge la durée de développement des individus des stades aquatiques, augmente leur taux de mortalité, diminue la taille des adultes, diminue la fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs. L'effet du méthyl-parathion s'exerce à faible concentration comme l'ont indiqué les Rapports de W.H.O. de 1980 et de 2000.

La cyperméthrine, le diméthoate et le méthyl-parathion ont un "effet insecticide" qui se manifeste par une augmentation de la durée de développement des larves et des nymphes, une augmentation du taux de mortalité, une diminution de la taille des adultes, une diminution de la fécondité des femelles et du taux d'éclosion des œufs. Les faits similaires ont été signalés par Guillet *et al.* (1997), Issartel (2007). L'augmentation de la durée de développement des individus des stades aquatiques est liée à la présence de l'insecticide dans le milieu. Selon Issartel (2007), Djouaka *et al.* (2008), le processus de neutralisation de l'insecticide par les phénomènes de détoxification et/ou d'excrétion de l'insecticide, augmente la dépense énergétique, et partant, l'augmentation de la durée de développement des larves et des nymphes. La présence de l'insecticide dans le milieu de développement des individus induit le stress (Issartel, 2007). Selon cet auteur : « le stress est l'ensemble des perturbations biologiques que l'environnement impose à l'organisme, nécessitant de ce dernier, une réponse comportementale ou phénotypique, pour le maintien son homéostasie et la sauvegarde de son épanouissement ». On parle alors de plasticité développementale de l'organisme, un cas particulier de la plasticité phénotypique (Issartel, 2007). Selon Wilson *et al.* (2002b), ce phénomène de plasticité prend en compte les changements de l'environnement lors du développement des stades précoces d'un organisme. La plasticité développementale de l'organisme peut servir selon Issartel (2007), de déclencheur d'un phénotype nouveau adapté aux nouvelles conditions. On parle alors d'adaptation qui, selon le même auteur, est l'ensemble des traits de vie d'un organisme résultant d'un processus évolutif, façonné par la sélection naturelle.

La mortalité des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. est due à l'action de la molécule active de l'insecticide. Selon Lund & Narashi (1983), Elliot (1989), la cyperméthrine agit comme tous les pyréthrinoides, sur le système nerveux central et périphérique, en modifiant la cinétique d'activation-inactivation des canaux sodiques le long de l'axone. Selon Eldefrawi (1976), le diméthoate (organophosphorés) et le méthy-parathion (carbamates) agissent sur le système nerveux mais en inhibant l'acétylcholinestérase, enzyme qui dégrade l'acétylcholine, le

neurotransmetteur des synapses cholinergiques du système nerveux central des insectes. La survie face à l'insecticide traduit l'aptitude de l'insecte à neutraliser la molécule active (Georghiou, 1980 ; IRAC, 2006). Selon Ranasinghe *et al.* (1997), Brandt *et al.* (2002), Zhu et Snodgrass (2003), Willoughby *et al.* (2006), Djouaka *et al.* (2008), des insecticides de la famille des pyréthrinoïdes (perméthrine, cyperméthrine...) et de la famille des organochlorés (D.D.T. ...) induisent l'expression des gènes mono-oxygénases à cytochrome P₄₅₀ (CYPs). Feyereisen (1999) a identifié les familles des gènes CYP4, CYP6, CYP9 et Müller *et al.* (2007) le gène G.S.T. (glutathion-S-transférases) comme ceux responsables de la résistance métabolique chez de nombreux insectes, et notamment, chez les moustiques. Muller *et al.*, (2008) ont montré que la CYP6P3 est impliquée dans le métabolisme des pyréthrinoïdes. Le gène CYP6A1 est associé à la résistance aux organophosphorés (Sabourault *et al.*, 2001).

Selon Boyer *et al.* (2006), Djouaka *et al.* (2008), la résistance aux insecticides est liée à une augmentation de l'activité des enzymes de détoxification. Selon Wondji *et al.* (2009), toute augmentation de l'activité d'une enzyme de résistance est consécutive à la surexpression du gène de cette enzyme. Au Cameroun, les travaux de Etang *et al.* (2007b) dans la région forestière, Chouaïbou *et al.* (2006) dans la région soudano-sahélienne, ont décrit la résistance métabolique chez *An. gambiae* s.l. liée à une augmentation de l'activité des estérases, des oxydases et du glutathion-S-transférase. Dans la région soudano-sahélienne, Chouaïbou (2008), a observé une augmentation du niveau de résistance chez les populations d'*An. gambiae* s.l. pendant les périodes de traitement et après les périodes de traitement des champs de coton. Les résultats similaires ont été obtenus par Diabaté *et al.* (2002) au Burkina-Faso dans les champs de coton traités au DDT et à la perméthrine. Shen *et al.* (2003), Pidgeon *et al.* (2003) ont trouvé les gènes CPY4 surexprimés dans les souches de laboratoire de *Culex pipiens* et d'autres insectes à l'instar de *Blattella germanica* résistants à la deltaméthrine (pyréthrinoïde). La surexpression du gène CPY6Z1 a été également mise en évidence chez *An. gambiae* s.l. résistant à la perméthrine au laboratoire (Nikou *et al.*, 2003) et au DDT (Chiu *et al.*, 2008). Selon Issartel (2007), la surexpression des gènes de résistance est considérée comme une réponse adaptative des individus au stress induit par l'insecticide. Selon le même auteur, à l'échelle de la population, la résistance développée vis-à-vis d'un insecticide est un mécanisme de réajustement de la population après la dépression causée par l'insecticide.

L'effet de la cyperméthrine, du diméthoate et du méthyl-parathion sur la taille des adultes d'*An. gambiae* s.s. est lié à la perturbation du processus d'assimilation des nutriments et d'accumulation des réserves par les larves au cours de la croissance. L'effet des insecticides sur

la fécondité des femelles et sur le taux d'éclosion des œufs est un effet indirect comme nous l'avons mentionné plus haut.

Selon Suwanchaichinda et Brattsten (2001), Suwanchaichinda et Brattsten (2002) ; Boyer et al. (2006), Djouaka *et al.* (2008), la résistance aux insecticides est génétique. Nous avons de ce fait étudié l'évolution de la tolérance à trois insecticides chimiques sur 12 générations successives d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire. Dans notre étude, cette tolérance s'est traduite par une diminution de la durée de développement des larves et des nymphes, une réduction du taux de mortalité, une augmentation de la taille des adultes par rapport à la première génération prise comme témoin. La cyperméthrine et le méthyl-parathion augmentent la tolérance de façon significative à partir de la 7^e génération chez *An. gambiae* s.s. Les pyréthriinoïdes et les carbamates augmentent plus rapidement la tolérance au sein des populations d'*An. gambiae* s.s.. Au Cameroun, les pulvérisations intradomiciliaires des pyréthriinoïdes au cours des travaux d'Etang *et al.* (2006), d'Etang *et al.* (2007), de Nwane *et al.* (2009), d'Antonio-Nkondjio *et al.* (2013) ont révélé une rapide augmentation du niveau de résistance des populations d'*An. gambiae* s.l., notamment vis-à-vis de cette famille d'insecticides. Au Burkina-Faso, les travaux de Diabaté *et al.* (2002) dans les champs de coton traités aux pyréthriinoïdes ont révélé des observations similaires. Au laboratoire, Poupardin (2011) a observé une augmentation d'environ 3 fois la résistance chez *Ae. aegypti* à la perméthrine après 10 générations. Selon Fossog *et al.* (2012), l'augmentation de la résistance aux pyréthriinoïdes au sein des populations d'*An. gambiae* s.l. est le résultat de l'action combinée de trois facteurs. Ce sont les facteurs environnementaux (utilisation des insecticides en agriculture et en hygiène domestique), les facteurs inhérents à la biologie des échantillons étudiés (les mécanismes de résistance aux insecticides) et probablement les facteurs de dispersion des nouvelles populations. Contrairement à la cyperméthrine et au méthyl-parathion, le diméthoate, insecticide de la famille des organophosphorés, ne diminue pas de façon significative la durée de développement des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.s. après 12 générations successives. La tolérance à cet insecticide apparaît à partir de la 8^e génération. Cette tolérance se rapporte à la mortalité des larves et des nymphes et à la taille des adultes. Au Cameroun, Antonio-Nkondjio *et al.* (2008), Nwane *et al.* (2011) au cours de leurs travaux de pulvérisations intradomiciliaires ont relevé que les populations d'*An. gambiae* s.l. sont plus sensibles aux organophosphorés. En effet, la plupart des enquêtes exploitées révèlent que les organophosphorés sont moins utilisés que les pyréthriinoïdes aussi bien en agriculture que dans la lutte antivectorielle. Selon Ghalambor *et al.* (2007), Poupardin (2011), l'exposition

permanente des larves et des nymphes à un insecticide favorise la transmission et surtout la surexpression des gènes de résistance. Issartel (2007) pense que dans ce cas, le développement de la résistance est une variation adaptative intergénérationnelle liée aux contraintes permanentes des insecticides. Le même auteur estime qu'à ce titre, un organisme ne doit pas être perçu comme une entité statique dont les multiples variables biologiques (morphologies, comportement, physiologie...) seraient immuables et fixes, mais il doit être considéré comme un système plastique, modulable dans le temps (toute proportion gardée).

.....
.....

Les huiles essentielles des graines d'*A. melegueta*, de *M. myristica* et des feuilles de *C. citrinus* sont obtenues par hydro-distillation. Les graines de *M. myristica* (1,20%) sont environ 2 fois plus riches en huile essentielle que les feuilles de *C. citrinus* (0,75%) et plus de 6 fois plus riches en huile essentielle que les graines d'*A. melegueta* (0,19%). Les travaux d'Akono Ntonga (2011) ont révélé que les feuilles d'*O. canum* ont produit 0,44% d'huile essentielle ; ce qui représente environ 3 fois moins d'huile essentielle que les graines de *M. myristica*, environ 2 fois moins d'huile essentielle que les feuilles de *C. citrinus* et plus de 2 fois plus d'huile essentielle que les graines d'*A. melegueta*. Les travaux de Bakwo (2012) ont révélé que les feuilles d'*O. gratissimum* ont produit 0,90% d'huile essentielle ; ce qui représente environ plus 1 fois moins d'huile essentielle que les graines de *M. myristica*, environ 2 fois plus d'huile essentielle que les feuilles de *C. citrinus* et plus de 4 fois plus d'huile essentielle que les graines d'*A. melegueta*. Selon Jirovetz *et al.* (1997), Yayi *et al.* (1999), Chagonda *et al.* (2000), Nguetack *et al.* (2004), les rendements d'extraction des huiles essentielles sont rarement supérieurs à 1%. Cette observation confirme que les graines de *M. myristica* sont riches en huile essentielle.

L'analyse chimique des huiles essentielles des trois plantes a révélé que les huiles essentielles d'*A. melegueta* et de *C. citrinus* sont riches en 1,8-cinéole qui est un monoterpène oxygéné. L'huile essentielle de *C. citrinus* est plus riche en cette molécule que celle d'*A. melegueta*. L'huile essentielle de *M. myristica* est plus riche en α -phellandrène qui est un monoterpène hydrocarboné. Les huiles essentielles d'*A. melegueta* et de *C. citrinus* sont rangées dans le chémotype cinéole et celle de *M. myristica* dans le chémotype phellandrène. Les huiles essentielles des trois plantes étudiées appartiennent à des chémotypes différents de ceux d'*O. canum*, d'*O. basilicum*, d'*O. gratissimum*, de *Cymbopogon citratus*. Selon Akono Ntonga (2011), *O. canum* est du chémotype linalol, *O. basilicum* du chémotype limonène. Selon Bakwo (2012), *O. gratissimum* est du chémotype thymol, *Cymbopogon citratus* du chémotype géraniol. Les travaux réalisés sur *O. canum* par par Tayal et Dutt (1938) en Inde, par Ekundayo *et al.*(1989) au Nigéria

ont montré que le composé majeur de l'huile essentielle de cette plante varie selon l'origine géographique. Les observations similaires ont été faites par Nigam *et al.* (1968), Zola et Garnero (1972), Mahmoud (1992) au cours de leurs travaux sur *O. basilicum*. A ce jour, cinq chémotypes d'*O. gratissimum* ont été identifiés : eugenol, thymol, citral, cinnamate d'éthyl et linalool (Cortez *et al.*, 1998 ; Silva *et al.*, 1999). Ces faits nous amènent à penser que le classement que nous avons donné de nos plantes peut varier d'une région géographique à l'autre.

Les tests réalisés sur larves d'*An. gambiae* s.s. montrent que les huiles essentielles des graines d'*A. melegueta*, de *M. myristica* et des feuilles de *C. citrinus* ont un effet larvicide important. Les huiles essentielles d'*O. canum* (Akono Ntonga, 2011), d'*O. basilicum* (Akono Ntonga, 2011), d'*O. gratissimum* (Bakwo 2012), de *Cymbopogon citratus* (Bakwo 2012), d'*Azadirachta indica* (Bakwo 2012) et de *Thymus vulgaris* (Tchoumbougang *et al.*, 2008) ont un effet larvicide sur *An. gambiae* s.s. comme les trois plantes étudiées, mais, à des niveaux différents.

L'huile essentielle des graines d'*A. melegueta* induit la mortalité totale des individus de tous les stades larvaires d'*An. gambiae* s.s. à partir de la plus faible concentration utilisée, c'est-à-dire, 10 ppm, mais, à des durées d'exposition variables. A la concentration de 10 ppm, la mortalité totale des larves de premier stade survient après 120 min. d'exposition et celle des larves de quatrième stade après 180 min. d'exposition. A la concentration la plus élevée, c'est-à-dire, 150 ppm, la mortalité totale des larves de premier stade survient après 20 min. d'exposition et celle des larves de quatrième stade après 40 min. d'exposition. Les travaux d'AkonoNtonga (2011) ont montré que l'huile essentielle d'*O. canum* a un effet larvicide moindre sur *An. gambiae* s.s. que l'huile essentielle des graines d'*A. melegueta*. Selon cet auteur, l'huile essentielle des feuilles d'*O. canum* induit la mortalité totale des larves de premier stade à partir de 250 ppm et après 180 min. d'exposition et celle des larves de quatrième stade à 250 ppm et après 360 min. d'exposition. Les huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* (Bakwo, 2012), d'*O. gratissimum* (Bakwo, 2012) et de *Thymus vulgaris* (Tchoumbougang *et al.*, 2009) ont aussi un effet larvicide, mais, moindre sur *An. gambiae* s.s. que l'huile essentielle des graines d'*A. melegueta* ; les concentrations des huiles essentielles de ces plantes induisant la mortalité totale des larves de quatrième sont respectivement, 400 ppm, 400 ppm et 200 ppm.

L'huile essentielle des feuilles de *C. citrinus* induit la mortalité totale des individus de tous les stades larvaires d'*An. gambiae* s.s. à partir de la plus faible concentration utilisée, c'est-à-dire, 10 ppm, mais, à des durées d'exposition variables. A la concentration de 10 ppm, la mortalité totale des larves de premier stade survient après 140 min. d'exposition et celle des larves de quatrième stade après 200 min. d'exposition. A la concentration la plus élevée, c'est-

à-dire, 150 ppm, la mortalité totale des larves de premier stade survient après 20 min. d'exposition et celle des larves de quatrième stade après 60 min. Ces résultats indiquent que l'huile essentielle des feuilles de *C. citrinus* a un effet larvicide moins élevé sur *An. gambiae* s.s. que celle des graines d'*A. melegueta*. Les travaux de Bakwo (2012) sur *Cymbopogon citratus*, sur *O. gratissimum* et sur *Azadirachta indica* et ceux de (Tchoumbougang *et al.*, 2009) sur *Thymus vulgaris* ont révélé que les huiles essentielles de ces plantes ont un effet larvicide moindre sur *An. gambiae* s.s. que l'huile essentielle des feuilles de *C. citrinus*.

L'huile essentielle des graines de *M. myristica* induit la mortalité totale des individus de tous les stades larvaires d'*An. gambiae* s.s. à partir de la plus faible concentration utilisée, c'est-à-dire, 10 ppm, mais, à des durées d'exposition variables. A la concentration de 10 ppm, la mortalité totale des larves de premier stade survient après 120 min. d'exposition et celle des larves de quatrième stade après 180 min. d'exposition. A la concentration la plus élevée, c'est-à-dire, 150 ppm, la mortalité totale des larves de premier stade survient après 20 min. d'exposition et celle des larves de quatrième stade après 40 min. d'exposition. Ces résultats indiquent que l'huile essentielle des graines de *M. myristica* a un effet larvicide aussi élevé que celle des graines d'*A. melegueta*. L'huile essentielle des graines de *M. myristica* a un effet larvicide plus élevé sur *An. gambiae* s.s. que les huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* (Bakwo, 2012), d'*O. gratissimum* (Bakwo, 2012) et de *Thymus vulgaris* (Tchoumbougang *et al.*, 2009).

Les larves des stades précoces sont plus sensibles à l'effet des huiles essentielles que les larves des stades avancés. Tchoumbougang *et al.* (2009), Akono Ntonga (2011) et Bakwo (2012) ont fait des observations similaires au cours de leurs travaux.

Les huiles essentielles des graines d'*A. melegueta*, de *M. myristica* ont un effet larvicide semblable sur *An. gambiae* s.s. mais plus élevé que celui de l'huile essentielle de *C. citrinus*. Selon Pellecuer *et al.* (1976), l'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique. L'analyse de la composition chimique des différentes huiles essentielles utilisées montre que les huiles essentielles des graines d'*A. melegueta* et de *M. myristica* sont plus riches en α -Phellandrène (Monoterpène hydrocarboné), en germacrène D (Sesquiterpène hydrocarboné), en pinocarvéol (Monoterpène oxygéné) que l'huile essentielle des feuilles de *C. citrinus*. En outre, l'huile essentielle de *C. citrinus* est dépourvue de carvacrol (Monoterpène oxygéné) dont l'activité larvicide a été mise en évidence par Traboulsi *et al.* (2002). Selon Barbehenn et Martin (1994), les composés phénoliques à l'instar de ceux cités ci-dessus s'attaquent à la barrière de l'épithélium des larves d'insectes. Cette différence de composition chimique des différentes huiles explique les différents niveaux de l'effet larvicide observés. La différence des niveaux de

L'effet larvicide des huiles essentielles est aussi liée à la nature de l'organe végétal dont est issue l'huile essentielle. Selon Tchoumbougang (1997), la teneur de l'huile essentielle en certains composés dépend de l'organe végétal et du lieu géographique. Ce fait nous amène à penser que les graines d'*A. melegueta* et de *M. myristica* ont accumulé plus de composés chimiques à effet larvicide, notamment les composés phénoliques, que les feuilles de *C. citrinus*, et par extension, les feuilles d'*O. canum* (Akono Ntonga, 2011), d'*O. basilicum* (Akono Ntonga, 2011), d'*O. gratissimum* (Bakwo 2012), de *Cymbopogon citratus* (Bakwo 2012), d'*Azadirachta indica* (Bakwo 2012) et *Thymus vulgaris* (Tchoumbougang *et al.*, 2009).

L'exposition des femelles d'*An. gambiae* s.s. aux huiles essentielles d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M. myristica* montre que ces huiles essentielles ont un effet adulticide. Cet effet est évalué par le taux de mortalité des femelles d'*An. gambiae* s.s. et par l'effet « Knock-down ». Nos résultats montrent que les huiles essentielles des trois plantes étudiées ont un effet adulticide similaire à celui des huiles essentielles d'*O. canum* (Akono Ntonga, 2011), d'*O. basilicum* (Akono Ntonga, 2011), d'*O. gratissimum* (Bakwo 2012), de *Cymbopogon citratus* (Bakwo 2012), d'*Azadirachta indica* (Bakwo 2012) et de *Thymusvulgaris* (Tchoumbougang *et al.*, 2009), mais, à des niveaux variables.

L'huile essentielle des graines d'*A. melegueta* induit la mortalité totale des femelles d'*An. gambiae* s.s. à partir de 250 ppm après 24 heures d'observation. A la concentration de 150 ppm, le Tkd50 est de 85 min 42 s. L'huile essentielle des graines d'*A. melegueta* a un effet adulticide sur *An. gambiae* s.s. similaire à celui de l'huile essentielle d'*O. basilicum* pour laquelle, selon Akono Ntonga (2011), la mortalité totale des femelles d'*An. gambiae* s.s. est obtenue à 250 ppm. L'huile essentielle des graines d'*A. melegueta* a un effet adulticide moindre que celui de l'huile essentielle d'*O. canum* pour laquelle Akono Ntonga (2011) a obtenu la mortalité totale des femelles d'*An. gambiae* s.s. à partir de 200 ppm. Le Tkd50 à 150 ppm de l'huile essentielle des graines d'*A. melegueta* est moins élevé (85 min. 42 s.) que celui de l'huile essentielle d'*O. canum* qui est de 184 min. 45 s. à la même concentration (Akono Ntonga, 2011).

L'huile essentielle des feuilles de *C. citrinus* induit la mortalité totale des femelles d'*An. gambiae* s.s. à partir de 200 ppm après 24 heures d'observation. A la concentration de 150 ppm, le Tkd50 est de 116 min. 55 s. L'huile essentielle des feuilles de *C. citrinus* a un effet adulticide plus élevé sur *An. gambiae* s.s. que celui de l'huile essentielle des graines d'*A. melegueta*. L'huile essentielle des feuilles de *C. citrinus* a un effet adulticide similaire à celui de l'huile essentielle des feuilles d'*O. canum* pour laquelle Akono Ntonga (2011) a obtenu la mortalité totale des femelles d'*An. gambiae* s.s. à partir de 200 ppm. Le Tkd50 à 150 ppm de l'huile essentielle de *C. citrinus*

est moins élevé (116 min. 55 s.) que celui de l'huile essentielle d'*O. canum* qui est de 184 min. 45 s. à la même concentration (Akono Ntonga, 2011).

L'huile essentielle des graines de *M. myristica* induit la mortalité totale des femelles d'*An. gambiae* s.s. à partir de 250 ppm après 24 heures d'observation. A la concentration de 150 ppm, le Tkd50 est de 87 min. 08 s. L'huile essentielle des graines de *M. myristica* a un effet adulticide similaire sur *An. gambiae* s.s. que celui de l'huile essentielle des graines d'*A. melegueta*, mais, moindre que celui de l'huile essentielle de *C. citrinus*. L'huile essentielle des graines de *M. myristica* a un effet adulticide moindre que celui de l'huile essentielle des feuilles d'*O. canum* pour laquelle Akono Ntonga (2011) a obtenu la mortalité totale des femelles d'*An. gambiae* s.s. à partir de 200 ppm. Le Tkd50 à 150 ppm de l'huile essentielle des graines d'*A. melegueta* est moins élevé (87 min. 08 s.) que celui de l'huile essentielle d'*O. canum* qui est de 184 min. 45 s. à la même concentration (Akono Ntonga, 2011).

L'huile essentielle des feuilles de *C. citrinus* a un effet adulticide plus élevé sur *An. gambiae* s.s. que celui des huiles essentielles des graines d'*A. melegueta* et *M. myristica*. L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles des trois plantes étudiées nous a permis de constater que l'huile essentielle de *C. citrinus* est plus riche en monoterpène oxygéné, notamment le 1,8-cinéole et en monoterpène hydrocarboné, notamment le β -pinène. Selon Park *et al.* (2002), en milieu clos, certains monoterpènes hydrocarbonés peuvent se révéler très toxiques pour les adultes de moustiques. Ces différences de composition chimique expliquent l'effet adulticide plus élevé de l'huile essentielle des feuilles de *C. citrinus* sur *An. gambiae* s.s. que celui des huiles essentielles des graines d'*A. melegueta* et *M. myristica*. Ceci nous amène à penser que les feuilles de *C. citrinus* accumulent plus de composés à effet adulticide que les graines d'*A. melegueta* et *M. myristica*. Les travaux d'Akono Ntonga (2011) et de Bakwo (2012) confirment que les feuilles des plantes ont un effet adulticide plus important.

**CONCLUSION ET
PERSPECTIVES**

Nous avons étudié les productions des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. pendant les deux années 2007 et 2008 dans la localité de Nkolbisson. Les larves et les nymphes d'*An. gambiae* s.l. sont présentes pendant les saisons des pluies. Nous avons observé 2 pics de productions des larves et des nymphes pendant les mêmes mois des deux années d'étude. Le 1^{er} pic est obtenu en juin, dernier mois de la petite saison des pluies et le 2^e pic en octobre, l'avant dernier mois de la grande saison des pluies. Ces pics de productions des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. sont consécutifs à l'augmentation du nombre de gîtes ; les larves et les nymphes de ce vecteur affectionnent les gîtes temporaires. Les productions des individus des stades aquatiques sont plus élevées pendant la petite saison des pluies que pendant la grande saison des pluies. Cette différence est liée au lessivage des œufs, des larves et des nymphes par les forts courants des eaux de ruissellement pendant les fortes pluies de la grande saison des pluies. Les productions des larves de 1^{er} stade sont toujours les plus élevées ; ceci montre que l'activité de pontes des femelles d'*An. gambiae* s.l. est importante pendant les saisons des pluies dans la région forestière du Cameroun.

Tous les facteurs abiotiques étudiés, à savoir, la ration alimentaire des larves, la densité des larves, la profondeur de l'eau et le pH de l'eau des gîtes ont une influence sur le développement des individus des stades aquatiques et les adultes. Pour un facteur abiotique donné, il existe un préférendum pour lequel le développement est harmonieux. En de ça et au-delà de ce préférendum, le développement connaît des perturbations. Bien que les perturbations s'accroissent au fur et à mesure qu'on s'éloigne du préférendum, la fourchette permettant le développement d'*An. gambiae* s.l. est large. Ce fait explique la grande capacité d'adaptation reconnue à ce vecteur qui se rencontre dans tous les écotypes du Cameroun. Lorsque les conditions du milieu sont défavorables, on note un prolongement de la durée de développement des larves et des nymphes, une augmentation de leur taux de mortalité, une diminution de la taille des adultes, de la fécondité des femelles et du taux d'éclosion des œufs.

La présence des insecticides dans l'eau des gîtes diminue les productions des larves et des nymphes d'*An. gambiae* s.l.. Dans le champ traité à la cyperméthrine, nous avons noté une chute des productions des individus des stades aquatiques comparativement à celles du champ non traité. Des études au laboratoire ont confirmé que la cyperméthrine (pyréthrine), le diméthoate (organophosphoré) et le méthyl-parathion (carbamate) induisent la mortalité des individus des stades aquatiques d'*An. gambiae* s.l. en fonction de leurs concentrations. Les concentrations inférieures à la concentration de létalité totale rallonge la durée de développement, diminuent la taille des adultes, la fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs. De nombreuses études ont révélées que sous l'action de l'insecticide, l'organisme du moustique réagit en amplifiant

l'activité des enzymes de détoxification de l'insecticide. Ce phénomène à l'origine de la résistance est génétique et se transmet de génération en génération. Dans nos travaux, nous avons assimilé la "tolérance" à la résistance de l'insecticide. Elle se manifeste par un raccourcissement de la durée de développement des larves et des nymphes, une diminution de leur taux de mortalité et une augmentation de la taille des adultes. La comparaison des durées de développement des larves et des nymphes, de leurs taux de mortalité et de la taille des adultes de 12 générations successives d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire nous a permis d'évaluer l'évolution de la "tolérance" des trois insecticides chimiques utilisés chez *An. gambiae* s.s. La "tolérance" à la cyperméthrine et au méthylparathion apparaît à partir de la 7^e génération. La "tolérance" au diméthoate apparaît à la 8^e génération et ne concerne que le taux de mortalité des larves et des nymphes qui diminue et la taille des adultes qui augmente. Pour cet insecticide, le taux de mortalité reste élevé jusqu'à la 12^e génération.

Les huiles essentielles d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M. myristica* induisent la mortalité totale des larves d'*An. gambiae* s.s. à la concentration la plus faible, c'est-à-dire, à 10 ppm. A cette concentration, la mortalité totale des larves varie en fonction de la durée d'exposition aux huiles essentielles. La durée d'exposition la plus courte est obtenue pour les huiles essentielles des graines d'*A. melegueta* et de *M. myristica*, et partant, elles ont un effet larvicide plus élevé. Les huiles essentielles d'*A. melegueta*, de *C. citrinus* et de *M. myristica* induisent la mortalité totale des femelles d'*An. gambiae* s.s.. L'huile essentielle des feuilles de *C. citrinus* a révélé un effet adulticide plus élevé que celui des huiles essentielles des deux autres plantes. Cette huile essentielle provoque la mortalité totale des femelles d'*An. gambiae* s.s. à la concentration de 200 ppm, inférieure à celle des huiles essentielles des deux autres plantes qui est de 250 ppm, et partant, elle a un effet adulticide plus élevé.

PERSPECTIVES

Les résultats obtenus dans nos travaux restent à approfondir dans le but d'améliorer la lutte antivectorielle. Nous envisageons poursuivre ces travaux afin de :

- Déterminer le type de résistance induit par la cyperméthrine, le diméthoate et le méthylparathion par des analyses biomoléculaires ;
- Identifier le (ou les) composé(s) responsable(s) de l'effet insecticide des huiles essentielles des trois plantes sur *An. gambiae* s.s. pour leur intégration dans la lutte antivectorielle ;
- Etudier l'évolution de l'effet insecticide des huiles essentielles des trois plantes sur plus de 12 générations d'*An. gambiae* s.s. au laboratoire ;

- Conduire des applications intradomiciliaires et extradomiciliaire de l'huile essentielle de la plante présentant le plus d'avantage afin d'infirmer ou de confirmer les résultats de laboratoire obtenus ;
- Rechercher d'autres plantes ayant des propriétés insecticides.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- Abondo R. & Amvam Zollo P.H., 1995. Valorisation des plantes aromatiques du genre *Aframomum* du Cameroun. Pharm. Med. Trad. Afr., pp 81-88.
- Abott W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 256-267.
- Adam R.P., 2001. Identification of essential oils by gas chromatography quadrupole mass stroboscopy. Carol Stream, II, USA: Allured Publishing Corporation.
- Akono Ntonga P. 2011. Ecologie des Culicidae à Tonga (Ouest-Cameroun) et effets insecticides des huiles essentielles de quelques plantes sur *Anopheles gambiae* Giles, 1902. Université de Yaoundé I. Thèse doctorat PhD. 142 p
- Ambassa Kiki R., 1990. Un site d'expérimentation du réseau IBSRAM à Minkoameyos, Yaoundé. IBSRAM Proc., 10: 426-440.
- Armstrong J. A., Ramsdale C. D. & Ramakrishna V., 1958. Insecticide resistance in *Anopheles gambiae* Giles, 1902 in Western Sokoto, Northern Nigeria. Ann. Trop. Parasit., 52: 247-256.
- Anomah Ngu V., 1987. *Le paludisme et la lutte antipaludique au Cameroun*. Ed. EMF & MINSANTE Cameroun, 6 p.
- Ansari M.A. & Razdan R.K., 1995. Relative efficacy of various oils in repelling mosquitoes. Ind. J. Mal. 32: 104-111.
- Antonio-Nkondjio C., Awono-Ambene P. Toto J.C., Meunier J.Y., Kemleu Z.S., Nyambam R., Wondji C.S., Tchuinkam T. & Fontenille D., 2002. High malaria transmission intensity in a village close to Yaoundé, the capital city of Cameroon. J. Med. Entomol., 39: 350-355.
- Antonio-Nkondjio C., Simard F., Awono-Ambene P., Ngassam P., Toto J.C., Tchuinkam T. & Fontenille D., 2005. Malaria vectors and urbanization in the equatorial forest region of South Cameroon. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 99: 347-354.
- Antonio-Nkondjio Nkondjio C.; Fossog T. B; Ndo C; Menze D. B; Zébazé T. S; Awono-Ambene P; Costantini C; Wondji C. & Ranson H. (2011). *Anopheles gambiae* distribution and insecticide resistance in the cities of Douala and Yaoundé (Cameroon): influence of urban agriculture and pollution. *Malaria Journal*, **10**:154
- Austin F.D., 2004. "Florida ethnobotany". CRC Press, p 170.
- Awono-Ambene P., Kengne P., Simard F., Nkondjio C.A. & Fontenille D., 2004. Description and bionomics of *Anopheles (Cellia) ovengensis* (Diptera: Culicidae) a new malaria vector species of the *Anopheles nili* from South Cameroon. J. Med. Entomol., 41:561-568.

- Ayala J. & Coluzzi M., 2005. Chromosome speciation: Humans, *Drosophila* and mosquitoes. *Nation. Academ. Scien. U.S.A.*, 102: 6535-6542.
- Awolola T, Oduola O, Strode C, Koekemoer L, Brooke B. & Ranson H (2009). Evidence of multiple pyrethroid resistance mechanisms in the malaria vector *Anopheles gambiae s. s* from Nigeria. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103:1139-1145.
- Baek, J. H., Clark, J. M. and Lee S. H., 2010. Cross-strain comparison of cypermethrin-induced cytochrome P450 transcription under different induction conditions in diamondback moth. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 96:43-50.
- Barbouche N., Hajjem B., Lognay G., Ammar M. (2001). Contribution à l'étude de l'activité biologique d'extraits de feuilles de *Cestrum parqui* L'Hérit. (*Solanaceae*) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Biotechnology and Agronomy Society*. 5 (2): 85–90.
- Brahim A., Saadia O., Fouad M., Saadia M. (2006). Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen)», *Biotechnology Agronomy Society Environment*. 10 (2):67-71.
- Bergé J.B., 1987. Insectes contre insecticides: la résistance s'organise. *Biofutur*, 63 : 45-50.
- Bergé J.B. & Pasteur N., 1996. Les insectes contre insecticides : la résistance s'organise. *Biofutur*, 63: 45-50.
- Bernard T., Perineau F., Bravo R., Delamas M & Gaset A., 1988. Extraction des huiles essentielles: chimie et technologie. *Inform. Chim.* ; 298, 179 p
- Bloomquist J.R., 1999. Insecticides: Chemistries and Characteristics, <http://ipmworld.umn.edu/chapters/bloom.htm>. 16p.
- Boëte C. & Koella J.C., 2003. Evolutionary ideas about genetically manipulated mosquitoes and malaria control. *Trends in Parasitology* 19(1): 32-38.
- Borrmann S, Sallas WM, Machevo S, et al. The effect of food consumption on lumefantrine bioavailability in African children receiving artemether-lumefantrine crushed or dispersible tablets (Coartem) for acute uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Trop Med Int Health* 2010;15:434–41.

- Bouchelta A., Boughdad A. & Blenzar A., 2005. Effets biocides des alcaloïdes, des saponines et des flavonoïdes extraits de *Capsicumfrutescens* L. (Solanaceae) sur *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera : Aleyrodidae). *Biotech. Agron. Soc. Environ.* 9: 259-269.
- Boué H. & Chanton R., 1962. La classe des Insectes (Embranchement des Arthropodes), *Biologie. Biologie animale I : Les Invertébrés.* Masson & Cie, Paris: 482 p.
- Boyer, S., J. P. David, D. Rey, G. Lemperiere, and P. Ravel. 2006. Response of *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae) larvae to three xenobiotic exposures: Larval tolerance and detoxifying enzyme activities. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25:470-476.
- Bray R. S., 1957. Study on Malaria in champaeces. IV *Plasmodium ovale*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 6: 638-645.
- Bray R. S., 1960. Observations on the cytology of the mammalian malaria parasites. I. A process of apparen plasmotomy in the pre-erythrocytic phase of *laverania falciparum*. *Riv. Dis. Parasit.*, 21: 267-216.
- Brandt, A., M. Scharf, J. H. F. Pedra, G. Holmes, A. Dean, M. Kreitman, and B. R. Pittendrigh., 2002. Differential expression and induction of two *Drosophila* cytochrome P450 genes near the Rst(2)DDT locus. *Insect Molecular Biology* 11:337-341.
- Briegel, H., 1990a. Metabolic relationship between female body size, reserves, and fecundity of *Ae. aegypti*. *J. of Ins. Physiol.*, 36: 165-172.
- Brown A.W.A., 1973. Résistance des arthropodes aux insecticides. *OMS Genève*, 38 : 541p.
- Brown M. D., Kay B. H. and Hendrikz J. K., 1991. E volution of Australian Mesocyclops (Cyclopoida: Cyclopoidae) for mosquito control. *J. Med. Entomol.*, 28: 618-623.
- Bruce-Chwatt M., Alano P., Duthie S. & Carter R. 1990. Commitment of the malaria parasite *Plasmodium falciparum* to sexual and asexual development. *Parasitol.*, 100: 191-200.
- Bryan J.H., Di Deco M.A., Petraca V. & Coluzzi M., 1982. Inversion polymorphism and incipient speciation in *Anopheles gambiae* s.s. in the Gambia, West Africa. *Genetica* ,59: 167-176.
- Caldas-de-Castro M., Yamagata Y., Mtasiwa D., Tanner M., Jutzinger J., Keiser J. & Singer B.H., 2004. Integrated urban malaria control: a case study ir Dar es Salaam, Tanzania. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 71: 103-117.
- Callins D.A & Brady J.N., 1993. Assessment of the efficacy of quwenling as a mosquito repellent phytother. *Res.* 7: 17-20.

- Carnevale P. & Mouchet J., 1990. Lutte antivectorielle et lutte antipaludique. *Méd. Trop.*, 50(4) : 391-398.
- Carter R. & Miller L. 1979. Evidence for environmental modulation of gametocytogenesis in *Plasmodium falciparum* in continuous culture. *Bull. OMS*, 57: 37-52.
- Catterucia F., Nolan T., Loukeris T.G., Blass C., Savaski C, Kafatos F.C. & Crisanti A., 2000. Stable germline transformation on the malaria mosquito *Anopheles stephensi*. *Nat.* 405: 959-962.
- Chagonda L. S., Makanda C., Chalchat J. C., 2000. Essential oils of cultivated *Cymbopogon winterianus* (Jowitt) and *C. citrates* (DC) Stapf from Zimbabwe. *J. Essent. Oil Res.* 12: 478-480.
- Chapman D., 1996. Water quality assessments. A guide to use biota, sediments and water in environmental monitoring. Chapman & Hall, London: 9-66, 100-120.
- Charlwood J.D., Pinto J., Sousa J., Ferreira C., Petrarca V. & Rosario V., 2003. "A mate or a meal"- Pre-gravid behaviour of female *An. gambiae* from the Islands of São Tomé and Príncipe, West Africa. *Mal. J.*, 2:9.
- Chouaïbou M., Simard F., Chandre F., Etang J., Darriet F. & Hougard J.M., 2006. Efficacy of bifenthrin-impregnated bednets against *Anopheles funestus* and pyrethrinoid-resistant *Anopheles gambiae* in North Cameroon. *Mal. J.*, 5: 77.
- Chiu, T. L., Z. M. Wen, S. G. Rupasinghe, and M. A. Schuler. 2008. Comparative molecular modeling of *Anopheles gambiae* CYP6Z1, a mosquito P450 capable of metabolizing DDT. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105:8855-8860.
- Clement A.N., 1992. *The Biology of Mosquitoes: Development, Nutriment and Reproduction.* Chapman & Hall, London, 453 p.
- Coetzee, M., Craig M. & Le Sueur D., 2000. Distribution of African malaria mosquitoes belonging to *Anopheles gambiae* complex. *Parasit. Today*, 16(2): 74-77.
- Coluzzi, M., 2002. *Plasmodium falciparum* en Afrique subsaharienne. Spéciation récente des vecteurs, transmissibilité, évolution de la pathogénèse/contrôle de la maladie et capacité vectorielle. *Ann. Inst. Pasteur Actualités* 2002 ; 81-99.
- Coluzzi, M., 1968. Cromosomi politenici delle cellule nutrici ovariche nel complesso *gambiae* del genere *Anopheles*. *Parasitol.*, 10: 179-184.
- Corbel, V., Duchon S., Zaim M. & Hougard J.M., 2004. Dinotefuran: a potential neonicotinoid insecticide against resistance mosquitoes. *J. Med. Entomol.* 41: 712-717.

- Cortez, D., A., G., Cortez, L., E., R., Pessini, G., L., Nakamura, C., V., 1998. Analysis of essential oil of alfavaca *Ocimum gratissimum* L. (Labiatae). Orquivos de ciencias da suada da UNIPAR, 2 (2): 100-127.
- Coz J., 1973. Contribution à l'étude du complexe *Anopheles gambiae*. Répartition géographique et saisonnière en Afrique de l'Ouest. Cah. ORSTOM Ent. Med., 11: 3-31.
- Curtis C.F., Miller J.E., Hassan M.N., Kolaczinski, J.H. & Kasumba I., 1998. Can anything be done to maintain the effectiveness of pyrethroid impregnated bednets against malaria vectors? Philos. Trans. Roy. Soc. B 353: 1769-1775.
- Curtis C.F., 2001. Insecticide resistance and mosquito-borne disease. The Lancet, 357: 656.
- Curtis C.F., 1985. Theoretical models of the use of insecticide mixture for management resistance. Bull. Entomol. Res., 75: 259-265.
- D.I.S.P.(Département of Infrastructure and Service of Parks), 2005. West Nile virus, mosquitoes breeding.Biology.http://www.city.Saskatoon.ca/org/parks/West_Nile/biology/index.asp-18k City of Saskatoon.
- Danis M. & Mouchet J., 1991. Paludisme. Editions Marketing Ellipses. Université francophone, Paris. 321 p.
- Darriet F., 1998. La lutte contre les moustiques nuisants et vecteurs de maladies. Ed. Karthala-Orstom, Paris 8-52.
- David J.P., Rey D., Pautou M.P. & Meryran J.C., 2000a. Differential toxicity of environmental vegetation on some aquatic dipteran larvae of mosquito breeding sites. J. Invert. Path., 75: 9-18.
- David J.P., Rey D., Marigo G. & Meryran J.C., 2000b. Larvicidal effect of a cell-wall fraction isolated from alder decaying leaves. J. Chem. Ecol., 26: 901-913.
- David J.P., Strode C., Vontas J., Nikou D., Vaughan A., Pignatelli P.M., Louis C., Hemingway J. & Ranson H., 2005. The *Anopheles gambiae* detoxification chip: a highly specific microarray to study metabolic-based insecticide resistance in malaria vectors. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 102(11): 4080-4084.
- De Barjac H. & Sutherlang D.L., 1991. Bacterial control of mosquitoes and backflies. Unwin Hyman Ed., 349 p.
- Deane M. & Causet O., 1943. Viability of *Anopheles gambiae* eggs and morphology of unusual types found in Brazil. Am. J. Trop. Med., 23:93-97.
- Dempster, J.P., 1961. The analysis dated obtained by regular sampling of Animal insect population. J. of Anim. Ecol.,30: 429-432.

- Dia I., 1999. Bioécologie et cytogénétique des populations d'*Anopheles funestus*. Thèse 3^e cycle Univ. de Dakar: 2-56.
- Diabaté A., Baldet T., Chandre F., Akogbeto M., Guiguemde R., Darriet F., Brengue C., Guillet P., Hemingway J., graham J. & Hougard J. M., 2002. The role of agricultural use of insecticides in resistance to pyrethroids in *Anopheles gambiae* s.l. in Burkina Faso. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 67(6): 617-622.
- Diabaté A., Baldet T., Chandre F., Guiguemdé R.T., Brengues C., Guillet P., Hemingway J. & Hougard J.M., 2002. First report of the kdr mutation in *Anopheles gambiae* M for from Burkina-Faso, West Africa. *Parassit.*, 44: 157-158.
- Diabaté A; Baldet T; Chandre F. & Akogbeto M. (2002). the role of agricultural use of insecticides in resistance to pyrethroids in *Anopheles gambiaes.l* in Burkina Faso. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 67: 617-622.
- Djouaka R., Bakare A., Bankole H., Doannio J., Coulibaly O., Kossou H., Tamo M., Basene H., Akogbeto M.C., Ranson H., Hemingway J & Strode C., (2008). Expression of the cytochrome P_{450s}, CYP6P3 and CYP6M2 are significantly elevated in multiple pyrethroid resistant populations of *Anophelesgambiaes.s.* from Southern Benin and Nigeria.*Biology and Medical Central Genomics*, 9:538.
- Dossou-Yovo J., Doannlo J.M.C., Diarrassouba S. & Chauvancy G., 1998. Impact d'aménagements de rizières sur la transmission du paludisme dans la ville de Bouaké, Côte d'Ivoire. Inst. Pierre Richet. (Accepté le 24 avril 1998).
- Drakeley C.J., Carneiro J.A., Reyburn H., Malima R., Lusingu J.P.A., Cox J. & Theander J.T., 2005. Altitude-dependent and independent variations in *Plasmodium falciparum* prevalence in North-Eastern Tanzania. *J. Infect. Dis.*, 191: 1985-1992.
- Edillo, E. F., Tripét, F., Touré, Y. T., Lanzaro,G., Dolo G. and Taylor, C. E., 2006. Water quality and immatures of M and S forms of *Anopheles gambiae* s.s. and *Anopheles arabiensis* in a Malian village. *Mal. Journ.* 5: 35.
- Ekundayo, O., Laakso, I. & Hiltunen, R., 1989. Constituents of the volatile oil from leaves of *Ocimum canum* Sims, *Flavour Fragrance J.*, 4: 17-18.
- Eldefrawi A.T., 1976. The acetylcholine receptor and its interaction with insecticide. *Pestic. Biochem. Physiol.*, ed. C.F. Wilkinson. Plenum Press, New York, 297-326.
- Elliot M., 1989. The pyrethroids : Early Discover, Recent Advance and The future. *Pestic. Sci.* 27:337-351.

- Enan E. (2000). Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C. Toxicology & Pharmacology*. 130(3):325-337.
- Enan E. (2005). Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 35(4):309-321.
- Etang J., Manga L., Toto J.C., Guillet P., Fondjo E. & Chandre F., 2007b. Spectrum of metabolic-based resistance to DDT and pyrethrinoids in *Anopheles gambiae* s.l. populations from Cameroon. *J. Vect. Ecol.*, 32(1): 123-133.
- Favia G., Della Torre A., Bagayoko M., Lanfrancotti A., Sagnon N'F., Touré Y.T., & Coluzzi M., 1997. Molecular identification of sympatric chromosomal forms of *Anopheles gambiae* and further evidence of their reproductive isolation. *Ins. Mol. Biol.*, 6(4): 377-383.
- Feyereisen R., 1999. Insect P₄₅₀ enzyme . *Ann. Rev. Ent.*, 44: 507-533.
- Feyereisen, R. 2005. Insect Cytochrome P450 in: *Comprehensive Molecular Insect Science*. ed. L. I. Gilbert, K. Iatrou & S.S. Gill edition. Elsevier.
- French-Constant, R. H., P. J. Daborn, and G. Le Goff. 2004. The genetics and genomics of insecticide resistance. *Trends in Genetics* 20:163-170.
- Fincke O. M., Yanoviak S. P. and Hanschu R. D., 1997. Predation by odonate depresses mosquito abundance in water-filled tree holes in Panama. *Oecologia* 112: 244-253.
- Fish, D. & Carpenter, S.R., 1982. Leaf litter and larval mosquito dynamics in three whole ecosystems. *Ecol.*, 63: 283-288.
- Foko Dadjé G. A., 2007. Etude de l'effet insecticide de *Capsicum annum* Linné (Solanaceae), *Piper nigrum* Linné (Piperaceae) et *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae) sur les stades de développement de *Anopheles gambiae* Giles 1902 (Diptera: Culicidae), vecteur du paludisme. Thèse Doctorat PhD. UYI., 206 p
- Fondjo E., Robert V., Legoff G., Toto J.C. & Carnevale P.C., 1992. Le paludisme urbain à Yaoundé (Cameroun). *Bull. Soc. Path. Exot.*, 85: 57-63.
- Foster W.A., 1995. Mosquito sugar feeding and reproductive energetics. *Ann. Rev. Entomol.* 40: 443-474.
- Fossog T. B; Kopya E; Ndo C; Menze- Djantio B; Costantini C; Njiokou F; Awono-Ambene P; & Antonio-Nkondjio C. (2012). Water Quality and *Anopheles gambiae* Larval Tolerance to Pyrethroids in the Cities of Douala and Yaoundé (Cameroon). *Journal of Tropical Medicine*, 2012:10.

- Franqueville A., 1984. Yaoundé, construire la capitale. Ed. de l'ORSTOM, étude urbaine, Paris: 81-128.
- Gakuru S. & Foua B.K., 1996. Effects of plant extracts on the cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus* Fab) and the rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.) Cah. Agric. 5:39-42.
- Gentilini M, Gammes D, Mouchet J., Duflo B., Lagadère B., Richard L. et Brucker G., 1995. Médecine tropicale. Flam. Méd. Scien. Paris: 382-412.
- Georghiou GP., Ariaratnam V., Pasternak ME., Lin CS. (1975). Organophosphorus multiresistance in *Culex quinquefasciatus* in California. *Journal of Economical Entomology*.68:461-467.
- Georghiou G. P., 1980. Insecticide resistance and prospects for its management. *Resid. Rev.*, 76: 131-134.
- Ghalambor, C. K., J. K. McKay, S. P. Carroll, and D. N. Reznick. 2007. Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology* 21:394-407.
- Gillies, M. T., and De Meillon, B. 1968. *The Anophelinae of Africa South of, the Sahara*. 2nd ed. South African Institute of medical research, Johannesburg: P. 131-135.
- Gillies M.T. & Coetze M., 1987. A supplement to the Anophelinae of Africa South of the Sahara. *S. Afr. Ins. Med. Res.*, 135-141.
- Gilpin M.E. & McClelland G.A.H., 1979. systems analysis of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Fortschr. Zool.* 25: 355-388.
- Greenwood B., Marsh K. & Snow R. W., 1991. Why do some African children develop severe malaria? *Parasitol. Today.*, 7: 277-281.
- Gui Xiao G., 1995. Diagnostic et traitement de l'accès pernicieux chez l'enfant à l'hôpital de Mbalmayo (Cameroun). *Bull. Liais. Doc. OCEAC*: 28(1) : 35-52.
- Guillet P., 2001. La lutte anti-vectorielle. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 94 (2 bis): 165-168.
- Guillet P., Chandre F. & Mouchet, J., 1997. L'utilisation des insecticides en santé publique: état et perspectives. *Med. Mal. Inf.*, 27:552-557.
- Guillet P., 1994. Des pyréthrine aux pyréthrinoïdes. Document dactylographié, Laboratoire des insectes nuisibles, IRD, Montpellier, France, 8 p.
- Guillet P., 1995. La résistance des vecteurs aux insecticides. Document dactylographié, Laboratoire des insectes nuisibles, IRD, Montpellier, France, 13 p.
- Grassé, P. P., 1961. *Zoologie I : les invertébrés*. Masson et Cie. Paris : 919 P.
- Hamon, J., Adam, P., Grjebine, A. 1956. Les Anophèles de l'Ouest del'Afrique. *Bull. Org. Mond. Santé (O.M.S.)*,15 : . 565-572

- Hamon J., Subra R., Sales S. & Coz J., 1968. Présence dans le Sud-Ouest de la Haute-Volta d'une population *Anopheles gambiae* «A» résistante au DDT. WHO/VBC/68.75, 10 p.
- Hargreaves K., Koekemoer L.L., Brooke B., Hunt R.H., Mthembu J. & Coetzee M., 2000. *Anopheles funestus*. Resistant to pyrethrinoid insecticides in South Africa. Med. Vet. Entomol. 14: 1-12.
- Hawley W.A., 1985. the effect of larval density on adult longevity of a mosquito, *Aedes sierrensis*: epidemiological consequences. J. Anim. Ecol., 54: 955-964.
- Hemingway J., 1998. Field and Laboratory manual for the mechanistic detection of insecticide resistance in insects. OMS Doc., 35 p.
- Hemingway J., Hawkes N.J., McCarroll L & Ranson H., 2004. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. Insect. Biochem. Mol. Biol. 34: 653-665.
- Hemingway J. & Ranson H., 2000. Insecticide resistance in insect vector of human disease. Ann. Rev. Entomol. 45: 371-391.
- Hietala SF, Martensson A, Ngasala B, et al. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of artemether and lumefantrine during combination treatment in children with uncomplicated falciparum malaria in Tanzania. Antimicrob Agents Chemother 2010;54:4782–8.
- Holstein, M., H., 1954. Biology of *Anopheles gambiae*: research in Western Africa. WHO , Geneva Swiss, 9: 176 p.
- Holstein M., 1949. Guide pratique de l'anophéline en A.O.F.. Serv. Gen. Hyg. Mob. Proph. Dakar, 55 p.
- Huff C. G., 1965. Susceptibility of mosquitoes to avian malaria. Expt. Parasit., 16: 107.
- Hunt R.H., Coetze M. & Fittene M., 1998. The *Anopheles gambiae* complex: a new species from Ethiopia. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 92: 231-235.
- IDEQ, 2002. Surface water: water quality standards. IDEQ publication. Water_quality_standards_cfm.htm, Idaho.
- Ikan R.(1969). Natural products, a laboratory guide. Academic Press, London & New-York. 234p
- Isman M.B., 1999. pesticides based on plant essential oils: Pestic. Outlook. 2: 68-72.
- IRAC. (2006). Prevention and management of insecticide resistance in Vectors and pests of public health importance. *Insecticide Resistance Action Committee*, 13p.
- Isman. (2000): Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*. 19: 603-608.
- Ito J.A., Ghosh L.A., Moreira E.A., Wimmer & Jacobslorena M., 2002. Transgenic anopheline mosquitoes impaired in transmission of a malaria parasite. Nat., 417: 452-455.

- Issartel M.J., 2007. Adaptation de la faune souterraine aux basses températures: mécanismes et enjeux écologiques. Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard (Lyon 1) : 164pp.
- Janovy J. Jr. & Larry S. R., 2000. Foundations of parasitology. Mc Graw Hill publishers, U.S.A. 6th edition: 141-166 and 571-594.
- Ji T., 2009. Traditional Chinese Medicine Pills for treating Hemorrhoid. CN101352524 A 20090128.
- Jirovetz L., Buchbauer., Ngassoum M. B., 1997. Investigation of the essentials oils from the dried fruits of *Xylopia aethiopica* (West Africa "peppertree" and *Xylopia parviflora* from Cameroon. *Ernahrung* 21(7-8): 324-325.
- Joulain D. & Köning W.A., 1998. *The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons*. Hamburg, Germany:EB-Verlag.
- Karino, K, Seki, N and Chiba, Mr., 2004. Larval nutritional environment determines adults size in Japanese horned beetles, *A. dichotoma*. *Ecol. Res.*, 19(6): 663- 668.
- Killeen G.F., Mc Kenzie F.E., Foy F.D., Bogh C. & Beier J.C., 2003. The availability of potential hosts as determinant of feeding behaviour and malaria transmission by African mosquito populations. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 95: 469-476.
- Klein J. M., 1977. Cours de physiologie et d'écologie des moustiques. 91 p.
- Koenraadt C.J.M. & Takken W., 2003. Cannibalism and predation among larvae of *Anopheles gambiae* complex. *Med. Veterin. Entomol.* 17 :61-67.
- Koudou J., Aklikokon K., Ebeassor M. et Bessière J.M., 2001. Composition chimique et activité concurante des huiles essentielles de *Monodora myristica* Gaert de la République centrafricaine. *Pharm. Med. Trad. Afric.* 11: 59-67.
- Kumar A. & K.S., 1993. Molecular organization and evolution of mosquito genomes. *Comp. Biochem. Physiol.* 106 (3): 495-504.
- Kuno, G. and Moore, C., G., 1975. Production of larval growth retardant in axenic cultures of *Aedes aegypti*. *Mosq. News*, 35: 199-201.
- Laguillon J., 1957. Carte épidémiologique du paludisme au Cameroun. *Bull. Soc. Exot.*, 50: 585-600.
- Larivière M., Bauvais B., Derouin F. et Traoré F., 1987. Parasitologie médicale. Edit. Marketing. Paris 238 p.
- Leeper J.R., Roush R.T. & Reynolds H.T., 1986. Preventing or managing resistance in arthropods, in pesticide resistance, strategies and tactics for management populations,

- committee on strategies for the management of pesticide resistance pest populations (ed) Nat.Acad.Pres., Washington, D.C., 335-346.
- Louis P.P., Trebucq A., Gelas H., Fondjo E., Manga L., Toto J. C. et Carnevale P., 1992. Le paludisme, maladie dans la ville de yaoundé (cameroun): prise en charge et lutte anti-vectorielle au niveau familial. Bull. Soc. Path. Exot., (1989-1990): 70-74.
- Lounibos L.P., 1994. Variable egg development among *Anopheles* (Nyssorhynchus): control by mating? Physiol. Entomol. 19: 51-57.
- Lund A.E. & Narahashi, 1983. Kinetics of Sodium Channel Modification as the Basis for the variation in the Nerve Membrane Effects of Pyrethrinoid and DDT analogs. Pestic. Biochem. Physiol., 20: 203-216.
- Lyimo, E.O., Takken, W and Koella, J.C., 1992. Effect of rearing temperature and larval density on larval survival, age at pupation and adult size of *Anopheles gambiae*. Ent. Exp. Ap., 63: 265-271.
- Mahmout, Y., 1992. Contribution à l'étude de quelques aromates et condiments utilisés au Tchad, Thèse de Doctorat en Chimie, université de Montpellier II, 105-120.
- Manga L., Robert, V., Messi, J., Desfontaines, M., and Carnevale, P. 1992. Le paludisme urbain à Yaoundé (Cameroun). 1- Etude entomologique dans deux quartiers centraux. Mem. Soc. R. Belge Entomol., 35 : 155-162.
- Manga L., Fondjo E., Robert V. & Carnevale P., 1991. Etude du paludisme urbain à Yaoundé (Cameroun). Bull. Soc. Franc. Parasit. 8:118-120.
- Maxwell C. A., Chambo W., Mwaimu M., Magogo F., Carneiro J.A. & Curtis C.F., 2003. Variation of Malaria transmission and morbidity with altitude in Tanzania and with introduction of alphacypermethrin treated nets. Mal. J., 2: 28.
- Mazen K.E.T. (2002). Molecular regulation of plant monoterpene biosynthesis in relation to fragrance. Thesis, Proefschrift Wageningen University, Netherland. 341p
- Messi J. & Foko Dadjé G.A., 1998. Efficacité de l'effet insecticide de *Capsicum annuum* en poudre en suspension dans l'eau sur les larves de *Anopheles gambiae* Giles, 1902. Ann. Fac. Sci. UYI., 34 :121-124.
- Miller L. H., 1975. Erythrocyte receptors for *Plasmodium knowlesi* malaria: Duffy blood group determinants. Scien., 189: 561-563.
- Miller L. H., 1977. Hypothesis on the mechanism of erythrocytes invasion by malaria merozoites. Bull. WHO, 57: 37-52.

- Minakawa N., Seda P. & Yan G., 2002. Influence of host and larval habitat distribution on the abundance of African malaria vectors in western Kenya. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 67(1): 32-38.
- Ministère de la Santé du Cameroun, 2002. Plan stratégique de lutte contre le paludisme au Cameroun, 171 p.
- Ministère de la Santé du Cameroun, 2014. Comptes Nationaux de la Santé en 2011. 100 p.
- Mohan D., Ramaswamy M.(2007). Evaluation of larvicidal activity of the leaf extract of a weed plant, *Ageratina adenophora*, against two important species of mosquitoes, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *African Journal of Biotechnology*. 6(5):631-638.
- Moore, C. G. and Fisher, B. R., 1969. Competition in mosquito. Density and species ratio effects on growth, mortality, fecundity and production of growth retardant. *An. of Ent. Soc. of Am.*, 62: 1325-1331.
- Mouchés C., Pasteur N., Bergé J.B., Hyrien O., Raymond M. De Saint Vincent B. R., De Silvetri M. & Georghiou G.P., 1986. Amplification of an esterase gene is responsible for insecticide resistance in a California *Culex* mosquito. *Sci.*, 233: 778-780.
- Mouchet J., Baudon J. et Carnevale P., 1991. Moyens de lutte et stratégies. Paludisme: (Ed) Danis, M. et Mouchet, J., Ellipse/UREF. Marketing/Ellipse (Ed.) Paris 35-58.
- Mouchet J. & Cavalié P., 1959. Apparition dans la zone de campagne antipaludique du Nord-Cameroun, d'une souche d'*Anopheles gambiae* résistante à la dieldrine. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 6: 736-741.
- Mouchet J. & Gariou J., 1961. Répartition géographique et écologique des anophèles au Cameroun. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 50 : 446-461.
- Muller P., Donnelley M.J. & Ranson H., 2007. transcription profiling of a recently colonised pyrethrinoid resistant *Anopheles gambiae* strain from Ghana. *BMC. Genom.*, 8:36.
- Muller, P., E. Warr, B. J. Stevenson, P. M. Pignatelli, J. C. Morgan, A. Steven, A. E. Yawson, S. N. Mitchell, H. Ranson, J. Hemingway, M. J. I. Paine, and M. J. Donnelly. 2008b. Field caught permethrin resistant *Anopheles gambiae* overexpress CYP6P3, a P450 that metabolises pyrethroids. *Plos Genetics* 4.
- Mutero A.M., Pralavorio M., Bride J.M. & Fournier D., 1994. Resistance associated point mutations in insecticide-insensitive acetylcholinesterase. *Proc. Nat. Acad. Sci. ASU*, 91:5922-5926.
- Nàjera-Morrondo J.A, 1991. Vaincre le paludisme: un objectif accessible. In. Santé du monde, 4-5.

- Ngassom M. B., Tatsadjeu, Mapongmetsem P-M., Jirovetz L., Buchbauer G. and Shahabi M., 2002a. Comparativ aroma compound analysis of differents essential oils of *Lippia rugosa* from Cameroon using GC-FID, and olfactometry. J. Essent. Oil. Res. (Accepted Dec. 2002).
- Nguefack J., Leth V., Amvam Zollo P. H., 2004. Evaluation of five essential oil from aromatic plants of Cameroun for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. Int. J. Food Microb., 23 (2): 265-269.
- Nicholas L., Darriet F. & Hougard J.M., 1987. Efficacy of *bacillus sphaericus* 2362 against larvae of *Anopheles gambiae* under laboratory and field conditions in West Africa. Med. Vet. Entomol., 1: 157-162.
- Nigam, M., Handa, K., & Rao, P., 1968. The essential oil of sweet basilic: potential source of linalool in india. Parfums Cosmetiques Savons, 51: 151-153.
- Nijhout M. 1979. *Plasmodium gallinaceum*: exflagelation stimulated by a mosquito factor. Exp. Parasit., 48: 75-80.
- Nkunya M.H.H., 1992. Progress in the search of antimalarials from plants, NAPRECA monographe N°4, NAPRECA, Addis Abeba Univ., Ethiopia, pp 5-29.
- Nikou D., Ranson H. & Hemingway J., 2003. An adult-specific CYP6 P450 gene is overexpressed in a pyrethrinoid-resistant strain of the Malaria vector, *An. gambiae*. Gene, 318: 91-102.
- Nohal E.; Mouchet J.; Rivière F.; Meunier J.Y. & Kra Y. (1994). Sensibilité d'*Anophelesgambiae* aux insecticides en Cote d'Ivoire. *Cahiers de santé*, 4: 95-99.
- Nwane P; Etang J; Costantini C; Batomen; Antonio-Nkondjio C; Mimpfoundi R. & Simard F. (2009). Field evaluation of three commercial repellent formulations against afro tropical Vectors mosquitoes in Cameroon. *Sciences et Médecine d'Afrique*, 1: 21-26.
- OMS, 1973. Chimiothérapie du paludisme et résistance aux antipaludiques. Rapport d'un groupe scientifique de l'OMS N° 529.
- OMS, 2005. Les actes du 5^{ème} Forum « Rall back Malaria partenership ». Yaoundé (18-19 Nov.).
- Opeoluwa O.O., Oladipupo A.L., Francis O.S. and Adebola O.O., 2009. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of *Callistemon citrinus* and *Callistemon viminalis* from South Africa. Molec. 14: 1990-1998.
- Park I. L., Lee S. G. And Choi D. H., 2002. Insectidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtuse* against *Callosobruchus chinensis* (L) and *Sitophilus oryzae* (L). J. Stored Prod. Res., 38 (in press).

- Pellecuer J., Allegrini J. & Simeon de Buochberg M., 1976. Sur l'activité de l'huile essentielle de *Hyptis pectinata*. Rev. Inst. Pasteur-Lyon. 9 (2): 135-159.
- Pidgeon J.W., Zhang L. & Liu N., 2003. Overexpression of CYPG19 associated with a pyrethrinoid-resistant strain of the German cockroach, *Blattellagermanica* (L). Gene, 314: 157-163.
- Piyaratne M. K., Amerasinghe F. P. and Konradsen F., 2005. Physico-chemical characteristics of *Anopheles culicifacies* and *Anopheles varena* breeding water in a dry zone stream in Sri Lanka. J. Vect. Born Dis., 42(2): 61-67.
- Poirié M. & Pasteur N., 1991. La résistance des insectes aux insecticides. Rech., 22: 874-881.
- Poupardin R., 2011. Interactions genes-environnement chez les moustiques et leur impact sur la résistance aux insecticides. Université de Grenoble. Thèse pp 275.
- Rageau J., Adam P. & Rivola E., 1953. Etude préliminaire sur la biologie de *Anopheles gambiae* dans la région forestière du Sud Cameroun. ORSTOM tome XXIII : 426-441.
- Ranasinghe, C., M. Headlam, and A. A. Hobbs. 1997. Induction of the mRNA for CYP6B2, a pyrethroid inducible cytochrome P450, in *Helicoverpa armigera* (Hubner) by dietary monoterpenes. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 34:99-109.
- Ranson, H., Jensen B., Vulule J., Wang X., Hemingway J. & Colling F., 2000. Identification of a point mutation in the voltage-gated sodium channel gene of Kenyan *Anopheles gambiae* associated with resistance to DDT and Pyrethrinoids. Ins. Mol. Biol., 9(5): 491-497.
- Ranson, H., C. Claudianos, F. Ortellì, C. Abgrall, J. Hemingway, M. V. Sharakhova, M. F. Unger, F. H. Collins, and R. Feyereisen. 2002. Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. Science 298:179-181.
- Ranson, H., L. Rossiter, F. Ortellì, B. Jensen, X. L. Wang, C. W. Roth, F. H. Collins, and J. Hemingway. 2001. Identification of a novel class of insect glutathione S-transferases involved in resistance to DDT in the malaria vector *Anopheles gambiae*. Bioch. J. 359:295-304.
- Reisen, W. K., and Emory, R. W., 1977a. The effects of larval intraspecific competition on imaginal densities in *Anopheles stephensi*(Diptera: Culicidae): a laboratory evolution. Can. Ent., 109: 1481-1484.
- Rey D., David J.P., Besnard G., Jullien J.L., Lagneau C. & Meryran J.C., 2001. Comparative sensitivity of larval mosquitoes to vegetable polyphenols versus conventional insecticides. Entomologia Experimentalis et Applicata, 98: 361-367.

- Ripert C., Same-Ekobo A., Tribouely J., Becker M., Solle J., Kouinche A., Hammont G. & Raccourt., 1990. Etude épidémiologique du paludisme dans la région du future lac de retenue de la Bini (Adamaoua)-Cameroun. Bull. Liais. Doc. OCEAC, 97: 40-44.
- Robert V., 1984. Lutte contre les vecteurs du paludisme. Polycopié 27 p., tiré de Mouchet J., Lutte contre les vecteurs et nuisance en Santé Publique. Encycl. Med. Chir. Paris. Maladies Infect., 8120 (B10): 3-1980.
- Robert V., 1989. La transmission du paludisme humain: la zone des savanes d'Afrique de l'Ouest. Thèse de Doctorat, Université de Paris 6. 325 p.
- Robert V., Awono-Ambene H. P. and Thioulouse J., 1998. Ecology of larval mosquitoes, with special reference to *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) in market-garden wells in urban Dakar, Senegal. J. Med. Entomol., 35(6): 948-955.
- Robert V., Van den Bock A., Stevens P., Sloomweg R., Petrarca V., Colluzzi M., LeGoff G., Di Deco M.A. & Carnevale P., 1992. Mosquitoes and malaria transmission in irrigated rice-field in the Benoue Valley of northern Cameroon. Acta Tropica, 52: 201-204.
- Robert V., Boussines M., Boudin C., Lonan H., Darniet F. & Carnevale P., 1987. Receptivité à *Plasmodium falciparum* d' *Anopheles gambiae* soumis à *Bacillus thuringiensis* sérotypé H14 ou à *Bacillus sphaericus*. Cahier ORSTOM, Série Entomologie Médicale et Parasitologie 25: 63-68.
- Robert, V., Molez J.F. & Trape J.F., 1996. Gametocytes, chloroquine pressure of *Plasmodium falciparum* malaria in West Africa. Am. J. Trop. Med. Hyg., 55: 350-351.
- Roeffen, W.F.G., 1996. *Plasmodium falciparum*: relevance of human antibodies for blocking transmission of the parasite from man to mosquito. Thèse de Doctorat, Université catholique de Nimegue (Belgique) 127 p.
- Rooker, S., Guillemaud T., Bergé J.B., Pasteur N. & Raymond M., 1996. Co-amplification of esterases A and B as a single unit in *Culex pipens* mosquitoes. Hered. 77: 555-561.
- Rosenberg R. & Rungsiwongse J., 1991. The number of sporozoites produced by individual malaria oocysts. Am. J. Trop. Med. Hyg., 45: 574-577.
- Roush R.T., 1989. Designing resistance management programmes: how can you choose? J. Pest. Sci., 26: 423-442.
- Sabourault C., Guzo V.M., Koener J.F., Claudianos C., Plapp Jr. & Feyereisen R., 2001. Overproduction of a P₄₅₀ that metabolizes diazinon is linked to a loss of function in the cytochrome 2 ali-esterase (M α E7) gene in resistant houseflies Insect Mol. Biol. 10: 609-618.

- Same-Ekobo A., 1997. *Santé, climat et environnement au Cameroun*. Ed. Jutey. Sciences. Yaoundé, 329 p.
- Same-Ekobo A., Fondjo E. & Eouzan J.P., 2001. Grands travaux et maladies à vecteurs au Cameroun. IRD Ed. Paris : 35-52.
- Saotoing P., 2005. Diversité culicidienne dans la partie septentrionale du Cameroun et effet des huiles essentielles sur les adultes d' *Anopheles gambiae*. Thèse 3^{ème} Cycle. UYI.
- Sattler M.A., Mtasiwa D., Kiama M., Premji Z., Tanner M., Killeen G.F. & Lengeler C., 2005. Habitat characterization and spatial distribution of *Anopheles* sp. Mosquito larvae in Dar es Salaam (Tanzania) during an extended dry period. *Mal. J.* 4: 4.
- Scott J.G., 1996. Cytochrome P₄₅₀ Monooxygenase mediated Resistance to Insecticides. *J. Pest. Sci.*, 2: 241-245.
- Scott, J. G. 1999. Cytochromes P450 and insecticide resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 29:757-777.
- Service M. W., 1977. A critical review of procedures for sampling populations of adult mosquitoes. *Bull. Entomol. Research.*, 67: 343-382.
- Shama V.P. & Dhiman R.C., 1993. Neem oil as a sandfly (Diptera: Psychodidae) repellent *J. Am. Mosq. Contr. Assoc.* 9: 364-366.
- Sharp B.L., Quicke F. & Jansen E.J., 1984. Aspect of the behaviour of five anopheline species in the endemic malaria area of natal. *J. Entomol. Soc. S.Afr.*, 47: 251-258.
- Shen B., Dong H.Q., Tian H.-S, Ma L., Li X.- L. & Wu G.-L., 2003. Cytochrome P₄₅₀ genes expressed in the deltamethrin-susceptible and resistant strains of *Culex pipiens pallens*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 75: 19-26.
- Silva, V. G. M. Craveiro, A. A. Matos A. J. F. Machado, L. I., Alencar W.J., 1999. Chemical variation of during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum ratississum* leaves. *Fitoterapia*, 70: 32-34.
- Slansky F., 1982. Insect nutrition: an adaptationist's perspective. *Florida Entomol.*, 65:45-71.
- Snow R. W., Guerra C.A., Noor A. M., Myint H. Y. & Hay S.I., 2005. The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria. *Nat.*, 434: 214-217.
- Spencer R.D. & Lumley P.F., 1991. *Callistemon*. In *Flora of New South Wales*. New South Wales Univ. Press: Sydney, Australia 2: 168-173.
- Steinwascher, K., 1982. Relationship between pupal mass, adult survivorship and fecundity for *Ae. aegypti*. *Env. Entomol.*, 11 (1): 150-153.

- Strode, C., C. S. Wondji, J. P. David, N. J. Hawkes, N. Lumjuan, D. R. Nelson, D. R. Drane, S. Karunaratne, J. Hemingway, W. C. Black, and H. Ranson. 2008. Genomic analysis of detoxification genes in the mosquito *Aedes aegypti*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 38:113-123.
- Suchel J.B.,1987. Les climats du Cameroun. Thèse de Doctorat d'Etat. Univ. Bordeaux III, 1186 p.
- Suleman, M., 1982. The effects of intraspecific competition for food and space on the larval development of *Culex quinquefasciatus*. *Mosq. News*, 42: 150-153.
- Suwanchaichinda, C. and Brattsten L. B., 2001. Effects of exposure to pesticides on carbaryl toxicity and cytochrome P450 activities in *Aedes albopictus* larvae (Diptera : Culicidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 70:63-73.
- Suwanchaichinda, C. and Brattsten L. B., 2002. Induction of microsomal cytochrome P450s by tire-leachate compounds, habitat components of *Aedes albopictus* mosquito larvae. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 49:71-79.
- Tabashnik B.E., 1989. Managing resistance with multiple pesticide tactics: theory, evidence and recommendations. *J. Econ. Entomol.*, 82: 1263-1269.
- Takken, W., Klowden, M. J. and Chamber, G. M., 1998. Effect of body size on host seeking and blood meal utilization in *Anopheles gambiae* ss (Diptera: Culicidae): the disadvantage of being small. *J. Med. Entomol.* 39: 639-645.
- Tawatsin A., Wratten, S.D., Scott R.R., Thavara U. & Techadamrongsin V., 2001. Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. *J. Vect. Ecol.*, 26:76-82.
- Tayal, J., & Dutt, S., 1938. Chemical examination of the essential oil of *Ocimum canum*. *Proc. Nat. Acad. Sci. India*, 8: 120-125.
- Tchoumboungang, F., Jazet Dongmo, P., Sameza, M.L., Nkouaya Mbanjo, E.G., Tiako Fotso, G.B., Amvam Zollo, P.H. et Menut, C., 2009. Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 13(1): 77-84.
- Tchuinkam T., 1996. Etude du pouvoir infectant des porteurs de gametocytes de *Plasmodium falciparum* pour *Anopheles gambiae* en zone d'endémie palustre, Yaoundé (Cameroun). Thèse 3^e cycle Faculté des Sciences, UYI : 39-45.
- Tchuinkam T.; Simard F.;Lelé-Defo E.; Tene F.B.; Tateng N.A.; Antonio-Nkondjio C.; Mpoame M.; Toto J.C.; Njine T.; Fontenille D. & Awono-Ambene P. (2010).Bionomics of Anopheline

- species and malaria transmission dynamics along an altitudinal transect in Western Cameroon. *Biology and Medical Central of Infectious Disease*, 10:119.
- Teklehaimanot A. & Herath P.R.J., 1991. Le moustique, ennemi public n° 1. In *Santé du monde*. OMS : le paludisme, 21 p.
- Tijet, N., C. Helvig, and R. Feyereisen. 2001. The cytochrome P450 gene superfamily in *Drosophila melanogaster*: Annotation, intron-exon organization and phylogeny. *Gene* 262:189-198.
- Timmermann, S. and Briegel, H., 1993. Water depth and larval density affect development and accumulation of reserves in laboratory population of mosquitoes. *Bull. Soc. of Vect. Ecol.*, 18(2): 174-187.
- Touré Y.T., Petraca V., Traoré S.F., Coulibaly A., Maiga H., Sankaré O., Sow M., Di Deco M.A. & Coluzzi M., 1998. Distribution and inversion polymorphism of chromosomally recognised taxa of *Anopheles gambiae* complex in Mali, West Africa. *Parassitol.*, 40: 477-511.
- Trape J.F. and Zoulani A., 1987. Malaria and urbanization in Central Africa : the example of Brazzaville. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 81: 1-25.
- Trape J.F., 2001. The public health impact of chloroquine resistance in Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 64: 12-17.
- van Handel, E., 1986. Growth of three mosquitoes on two larval diets measured by protein accumulation. *J. of Am. Mosq. Cont. As.*, 2(3): 289-291.
- Vincke I. H. & Lips M. 1948. Un nouveau Plasmodium d'un rongeur sauvage du Congo, *Plasmodium berghei* n. sp. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop.*, 30 : 79.
- Vontas J.G., Small G.J. & Hemingway J., 2001. Gluthatione-S-transferase as antioxidant defense agents confer pyrethrinoid resistance in *Nilaparvarta lugens*. *Biochem. J.*, 357: 65-72.
- Vulule, J. M., R. F. Beach, F. K. Atieli, J. C. McAllister, W. G. Brogdon, J. M. Roberts, R. W. Mwangi, and W. A. Hawley. 1999. Elevated oxidase and esterase levels associated with permethrin tolerance in *Anopheles gambiae* from Kenyan villages using permethrin-impregnated nets. *Medical and Veterinary Entomology* 13:239-244.
- Wanderli P., Thatcher B.D., Santos J., Scarpassa V.M.?, Rodriguez B.I. & Raphael S.M., 1998. Ecological observation on Anopheline vectors of malaria in Brazilian Amazon. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 59(2): 325-335.

- Wanji S., Tanke T., Atanga S.N. Ajonina C. Nicholas T. & Fontenille D., 2003. *Anopheles* species of the Mount Cameroon region: biting habits, feeding behaviour and entomological inoculation rates. *Trop. Med. Int. Hlth.*, 8: 643-649.
- Weiss E.A., 2002. *Spice Crops*. Oxon. CABI Pub., pp 102-103.
- White G.B., Tessafaye F., Boreham P.F.L. & Lemma G., 1980. Malaria vector capacity of the *Anopheles arabiensis* and *Anopheles quadriannulatus* in Ethiopia: chromosomal interpretation after six years storage of field preparations. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 74: 683-684.
- White G.B., 1985. *Anopheles bwambae* sp n. a malarial vector in the semliki valley, Uganda and its relationship with other sibling species of *Anopheles gambiae* complex (Diptera: Culicidae). *System. Entomol.*, 10: 501-522.
- WHO, 1980. Resistance of vectors of diseases to pesticides. fifth report of the WHO expert committee on vector biology and control. WHO Technical Report Series, n°655.
- WHO, 2000. Twentieth Technical Report of the WHO expert committee Series, n°892.
- WHO, 2001. Antimalaria drug combination therapy: report of a technical consultation. WHO, Geneva., 30 p.
- WHO, 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides
- Wilson, R.S., Franklin, C.E., Davison, W., Kraft, P., 2002b. Stenotherms at sub-zero temperatures: Thermal dependence of swimming performance in Antarctic fish. *J. Comp. Physiol. B* 171, 263-269.
- Willoughby, L., H. Chung, C. Lumb, C. Robin, P. Batterham, and P. J. Daborn. 2006. A comparison of *Drosophila melanogaster* detoxification gene induction responses for six insecticides, caffeine and phenobarbital. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 36:934-942.
- Wondji C., Simard F. & Fontenille D., 2002. Evidence for genetic differentiation between the molecular forms M and S within the forest chromosomal form of *Anopheles gambiae* s.s. in an area of sympatry. *Ins. Mol. Biol.*, 11(1): 11-19.
- Wondji C., Simard F., Petreca V., Etang J., Santolamazza F., Della Torre A. & fontenille D., 2005. Species and populations of the *Anopheles gambiae* complex in Cameroon with special emphasis on chromosomal and molecular forms of *Anopheles gambiae* s.s. *J. Med. Entomol.* 42: 998-1005.
- Wondji, C. S., H. Irving, J. Morgan, N. F. Lobo, F. H. Collins, R. H. Hunt, M. Coetzee, J. Hemingway, and H. Ranson. 2009. Two duplicated P450 genes are associated with

- pyrethroid resistance in *Anopheles funestus*, a major malaria vector. *Genome Research* 19:452-459.
- Yang Y.C., Lee H.S., Clark J.M. & Ahn Y.J., 2003. Insecticidal activity of plant essential oils *pediculus humanus capitis* (Anoplura: pediculidae). *J. Med. Entomol.*, 41: 699-704.
- Yayi E., Moudachirou M., Chalchat J.C., 1999. Essential oil of *Ocimum gratissimum* from Benin. *J. Essent. Oil Research*. 11: 529-531.
- Zhu, Y. C. and G. L. Snodgrass. 2003. Cytochrome P450 CYP6X1 cDNAs and mRNA expression levels in three strains of the tarnished plant bug *Lygus lineolaris* (Heteroptera : Miridae) having different susceptibilities to pyrethroid insecticide. *Insect Molecular Biology* 12:39-49.
- Zola, A. & Garnero, J., 1972. Contribution à l'étude de quelques essences de basilica de type européen, *Parfums Cosmetiques Savons*, 3: 15-19.

ANNEXES

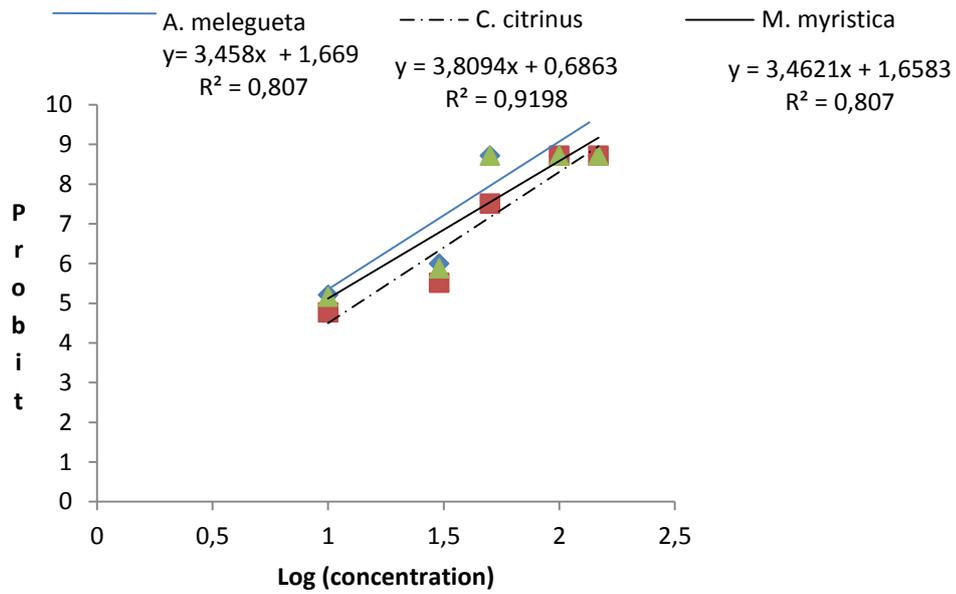


Figure 1: Droites de régression de l'effet létal des huiles essentielles des graines d'*A. melegueta* et de *M. myristica* et des feuilles de *C. citrinus* sur les larves des stades I d'*Anopheles gambiae* s.s.

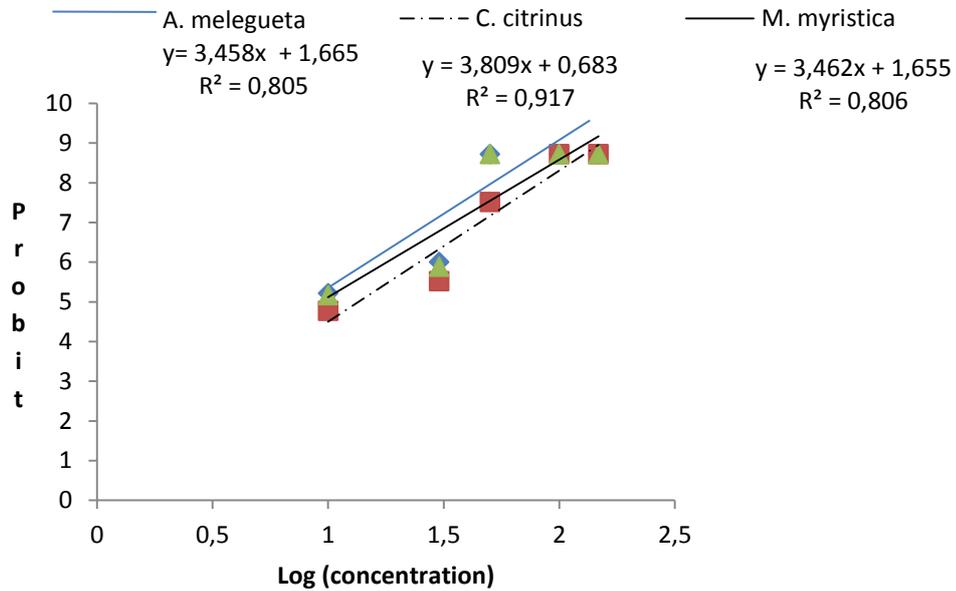


Figure 2: Droites de régression de l'effet létal des huiles essentielles des graines d'*A. melegueta* et de *M. myristica* et des feuilles de *C. citrinus* sur les larves de deuxième stades d'*Anopheles gambiae* s.s.

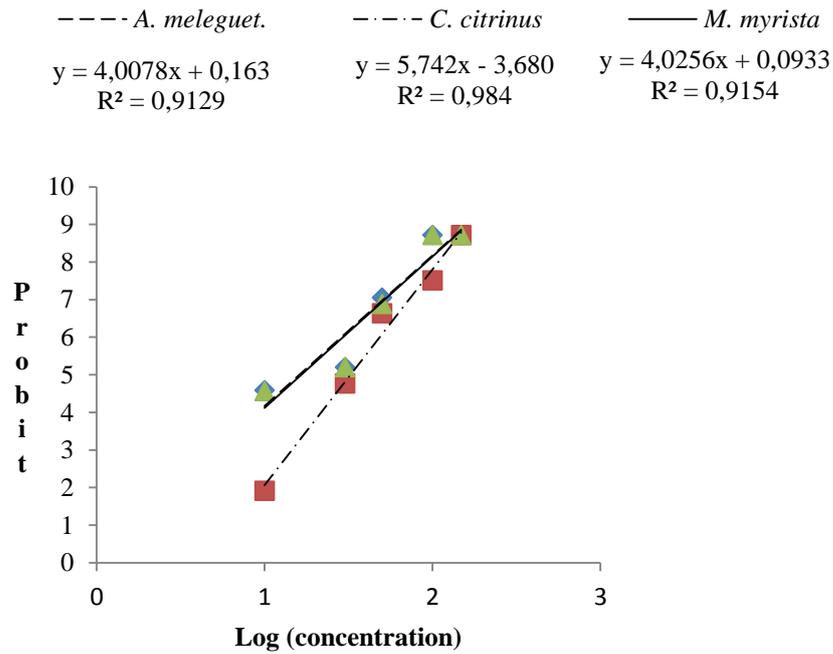


Figure 3: Droites de régression de l'effet létal des huiles essentielles des graines d'*A. melegueta* et de *M.myristica* et des feuilles de *C. citrinus* sur les larves de troisième stade d'*Anopheles gambiae* s.s.

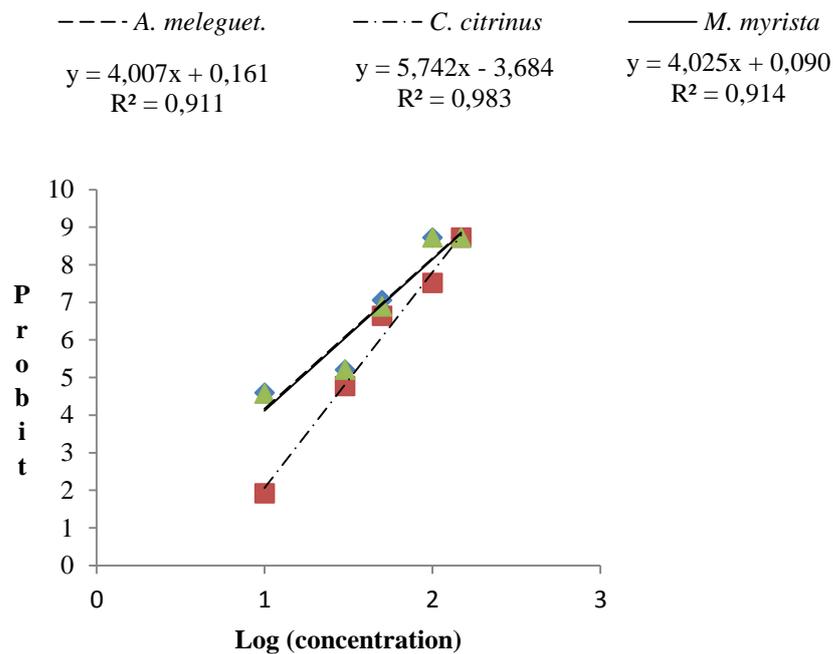


Figure 4: Droites de régression de l'effet létal des huiles essentielles des graines d'*A. melegueta* et de *M.myristica* et des feuilles de *C. citrinus* sur les larves de quatrième stade d'*Anopheles gambiae* s.s.

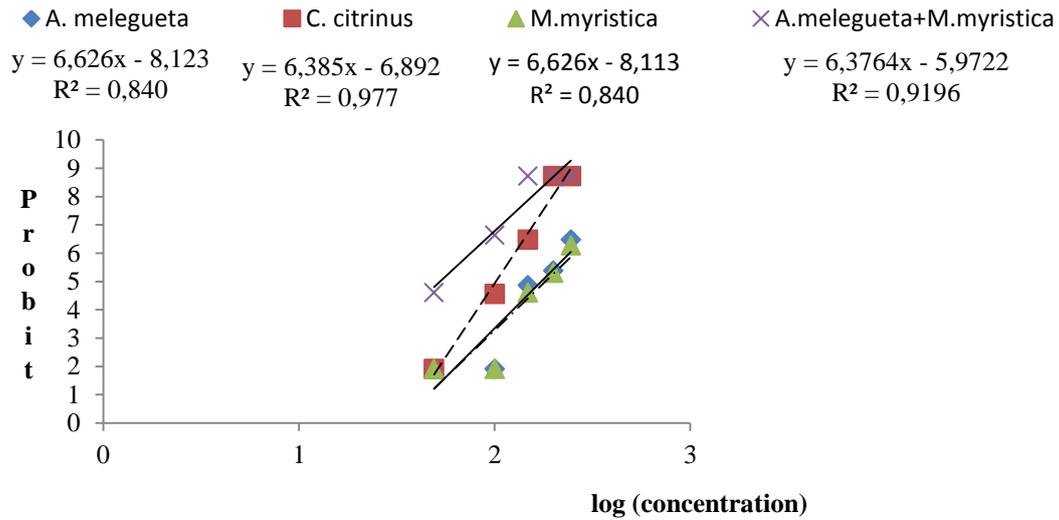


Figure 5: Droites de régression de l'effet létal des huiles essentielles des graines d'*A. melegueta* et de *M. myristica* et des feuilles de *C. citrinus* sur les femelles d'*Anopheles gambiae* s.s.

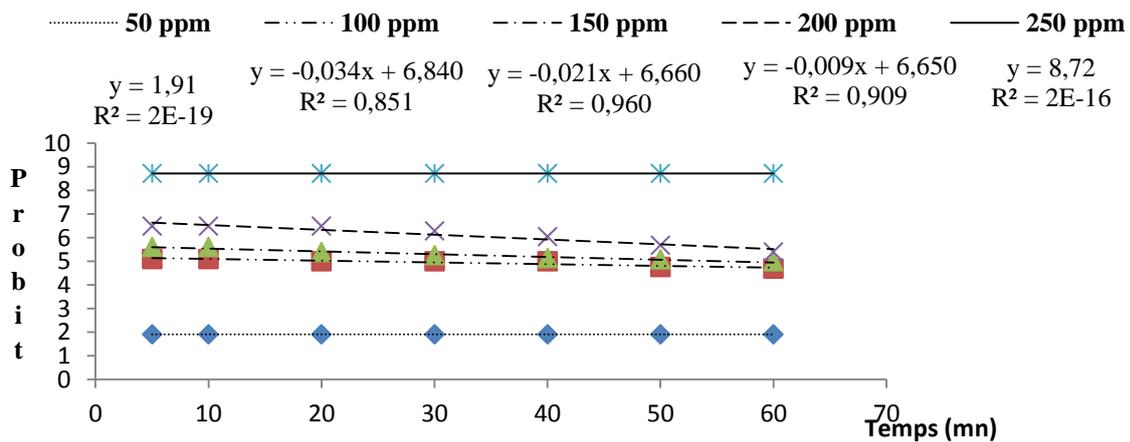


Figure 6: Droites de régression de l'effet knockdown de l'huile essentielle des graines d'*A. melegueta* sur les femelles d'*Anopheles gambiae* s.s.

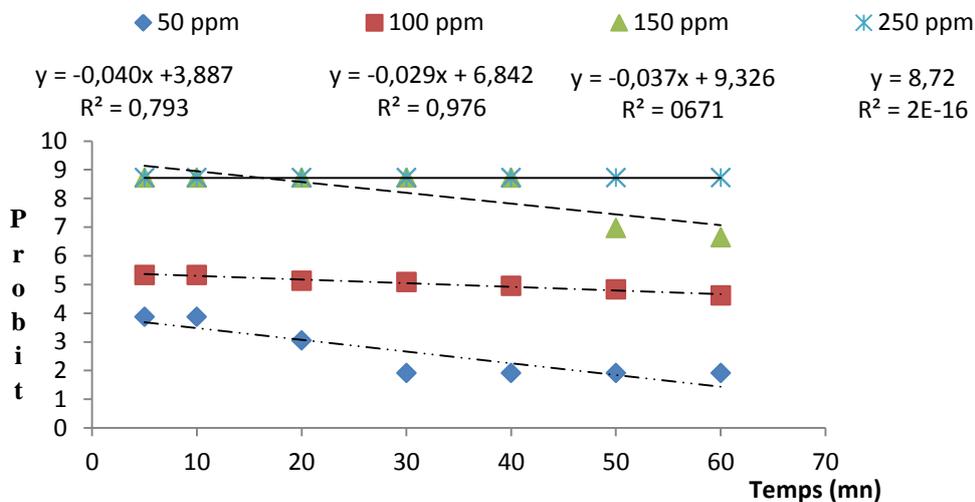


Figure 7: Droites de régression de l'effet knockdown de l'huile essentielle des feuilles de *C. citrinus* sur les femelles d'*Anopheles gambiae* s.s.

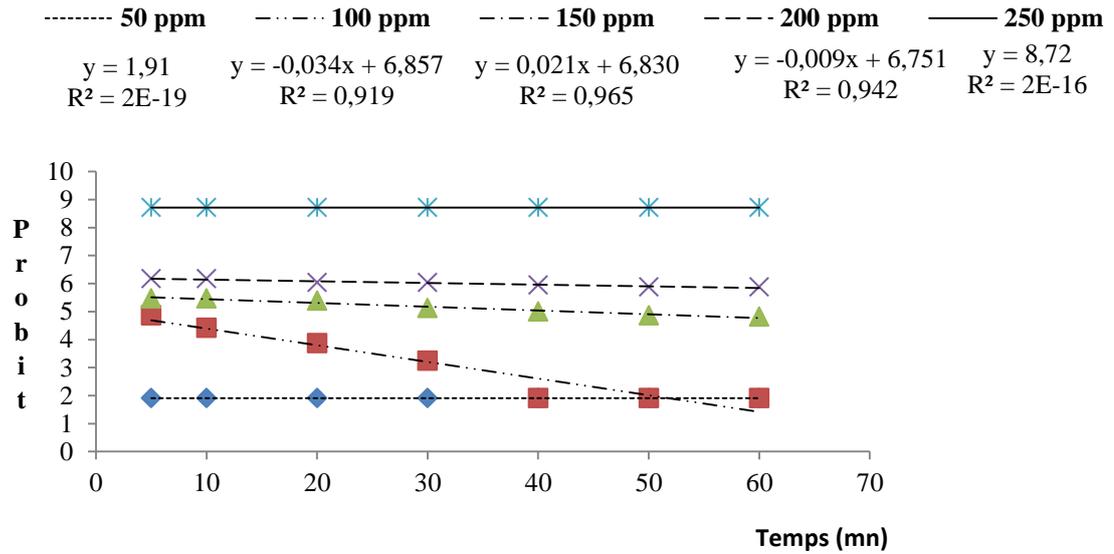


Figure 8: Droites de régression de l'effet knockdown de l'huile essentielle des graines de *M.myristica* sur les femelles d'*Anopheles gambiae* s.s.

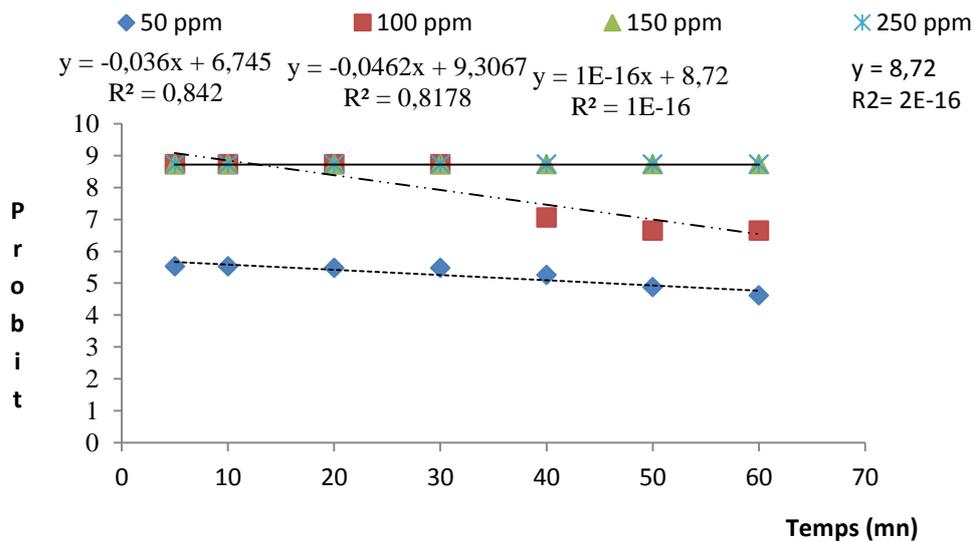


Figure 9: Droites de régression de l'effet knockdown du mélange d'huiles essentielles des graines d'*A. melegueta* et de *M.myristica* sur les femelles d'*Anopheles gambiae* s.s.

ARTICLE

Adaptative Responses of *Anopheles gambiae* in Crowding Larvae Conditions in Laboratory

¹H.G. Tsila, ¹J. Messi and ²G.A. Foko Dadji

¹Laboratory of Zoology Faculty of Science, P.O. Box, 812 Yaoundé, Cameroon

²Laboratory of Zoology, Higher Teacher's College, University of Yaounde I, Cameroon

Corresponding Author: Tsila Henri Gabriel, Laboratory of Zoology, Faculty of Science, University of Yaounde I, P.O. Box 812, Yaounde, Cameroon Tel: 237 96482371/237 22112237

ABSTRACT

Anopheles gambiae, an important Malaria vector in Africa is generally found in temporal and reduced pools which may result in crowding larvae conditions. This crowding could affect population's evolution of this species in natural conditions. The aim of this study is to investigate adaptive adjustments of this species to the excess larval concentration. In this case, four groups of 100 larvae each one were reared in different levels of density. Then we determine larval duration, larval mortality. We have measured length and width of adults in order to value variations of the size of the body with larval density. The size of oviposition and the hatching rate was also determined by counting of eggs and larvae of the first stage after hatching. We noticed that when the larval density is low (less than 3 larvae per mL), the main traits of life which could affect population's evolution (larval development, mortality, size of body, fecundity) are better. But when larval concentration increases (more than 5 larvae per mL), period of larval development and mortality increase, size of body and fecundity decrease. If larval density gets as high as 8 larvae per mL, mortality is very high especially during the two first days of larval development, the duration of larval phase drops significantly and body size increases significantly.

Key words: *Anopheles, gambiae*, density, larvae, mortality, crowding, adults, laboratory, fecundity, size, adaptative

INTRODUCTION

Anopheles gambiae is the main vector of Malaria in the inter-tropical area of Africa (CDC, 2004) in general and in Cameroun in particular where it is observed everywhere (Carnevale and Mouchet, 1990). Malaria accounts for much of the disease burden in Cameroon, claiming about 30-35% of the total deaths each year and 40-45% of morbidity cases. Although, over 90% of the population is at risk of this disease (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2008). Malaria control may be achieved by three complementary methods: drugs, vaccine and vector control. For efficiency of the last method, well knowledge of vector ecology is necessary. The fight against vectors should take into account processes controlling the population dynamics (Lyimo *et al.*, 1992). Selection of an ovipositional site is a critical element in the life history of female mosquitoes because it ultimately influences the fitness of progeny, distribution of larvae and larval population dynamics (Spencer *et al.*, 2002; Huang *et al.*, 2006). The location of larvae in a habitat is due to selection of oviposition site by gravid females (Edillo *et al.*, 2006). On the ecological side, *An. gambiae* has a preference for temporary water collections and sometimes very restricted puddle pools of the prints

of shoes. This fact can induce crowding of larvae in natural environment. One ecological factor known to have a great influence on the life-history of adult Anophelines, Culicines and *Aedes* mosquitoes is the density at which larvae develop (Ng'habi *et al.*, 2005). And according to Timmermann and Briegel (1993), great larval densities are generally responsible for intra or interspecific competition which affects the population's evolution. In the absence of predators and pathogens, the number of larvae in a particular habitat and the amount of food available to them determines the number of adults that emerge from a habitat, their survival and body size (Ng'habi *et al.*, 2005). The growth of populations of mosquitoes is strongly correlated with certain parameters such as duration of larval development and the size of adults (Lyimo *et al.*, 1992).

Demographic boom of our cities induce occupation of suburban areas that could create new breeding sites. In urban environment *Anopheles* sp. Mosquitoes adapt to new breeding sites created by urbanization and hence their ecology might differ from rural settings (Sattler *et al.*, 2005). The vast geographical distribution of *An. gambiae* can be related to the great adaptability of this vector to the varied living conditions (Danis and Mouchet, 1991). The objective of this study is to highlight the mechanisms of adjustment of *An. gambiae* population according to its larval density.

MATERIALS AND METHODS

In the present study, larvae came from a *An. gambiae* strain from Yaounde (Cameroon) colonized continuously in the laboratory for more than 5 years. This work was carried out at the Biotechnology Centre of University of Yaoundé I, (Yaounde, Cameroon) from 2006 to 2007. These experiments proceeded under temperature ranging between 26° and 30°, RH within 70-80% and a photoperiod of L/D: 12/12.

Larval development: The larvae were reared in vat of 8.5×3.5×3.5 cm. Six levels of density were retained within this framework. They are 0.5, 1.5, 3.5, 8 and 15 larvae per mL. Larvae were fed daily by the Tétramin (01 mg per larva during the first four days and 0.02 mg for the following days) according to Lyimo *et al.* (1992). Each experiment was repeated four times. At the end of the larval development, nymphs were pipetted and counted on daily intervals in order to evaluate the larval phase duration and larval mortality. The duration of larval development was determined according to Dempster (1961) method where duration of larval phase is considered as the time of transformation of 2/3 of the larvae into nymphs. Nymphs from each level of density are then introduced into a cage covered with mosquito net. After hatching, dead nymphs are counted.

Biomass accumulation of larvae: One hundred pupae from each level of depth were pipetted and introduced into 70% alcohol for one day. The pupae were later removed from alcohol and weighed using an electronic balance, Sartorius (dd = 0.1 mg).

Fecundity of *An. gambiae*: Adults are nourished with a saccharine solution of 10% *ad libitum*. Three days after emergence, females take a blood meal on a rabbit. During the blood meal, females draught in each cage were counted. Egg laying occurred in Petri dishes lined with filter paper soaked in spring water. Eggs from each cage were counted using a magnifying glass. Then, with the number of females draught in the cage we can determine average size of eggs per female. One hundred eggs from each cage were introduced into another Petri dish containing spring water for hatching. Larvae of first stage obtained were then counted.

Size of the adults of *An. gambiae*: Measurements were performed on the length (distance separating insertion from the wing on the body with the silk fringe of the distal end) and the width (taken at the level of the median area of the wing) of adult wings according to Lyimo *et al.* (1992). A wing of each adult was removed using two needles and measured using a magnifying glass equipped with an ocular micrometer.

Statistical analyses: The ANOVA test was performed to compare variables of larval development duration, pupae mass or wing size at different levels of density. The different means of the larval and the pupae mortality, the oviposition and the hatching rate were compared by the Chi-square test. The software SPSS (Windows version 12.0) was used to perform the above statistical analysis.

RESULTS

Larval development: The duration of larval development varied very significantly ($F = 64, 14; df = 5; p < 0.0001$) from one level of density to the other. A minimal duration of 202.75 h (approximately 8.5 days) was recorded for a density of 0.5 larvae per mL and a maximum duration of 339.74 h (14.2 days) when the density reaches 8 larvae per mL. Above this density, the duration of the larval phase drops. The statistical analysis revealed that the duration of the larval phase does not differ significantly between densities 0.5 and 1.5 larvae per mL. It is the same for densities 3, 5 and 8 larvae per mL. Density level of 15 larvae per mL had the same duration of development as those with 3 larvae mL⁻¹ (Table 1).

The variations in density was also accompanied by very significant variations in larval mortality. However, the larval density did not affect the mortality of nymphs ($\chi^2 = 7, 68; df = 5; p = 0,17$). Larval mortality increased with increase in density of larvae in the medium, ranging from 0.45% for a density of 0.5 larvae per mL to 92.70% when density reaches 15 larvae per mL. This mortality was especially observed during the first two days of experimentation.

Mass of pupae: Mass of pupae varied very significantly ($F = 16,63; df = 5; p < 0,0001$) with the density of larvae. This mass decreases as the larval density increases. A maximum mass of 0.0023 g was recorded for a density of 0.5 larvae per mL and a minimal mass of 0.0009 g for a density of 8 larvae per mL. The mass goes up to 0.0015 g when the density passes to 15 larvae per mL. A comparison of the masses of pupae at various levels of density showed that the mass does not vary significantly between density levels of 0.5, 1.5 and 3 larvae per mL, between density levels of 5 and 8 larvae per mL. Also, the mass of pupae was the same for density levels of 15 and 3 larvae per mL (Table 1).

Table 1: Variation of larvae duration, pupae mass, size of adult's wings, oviposition and hatching rate of *An. gambiae* with density (number of larvae mL⁻¹)

Characteristics	Size (larvae mL ⁻¹)					
	0.5	1.5	3	5	8	15
Larval duration	219.19±19.77a	219.19±19.77a	320.11±9.08b	335.23±6.71b	339.73± 14.85b	302.27±5.04c
Pupae mass	0.23±0.05a	0.20±0.03ab	0.16±0.01bc	0.12±0.03c	0.10±0.02d	0.14±0.01cd
Length of male wings	3.17±0.21ab	3.20±0.17ab	3.13±0.12ab	3.06±0.21ac	2.99±0.13c	3.18±0.18ab
Width of female wings	0.77±0.09ab	0.77±0.08ab	0.75±0.06ac	0.71±0.09ac	0.68±0.05ac	0.76±0.04cd
Length of female wings	3.59±0.14a	3.59±0.15a	3.32±0.08bce	3.26±0.20bcd	3.13±0.20bd	3.46±0.24ae
Width of female wings	0.93±0.04a	0.93±0.06ab	0.84±0.03bce	0.81±0.10bcd	0.75±0.07bd	0.88±0.09ae
Oviposition	104.60±5.13a	98.50±6.80b	74.70±7.67c	38.00±6.04d	39.20±5.34d	40.00±5.15d
Hatching rate	95.33±1.51a	84.56±3.34b	82.63±2.50ce	74.84±3.10d	60.91±4.09e	69.74±4.74f

Same letters: Difference not significant

Size of the adult wings: In general, size of body decreased with increase in larval density for both gender. It was however observed that the length and the width of the wings rather increased when the larval density got higher than 8 larvae per mL for both sexes. The wings of females resulting from media with 0.5 and 1.5 larvae per mL are longer and broader (3.60 mm for the length and 0.93 mm for the width) whereas those from medium with 8 larvae per mL have the shortest (3.13 mm) and least broad (0.75 mm) wings. The length and the width of the wing do not differ significantly between the females from media of 0.5 and 1.5 larvae per mL, 3 and 5 larvae per mL and finally 15 larvae per mL (Table 1).

For the males, the maximum length (3.20 mm) and the maximum width (0.79 mm) were recorded for mosquitoes coming from the media of 1.5 larvae per mL with the minimal length (3.00 mm) and the minimal width (0.68 mm) obtained for mosquitoes from the medium with 8 larvae per mL. The males from media with densities of 0.5, 1.5, 3 and 15 larvae per mL had virtually the same size while males from media with densities of 5 and 8 larvae per mL had a similar size (Table 1).

Fecundity of females: The size of oviposition varied very significantly ($\chi^2 = 150,89$; $df = 5$; $p < 0,0001$) with the larval density. In general, number of eggs per laying decreased with increase density of larvae in the medium. Thus, the size of oviposition was maximal (approximately 110 eggs) for the female from the medium of 0.5 larvae per mL and minimal (approximately 40 eggs) for the female from the medium of 5 larvae per mL (Table 1).

The rate of hatching also varied very significantly according to the larval density of the medium ($\chi^2 = 163,59$; $df = 5$; $p < 0.0001$). This rate was highest for eggs laid by females from the medium with 1.5 larvae per mL with a value of 95.33% and it is lowest (60.95%) for eggs laid by the females from a medium of 8 larvae per mL (Table 1).

DISCUSSION

The density of the larvae of *An. gambiae* influences considerably their development. When the density of the larvae is low (less than 3 larvae per mL), the duration of the larval phase is approximately 8 days (first nymphs appearing after 7 days) which corresponds to the normal duration of development of the larvae of this species of mosquitoes (Holstein, 1954; Diop and Molez, 1998; Aurelie *et al.*, 2007). But when the density becomes high (more than 3 larvae per mL) we observe a prolongation in duration of the larval stages. Similar results have been reported in the same species by Gimning *et al.* (2002). They have recorded an average of an additional 1-2 days. But for our experiment the duration of the larval phase is prolonged for approximately 6 days when the larval density increases to the level of 8 larvae per mL. This represents a very significant delay which can significantly affect the dynamics of adult populations. Indeed, if we consider the very temporary character (less than 10 days) of the *An. gambiae* larval lodgings, most of larvae do not complete their development. This situation would be very frequent at the beginning and at the end of the rainy seasons because rains are very sporadic and the water puddle pools quickly dry up. The long duration of the larval phase in the case of crowding larval conditions would relate to a phenomenon of growth inhibition. Indeed, Moore and Fisher (1969), Kuno and Moore (1975), Reisen and Emory (1977) and Suleman (1982) found a factor called GRF (Growth Delaying Factor) responsible for increasing of the duration of the larval phase of several species of Culicidae such as *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensis* and *Culex quiquefasciatus* under the crowding conditions

of larvae. According to the same authors, this factor is also responsible for the high mortality recorded under the same conditions. Within the framework of our work, mortality becomes significant when the density becomes higher than 3 larvae per mL. For densities higher than 8 larvae per mL, GRF concentration would be very weak because most larvae die two days after the culture is set up and the duration of the larval phase decreases significantly. The very high mortality would probably be related to competition by interference (for space) from consecutive of larval overload because larvae receive sufficient food. This result is contrary to that of Suleman (1982) who noticed that for *Culex quinquefasciatus*, when the quantity of food is sufficient, the larval density does not have any effect on the larval development.

Growth of mosquito larvae as that of any other organism is accompanied by the accumulation of reserves especially of proteins and lipids (Van Handel, 1986; Timmermann and Briegel, 1993). So pupae proceeding to larvae which accumulates more reserves also has a higher mass. Mass of the pupae can thus constitute an indicator of food availability during the larval development. Within the framework of our work, we noticed that the greatest mass of pupae was recorded for the media with densities lower than 3 larvae per mL. But for density between 3 and 8 larvae per mL, accumulation of the reserves is disturbed. Low teneral energy reserves typically are associated with crowded larval conditions (Gary *et al.*, 2009). This disturbance of reserves accumulation is undoubtedly a consequence of intraspecific competition by exploitation induced by the phenomenon of interference. Although, theoretically, all the larvae receive the same quantity of food, there always exists a problem of space because during provision of food, it is not evenly distributed in the medium; the surface of water and the bottom of the vat are the principal places of food supply (after a certain time, food forms a deposit). This fact considerably limits the permanent access to food for all the larvae. Then we observe a great variation in the mass between pupae. These facts were observed for *Culex quinquefasciatus* by Suleman (1982).

The density of larvae also affects the size of adults. Indeed big adults come from the media of very low densities as 0.5 and 1.5 larvae per mL. This shows that the conditions of the larval development also influences the size of adult *An. gambiae*. Size of adult depends on the accumulation of biomass during the larval growth because the pupae does not feed. The same reports were made by Timmermann and Briegel (1993), Takken *et al.* (1998) and Gimning *et al.* (2002). The increase in the size of adults when the larval density becomes higher than 8 larvae per mL could be explained by the high mortality of the larvae during the first few days of the experimentation. This fact contributes to reduce competition and consequently the GRF production, a factor which also disrupts the accumulation of reserves during the larval phase.

Overcrowding affect the fecundity of females of mosquitoes. The size of oviposition and the rate of hatching of eggs are also affected by the density of larvae. Fecundity is high for the females resulting from the medium with density of 0.5 larvae per mL and low when the larval density of the medium increases. The effect of the density on fecundity would be rather indirect because we note like Briegel (1990) and Karino *et al.* (2004) a high correlation between fecundity and the size of adults. Indeed, the big females take in great quantities of blood and Steinwascher (1982) found for *Ae. aegypti* a positive correlation between the absorptive quantity of blood and number of mature eggs in the ovaries.

Crowding larvae conditions do not affect only larval development but even adult life traits that can regulate populations. High mortality occurs two days after hatching and reduce density. This fact improve some life traits in particularly size of adults and their fecundity. Besides geographic location, knowledge of ecological features breeding sites of mosquito is a potential key element for implementing efficient and effective larvae control measures.

ACKNOWLEDGMENT

Author would like to thank Bilong Bilong C. F. for laboratory material and advices, Mrs. Taku A., Buji E. for kindly reviewing the manuscript. This study was carried out in The Biotechnology Centre of University of Yaoundé I.

REFERENCES

- Antonio-Nkondjio, C., J. Atangana, C. Ndo, P. Awono-Ambene, E. Fondjo, D. Fontenille and F. Simard, 2008. Malaria transmission and rice cultivation in Lagdo, Northern Cameroon. *Trop. Med. Hyg.*, 102: 352-359.
- Aurelie, F.D.G., M. Jean and T.J. Lebel, 2007. Influence of water type and commercial diets on the production of *Anopheles gambiae* giles, under laboratory conditions. *Pak. J. Biol. Sci.*, 10: 280-286.
- Briegel, H., 1990. Metabolic relationship between female body size, reserves and fecundity of *Aedes aegypti*. *J. insect Physiol.*, 36: 165-172.
- CDC, 2004. The Impact of Malaria, has Leading Causes of Death Worldwide. CDC, USA.
- Carnevale, P. and J. Mouchet, 1990. La lutte anti-vectorielle et lutte anti-paludique. *Med. Trop.*, 50: 392-398.
- Danis, M. and J. Mouchet, 1991. Paludisme. Universite Francophone, Paris.
- Dempster, J.P., 1961. The analysis dated obtained by regular sampling of animal insect population. *J. Anim. Ecol.*, 30: 429-432.
- Diop, O.F. and J.F. Molez, 1998. Installation in insectarium of a stock of *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae). *Bull. Soc. Pathol.*, 91: 340-343.
- Edillo, F.E., F. Tripet, Y.T. Toure, G.C. Lanzaro, G. Dolo and C.E. Taylor, 2006. Water quality and immatures of M and S forms of *Anopheles gambiae* s.s. and *Anopheles arabiensis* in a Malian village. *Malaria J.*, 5: 35-35.
- Gary, R.E. Jr., J.W. Cannon III and W.A. Foster, 2009. Effect of sugar on male *Anopheles gambiae* mating performance, as modified by temperature, space and body size. *Parasites Vectors*, 2: 19-19.
- Ginning, J.E., M. Ombok, S. Otieno, M.G. Kaufman, J.M. Vulule and E.D. Walker, 2002. Density-dependent development of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) larvae in artificial habitats. *J. Med. Entomol.*, 39: 162-172.
- Holstein, M.H., 1954. Biology of *Anopheles gambiae*: Research in Western Africa. WHO, Geneva, Swiss.
- Huang, J., E. Walker, J. Vulule and J. Miller, 2006. The influence of darkness and visual contrast on oviposition by *Anopheles gambiae* in moist and dry substrates. *Physiol. Entomol.*, 32: 34-40.
- Karino, K., N. Seki and M. Chiba, 2004. Larval nutritional environment determines adult size in Japanese horned beetles *A. dichotoma*. *Ecol. Res.*, 19: 663-668.
- Kuno, G. and C.G. Moore, 1975. Production of larval growth retardant in axenic cultures of *Aedes aegypti*. *Mosquito News*, 35: 199-201.
- Lyimo, E.O., W. Takken and J.C. Koella, 1992. Effect of rearing temperature and larval density one larval survival, age at pupation and adult size of *Anopheles gambiae*. *Entomol. Exp. Appl.*, 63: 265-271.
- Moore, C.G. and B.R. Fisher, 1969. Competition in mosquito. Density and species ratio effects on growth, mortality, fecundity and production of growth retardant. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 62: 1325-1331.

- Ng'habi, K.R., B. John, G. Nkwengulila, B.G. Knols, G.F. Killeen and H.M. Ferguson, 2005. Effect of larval crowding on mating competitiveness of *Anopheles gambiae* mosquitoes. *Malaria J.*, 4: 49-49.
- Reisen, W.K. and R.W. Emory, 1977. The effects of larval intraspecific competition on imaginal densities in *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae): A laboratory evolution. *Can. Entomol.*, 109: 1481-1484.
- Sattler, M.A., D. Mtasiwa, M. Kiama, Z. Premji, M. Tanner, G.F. Killeen and C. Lengeler, 2005. Habitat characterization and spatial distribution of *Anopheles sp.* mosquito larvae in Dar es Salaam (Tanzania) during an extended dry period. *Malaria J.*, 4: 4-4.
- Spencer, M., L. Blaustein and J.E. Cohen, 2002. Ovipositional habitat selection by mosquitoes (*Culiseta longiareolata*) and consequences for population size. *Ecology*, 83: 669-679.
- Steinwascher, K., 1982. Relationship between pupal mass, adult survivorship and fecundity for *Aedes aegypti*. *Environ. Entomol.*, 11: 150-153.
- Suleman, M., 1982. The effects of intraspecific competition for food and space on the larval development of *Culex quinquefasciatus*. *Mosquito News*, 42: 150-153.
- Takken, W., M.J. Klowden and G.M. Chamber, 1998. Effect of body size on host seeking and blood meal utilization in *Anopheles gambiae* ss (Diptera: Culicidae): The disadvantage of being small. *J. Med. Entomol.*, 39: 639-645.
- Timmermann, S.E. and H. Briegel, 1993. Water depth and larval density affect development and accumulation of reserves in laboratory populations of mosquitoes. *Bull. Soc. Vect. Ecol.*, 18: 174-187.
- Van Handel, E., 1986. Growth of three mosquitoes on two larval diets measured by protein accumulation. *J. Am. Mosquito Control Assoc.*, 2: 289-291.

Full Length Research Paper

Effect of the larval habitat depth on the fitness of the malaria-vector mosquito, *Anopheles gambiae* s. s.

H.G. Tsila^{1,2*}, G. A. Foko Dadji³, J. Messi¹, J. L. Tamesse³ and J. Wabo Pone²

¹Laboratory of Zoology, Faculty of Science, University of Yaounde I, P.O Box 812, Yaounde, Cameroon.

²Laboratory of Biology and Applied Ecology, Faculty of Science, University of Dschang, Cameroon.

³Laboratories of Zoology, Higher Teacher's College, University of Yaounde I, Cameroon.

Received 12 July, 2013; Accepted 6 July, 2015

This work was carried out with the aim to evaluate the impact of the lodging depth of *Anopheles gambiae* larvae on life features that characterize the population's fitness of this significant vector of human malaria. The study noted that depth is a significant factor that can considerably influence dynamics of the *A. gambiae* populations. Thus, on one hand depth increases the duration of larval stages from 8.16 days at 3 cm to 11.23 days at 25 cm depth, and on the other hand depth does not affect the survival of larvae. Depth reduces nymph mass from 2.1 mg at 0.5 cm to 1.4 mg at 25 cm depth. The size of adults is also influenced by this factor in both sexes. Among females, wings length passes from 3.6 mm at 1 cm to 2.8 mm at 25 cm depth, while width varies from 1 mm at 1 cm to 0.6 mm at 25 cm depth. For males, the wings length passes from 3.4 mm at 1 cm to 2.6 mm at 25 cm depth. The wings width passes from 0.97 mm at 1 cm to 0.79 mm at 25 cm depth. Depth acts even on the fecundity of females. Size of oviposition decreases from 117.61 eggs per female at 6 cm to 72.00 eggs per female at 25 cm and the hatching rate varies from 99.54% at 6 cm to 62.03% at 25 cm depth.

Key words: *Anopheles gambiae*, habitat depth, larvae, fecundity, fitness.

INTRODUCTION

Malaria is a plague in countries located in the intertropical zone. This disease is responsible for 207 million new clinical cases and 627 000 deaths per year (WHO, 2013). In Cameroon, health data indicates that this disease is responsible for 24% of death in health units, 52% of morbidity in children of age less than five years (MINSANTE, 2014). One of the most significant vectors of malaria in Africa is *Anopheles gambiae* (CDC, 2004). The fight against vectors should take into account processes controlling the population dynamics (Lyimo et al., 1992). Studies on the dynamic of mosquito populations should take into account mechanisms that

affect life cycle, and thus growth rate of the population (Stearns, 1976). For some mosquitoes species, duration of larval development and size of adults, influence the dynamics of the population strongly (Lyimo et al., 1992). Peaks of *A. gambiae* pupating was observed to be coinciding with rainy seasons (Manga et al., 1992). Some ecological studies revealed that larvae of *A. gambiae* are generally present in temporary aquatic sites with very low depth and scarce in larval habitat of more or less depth (Manga et al., 1992; Timmermann and Briegel, 1993; Mwangangi et al., 2006).

Several factors such as temperature, water depth and

*Corresponding author. E-mail: tsilahenrigabriel@gmail.com; Tel: (237)696482371/(237) 70365940.

Author(s) agree that this article remain permanently open access under the terms of the [Creative Commons Attribution License 4.0 International License](http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

larval density affect development, accumulation of reserves (Timmermann and Briegel, 1993), larval mortality, body size, fecundity (Lyimo et al., 1992) and adult longevity (Briegel, 1990 ; Kitthawee et al., 1992) of mosquitoes. Only *Aedes aegypti* larvae could dive, feed and successfully develop down to at least 14 cm (Timmermann and Briegel, 1993).

If the study considers the large adaptational character of insects, is it possible to find *Anopheles* larvae in the greater deep waters? Thus, this study have performed experiments with *A. gambiae* which is the most important vector of malaria in Africa whose larvae were reared in several levels of depth. The aim of this study is to evaluate the impact of the depth of water on development of aquatic stages of *A. gambiae* s.s. and on adult size and female fecundity which determine the dynamics of mosquito populations.

MATERIALS AND METHODS

In the present study, larvae came from an *A. gambiae* s.s. strain from Yaounde (Cameroon) colonized continuously in the laboratory for more than five years. This work was carried out at the Biotechnology Centre of University of Yaoundé I, (Yaounde, Cameroon). These experiments proceeded under temperatures ranging between 26 and 30°, RH within 70 to 80% and a photoperiod of L/D: 12/12.

Effects of depth on larval development

Larvae were reared in bottles of 10 cm diameter containing spring water. Eight different levels of depth (0.5 cm, 3 cm, 6 cm, 10 cm, 15 cm, 20 cm and 25 cm) were chosen for this work. One hundred larvae were introduced into each depth. Each larva potentially receives 0.01 mg of fish food (Tetramin) during the first four days and 0.02 mg for the following days in order to avoid pollution of the water. Each setting of the depths was repeated four times. Pupae were counted daily using a pipette in order to evaluate the larval phase duration and larval mortality. The larval phase duration was determined by the method of Dempster (1961), who defined it as the time of transformation of the 2/3 of the larvae into pupae. Pupae from each level depth were then introduced into a cage of 40 cm covered with mosquito net. After eclosion, dead pupae were counted.

Effects of depth on pupal biomass

One hundred pupae of the four replicates for each depth treatment were submerged into 70% alcohol for one day. These pupae were dried up from the alcohol and weighed on an electronic balance (Sartorius, dd = 0.1 mg).

Effects of depth on wing size of male and female adults

One wing of 30 adults from each depth is measured. Measurements were performed on the length (distance between insertion from the wing on the body with the silk fringe of the distal end) and the width (taken on the level of the median area of the wing) of adults wings according to Lyimo et al. (1992) method. A wing of each adult was removed using two needles and measured

using a magnifying glass equipped with an ocular micrometer.

Effects of depth on female fecundity

Adults were feed with a saccharine solution to 10% *Ad libitum*. Three days after emergence, females were provided a blood meal on a rabbit. During the meal, females draught in each cage were counted in order to determine average egg number per female. Eggs were laid on a piece of filter paper soaked with spring water, which was set at the bottom of a Petri dish. Eggs from each cage were counted using a magnifying glass. One hundred eggs from each cage were introduced into another Petri dish containing spring water for hatching. The first-instar larvae were counted.

Statistical analysis

The ANOVA test was performed to compare variables of larval development duration, pupae mass or adult wing size at different depth, and the correlation test to see the effect of increasing depth on this parameters. The coefficient of correlation was also used to estimate relation variation between the wings length and width in both gender, the wings length of female and the oviposition (average egg number per female), then between the oviposition and the hatching rate. The different means of the larval and the pupae mortality, the oviposition and the hatching rate were compared by the Kruskal-Wallis test. The software statistical package for social science (SPSS) (Windows version 12.0) was used to perform the above statistical analyses.

RESULTS

Larval and pupae development duration

The duration of larval and pupae phases varied significantly according to the depth of breeding medium (Table 1). Duration of larval and pupae development also increased with depth. The duration of the larval phase was shortest at 3 cm depth with average duration of 10.16 days. It became longest at 25 cm depth with average duration of 13.23 days. There is higher positive correlation between aquatic stages duration and increasing depth (Table 4). Comparisons of the durations of the larval phase at various depth revealed that duration of larval development did not change significantly for mediums with depth under 10 cm (Table 4). On the other hand, at a depth of above 10 cm, the effect of depth on the duration of larval phase became perceptible and was accentuated for high depths (20 and 25 cm). The results indicated that the most favourable medium depth for larval development was around 3 cm. The depth of the medium did not significantly affect the survival of the larvae and the pupae. Larval and pupae mortality were low whatever the depth of the medium.

Pupal mass

Mass of the *A. gambiae* pupae varied very significantly with the depth of the breeding medium (Table 1). Pupal

Table 1. Variation of larvae and pupae duration, pupae mass, size of adult's wings of *A. gambiae* with habitat depth (ANOVA Test).

Parameters	0.5 cm	3 cm	6 cm	10 cm	15 cm	20 cm	25 cm	F	P<
Larval duration (days)	11.05±0.52a	10.16±0.45ab	10.64±0.28a	11.03±0.35b	12.37±0.84c	12.24±0.51d	13.23±0.65d	12.28	0.0001
Pupae mass	0.21±0.03 h	0.20±0.03 hg	0.20±0.03 h	0.18±0.04 g	0.16±0.03 k	0.15±0.04 k	0.17±0.04 e	24.68	0.0001
Length of male wings	3.13±0.09r	3.15 ± 0.17 rt	3.11±0.18 rt	3.11±0.12 rt	2.95±0.11 o	2.84±0.10 p	3.03 ±0.18 f	15.27	0.0001
Width of male wings	0.75±0.04 q	0.71±0.04 qj	0.74±0.08 qj	0.68±0.05 qj	0.66±0.04 jv	0.65±0.03 vw	0.70±0.07 e	15.92	0.0001
Length of female wings	3.25±0.11 n	3.30±0.18 nm	3.37±0.18 nm	3.30±0.16 nm	3.19±0.11 i	3.16±0.16i	3.23±0.17 yf	24.64	0.0001
Width of female wings	0.81±0.04 x	0.83±0.08 x	0.86±0.08 x	0.83±0.07 x	0.77±0.08 xl	0.74±0.06 l	0.79±0.07 z	24.03	0.0001

Same letters on same line: difference not significant.

mass decreased when the depth of the medium increased. The highest mass, 2.1 mg was obtained with depths of 0.5 and 1 cm while the lowest mass of 1.4 mg was at 25 cm depth. The comparison of the pupal mass at various depth revealed that mass did not vary significantly between the pupae for the mediums of depths lower than 10 cm, indicating that the depth acted on the pupal mass at 10 cm and above. The difference in the mass was highly significant between the pupae at ≤ 6 cm and those at ≥ 15 cm.

Wings size of male and female mosquitoes

The length of male and female wings of *A. gambiae* varied significantly with the depth of the breeding medium of larvae (Table 1). The length of male and female wings decreased with the medium depth. Although, the female wings were longer than the male's whatever the depth. The variations in the wing lengths were the same in both gender. Wings of the females and males resulting from 1 cm depth were the longest (3.6 mm for females and 3.4 mm for males) comparatively to those for adults in both gender from 25 cm depth (2.8 mm for females and 2.6 mm for males). Length of wings did not vary

significantly between the females resulting from depth ranging in 0.5 to 10 cm (Table 1). Difference in length became significant between wings of females from depth higher than 10 cm and those of females from lower depth. The study had the same groups in males. Wing width showed the same trend in both gender. The differences in the width were highly significant with the various depths (Table 1). Width of wings decreased when the depth of the medium increased. The greatest widths (for females, 1 mm and among males, 0.9 mm) were recorded at 1 cm and the smallest ones (for females, 0.6 mm and 0.6 mm for males) were at 25 cm depth.

Within a gender, the wing lengths were separated into 2 significantly different groups from different ranges of the medium depth (Table 1). Among the females, those at depths ≤ 10 cm formed the first group. Within this group, width of wings did not differ significantly from one level of depth to the other. The second group consisted of the females from depth > 10 cm. In this group, the effect of depth was perceptible; the difference in width was significant from one level of depth to the other. In the males, the first group was those at 1 cm depth, whose wings were significantly larger than the rest from deeper medium. The second group included individuals coming from the mediums of depth lower than or equal to 6 cm.

In this group, wing width did not differ significantly from one level of depth to the other. Finally, the third group formed by individuals proceeding mediums of depths higher than 6 cm, width of wings in general varied from one level of depth to another.

Fecundity of females

Average number of eggs per female significantly varied from one level of depth to another (Table 2). The number of eggs laid per female increased from lowest depth of breeding mediums to reach the maximum value, 117.61 eggs per female at 6 cm. Then, size of oviposition decreased when the depth increased; the lowest value, 72.00 eggs per female was recorded at 25 cm of depth (Table 2).

There was a significant correlation between female wing size (length or width) and average number of eggs per female, and between the wing length and width (Table 3). Hatching rate varied significantly with the depth of the medium (Table 2). This rate was high for eggs laid by females from lowest depth and decreased for the depths higher than 15 cm. The maximum rate of hatching, 99.54% was recorded at 6 cm depth and the minimal value, 62.03% at 25 cm of depth. A positive correlation existed between the size of

Table 2. Variation of oviposition and hatching rate of *A. gambiae* with habitat depth.(Kruskall-Wallis test).

Parameters	0.5 cm	3 cm	6 cm	10 cm	15 cm	20 cm	25 cm	H	P <
Oviposition	80.50±6.99 a	97.80±6.81 c	117.60±13.56 d	98.60±5.88 e	88.96±2.35 f	75.00±7.18 gh	71.92±5.83 h	185.17	0.0001
Hatching rate	94.86±1.51 f	97.68±1.66 d	99.54±1.01 c	98.08±1.41j	88.75±1.35k	73.51±2.41l	62.03±2.76 n	212.57	0.0001

Same letters on same line: difference not significant.

Table 3. Correlations of pearson.

Parameter	Wings length and wings width (female)	Wings length and wings width (male)	Wings length (female) and oviposition	Oviposition and hatching rate
r	0.972	0.953	0.301	0.673
-	P < 0.0001	P < 0.0001	P < 0.0001	P < 0.001

Table 4. Linear correlation.

Parameter	Increasing depth and aquatic stages duration	Increasing depth and pupae mass	Increasing depth and length of male wing	Increasing depth and length of female wing
r	0.814	-0.643	-0.616	-0.509
-	P < 0.0001	P < 0.0001	P < 0.0001	P < 0.001

the oviposition and the hatching rate (Table 3).

DISCUSSION

This study showed that larvae of *A. gambiae* were sensitive to the depth environmental conditions during their growth. Thus, duration of the larval phase varies when the depth of the lodging changes. Larvae of *A. gambiae* present a short growth duration when the depth of the breeding medium is lower or equal to 10 cm. Beyond this level, increase of depth also involves an increase of larval phase duration. Duration of larval development that was obtained remain within the time limit found by Holstein (1954), Diop et al. (1998) and Foko et al. (2007) who found out that

duration of larval phase ranges between 8 days and 12 days. On the other hand, Timmermann and Briegel (1993) noted that beyond 2 cm of depth, the duration of larval phase of *A. gambiae* becomes higher than 13 days. The effect of depth on the larval phase would be related to the energy expenditure caused by displacement of larvae. Indeed, in the natural habitats, larvae consume the food particles coming from the microbial decomposition of organic matter at the bottom of their habitats (Fish and Carpenter, 1982).

In the case of breeding in laboratory, it is the food which forms a deposit in the bottom of the boxes of breeding. These larvae must each time go up to the surface to breathe. Thus, energy expenditure related to displacement increases when the place of provision of food is far from the

place of supply of oxygen. Under natural conditions, the authors noted that the larvae of *A. gambiae* met only in temporary lodgings of low depth (Ginning et al., 2001).

Timmermann and Briegel (1993), showed that development of *A. gambiae* larvae was only possible when the depth of medium is lower or equal to 5 cm. On the other hand, within the framework of the study, larval and pupae mortality were low whatever the depth. This shows that, *A. gambiae* is able to develop in mediums wherein depth is largely (5 times) higher than the limited depth found by these last authors. The fact that, in nature, *A. gambiae* is found only in very small deep aquatic sites could be then an adaptive preference selected by this mosquito's species.

Pupae is a stage after larval maturity, its mass

represents the biomass accumulated during the larval phase. Indeed, growth of the larvae is accompanied by an accumulation of reserves, in particular, proteins (Van Handel, 1986) and lipids (Timmermann and Briegel, 1993). Thus, pupal mass could reflect the quality of environmental conditions of larval growth. The study results showed that depth of breeding medium affected accumulation of biomass in the larvae of *A. gambiae*. Larvae in the conditions of lower depth medium could accumulate more reserves than those from deeper medium. The effect of depth on the accumulated biomass becomes perceptible as from 10 cm of depth. On the other hand, according to Timmermann and Briegel (1993), accumulation of reserves in larvae of *A. gambiae* grows with the depth, particularly in the accumulation of lipids. Depth of the breeding medium of larvae also affects size of adults.

Indeed individuals of bigger adult came from the mediums of depth lower than 10 cm. The highly-positive correlation between pupal mass and wing sizes of adults in both sexes supports this hypothesis. Adult body size is decided by the amount of biomass accumulated during the larval stage because pupae do not feed (Timmermann and Briegel, 1993).

Size of ovipositions and hatching rate of eggs were also affected by depth of breeding medium of *A. gambiae* larvae. Fecundity is high for females resulting from the mediums of depth lower or equal to 6 cm and low when the depth of medium increases. Effect of medium depth on fecundity would be rather indirect because of the positive correlation between fecundity and size of individual adults found in this study and others (Briegel, 1990; Karino et al., 2004). Indeed, bigger female mosquitoes take greater quantities of blood as Steinwaschen (1982) found in *A. aegypti*.

CONCLUSION

The depth of the lodging influences development of larvae of *A. gambiae* S. S. at the laboratory situation. The high depths lengthen the larval development time, reduce the size of adults and their reproduction, and then corrupt fitness of populations of this important malaria vector in sub-Saharan Africa. However, the depth of water is not a selection factor for the development of *A. gambiae* S. S. because it has no impact on the mortality of larvae of this vector.

RECOMMENDATION

During the collection of larvae of *A. gambiae* S. S. in the field study, in the case of lack of temporary lodging and then shallow, larvae of this vector must be checked also in the permanent lodging like lakes.

ACKNOWLEDGMENT

The authors would like to thank Bilong Bilong C. F. for providing laboratory materials and advices, Foko Gisèle for offering the mosquitoes strain used in this study, Dr Ndassa, A. and Mrs Buji, E. for kindly reviewing the manuscript.

Conflicts of interest

Authors have none to declare.

REFERENCES

- Briegel H (1990). Metabolic relationship between female body size, reserves, and fecundity of *Aedes aegypti*. *J. Insect Physiol.* 36:165-172.
- CDC (2004). The impact of malaria. Available at: http://www.cdc.gov/malaria/malaria_worldwide/impact.html
- Dempster JP (1961). The analysis of data obtained by regular sampling of an insect population. *J. Anim. Ecol.* 30:429-432.
- Diop A, Faye O, Molez JF (1998). [Establishing a strain of *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) in an insectarium]. *Bull. Soc. Pathol. Exol.* 91:340-343.
- Fish D, Carpenter SR (1982). Leaf litter and larval mosquito dynamics in tree-hole ecosystems. *Ecology* 63:283-288.
- Holstein MH (1954). *Biology of Anopheles gambiae*: research in French West Africa WHO, Geneva, Swiss.
- Karino K, Seki N, Chiba M (2004). Larval nutritional environment determines adults size in Japanese horned beetles, *Allomyrina dichotoma*. *Ecol. Res.* 19(6):663-668
- Lyimo EO, Takken W, Koella JC (1992). Effect of rearing temperature and larval density on larval survival, age at pupation and adult size of *Anopheles gambiae*. *Entomol. Exp. Appl.* 63:265-271.
- Manga L, Robert V, Messi J, Desfontaine M, Carnevale P (1992). Le paludisme urbain à Yaoundé (Cameroun). *Etude entomologique dans deux quartiers centraux. Mém. Soc. Belg. Entomol.* 35:155-162.
- Ministère de la Santé du Cameroun (2014). *Comptes Nationaux de la Santé en 2011* p 100.
- Stearns SC (1976). Life story tactics: review of the ideas. *Q Rev. Biol.* 51:3-47.
- Steinwaschen K (1982). Relationship between pupal mass, adult survivorship and fecundity for *Ae. aegypti*. *Environ. Entomol.* 11(1):150-153.
- Timmermann S, Briegel H (1993). Water depth and larval density affect development and accumulation of reserves in laboratory population of mosquitoes. *Bull. Soc. Vect. Ecol.* 18(2):174-187
- Van Handel E (1986). Growth of three mosquitoes on two larval diets measured by protein accumulation. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 2(3):289-291.
- WHO (2013). *World Malaria Report*. Available at: http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2013/en/