

Mise en place en insectarium d'une souche d'*Anopheles arabiensis* (Diptera : Culicidae).

A. Diop (1), O. Faye (2) & J.-F. Molez (3)

(1) Entomologiste médical, Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération, Laboratoire de paludologie, Centre ORSTOM, B.P. 1386, Dakar, Sénégal.

(2) Entomologiste médical, Département de biologie animale, Faculté des sciences & techniques, Université C.A.D., B.P. 5005, Dakar, Sénégal.

(3) Médecin-entomologiste médical, Laboratoire de paludologie, Centre ORSTOM, B.P. 1386, Dakar, Sénégal. Télécopie : (221) 832 16 75, téléphone : (221) 832 18 46, (poste 329)

E-mail : Jean-Francois.Molez@orstom.sn

Manuscrit n° 1917. "Entomologie médicale". Accepté le 19 février 1998.

Summary: Colonization in Insectarium of a Strain of *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae).

Key-words: *Anopheles arabiensis* - Breeding - Biology - Cycle of development - Insectarium - Egg - Nympha - Senegal - Africa

For the first time in Dakar (Senegal), we managed to establish a local colony of *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) in insectarium. The observations on the productivity of the colony showed a gradual adaptation of the preimaginal stages to insectarium conditions. The estimated duration of the development of the various preimaginal stages showed an interval of 24 hours for egg hatching, 48 h for stage I, 24 h for stage II, 24 h for stage III and 36 h for the pupal stage. Stage IV which makes the difference in the duration of the adult-egg cycle, varied from 1 to 13 days. Pupal moulting occurred mainly between 11 h and 19 h, with a peak between 14 h and 15 h. The duration of the preimaginal cycle in insectarium was from 8 to 11 days. This fits with the duration shown in natural breeding places during the rainy season (the best period for the development) which was from 9.5 to 13.3 days. Emergence, faster in males, occurred in the evening around 6.30-7 p.m. The emergence rate was higher in insectarium (92.9%) compared with that shown in the field (6 to 20%) (the natural breeding places are subject to biological and biochemical variations and to predators' action). The sex-ratio is equal to 1. The studies in insectarium showed that the gonotrophic cycle is 3 days in neonate blood fed after day 2 and also in parous ones. This cycle is 5 days in nulliparous with pregravid stage. The average longevity is 16 days with a maximum of 26 days in females and 43 days in males.

Résumé :

L'entretien d'une souche locale d'*Anopheles arabiensis* (Diptera, Culicidae) en insectarium permet tant des observations sur sa biologie a été réalisé pour la première fois à Dakar, Sénégal. Les observations sur la productivité de l'élevage ont montré une adaptation progressive des différents stades préimaginaux aux conditions d'insectarium au fur et à mesure des générations. L'estimation de la durée de développement des différents stades préimaginaux montrent un intervalle de 24 h pour l'incubation des œufs, de 48 h pour le stade I, de 24 h. pour le stade II, de 24 h pour le stade III et de 36 h pour le stade nymphal. Le stade IV qui influe fortement sur la durée du cycle œuf-adulte varie de 1 à 13 jours. La mue nymphale s'effectue essentiellement entre 11 h et 19 h, avec un pic situé entre 14 h et 15 h, alors que l'émergence, plus rapide chez les mâles, se fait le soir à partir de 18 h 30 / 19 h. Le sex-ratio est égal à 1. Les études en insectarium ont montré que le cycle gonotrophique est de trois jours chez les néonates qui s'alimentent après J2 et chez les pares. Par contre, il est de cinq jours chez les femelles néonates présentant une phase prégravid. La longévité moyenne en élevage est de 16 jours avec un maximum de 26 jours chez les femelles et de 43 jours chez les mâles.

Mots-clés : *Anopheles arabiensis* - Elevage - Biologie - Cycle de développement - Insectarium - Oeuf - Nymphe - Sénégal - Afrique

Introduction

En Afrique intertropicale, les vecteurs majeurs du paludisme autres que *Anopheles funestus* appartiennent au complexe *Anopheles gambiae* s.l. qui comprend six espèces jumelles. Parmi elles, *An. gambiae* s.s. et *An. arabiensis* sont les plus importantes (8, 12). L'étude du rôle de ces deux espèces dans la transmission demande une étude précise des caractéristiques de développement de chacune d'entre elles, qui ne peut s'obtenir que par leur élevage en insectarium. Des colonies d'*An. gambiae* s.s. ont été étudiées dans de nombreux laboratoires d'Afrique noire et d'Europe, mais c'est rarement le cas d'*An. arabiensis* (2, 6, 10). Pour la première fois, nous avons maintenu une colonie de cet anophèle au Sénégal : nous avons pu ainsi étudier les conditions de développement des

divers stades préimaginaux et mesurer la longévité de cette espèce dans les conditions de laboratoire.

Matériel et méthodes

Méthodes d'élevage

Insectarium et souche

L'insectarium se compose d'une grande pièce pour l'élevage des anophèles adultes et de deux petites pièces annexes pour l'élevage des différents stades préimaginaux. Un thermomètre permet d'enregistrer la température des pièces qui varie de 26 à 30°C et un thermostat maintient le chauffage à 26°C en période fraîche. Un psychromètre permet de mesurer l'humidité relative, elle est maintenue stable entre 70 et 80 % à

l'aide de bacs remplis d'eau posés sur le sol. Pour la photo-période, un éclairage au néon fonctionne de 7h 30 à 19 h 30. La souche d'*An. arabiensis* maintenue en élevage a été rapportée des céanes (puisards pour le maraichage) d'un quartier urbain de Dakar. Des larves ont été préparées pour les identifier à partir de la clé de GILLIES et DE MEILLON (11), les autres ont été élevées au laboratoire pour obtenir des nymphes et des imagos. L'identification spécifique des imagos au sein du complexe *An. gambiae* s.l. a été effectuée par l'examen cytogénétique des chromosomes polythènes du germanium.

Elevage et alimentation

Les larves sont nourries avec une poudre riche en protéines et en substances minérales, la Tetra Baby Fish Food L.[®] (9), diluée dans une faible quantité d'eau et versée dans les bacs en proportion variable suivant leur nombre et le stade larvaire. Pour 100 larves de stade I et II, 30 mg de poudre sont utilisés par 24 heures, alors que 60 mg sont nécessaires pour les stades III et IV. Les adultes d'*An. arabiensis* sont disposés dans des cages cubiques (de 30 cm de côté) recouvertes de tulle moustiquaire ; l'une des faces comporte une ouverture pourvue d'un manchon par lequel on peut effectuer diverses manipulations. Les imagos sont nourris avec une solution sucrée, le repas sanguin nécessaire pour les femelles adultes a été prélevé sur homme pour la première génération et sur cobaye pour les générations suivantes. Un pondoir contenant une petite quantité d'eau est placé dans chaque cage ; après une ou plusieurs pontes, il est retiré et les œufs sont transférés dans un récipient adapté. Dans la nature, l'éclosion des œufs se produit en réponse à une baisse de tension de l'oxygène de l'eau, sous l'action des micro-organismes présents dans l'eau stagnante des gîtes (10) ; en insectarium, le récipient qui reçoit les pontes est fermé hermétiquement et il contient de l'eau qui a été ventilée en surface pendant 24 heures avec un aérateur électrique (on peut également utiliser de l'eau bouillie et refroidie).

Estimation de la durée des différents stades

Les larves de stade I sont retirées dès le jour de l'éclosion et elles sont réparties par lots de 100 individus dans des bacs d'élevage. Chaque matin de 8 h à 10 h, les nymphes sont comptées et prélevées à l'aide d'une pipette et, entre 9 h et 11 h, les stades larvaires sont notés et les larves mortes enlevées. Au cours de la journée, l'apparition des nymphes est enregistrée par comptages horaires. La durée des différents stades préimaginaux est calculée par le suivi du développement jusqu'à la mue. Les nymphes sont distribuées dans des bocaux disposés dans des cages à émergences, l'apparition des imagos est enregistrée par comptages horaires. Les sexes sont dénombrés, les femelles sont retirées après gorgement et transférées définitivement dans une cage avec pondoir. Le tulle des cages et les bacs d'élevage sont systématiquement lavés et désinfectés après chaque cycle d'élevage, les pondoirs et les récipients alimentaires sont stérilisés si nécessaire.

Résultats

Développement préimaginal

Pontes et éclosions

Le nombre moyen d'œufs par ponte individuelle a été déterminé par comptage, de la première à la troisième génération (en F1 et F2, la moyenne a été déterminée d'après 30 pontes et en F3 d'après 18 pontes individuelles) :

en F1 : $m = 78,33 \pm 10,62$ (avec un maximum de 141 et un minimum de 25 œufs par ponte),

en F2 : $m = 100 \pm 11,12$ (avec un maximum de 140 et un minimum de 19 œufs par ponte)

en F3 : $m = 100,55 \pm 10,9$ (avec un maximum de 144 et un minimum de 47 œufs par ponte)

D'après nos observations, les femelles d'*An. arabiensis* pondent généralement une fois, parfois deux et rarement plus ; une seule femelle a pondu une troisième fois, 7 jours après sa deuxième ponte. L'éclosion des œufs est observée après 24 heures d'incubation et les larves de stade I sont dénombrées. Le calcul du taux d'éclosion nous donne :

$$Te = \frac{\text{nombre d'œufs éclos} \times 100}{\text{nombre total d'œufs}}$$

F1 : Te = 54,4 % F2 : Te = 72,3 % F3 : Te = 67,7 %

Stades larvaires et nymphose

La durée des trois premiers stades larvaires est de 48 heures pour le stade I, elle est de 24 heures pour le stade II et le stade III. Pour le stade IV, la durée est variable selon les générations : en F1, elle est de 24 à 216 heures (1 à 9 jours), en F2, elle est de 24 à 144 heures (1 à 7 jours) et en F3, elle est de 24 à 312 heures (1 à 13 jours). Le taux de survie larvaire est calculé par rapport au nombre de larves qui arrivent au dernier stade :

$$Tsl = \frac{\text{nombre de larves de stade IV} \times 100}{\text{nombre d'œufs éclos}}$$

F1 : Tsl = 80,9 % F2 : Tsl = 86,9 % F3 : Tsl = 94,8 %

La mue nymphale s'effectue en période d'éclairement entre 11 et 19 heures, avec un pic situé entre 14 et 15 heures. La durée totale du développement nymphal est de 36 heures et le taux de nymphose est :

$$Tn = \frac{\text{nombre de nymphes obtenues} \times 100}{\text{nombre de larves de stade IV}}$$

F1 : Tn = 89,1 % F2 : Tn = 96 % F3 : Tn = 98 %

Production de l'élevage

Émergence et rendements

L'émergence des imagos d'*An. arabiensis* en laboratoire commence le soir à partir de 18 h.30 - 19 h. et le taux d'émergence est calculé par rapport au nombre de nymphes :

$$Tem = \frac{\text{nombre d'adultes} \times 100}{\text{nombre total de nymphes}}$$

F1 : Tem = 93,9 % F2 : Tem = 90,6 % F3 : Tem = 92,9 %

La proportion de nymphes non écloses en fonction du nombre total de nymphes nous donne le taux d'inhibition de l'émergence :

$$Tie = \frac{\text{nombre de nymphes non écloses} \times 100}{\text{nombre total de nymphes}}$$

F1 : Tie = 5,1 % F2 : Tie = 6,6 % F3 : Tie = 1,7 %

La proportion de nymphes obtenues en fonction du nombre d'œufs éclos nous donne le rendement préimaginal :

$$Rpi = \frac{\text{nombre de nymphes} \times 100}{\text{nombre d'œufs éclos}}$$

F1 : Rpi = 72,0 % F2 : Rpi = 82,9 % F3 : Rpi = 92,8 %

Ces données correspondent à un taux de mortalité préimaginal de 28 %, 17,1 % et 7,2 %, de la F1 à la F3 chez *An. arabiensis* élevé en insectarium.

La proportion d'adultes obtenus en fonction du nombre d'œufs pondus nous donne le rendement global :

$$Rg = \frac{\text{nombre total d'adultes} \times 100}{\text{nombre total d'œufs pondus}}$$

F1 : Rg = 36,8 % F2 : Rg = 54,7 % F3 : Rg = 58,5 %

Durée totale du développement

Avec des températures de l'eau des récipients d'élevage comprises entre 24 et 29° C, les durées du cycle préimaginal d'*An. arabiensis* élevé en insectarium, de la première à la troisième génération, sont de 7,5 à 12 jours pour la F1, de 8 à 11,6 jours pour la F2 et de 9 à 14 jours pour la F3.

Vie des imagos

Comportement et survie

Des séries d'élevages individuels de 30 larves de 1er stade, écloses en même temps, ont été effectuées pour déterminer la fréquence des éclosions selon le sexe. A l'exception de F1, la proportion de mâles et de femelles obtenus (tableau I), reste autour de 50 % et ne diffère pas significativement ($p = 0,001$) de la F2 à la F5. En dehors de cette première génération, le sex-ratio est donc égal à 1 chez *An. arabiensis* élevé en insectarium. Les premières émergences donnent surtout des mâles. La longévité des imagos en élevage est en moyenne de 16 jours, avec un maximum de 29 jours chez les femelles et de 43 jours chez les mâles.

Tableau I.

Sex-ratio de la F1 à la F5 pour *Anopheles arabiensis* élevé en insectarium.
Sex-ratio of F1 to F5 for Anopheles arabiensis raised in insectarium

générations	femelles	mâles	effectif
F1	245 (75 %)	82 (25 %)	327
F2	200 (52 %)	185 (48 %)	385
F3	197 (49,7 %)	199 (50,3 %)	396
F4	227 (46,2 %)	264 (53,8 %)	491
F5	181 (49,5 %)	185 (50,5 %)	366

Cycle gonotrophique

Les femelles néonates d'*An. arabiensis* prennent leur premier repas de sang en général à partir du deuxième jour après l'émergence, pour devenir pares à J3. Cependant, une certaine proportion de nullipares (27 %) va se gorger avant J2, elles devront donc passer par un stade prégravidé (dissociation gonotrophique) et prendre un deuxième repas de sang (environ 24 à 48 h. après la digestion du premier) pour devenir pares trois jours après leur émergence (soit à J5). Les pares prennent leur repas de sang en général le matin précédant la nuit de la ponte.

Discussion

Développement préimaginal

Pontes et éclosions

Le pourcentage d'œufs éclos a été maximal à la F2 (F2 vs F3 : $p < 0,001$) et minimal à la F1 (F3 vs F1 : $p < 0,001$). Le nombre moyen d'œufs observé par ponte est significativement plus important en F2 et F3 qu'en F1 ($p < 0,01$). Le taux d'éclosion relativement faible obtenu en F1 peut être dû à des problèmes d'adaptation de la souche d'*An. arabiensis* aux conditions de laboratoire. En insectarium, l'essentiel de l'éclosion des œufs s'est effectué presque simultanément après 24 heures d'incubation. Il a été observé que, pour des œufs d'*An. gambiae* s.l. (2) incubés directement dans l'eau juste après la récolte de la ponte, seuls 74 % éclosaient après quatre jours. Dans le cas de notre souche, les valeurs inférieures à 74 % trouvées en F1, F2 et F3, peuvent être dues au fait que le comptage et le retrait des larves de stade I s'effectuaient 24 heures après le début des éclosions, alors qu'il restait encore certainement des œufs qui auraient éclos ultérieurement.

Stades larvaires et nymphose

Concernant les taux de survie des stades préimaginaux, pour les larves de stade I ayant atteint le stade IV, on a obtenu un pourcentage maximal d'individus pour la F3 et minimal pour la F1 (F3 vs F2 : $p < 0,001$ et F2 vs F1 : $p < 0,001$) ; il en est de même pour les larves de stade IV ayant atteint le stade nymphal (F3 vs F2 : $p < 0,01$ et F2 vs F1 : $p < 0,001$). Ces résultats très élevés de survie préimaginale dans notre élevage

(7,2 % en F3), sont certainement propres aux conditions de laboratoire : absence de prédateurs, conditions optimales du milieu aquatique en l'absence de toute prolifération microbienne (bactéries, levures, champignons) et une nourriture suffisante et très bien adaptée (9). Chez *An. arabiensis* dans les céanes de Dakar (1), on a observé un taux de mortalité pré-imaginal de 80,3 %.

Production de l'élevage

Émergence et rendements

Le pourcentage d'adultes d'*An. arabiensis* obtenu en insectarium, de $92 \pm 1,5$ %, est très élevé : il est maximal pour la F1 et la F3, alors qu'il est minimal pour la F2 (F3 vs F2 : $p < 0,05$ et F1 vs F2 : $p < 0,01$). Comparativement, le taux d'émergence observé dans les céanes à Dakar (1), est de 19,7 % en saison des pluies et de 6 % en saison sèche. En laboratoire, le taux d'inhibition de l'émergence est sensiblement le même de la F1 à la F2 et il est significativement plus faible à la F3 (F1 vs F3 et F2 vs F3 : $p < 0,001$). La valeur du rendement préimaginal (proportion de nymphes en fonction du nombre d'œufs pondus) est minimale pour la F1 et maximale pour la F3 (F2 vs F1 : $p < 0,01$ et F3 vs F2 : $p < 0,01$). La valeur du rendement global (proportion d'imagos en fonction du nombre d'œufs pondus) a été minimale à la F1 (F2 vs F1 : $p < 0,001$) et maximale à la F3 (F3 vs F2 : $p < 0,01$) et, lorsqu'il y a des faiblesses de rendement, elles sont liées à un moindre taux d'éclosion des œufs.

Développement préimaginal

La durée du cycle préimaginal de 8 à 14 jours que nous avons observée de la F1 à la F3, chez *An. arabiensis* élevé en insectarium, est comparable à celle qui a été rapportée pour *An. gambiae* s.l. (13). On sait que la température de l'eau fait varier la durée du développement préimaginal, elle est de 6 à 8 jours pour une eau de 30 à 34 ° C et de 12 à 16 jours à 24 ° C chez *An. gambiae* s.l. (13). Dans les céanes de Dakar (1), on a observé chez *An. arabiensis* une durée du cycle préimaginal de 9,5 à 15,5 jours en saison des pluies (eau à 26° C en moyenne) et de 26,5 à 37 jours en saison sèche (eau à 22° C en moyenne). Dans ce cas, ce n'est pas le facteur température qui est en cause, mais ce sont les modifications biochimiques de l'eau (concentration des micro-organismes, des sels minéraux, etc...) qui ne sont plus idéales dans ces gîtes. Nos données d'insectarium pour *An. arabiensis* correspondent plus aux durées observées en saison des pluies dans les céanes, période où les conditions sont idéales.

On a rapporté pour *An. gambiae* s.l. en insectarium (2, 9), des taux de mortalité larvaire, de mortalité nymphale et d'émergence qui sont respectivement de 0,7 à 5 %, de 0 à 0,2 % et de 95 à 99 %. Ces observations correspondent à celles que nous avons enregistrées pour *An. arabiensis* en insectarium à partir de la F3 (taux de 5,2 %, de 1,7 % et de 92,9 %). Par contre, dans les céanes de Dakar (1), on a observé chez *An. arabiensis*, un taux de mortalité préimaginale de 80 à 94 % et un taux d'émergence de 6 à 20 %, en accord avec les taux rapportés pour *An. gambiae* s.l. dans la nature (respectivement 92 à 95 % et 5 à 8 %) (14).

Vie des imagos

Comportement et survie

En insectarium, il est classique que les mâles d'anophèles vivent moins longtemps que les femelles (7, 13), mais la bonne survie des mâles d'*An. arabiensis* dans notre élevage pourrait

s'expliquer par une alimentation particulièrement adaptée des stades larvaires avec la poudre Tetra Baby Fish Food L.[®] par rapport aux anciennes formulations alimentaires (9). Concernant l'émergence des mâles, on a également observé qu'elle précède d'une journée celle des femelles dans les céanes de Dakar (1), mais leur longévité n'a pas été estimée dans ce gîte naturel. L'imago néonate mâle n'est pas actif au cours des premières 24 heures, ce délai correspond à la rotation de 180° des génitalia ; par la suite, son activité sexuelle se développe et elle atteint son maximum trois jours après l'émergence, comme cela a été décrit chez *An. gambiae* s.l. (7). L'émergence précoce des mâles, retrouvée chez la plupart des Culicidae, est peut-être une adaptation au décalage de maturité entre les sexes, les femelles néonates n'étant fécondées en général que le deuxième jour de leur vie (3) ; elle peut être aussi un facteur biologique favorable pour la reproduction et la dispersion de l'espèce, dans le cas de la colonisation d'un nouveau gîte par exemple.

Cycle gonotrophique

Les femelles d'*An. arabiensis* élevées en insectarium présentent donc un cycle gonotrophique de 3 jours, en sachant que ce cycle peut atteindre 5 jours pour les néonates qui prennent un pré-repas de sang. Nos observations sur la prise des repas de sang des femelles sont en accord avec celles qui concernent les deux autres vecteurs anophéliens *An. gambiae* sp. A et *An. funestus* (3, 12), montrant qu'un certain pourcentage de nullipares (respectivement 40 % et 60 %) ont besoin de deux repas de sang pour mûrir leur première ponte. Au Burkina-Faso, une durée du cycle gonotrophique de 3 à 4 jours a été décrite chez *An. gambiae* sp. A (3) et une durée moyenne du cycle de 2,4 jours pour *An. gambiae* s.l. au Congo (4, 5). Dans la banlieue de Dakar, on a observé sur le terrain (15) une durée moyenne du cycle gonotrophique de 2,22 jours chez *An. arabiensis* et constaté qu'après la première oviposition (généralement au crépuscule), les femelles pares pouvaient revenir s'alimenter la même nuit.

Conclusion

L'élevage qui a été développé à Dakar a montré un rendement de développement préimaginal (de l'éclosion à la nymphe) très élevé par rapport à celui observé dans les gîtes naturels. La faible productivité de l'élevage en laboratoire est essentiellement due à un faible taux d'éclosion des œufs, à un taux de survie peu élevé des femelles et à une production relativement importante de mâles. Ces observations permettent de vérifier une fois encore que les résultats des études sur la biologie préimaginale menées en laboratoire ne reflètent pas les conditions de développement dans un milieu naturel soumis aux variations biologiques, bioclimatiques, biochimiques et à l'action des prédateurs. Les paramètres d'élevage d'*An. arabiensis* en insectarium et les différents taux de croissance ou de mortalité des différents stades préimaginaux correspondent aux conditions idéales de développement ; ces taux s'approchent des conditions de développement d'*An. arabiensis* observées dans les céanes en saison des pluies (1), période de rendement maximal des gîtes naturels.

Les différentes expérimentations sur la durée du cycle de développement préimaginal et la longévité des adultes permettent d'envisager le comportement d'*An. arabiensis*, vecteur

majeur du paludisme dans différents biotopes. Ainsi, la connaissance des paramètres d'élevage permet de comprendre pourquoi au Sénégal, lorsque l'on passe de la zone soudanienne à la zone sahélienne, et encore plus lorsque l'on passe en zone saharienne dans les oasis de Mauritanie, on observe une accélération de la durée du développement du vecteur tout a fait adaptée à la diminution de la pluviométrie. Il y a une réduction importante de la durée du développement préimaginal commandée par l'augmentation de la température de l'eau, en parfaite adaptation avec la faible durée de fonctionnement des gîtes en zone aride.

Remerciements

Nous remercions tous les techniciens du laboratoire de paludologie de l'ORSTOM de Dakar et plus particulièrement L. BARBOSA, T. DIOP et O. NIANG pour leur aide dans les manipulations en insectarium.

Références bibliographiques

1. AMBENE AWONO PH - *Bioécologie préimaginale d'Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) dans les céanes (puits marais) de Dakar. Mém DEA (06.07.96), Faculté des Sciences & Technologies, Université UCAD, Dakar, Sénégal, 1996, 83p.
2. ARMSTRONG J & BRANSBY-WILLIAM WR - The maintenance of a colony of *Anopheles gambiae*, with observations on the effects of changes in temperature. *Bull OMS*, 1961, **24**, 427-435.
3. BRENGUES J & COZ J - Quelques aspects fondamentaux de la biologie d'*Anopheles gambiae* Giles (Sp. A.) et d'*Anopheles funestus* Giles, en zone de savane humide d'Afrique de l'Ouest. *Cah ORSTOM, Sér Entom méd Parasitol*, 1973, **11**, 107-126.
4. CARNEVALE P, BOSSENO MF, MOLINIER M, LANCIEN J, LE PONT F & ZOULANI A - Etude du cycle gonotrophique d'*Anopheles gambiae* (Diptera, Culicidae) (Giles, 1902) en zone de forêt dégradée d'Afrique Centrale. *Cah ORSTOM, Sér Entom méd Parasitol*, 1979, **17**, 55-75.
5. CARNEVALE P & MOLINIER M - Le cycle gonotrophique et le rythme quotidien des piqûres d'*Anopheles gambiae* (Giles, 1902) et *Anopheles nili* (Theobald, 1904). *Parassitologia*, 1980, **12**, 173-185.
6. COLUZZI M - Maintenance of Laboratory Colonies of *Anopheles Mosquitos*. *Bull OMS*, 1964, **24**, 441-443.
7. COZ J - Contribution à l'étude du complexe *Anopheles gambiae*. Répartition géographique et saisonnière en Afrique de l'Ouest. *Cah ORSTOM, Sér Entom méd Parasitol*, 1973, **11**, 3-31.
8. DE MEILLON B - Aspect of malaria vector research in Africa. *Bull OMS*, 1956, **15**, 847-851.
9. DESFONTAINE MA, TCHIKANGWA I, LE GOFF G, ROBERT V & CARNEVALE P - Influence de l'alimentation des larves d'*Anopheles gambiae* (Diptera, Culicidae) sur le développement préimaginal en insectarium. *Bulletin de Liaison et de Documentation de l'O.C.E.A.C.*, 1991, **98**, 12-14.
10. FOSTER WA. - Colonisation and maintenance of mosquitoes in the laboratory. In : *Malaria*. (J.P. KREIR Ed.), Academic Press New York. USA, (Vol. 2) 1980, pp.103-151.
11. GILLIES MT & DE MEILLON B - The *Anophelinae* of Africa South of the Sahara (Ethiopian Zoogeographical region). *South African Institute for Medical Research*, 1968, **54**, p 343.
12. GILLIES MT & WILKES TJ - A study of the age composition of *Anopheles gambiae* Giles and *Anopheles funestus* Giles in the north-east Tanzania. *Bull entomol Res*, 1965, **56**, 237-262.
13. HOLSTEIN MH - *Biologie d'Anopheles gambiae : recherches en Afrique Occidentale Française*. O.M.S. Série monographies, O.M.S. Ed. Genève Suisse, 1952, **9**, 176p.
14. SERVICE MW - *Mosquito ecology: Field sampling methods. Vector Biology and Control* (2d Ed.), Liverpool School of Tropical Medicine. Elsevier Applied Science Ed, UK, 1993, 988p.
15. VERCRUYSE J - Evaluation de la durée du cycle gonotrophique d'*Anopheles arabiensis* dans une zone urbaine (Pikine, Sénégal). *Cah ORSTOM, Sér Entom méd Parasitol*, 1983, **21**, 83-90.