

Contribution à l'étude biologique et écologique de *Culicoides grahamii* (Austen), 1909, (Diptera, Ceratopogonidae)

II. — Cycle gonotrophique

M. AURIAULT*

RÉSUMÉ.

La dissection à intervalles de temps de 8 heures, de femelles de *Culicoides grahamii* gorgées de sang ou non, maintenues en vie en étuve climatique, a montré les faits suivants.

Cette espèce présente les mêmes stades de développement folliculaire que ceux décrits par Glukhova (1958), Amosova (1959) et Linley (1965 a) chez d'autres espèces de Ceratopogonides.

Il existe une étroite corrélation entre la digestion du repas de sang et le développement folliculaire. L'évolution des ovocytes et la maturation des œufs dépendent essentiellement des produits de cette digestion.

Un seul repas de sang suffit à l'accomplissement du cycle gonotrophique. Sans repas de sang le développement folliculaire reste bloqué au stade II_{AF}.

Pendant toute la durée du cycle, les femelles restent confinées dans un site de repos.

La durée du cycle complet est de 3,5 jours en moyenne.

37 % des follicules arrivent à maturité.

Il n'a pas été observé de répétition du cycle gonotrophique.

MOTS CLÉS : *Ceratopogonidae* — Cycle gonotrophique.

ABSTRACT.

Dissection at 8-hour intervals of *Culicoides grahamii* females engorged or not with blood, kept in life in a climatic closet, pointed out the following facts:

This species shows the same stages in the development of the ovarian follicles as those described by Glukhova (1958), Amosova (1959) and Linley (1965 a) in other *Ceratopogonidae* species.

There is a great correlation between the digestion of the blood meal and the follicular development. Oocytes evolution and eggs maturation depend on the products of that digestion.

A single blood meal is sufficient for completion of the gonotrophic cycle. No follicle develops further than stage II_{AF}, unless the female has a blood meal.

Females stay in a resting place during the whole cycle.

The duration of the complete cycle is about 3,5 days. 37 % of the follicles reach maturity.

No recurrence of the gonotrophic cycle has been observed.

KEY WORDS: *Ceratopogonidae* — gonotrophic cycle.

INTRODUCTION.

C. grahamii est un Diptère hématophage extrêmement abondant au Gabon, dont la femelle a une activité de piqûre diurne.

Afin d'étudier le cycle de développement des ovaires, des femelles capturées sur appât humain, gorgées de sang ou non, sont maintenues en vie puis disséquées à intervalles de temps de 8 heures.

MATÉRIEL ET MÉTHODES.

1. Source de matériel et technique de capture.

Les captures sont réalisées sur appât humain dans un site précédemment reconnu situé à 7 km au nord-est de Libreville, à des heures où l'activité de piqûre des femelles est moyenne, soit entre 9 h 30 et 10 h et entre 17 h 30 et 18 h 30 (Auriault, 1977).

*Assistant agrégé de Biologie, Faculté des Sciences, Université Nationale, B.P. 911, Libreville, Gabon.

L'appareil de capture utilisé est un aspirateur à bouche dont le corps est constitué par un tube d'élevage de $9 \times 2,5$ cm, dans lequel ont été placés au préalable, une rondelle de papier filtre et un fragment de feuille de bananier.

Deux séries de captures sont réalisées :

— certaines femelles sont aspirées au moment de leur envol, après qu'elles se soient gorgées sur les bras du capteur (le repas de sang a une durée variant de 1 minute 1/2 à plus de 5 minutes) ;

— d'autres sont prises dès qu'elles se posent, avant le repas de sang.

Le tube de l'aspirateur est changé lorsqu'une dizaine de femelles a été capturée ; il est alors obturé à l'aide d'un bouchon de caoutchouc et placé dans une boîte isotherme pour être ramené au laboratoire.

2. Technique de maintien en vie des femelles pendant le développement ovarien.

Les tubes d'élevage renferment :

— une rondelle de papier filtre qui absorbe les gouttelettes de liquide rejetées par les femelles gorgées au cours de la digestion du sang, de façon à éviter que les insectes ne se collent dans ces déjections ;

— un fragment de feuille de bananier servant de support aux Culicoides ;

— une boulette de coton fixée par une épingle dans le bouchon, mouillée d'une solution diluée de miel (au 1/10).

Le fragment de feuille et la boulette de coton contribuent à maintenir un degré d'humidité élevé dans le tube. La solution de miel constitue une source éventuelle de nourriture sucrée favorisant la survie (Linley, 1965 a et 1966).

Les tubes ramenés du site de capture et contenant une dizaine de femelles, sont alors munis de la boulette de coton imbibée de solution sucrée puis posés sur un support dans une étuve climatique où la température est maintenue à 31 °C le jour (de 6 h à 18 h), 23° la nuit, et la luminosité à 300 lux le jour. Les insectes sont ainsi placés dans des conditions microclimatiques aussi proches que possible de celles du milieu dans lequel ils vivent (Auriault).

Après la mise en étuve, les tubes ne sont plus soumis qu'à un minimum de perturbation lors du remplacement quotidien de la boulette de coton, et ceci jusqu'au moment de la dissection des femelles qu'ils contiennent.

Cette technique, si elle nous a permis le maintien en vie de femelles jusqu'à l'achèvement du cycle gonotrophique, s'est avérée insuffisante pour une survie postérieure à l'oviposition. La survie maximale constatée a été de 144 heures (6 jours).

3. Technique de dissection.

Les lots de femelles maintenues en vie sont disséqués à intervalles de temps de 8 heures comptés après la capture, donc après le repas de sang pour les femelles gorgées.

Après anesthésie rapide à l'acétate d'éthyle, les femelles sont déposées sur une lame porte-objet, sous une loupe binoculaire, dans une goutte d'eau physiologique additionnée de savon. Le savon facilite le mouillage des insectes qui sont ainsi rapidement noyés.

Pour évaluer le volume relatif occupé par le sang dans l'abdomen, une observation ventrale puis de profil est faite à ce moment là, ce qui permet d'estimer le stade de la digestion du sang.

La dissection est réalisée à l'aide de deux minuties montées sur des mandrins. L'animal étant sur le dos, une minutie appuie sur la partie antérieure de l'abdomen tandis que l'autre, piquée au niveau des trois derniers segments, permet de tirer en arrière. Les ovaires ainsi arrachés avec l'extrémité de l'abdomen sont transportés dans une goutte d'eau physiologique où ils sont dilacérés afin de séparer les ovarioles pour examen au microscope.

4. Obtention des œufs.

Afin d'étudier la fécondité de *C. grahamii*, la ponte est provoquée par décapitation de femelles anesthésiées, déposées sur de petits carrés de papier filtre humide.

Cette décapitation doit intervenir ni trop tôt ni trop tard ; il faut en effet que la maturation des œufs soit achevée mais que l'oviposition spontanée n'ait pas eu lieu.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.

1. Stades de développement des follicules ovariens.

1.1. RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE.

Le cycle gonotrophique des Cératopogonides a été étudié par Glukhova (1958), Amosova (1959) et Linley (1965 a et 1966).

Ces auteurs, adaptant les travaux de Christophers (1911) et Mer (1936) sur les Anophèles, utilisent les critères suivants pour diviser le développement folliculaire en stades :

- apparition de grains de vitellus dans l'ovocyte ;
- importance de l'ovocyte dans le follicule entier ;
- apparition de l'œuf mûr et présence du chorion.

Les stades folliculaires sont les suivants :

Stade I.

— Le follicule est formé de cellules indifférenciées. N_0
 — Les cellules de l'épithélium folliculaire se différencient. Le follicule est presque rond et l'ovocyte bien qu'incomplètement différencié, peut être distingué comme une cellule plus grande à la base du follicule N
 — L'ovocyte et les cellules nourricières sont totalement différenciées. Le follicule est de forme plus ovale. L'ovocyte a un aspect dense caractéristique I de MER

Stade II.

— Quelques globules vitellins dispersés apparaissent dans le cytoplasme de l'ovocyte précoce II_A (II_{A1})
 — La quantité de vitellus augmente, mais l'ovocyte occupe moins de la moitié de la longueur du follicule tardif II_A (II_{A2})
 — Le vitellus s'accumulant, le noyau de l'ovocyte devient invisible et l'ovocyte occupe la moitié du follicule II_B

Stade III.

— La taille du follicule augmente, l'ovocyte occupant de la moitié aux trois-quarts de sa longueur

Stade IV.

— L'ovocyte occupe plus des trois-quarts du follicule qui reste ovale précoce IV (IV_A)
 — Le follicule s'allonge alors rapidement et se contracte quelque peu en diamètre, prenant la forme de l'œuf mûr tardif IV (IV_B)

Stade V.

— L'œuf est mûr, en forme de cigare légèrement courbe. Le chorion est visible.

1.2. OBSERVATIONS PERSONNELLES.

Nous avons retrouvé chez *C. grahamii* les mêmes stades du développement des follicules que ceux précédemment décrits. Nous les désignons par N_0 , N, I, II_{A1} , II_{A2} , II_B , III, IV_A , IV_B et V (fig. 1).

Le stade N_0 a rarement pu être observé, même chez des femelles disséquées immédiatement après leur capture (10 sur 180). Il peut par contre être vu au niveau du deuxième follicule, chez des femelles maintenues en vie après le repas de sang, dont le premier follicule a atteint le stade IV_B de développement.

Les stades N, I et II_{A1} ont été trouvés chez des femelles disséquées immédiatement après leur capture.

Le stade II_{A2} et les stades suivants ne se rencontrent que chez des femelles gorgées maintenues en vie.

2. Relations entre le développement folliculaire et le repas de sang.

2.1. DÉVELOPPEMENT FOLLICULAIRE CHEZ LES FEMELLES GORGÉES.

2.1.1. Stades de la digestion.

Sella (1920) distingue chez les moustiques sept stades de digestion du repas de sang, que Glukhova et Amosova

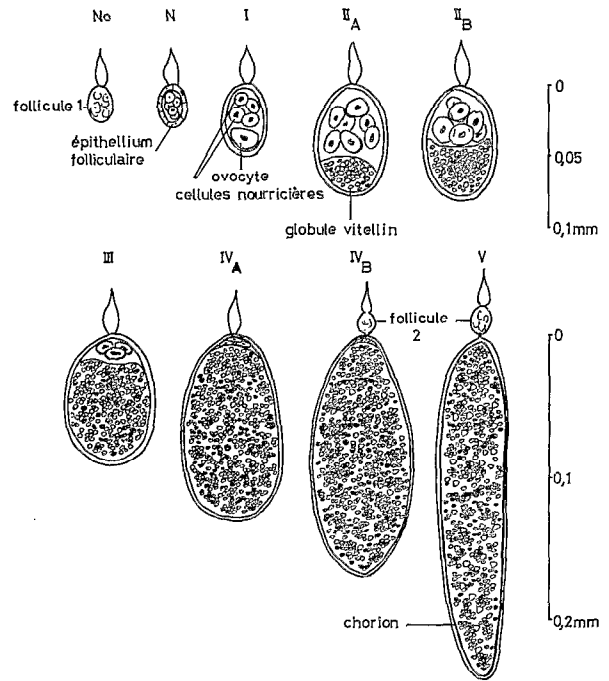


FIG. 1. — Stades du développement des follicules ovariens chez *C. grahamii*.

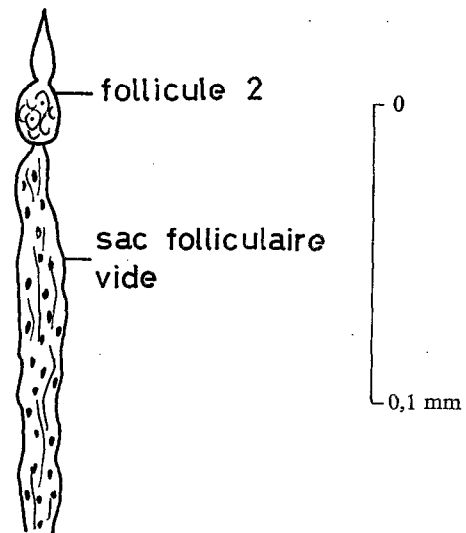


FIG. 2. — Aspects d'une ovariole après expulsion de l'œuf mûr.

ont adaptés aux Cératopogonides. Suivant l'exemple de ces auteurs et de Linley (1965 a), nous adoptons pour *C. grahamii* les stades suivants (fig. 3).

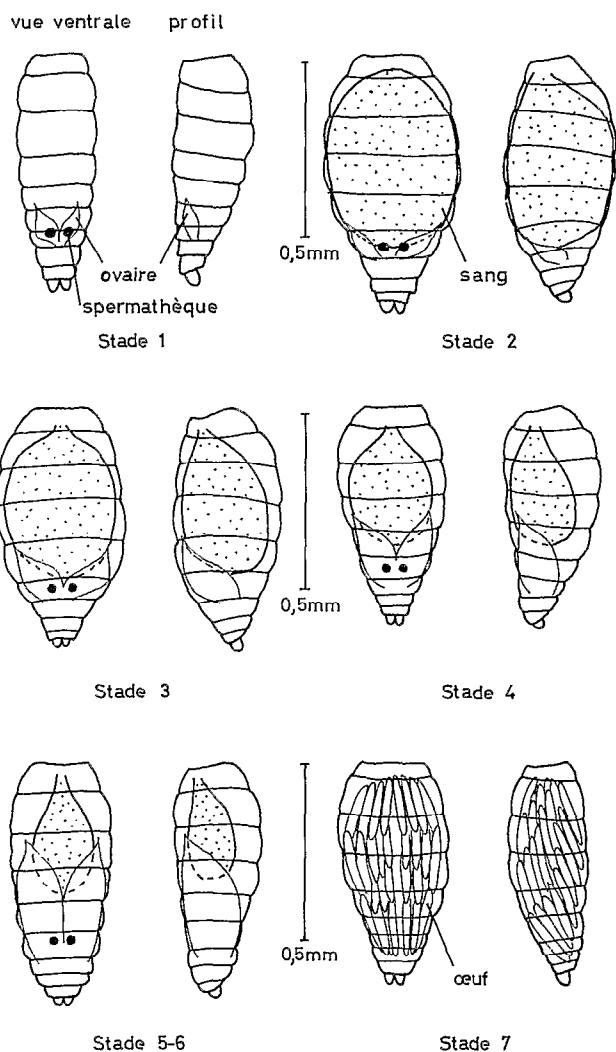


FIG. 3. — Phases de la digestion du repas de sang chez *C. grahamii*.

Stade 1.

— Intestins vides de sang; ovaires non développés.

Stade 2.

— Intestins remplis de sang frais occupant les trois-quarts de l'abdomen (4 segments 1/2); ovaires non développés.

Stade 3.

— Le sang occupe les deux-tiers de l'abdomen.

Stade 4.

— Le sang occupe la moitié de l'abdomen; l'intestin moyen est légèrement contracté en diamètre.

Stade 5-6.

— Le sang occupe de un tiers à moins de un tiers de l'abdomen; l'intestin moyen est très contracté en diamètre.

Stade 7.

— Intestins vides de sang; ovaires mûrs occupant la presque totalité de l'abdomen.

La distinction des stades 3 et 4 n'est pas aisée; nous l'avons cependant conservée car à ces stades correspondent des développements folliculaires différents (cf. tabl. I).

2.1.2. Relations entre la digestion et le développement folliculaire.

Le tableau I représente pour chacun des stades de la digestion du sang, le nombre de femelles disséquées à intervalles de 8 heures à partir du repas de sang, dont les follicules se trouvent à un stade de développement donné.

De ce tableau il ressort que le stade 2 de digestion est caractérisé par le stade II_{A1} de développement folliculaire, le stade 3 par II_{A2}, le stade 4 par III, le stade 5-6 par IV_A et le stade 7 par V.

L'étude comparée des durées de ces divers stades de digestion et de développement folliculaire (tabl. II), montre l'existence d'une étroite corrélation entre ces deux phénomènes.

2.1.3. Discussion.

La comparaison des correspondances entre stades de digestion et stades de développement folliculaire chez *C. grahamii*, avec celles établies chez d'autres Cératopogonides : *C. grisescens* et *C. obsoletus* (Glukhova), *C. obsoletiformis* (Amosova), *Leptoconops becquaerti* (Linley, 1965 a) (tabl. III), montre de grandes similitudes entre ces cinq espèces.

Chez *C. grahamii* comme chez ces espèces, le cycle gonotrophique est sous la dépendance étroite des produits de la digestion du repas de sang.

Un seul repas de sang suffit à l'achèvement de ce cycle car aucune des femelles capturées au moment où elles se posent pour se gorger, ne possède de sang en voie de digestion dans les intestins. Il en est de même chez *C. nubeculosus* (Megahed, 1956), *L. becquaerti* (Linley, 1965 a), *C. barbosai* et *C. furens* (Linley, 1966), *C. arakawae*, *C. schultzei* et *Forcipomya taiwana* (Sun, 1974), alors que *C. austeni* nécessiterait deux repas de sang pour achever le cycle gonotrophique (Sharp, 1928) et *C. impunctatus* jusqu'à sept (Hill, 1947).

Enfin, si les femelles de *C. grahamii* ne présentent pas d'activité de piqûre durant le développement ovarien, elles ne se déplacent pas non plus et restent confinées dans un site de repos. En effet aucune femelle ne présente d'ovaires en cours de développement au moment de la capture.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE BIOLOGIQUE ET ÉCOLOGIQUE DE *CULICOIDES GRAHAMII*. — II.

TABLEAU I. — Nombre de *G. grahamii* aux différents stades de digestion et de développement folliculaire en fonction du temps écoulé depuis le repas de sang.

Stades		Temps écoulé après le repas de sang																	Totaux	%				
digest.	fol.	0h	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	96	104	112	120	128			136	144		
				1j				2			3			4			5			6				
2	N	9	9																			18	74	24,4
	I	9	16	1																		26		35,1
	II _{A1}	10	15	5																		30		40,5
3	II _{A1}		4	1	2																	7	43	16,3
	II _{A2}		8	12	2	1	2															25		58,1
	II _B			6	2	1	1	1														11		25,6
4	II _B			7	1			1	2													11	26	42,3
	III				4		3	3	3	1												14		53,85
	IV _A								1													1		3,85
5-6	III				2	3	3	1	1													10	61	16,4
	IV _A					2	3	12	7	6	5											35		57,4
	IV _B							2	4	6	4											16		26,2
7	IV _B						1	5	1	5	4											16	61	26,2
	V						1	3	2	9	7	10	2	2		3	3	1	2			45		73,8
Ponte									1	3	4	11	1	1	2			2	1	3		29		

2.2. DÉVELOPPEMENT FOLLICULAIRE CHEZ LES FEMELLES NON GORGÉES.

2.2.1. Chez les femelles d'émergence : autogénèse.

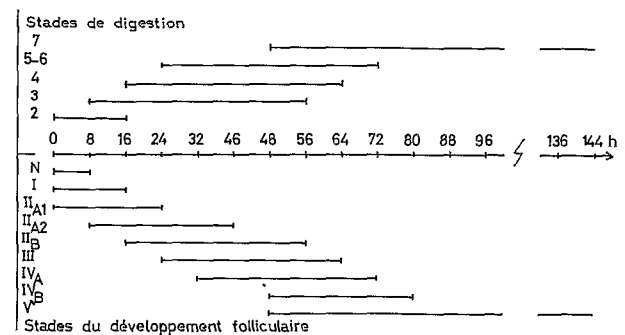
Le développement des follicules ovariens jusqu'à la maturation des œufs, sans repas de sang, ou autogénèse, a été observé chez divers Cératopogonides, en particulier chez *C. circumscriptus* (Glukhova), *C. dendrophilus* (Amosova), *C. barbosai* et *C. furens* (Linley, 1966). Cependant les cycles suivants nécessitent un repas de sang pour s'accomplir.

N'ayant pu obtenir jusqu'à maintenant, de *C. grahamii* d'émergence, il ne nous a pas été possible de vérifier l'existence ou non d'une autogénèse chez cette espèce.

2.2.2. Stade du développement au moment du repas de sang.

Nous avons noté que le développement folliculaire chez *C. grahamii* ne dépasse jamais le stade II_{A1} chez

TABLEAU II. — Durées comparées des stades de digestion et de développement folliculaire.



les femelles capturées au moment où elle se posent pour se gorger. Ceci prouve que le repas de sang est indispensable à ce développement, comme c'est le cas chez *C. obsoletus* et *C. grisescens* (Glukhova), *Leptoconops*

TABLEAU III. — Relations entre la digestion et le développement folliculaire chez cinq Cératopogonides.

Stades folliculaires chez :	Stades de digestion				
	2	3	4	5-6	7
<i>C. grisescens</i>	II _A	II _B	III	IV	V
<i>C. obsoletus</i>	II _A		II _B III	IV	V
<i>C. obsoletiformis</i>	II _A	II _B	III	IV	V
<i>L. bequaerti</i>	I II _{A1}	II _{A2} II _B	III	IV	V
<i>C. grahamii</i>	II _{A1}	II _{A2} II _B	III	IV	V

bequaerti (Linley, 1965 a) et les trois espèces hématophages étudiées par Sun.

Pour vérifier cela, nous avons maintenu en vie des femelles non gorgées, en présence de nourriture sucrée. Nous constatons (tabl. IV) qu'au moment de la capture ce sont les femelles au stade de développement folliculaire N qui sont les plus nombreuses (42,1 %). Ce n'est que 48 heures après, que le stade I est le plus fréquemment observé (51,9 %) et 96 heures après pour le stade II_{A1} (62,5 % des femelles disséquées). La survie maximale observée a été de 4 jours, au bout desquels aucun follicule ne dépassait le stade II_{A1} de développement.

TABLEAU IV. — Nombre de femelles non gorgées aux différents stades de développement folliculaire. (Les chiffres entre parenthèses indiquent les pourcentages).

Stades folliculaires	Temps écoulé entre la capture et la dissection			
	0 h	24	48	96
No	10 (6,6)	0	0	0
N	64 (42,1)	12 (36,4)	4 (14,8)	1 (12,5)
I	36 (23,7)	11 (33,3)	14 (51,9)	2 (25)
II _{A1}	42 (27,6)	10 (30,3)	9 (33,3)	5 (62,5)
II _{A2}	0	0	0	0

3. Durée du cycle gonotrophique.

3.1. OBSERVATIONS.

Dans les conditions expérimentales utilisées, il s'écoule en moyenne 88 heures (3,5 jours) entre le repas de sang et la ponte chez *C. grahamii*. La durée la plus courte observée pour le cycle gonotrophique, est de 64 heures (2,5 jours) et la plus longue, de 144 heures (6 jours).

Le tableau V nous indique que le stade II_{A1} est atteint par un maximum de femelles 8 heures après le repas de sang, les stades II_{A2} et II_B sont atteints 16 heures après ce repas, le stade III entre 24 et 48 heures, le stade IV_A à 48 heures, le stade IV_B entre 56 et 72 heures et l'œuf mûr entre 72 et 88 heures.

TABLEAU V. — Nombre de femelles aux différents stades folliculaires en fonction du temps écoulé depuis le repas de sang.

Stades folliculaires	Temps écoulé après le repas de sang													
	0h	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	96	104
II _{A1}	10	19	6	2										
II _{A2}		8	12	2	1	2								
II _B			13	3	1	1	1	3						
III				6	3	3	6	4	2					
IV _A					2	3	12	8	6	5				
IV _B							3	9	7	9				
V								1	3	2	9	7	10	2
Ponte										1	3	4	11	1

Le moment le plus favorable à la décapitation pour l'obtention d'œufs, se situe 88 heures après le repas de sang.

3.2. DISCUSSION.

Il est vraisemblable que la durée du cycle gonotrophique des femelles dans leur milieu naturel est très proche, sinon la même, de celle déterminée chez des femelles maintenues en vie en laboratoire.

En effet, Linley (1965 a et 1966) a démontré chez d'autres espèces de Cératopogonides, que cette durée dépend de la température ambiante (elle augmente lorsque la température baisse). Or nous avons maintenu les femelles de *C. grahamii* à des températures égales aux températures moyennes du site de capture (31 °C le jour, 23 °C la nuit).

La revue de la littérature mentionnant la durée du développement ovarien chez les Cératopogonides, montre selon les espèces, des durées variant autour d'une moyenne de quatre jours.

Notons que l'allongement du cycle observé jusqu'à 6 jours, doit vraisemblablement être imputé aux conditions de captivité des femelles, celles-ci retenant leur ponte du fait de l'absence de site convenable d'oviposition. Les pontes spontanées observées ont pour la plupart eu lieu sur la boulette de coton mouillée de miel dilué, les autres sur la paroi du tube d'élevage.

4. Fécondité.

4.1. OBSERVATIONS.

Le nombre d'ovarioles chez les femelles capturées au moment du repas de sang, est en moyenne de 70 par ovaire, ce qui correspond à un nombre moyen de 140 follicules au début du cycle de développement.

Le nombre d'œufs pondus après décapitation, est en moyenne de 52, soit 37 % du nombre des follicules initiaux.

La recherche du nombre moyen de follicules aux différents stades de développement, montre que la dégénérescence de 63 % d'entre eux est un phénomène

continu, mais qu'elle est surtout sensible lors du passage du stade III au stade IV.

Parmi les 34 femelles disséquées après oviposition spontanée ou provoquée, nous n'avons observé que 5 cas de rétention d'œufs mûrs (de 1 à 5 œufs).

Les œufs pondus se pigmentent de gris au bout de quelques heures et éclosent en 4 à 5 jours. Les rares œufs qui restent blancs n'éclosent pas ; ils n'ont donc probablement pas été fécondés. La fécondation est réalisée peu avant l'oviposition, grâce aux spermatozoïdes contenus dans deux spermathèques (très exceptionnellement 3) où leur présence, décelable grâce aux mouvements de leur flagelle, a été constatée chez toutes les femelles disséquées.

Stades de développement des follicules ..	I	II	III	IV	V
Nombre moyen de follicules	140	138	115	72	52

Ces espèces montrent après l'oviposition, au niveau de chaque ovariole, une relique de ponte formée par le sac folliculaire qui contenait l'œuf mûr. Cette relique se contracte ensuite rapidement (8 à 12 heures) pour former une dilatation qui reste rattachée par un funicule au follicule suivant. Chez certaines espèces plusieurs dilatations successives ont été observées (jusqu'à quatre chez *C. griseus*) indiquant une répétition du cycle gonotrophique.

De tels sacs ont pu être facilement observés chez des femelles de *C. grahamii* venant de pondre en laboratoire (cf. fig. 2). Cependant nous n'avons trouvé aucune relique de ponte chez les 28 femelles gorgées capturées sur le terrain et disséquées dès le retour au laboratoire.

4.2. DISCUSSION.

Le petit nombre d'œufs amenés à maturité par *C. grahamii* dépend probablement, d'une part de la petite dimension de cette espèce (0,9 mm pour l'abdomen = moyenne établie sur 207 femelles non gorgées), d'autre part de l'importance relative du repas de sang.

Enfin, il est certain que les conditions du maintien en vie différent, même légèrement, des conditions naturelles de vie de cette espèce, donc ne peuvent qu'agir défavorablement sur sa fécondité.

5. Répétition du cycle gonotrophique.

Nous avons recherché si *C. grahamii* réalise au cours de sa vie plusieurs cycles gonotrophiques comme c'est le cas chez *C. griseus*, *C. obsoletus*, *C. pulicaris*

(Glukhova), chez *Leptoconops bequaerti*, *C. barbosa*, *C. furens* (Linley, 1965 b), et chez *Styloconops spinosifrons* (Duval, 1971).

Parmi les 152 femelles non gorgées capturées et disséquées immédiatement, 4 seulement possédaient des reliques de ponte qui confèrent aux ovaires un aspect chiffonné caractéristique. Ce faible nombre ne nous permet pas d'affirmer la possibilité pour *C. grahamii* d'effectuer plus d'un cycle gonotrophique.

Il se peut cependant, que ces reliques disparaissent totalement par contraction, peu après l'oviposition. Cette hypothèse pourrait être vérifiée par l'examen de femelles maintenues en vie en laboratoire, après oviposition. Cela ne nous a pas été possible car les techniques de survie utilisées ne nous ont pas permis de maintenir des femelles en vie plus de 8 heures après la ponte spontanée.

Manuscrit reçu au Service des Publications le 2 novembre 1976

BIBLIOGRAPHIE

- AMOSOVA (I.S.), 1959. — On gonotrophic relationships within the genus *Culicoides* (Diptera, Heleidae). *Entom. Review*, 38 : 694-707.
- AURIAULT (M.), 1977. — Contribution à l'étude biologique et écologique de *Culicoides grahamii* (Austen), 1909 (Diptera, Ceratopogonidae). I - Rythme d'activité des femelles. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XV, n° 2 : 171-176.
- CHRISTOPHERS (S.R.), 1911. — The development of the egg follicle in Anophelines. *Paludism n° 2*, Trans. Comm. Study Malaria in India, 73-87.

- DUVAL (J.), 1971. — Etude écologique du Cératopogonide halophile *Styloconops spinosifrons* (Carter 1921) (Diptera) des plages de Nossi-Bé en vue d'une lutte rationnelle au moyen d'insecticide. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. IX, n° 2: 203-220.
- GLUKHOVA (V.M.), 1958. — On gonotrophical cycle of the midges genus *Culicoides* (Diptera, Heleidae) of the Karelian ASSR. *Parazit. Sb.*, 18: 239-254.
- HILL (M.A.), 1947. — The life cycle and habits of *Culicoides impunctatus* Geot. and *C. obsoletus* Meig., together with some observations on the life cycle of *C. odibilis* Aust., *C. pallidicornis* Kief., *C. cubitalis* Edw. and *C. chiopterus* Meig. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 41: 55-115.
- LINLEY (J.R.), 1965a. — The ovarian cycle and egg stage in *Leptoconops (Holoconops) bequaerti* (Kieff.) (Diptera, Ceratopogonidae). *Bull. Ent. Res.*, 56: 37-56.
- LINLEY (J.R.), 1965b. — Changes in the ovaries of certain biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) following completion of the gonotrophic cycle. *Mosq. News*, 25, 3: 306-310.
- LINLEY (J.R.), 1966. — The ovarian cycle in *Culicoides barbosai* (Wirth and Blanton) and *C. furens* (Poey) (Diptera, Ceratopogonidae). *Bull. Ent. Res.*, 57: 1-17.
- MEGAHED (M.M.), 1956. — A culture method for *Culicoides nubeculosus* (Meigen) (Diptera: Ceratopogonidae) in the laboratory, with notes on the biology. *Bull. Ent. Res.*, 47: 107-114.
- MER (G.G.), 1936. — Experimental study on the development of the ovary in *Anopheles elutus*, Edw. (Diptera, Culicidae). *Bull. Ent. Res.*, 27: 351-359.
- SELLA (M.), 1920. — Seconda relazione della lotta antimalarica a Fumicino (Roma). Pt. II.. Digestione del sangue in rapporto alla maturazione dell'uova, ecc. *Ann. Igiene*, 30 suppl.: 185-192.
- SHARP (N.A. Dyce), 1928. — *Filaria perstans*; its development in *Culicoides austeni*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 21, 5: 371-396.
- SUN (W.K.C.), 1974. — Laboratory colonization of biting midges (Diptera: Ceratopogonidae). *J. Med. Ent.*, II, 1: 71-73.