

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE BIOLOGIQUE D'ANOPHELES HAMONI ADAM, 1962 (DIPTERA-CULICIDAE)

par

J.P. ADAM* & G. VATTIER**

1 - INTRODUCTION

Le présent travail s'inscrit dans le cadre d'une étude sur la transmission des *Plasmodium* de rongeurs et cheiroptères. Subventionnée par l'Organisation Mondiale de la Santé, en 1962 et 1963, cette étude a été entreprise à la suite de la découverte chez l'anophèle troglobie *A. hamoni* d'une infection salivaire due à des sporozoïtes d'Hémosporidie. Notre premier objectif fut l'élevage du vecteur et la connaissance de sa biologie. Ce sont les résultats acquis dans ces deux domaines que nous exposons ici.

2 - RAPPEL DES CARACTÈRES TAXONOMIQUES D'ANOPHELES HAMONI ADAM, 1962

L'espèce a été découverte dans la grotte de Meya-Nzouari en 1961 par l'un de nous (ADAM, 1961 a) et tous les stades (sauf l'œuf) décrits l'année suivante (ADAM, 1961 b).

L'adulte est de grande taille (aile ♀ = 4 mm). Dépigmenté, il apparaît testacé ce qui lui donne l'aspect d'un moustique "frotté". Palpes et pattes sont concolores dans les deux sexes, les palpes étant légèrement plus clairs à l'apex qu'à la base. Les ailes sont de teinte générale claire, avec deux taches plus claires encore sur la costa de la femelle et quatre taches sur celle du mâle.

La larve vivante au IVème stade est, soit blanchâtre presque translucide, soit jaune. Elle se caractérise par des soies frontales dont la longueur est à peine supérieure à la moitié de la distance qui sépare leurs insertions de celles des clypéales postérieures. Classé primitivement dans la série (a), groupe *Neomyzomyia* du sous-genre *Myzomyia*, *A. hamoni* apparaît donc dans la classification de STONE et coll. (1959) comme appartenant au sous-genre *Cellia*.

* Maître de recherches d'Entomologie médicale, ORSTOM.

** Chargé de recherches d'Entomologie médicale, ORSTOM.

A. hamoni a été trouvé d'abord dans la grotte de Meya-Nzouari, à 3, 600 km au Sud-Ouest du village de Meya (longitude : 14° 31' 20" E, latitude : 3° 53' 15" S.). Cette grotte est située en lisière de la forêt de "Bangou" dans la sous-préfecture de Kindamba, préfecture de Mayama à 270 km du Nord-Ouest de Brazzaville. L'altitude est voisine de 350 m.

Quelques individus femelles et des larves ont été capturés depuis lors dans la grotte de Meya II située à 3, 600 km au Nord-Est de la localité type ainsi que dans celle de M'Poka (ADAM et Coll., 1964) à 3 km environ au Sud-Ouest de Meya-Nzouari. Ce n'est cependant qu'à Meya-Nzouari que la colonie est assez abondante pour en permettre l'étude.

3 - ÉCOLOGIE ET ENVIRONNEMENT

3.1. La région

Massif forestier resté jusqu'à ces dernières années intact, au milieu des savanes, la forêt de Bangou est implantée sur une zone schisto-calcaire (SC1c de la carte géologique) (HUDELEY, 1953). La région présente un faciès très accidenté modelé par le dense réseau des vallées surcreusées du bassin de la Louolo et de ses affluents. C'est l'un de ceux-ci, le Nzouari, qui, après avoir suivi une étroite, profonde et sinueuse vallée en forêt, butte sur la falaise qui la ferme et poursuit son chemin sous terre.

3.2. Description de la grotte

L'entrée de la grotte est ainsi ouverte au fond d'une vallée boisée très sombre et très humide. La plus grande partie du réseau souterrain est cependant creusée sous la savane et si le Nzouari débouche à nouveau dans une vallée boisée, celle-ci n'est qu'une doline perdue au milieu de la savane au niveau de laquelle atteignent seules les branches supérieures de ses plus grands arbres.

La grotte de Meya-Nzouari, ainsi que nous le voyons sur le plan I, se compose de trois parties qui, pour le biologiste, sont bien distinctes :

a — une salle d'entrée de 30 m sur 20 m où l'on accède par un éboulis de gros rocs à partir du fond de la vallée, à 40 m au-dessous du niveau moyen de la savane. Cet éboulis se prolonge en une longue pente à faible inclinaison qui constitue le sol de la salle et se termine au fond de celle-ci sur le bord de la rivière souterraine. Dans la salle, l'humidité croît du porche vers le fond tandis que diminue l'éclaircissement.

b — un réseau aval où circule la rivière dans une galerie de section importante (15 à 25 m de large — 10 à 15 m de haut) et de 240 m de longueur. Un étage supérieur fossile, sec, surplombe ce réseau "vivant". Les deux étages débouchent à l'air libre par des orifices superposés assez grands qui créent, avec l'entrée principale, un courant d'air sensible dans l'axe de la galerie, inexistant dans les parties latérales. L'obscurité est totale.

c — en amont de la salle d'entrée, se superposent et s'anastomosent trois étages de galeries : un système fossile comportant deux étages de salles et de couloirs et, à la partie inférieure, un réseau actif, sorte de "canyon" souterrain où circule la rivière. Ce réseau est obstrué par des éboulis après un parcours de plus de 600 m. Aucun mouvement d'air n'est perceptible dans cette partie de la grotte où le plafond est presque partout à portée de la main. L'obscurité y est totale.

3.3. Facteurs écologiques

Les adultes d'*A. hamoni* vivent dans un biotope où la température est constamment de 24° 5 C, l'humidité relative mesurée en différents points de capture se maintenait entre 96%

et 98%, la saturation étant atteinte en plusieurs endroits où la voûte était couverte de gouttelettes de condensation. L'obscurité est totale et l'air immobile. Les seuls facteurs variables sont la pression atmosphérique, l'étendue des gîtes larvaires et les facilités d'accès à la nourriture.

3.4. Faune associée

Nous avons régulièrement capturé en même temps que *A. hamoni* : *Uranotaenia cavronicola* Mattingly, 1945, de nombreux *Chironomidae* et *Psychodidae* (*Telmatoscopus albipunctatus* [Will]) actuellement à l'étude, deux espèces d'Ephéméroptères, des Coléoptères *Xylophilidae*, de nombreux *Phlebotomus gigas* Parrot et Schwetz, 1937, *Phlebotomus mirabilis* Parrot et Wanson, 1939, plusieurs espèces de *Streblidae* (*Raymondioides leleupi* Jobling, 1954 — *Raymondia simplex* Jobling, 1955 (JOBLING, 1955) — *Raymondia seminuda* Jobling, 1954 — *Nycterobosca alluaudi* Falcoz, 1923 — *Nycterobosca africana* Walker, 1849, ainsi que quelques exemplaires d'*Afrocmex* (SCHOUTEDEN, 1951) sp (en cours d'étude) et d'*Ornithodoros faini* Hoogstraal, 1960.

3.5. Période et lieu d'études

L'observation de l'Anophèle dans son biotope a été poursuivie depuis le 19 Avril 1961 au cours de 9 enquêtes totalisant 81 journées de présence à Meya-Nzouari et couvrant toutes les saisons. L'étude du cycle gonotrophique et de nombreux aspects de la biologie a été réalisée sur des individus d'élevage et sur des Anophèles capturés dans les gîtes naturels et conservés en captivité.

4 - TECHNIQUES D'ÉLEVAGE

Le but final de notre travail était l'étude de la transmission des Hémosporidies. Nous avons, en conséquence, d'abord porté nos efforts sur le maintien d'*A. hamoni* en captivité et sur l'obtention de colonies d'élevage. Nos anophèles réclamant une humidité très forte et l'obscurité complète ainsi qu'une température constante, nous avons jugé plus facile de nous installer dans la grotte même. A cet effet la salle dite "des Phlébotomes" (voir plan) située à une cinquantaine de mètres de l'entrée, dans le réseau amont, fut sommairement équipée. Nous y disposions de sièges et de trois tables qui supportaient les cuvettes d'élevage des larves et les petites cages. Un tube métallique, maintenu parallèlement à la voûte par deux vérins, supportait les cages suspendues. Une enceinte de treillage galvanisé était tendue entre voûte et sol par une série de vérins et constituait une volière à Roussettes de 6 m³ environ où nous maintenions en permanence une dizaine de ces animaux.

L'éclairage était assuré par deux ampoules électriques alimentées par un groupe électrogène situé au dehors.

4.1. Élevage des imagos

Les moustiques capturés dans la grotte étaient triés en trois lots :

- Individus à jeûn : ce lot comprenait des femelles nouvellement écloses — des femelles venant de pondre — des femelles prégravides. Nous y mettions aussi tous les mâles.
- Individus gravides
- Individus aux stades intermédiaires

Les moustiques du premier lot étaient placés dans une cage cylindrique en "voile" de tergal imputrescible, de 1 m de hauteur et 0 m, 50 de diamètre, suspendue à la voûte. Munie d'un fond et d'un dessus en contreplaqué, cette cage comprenait une "manche" latérale assez large pour permettre d'y introduire le haut du corps.

Les femelles gravides étaient isolées en cages cubiques de vingt centimètres de côté, où l'on plaçait un pondoir (capsule de porcelaine de sept centimètres de diamètre) à demi rempli d'eau et garni, sur le bord interne, d'une bande de papier filtre.

Les femelles aux stades intermédiaires de digestion étaient groupées en cages de trente centimètres de côté et examinées chaque jour. Les cages de vingt centimètres étaient également utilisées pour isoler les individus dont on suivait le développement.

Les femelles étaient nourries normalement sur Roussettes (*Roussettus aegyptiacus* Geoffroy). Celles-ci enfermées dans des cages cubiques en treillage de douze centimètres d'arête étaient introduites dans les cages d'élevage où elles demeuraient toute la journée et parfois 24 heures. Les femelles isolées étaient souvent nourries sur homme, la main et l'avant-bras étant alors glissés dans la cage.

Nous n'avons pas fourni d'eau sucrée aux mâles mais un tampon imbibé d'eau était à leur disposition.

4.2. Élevage des stades préimaginaux

Les œufs recueillis à la surface de l'eau des pondoirs, ou sur le papier filtre qui en recouvrait les parois, étaient placés dans de grandes capsules de porcelaine d'un litre de contenance, à demi remplies d'eau. L'eau était puisée dans les vasques formées par les gours, gîtes naturels de l'espèce.

Ce n'est que deux jours après l'éclosion que la distribution de nourriture commençait. Constituée de poudre de biscuit protéiné pour les jeunes larves (jusqu'au II^{ème} stade), elle était donnée une fois par jour (le matin). A partir du II^{ème} stade on ajoutait à la poudre précédente une égale quantité de levure "Gaylord Hauser" finement broyée, et la distribution était faite matin et soir.

L'eau des capsules était renouvelée chaque jour à partir du II^{ème} stade.

Les nymphes recueillies chaque soir étaient placées dans une capsule de porcelaine à l'intérieur d'une des cages cylindriques suspendues.

Les échecs enregistrés au cours de nos premières tentatives d'élevage furent rapportés à une toxicité rémanente du matériel provenant du Laboratoire de Brazzaville. Là, en effet, nous effectuions des tests de sensibilité aux insecticides depuis plusieurs mois.

Nous avons, en conséquence, systématiquement stérilisé les capsules par autoclavage, les armatures de cages par flambage, les enveloppes en voile de tergal par ébullition. La mortalité dès lors est redevenue normale.

Dans les conditions écologiques de la "salle des Phlebotomes" l'élevage est aisé. Les études expérimentales sont rendues cependant difficiles par suite de la très grande lenteur du développement d'*A. hamoni*, aussi bien au stade larvaire qu'à celui d'adulte. Cette lenteur impose aux chercheurs des séjours très longs à Meya, ce qui n'est pas toujours réalisable. Il semble, cependant, qu'il soit possible de réussir l'élevage à Brazzaville où nous avons amené, à plusieurs reprises des œufs, des larves, des nymphes et des adultes. La condition *sine qua non* est de disposer d'un local suffisamment à l'écart de la ville pour échapper à l'intoxication par les insecticides à effet rémanent.

Les autres facteurs écologiques sont relativement faciles à maintenir : température de 24°5 – hygrométrie supérieure à 96% – obscurité totale.

5 - BIOLOGIE D'*ANOPHELES HAMONI* ADAM, 1962

5-1. Ponte

L'œuf est de très grande taille puisqu'il mesure de 738 à 740 μ de longueur sur 165 à 170 μ dans sa plus grande largeur. Ces dimensions exceptionnelles, surtout en ce qui concerne la longueur, rendent compte du petit nombre des œufs pondus qui ne dépasse guère 100. Le chiffre moyen est compris entre 70 et 80 mais nous avons souvent enregistré des pontes beaucoup plus faibles : 40 et même 25 à 30 œufs.

Toutes les ovipositions, en captivité, ont eu lieu durant les heures nocturnes (entre 19 h et 8 h).

Dans les conditions normales l'éclosion se produit trois à quatre jours (plus généralement quatre) après la ponte.

Comme chez tous les Anophèles, les œufs, déposés isolément à la surface de l'eau, ont tendance à se réunir en files ou en plages où ils sont alors en contact par leurs pointes. Il s'agit là d'un phénomène physique de tension superficielle.

Nous avons mis en évidence l'existence d'une capacité de résistance considérable des œufs à la mise à sec. En effet, une ponte a été isolée sur un disque de papier filtre humide laissé sur la table du "laboratoire" souterrain durant quatre jours. Vingt-quatre heures après la remise à l'eau, les premières éclosions se produisaient et la sortie des larves était totale huit heures plus tard. Par ailleurs, une partie des œufs d'un lot de pontes du 31 Janvier 1964 s'était trouvée au sec sur les parois de la capsule de porcelaine qui servait de pondoir. Une centaine de ces œufs fut remise à l'eau le 5 Mars, donc plus d'un mois après leur mise hors eau. Le 7 Mars, deux des œufs donnaient naissance à des larves dont le développement se poursuivait normalement le 13 Mars, date où notre départ interrompit l'observation.

5-2. Biologie larvaire

Les premiers gîtes naturels de l'espèce ont été trouvés au niveau de la "salle des Anophèles" (voir plan) à l'extrémité du réseau amont. Dans le lit alors à sec du ruisseau, ils étaient constitués par des flaques résiduelles sur fond rocheux couvert de gravillons. Sur l'eau très claire flottaient quelques plages de débris constitués en majorité de poudre de déjections de chauve-souris insectivores.

Par la suite nous avons trouvé des larves nombreuses en d'autres points du réseau amont, tant dans des flaques résiduelles que dans des vasques à niveau constant, formées par des gours* et des creux de rochers. Nous en avons pris aussi, régulièrement, dans des vasques de la galerie aval ainsi que dans les nombreuses "marmites" qui creusent les roches des bords de la rivière. Dans tous les cas, l'obscurité était totale. Les larves se nourrissaient en "broutant" les nappes de débris flottant à la surface de l'eau. Lorsque le gîte renfermait aussi quelques déjections fraîches de Roussette tombées au fond, ces dépôts étaient exploités par des larves d'*Uranotaenia cavernicola* Mattingly, 1945. Si le dépôt de déjection était plus important, le fond du gîte étant alors couvert d'une couche de vase, les *Anopheles* en étaient absents. Ils n'ont jamais été trouvés non plus dans des gîtes situés sous des ressauts inférieurs des parois où nul débris organique ne souillait la surface.

A la saison sèche, on assiste à la raréfaction progressive des gîtes larvaires qui finissent par se réduire à la flaque résiduelle de la salle des Anopheles et quelques marmites de la galerie aval. Il nous paraît très vraisemblable que, certaines années, la disparition des gîtes larvaires puisse être totale.

* gours : barrages stalagmitiques.

A la saison des pluies, la réoccupation des vasques du réseau amont est effective 2 à 3 jours après leur mise en eau. A la même période, si les gîtes de la galerie aval sont rapidement colonisés eux aussi, nous avons constaté qu'ils sont lessivés à peu près à chaque orage. La rivière souterraine grossit alors, démesurément et très vite, pour rentrer aussi rapidement dans son lit l'averse terminée. Pendant la période de Janvier à Février, qui correspond théoriquement à la petite saison sèche, les précipitations sont très écartées dans le temps. La plupart des vasques tarissent alors et s'assèchent ne conservant au fond qu'une couche mince de boue humide. Il nous a été donné d'observer, à plusieurs reprises, que, dès la remise en eau de ces gîtes, des larves à des stades avancés (II, III, IV) y apparaissent. Nous avons pensé qu'il y avait peut-être là manifestation d'une certaine capacité de résistance des larves à la mise à sec sur un milieu à saturation. Pour éprouver la valeur de notre hypothèse, nous avons isolé, le 6 Mars à 18 h, cinq lots de chacun 10 larves du IVème stade, sur de la boue humide étalée au fond de capsules de porcelaine. Un "puits" pratiqué au centre de la couche de boue permettait d'enlever l'eau qui s'y accumulait par drainage. Ces lots ont été conservés au laboratoire souterrain et remis en eau, à partir du 7 Mars, successivement à 24 heures d'intervalle. Le tableau ci-dessous rend compte de cette expérience :

TABLEAU I

du lot	Remis en eau le :	Larves vivantes à 18 h						
		le 7	le 8	le 9	le 10	le 11	le 12	le 13
a	7 Mars à 18 h	6	5	5	5	5	5	4
b	8 Mars à 18 h		10	10	10	8	8	8
c	9 Mars à 18 h			4	3	3	3	2
d	10 Mars à 18 h				2	2	2	2
e	11 Mars à 18 h					5	3	3

La forte mortalité enregistrée au début de l'expérience tient aux manipulations subies par les larves, la méthode d'épuisement de l'eau n'ayant été mise au point qu'après quelques tâtonnements. Cette expérience, toute imparfaite qu'elle soit, met cependant en évidence une indéniable capacité de résistance des larves d'*A. hamoni* au dessèchement de leurs gîtes.

Nos élevages, menés suivant les modalités décrites précédemment, nous ont montré que le développement est très lent. La durée minimale notée est de 24 jours de l'œuf à l'adulte. Cette lenteur traduit un métabolisme très bas caractéristique des cavernicoles et conditionné par l'écologie spéciale du milieu souterrain.

Les larves présentent une phototaxie négative qui les conduit, en élevage, à se réfugier du côté de la cuvette portant ombre et, dans les gîtes naturels, à s'abriter lorsqu'on éclaire sous les rebords surplombants des gours. Elles plongent rarement même lorsqu'on cherche à les capturer et se déplacent alors très rapidement à la surface.

Normalement fixées, par les soies de l'extrémité postérieure de l'abdomen, aux bords du gîte, on les trouve aussi aux lisières des plages de débris flottants.

Dans les élevages, les larves, même isolées, dévorent régulièrement les exuvies peu de temps après leur abandon.

Nous avons noté dans les gîtes naturels un pH de l'eau de 7, 2.

La faune associée comprenait essentiellement à Meya-Nzouari des larves d'*Uranotaenia cavernicola* Mattingly 1945 et des imagos de *Copelatus* sp. (*Coleoptera, Dytiscidae*). Dans la grotte voisine de M'Poka, le seul gîte larvaire existant renfermait à la fois *A. hamoni* et *A. caroni* Adam, 1961.

5-3. Sensibilité naturelle des larves aux insecticides

Il nous a été possible d'effectuer un test préliminaire en utilisant la méthode standardisée par l'Organisation Mondiale de la Santé et les solutions titrées de DDT, HCH et Dieldrine fournies par cet organisme. Les résultats de ces tests sont figurés ci-dessous :

TABLEAU II

Concentrations	Dieldrine			H C H			D D T		
	Morts	Total	%	Morts	Total	%	Morts	Total	%
0,0008	24	25	96%						
0,004	26	26	100%	8	25	22,2%	17	25	68%
0,02	26	26	100%	26	26	100%	26	26	100%
0,1	25	25	100%	24	24	100%	24	24	100%
0,5				25	25	100%	25	25	100%
Témoins	1	25	4%	3	24	12,5%	0	25	0%

Pour le HCH le taux de mortalité a été corrigé par application de la formule d'Abbott.

Les CL 50 pour DL et DDT ont dû être évaluées par extrapolation en raison de l'extrême sensibilité de l'espèce.

Nous avons en résumé obtenu les chiffres suivants :

Pour Dieldrine CL 50 = 0,0001 CL 90 = 0,00047 CL 100 = 0,004
 Pour H C H CL 50 = 0,0055 CL 90 = 0,0092 CL 100 = 0,02
 Pour D D T CL 50 = 0,003 CL 90 = 0,0065 CL 100 = 0,02

La sensibilité apparaît ainsi comme très élevée, plus grande que celles que nous avons trouvées citées dans la littérature (HAMON et MOUCHET, 1961). Cette sensibilité explique l'échec des tentatives d'élevages faites à Brazzaville dans un insectarium souillé par des traces d'insecticide du fait de l'élevage dans ce local de moustiques capturés dans la ville.

5-4. Nymphose

La période qui sépare la nymphose de l'envol de l'adulte est de trois à quatre jours. L'exuviation semble pouvoir se produire à toute heure. Nous l'avons observée pour notre part, en élevage, à 8 h 30, 10 h 30 et 17 h et de nombreux adultes étaient trouvés chaque matin dans les cages dont l'exuviation s'était produite durant la nuit.

5-5. Biologie de l'imago

5-5-1. Lieu de repos des adultes

Les premières captures d'*A. hamoni* adultes ont été faites dans la "salle des Anophèles" où ils étaient très nombreux (ADAM, 1961a) (une dizaine par mètre carré de voûte). Il semble que, au moins cette année-là (1961), la saison sèche, en amenant la disparition des gîtes lar-

vaires, avait refoulé les imagos jusqu'au fond de la grotte où subsistait l'un des derniers gîtes encore en eau.

Par la suite, nous avons effectué des captures dans tout le réseau amont jusques et y compris la "salle des Phlebotomes"

Trois femelles ont été capturées aussi dans des parties excentriques de la galerie aval. Pour cette région, il est très vraisemblable qu'une colonie importante existe qui doit se cantonner à la voûte où gitent les cheiroptères, à 15 ou 20 m du sol. L'existence, sur le sol, de très nombreux gîtes larvaires rend cette présence des imagos quasiment certaine.

Les adultes des deux sexes, au repos, sont posés presque tous sur la voûte et quelques-uns en haut des parois obliques. Dans les cages nous avons observé de même que seules les femelles fraîchement gorgées se tenaient en bas des parois verticales, près de l'animal-hôte. Toutes les autres, ainsi que les mâles étaient posés sur le plafond de la cage et quelques rares individus en haut des parois.

5 - 5 - 2. Alimentation et préférences trophiques

Nous n'avons jamais assisté, dans la nature, au repas d'un Anophèle mais avons observé à plusieurs reprises le matin quelques femelles fraîchement gorgées posées à une quinzaine de centimètres d'une chauve-souris suspendue à la voûte (*Miniopterus inflatus*). En captivité, les femelles d'*A. hamoni* se gorgent le matin. Nous avons vu, très souvent, des Anophèles piquant vers 8h les Roussettes qui avaient cependant passé toute la nuit dans leur cage. Il nous a semblé d'ailleurs, dans ces cas, que la lumière jouait un rôle déclenchant.

La prise de sang semble être faite en n'importe quel point du corps en dépit de l'épaisseur et de la densité du pelage. Le temps mis par une femelle pour se gorger entièrement est très variable. Nous l'avons chronométré lors de repas sur nous-même : de deux minutes à quatorze minutes.

En captivité, les attaques les plus précoces sont obtenues sur microcheiroptères et presque aussi rapidement sur Roussettes. Cependant si, dans une même cage, on introduit simultanément *Roussettus aegyptiacus* Geoffroy et *Miniopterus inflatus* Thomas, ce sont ces derniers qui subissent le maximum d'agressions. Le repas sur *Hipposideros caffer* S et *Rhinolophus alcyone* T. est gêné par la nervosité de ces espèces.

Nous avons pu facilement nourrir ces Anophèles également sur homme, sur *Atherurus africanus* Gray, sur cobaye, mais pas sur le rat sauvage *Praomys tullbergi* Thomas. Dans ce dernier cas cependant l'échec est peut-être imputable à la faible dimension des mailles, de la cage utilisée, qui semblait gêner considérablement le passage des anophèles.

L'attaque spontanée de l'homme a été enregistrée à plusieurs reprises, des femelles venant se gorger sur nous pendant notre travail dans la salle des Phlebotomes. Les Roussettes, enfermées dans la volière souterraine, étaient, elles aussi, régulièrement piquées par des *A. hamoni*.

Par ailleurs, si en grande cage les femelles jeunes se nourrissent sur Roussettes ou sur Minioptères, par contre nous n'avons jamais obtenu qu'une femelle nouvellement éclosée isolée en petite cage se nourrisse. Dans les mêmes conditions ; cependant des femelles âgées se nourrissaient fort bien.

L'accouplement n'a jamais été observé dans la nature. Nous l'avons vu à plusieurs reprises dans la grande cage d'élevage et l'avons observé en outre à 7 h 30 dans une cagette de transport de douze centimètres de côté ; l'espèce peut donc être considérée comme "sténogame". Lors de chaque observation l'accouplement avait lieu à la partie supérieure d'une paroi verticale.

5 - 5 - 3. Sex-ratio .

Au moment de la découverte de l'espèce, dans la "salle des anophèles", le rapport mâles/femelles était à peu près de 0,5. Si l'on considère l'ensemble du réseau amont, ce taux est très variable selon que l'on se trouve près d'un gîte larvaire (forte proportion de mâles) ou dans une zone à forte densité de cheiroptères et loin des collections d'eau (forte proportion de femelles). Toutes les dissections faites sur des femelles capturées dans la grotte ont montré des spermathèques fécondées.

5 - 5 - 4. Relation entre l'aspect de l'abdomen et les stades ovariens

L'étude des relations entre l'aspect extérieur de l'abdomen et le degré de développement des ovaires nous a permis de retrouver chez *A. hamoni* les **sept stades** décrits chez *A. maculipennis* par Sella (SELLA, 1920). Dans la pratique cependant, effectuant l'examen sur le moustique vivant, il nous a paru plus valable de compter les segments occupés par le sang uniquement sur la face ventrale. La coloration très pâle de *A. hamoni* rend par ailleurs difficile l'évaluation de l'état des ovaires dans leurs premiers stades.

En accord avec les observations de Sella nous avons reconnu les stades de digestion suivants :

- Stade I : (à jeûn) abdomen plat, pas de sang visible, ovaires au stade 1.
- Stade II : (♀ gorgée ; repas récent) sang rouge clair occupant tout l'abdomen sauf les 2 derniers sternites.
- Stade III : (♀ gorgée ; repas ancien) sang rouge sombre occupant cinq segments ventraux et jusqu'à cinq segments et demi.
- Stade IV : sang noir occupant quatre à cinq segments ventraux.
- Stade V : sang occupant seulement deux à trois segments ventraux.
- Stade VI : sang réduit à un résidu noirâtre visible dans le tiers antérieur de l'abdomen.
- Stade VII : sang entièrement digéré, femelle prête à la ponte, œufs visibles par transparence à travers la membrane pleurale tendue.

A ce schéma classique qui a été retrouvé par de nombreux auteurs chez plusieurs espèces d'Anophèles, s'ajoutent, cependant, chez *A. hamoni*, trois stades supplémentaires que l'on peut décrire ainsi :

- a - Aspect de femelle à jeûn, mais pleures grisâtres, visibles entre les tergites et sternites écartés, et plissées longitudinalement ; traces de sang noir dans l'estomac ; présence de graisse dans l'abdomen en une couche entourant les organes. Ovaires au stade II.
- b - Même aspect général mais abdomen légèrement convexe et ovaires au stade III.
- c - Aspect particulier : abdomen nettement convexe à pleures grisâtres légèrement ridées longitudinalement - Ovaires au stade IV. Graisse abondante dans l'abdomen.

Par analogie avec ce qui a été décrit par Gillies (GILLIES, 1954, 1955) chez *A. gambiac* et *A. funestus* au Tanganyika, nous avons donné à ces trois états les noms de "Stade prégravide 1", "Stade prégravide 2" et "Stade prégravide 3".

Ainsi, pour *A. hamoni*, le schéma complet d'évolution, en tenant compte à la fois des stades de digestion du sang et des stades du développement ovarien, est le suivant :

Stade I - Stade II - Stade III - **Prégravide 1** (ovaires au stade II) - Stade II - Stade III - **Prégravide 2** (ovaires au stade III) - Stade II - Stade III - **Prégravide 3** (ovaires au stade IV) - Stade II - Stade III - Stade IV - Stade V - Stade VI - Stade VII.

Ainsi chaque repas de sang ne permet aux ovaires qu'une évolution restreinte qui les fait en moyenne passer d'un stade au suivant. *A. hamoni* présente un cas presque unique, chez les Anophèles, de dysharmonie gonotrophique puisqu'il n'existe à notre connaissance que chez *A. caroni* (PAJOT, 1964).

5 - 5 - 5. Cycle gonotrophique

Afin d'étudier la répercussion sur l'ensemble du cycle de l'Anophèle des trois stades prégravidés, nous avons placé en élevage individuel un certain nombre de femelles nées en élevage et récemment gorgées. L'une d'elles (femelle E) a pu être ainsi observée du 16 Février 1964 au 13 Mars 1964.

Conservée dans une cage de vingt centimètres d'arête elle était capturée au tube à essais chaque jour, matin et soir, et examinée à la loupe. Lorsqu'elle présentait l'aspect "à jeûn" ou "prégravide" la possibilité lui était offerte de se nourrir soit sur Roussette, soit sur homme.

Dans ces conditions, notre femelle a pris successivement quatre repas les 16, 19, 21 et 28 Février pour se trouver gravide le 3 Mars à 15 h et déposer une ponte le 4 Mars au matin. Elle s'est gorgée à nouveau les 5 et 8 Mars et se trouvait au stade "prégravide 2" au moment de notre départ le 13 Mars.

Les temps suivants ont été notés, sur cette femelle et sur quelques autres dont l'observation n'a pu être poursuivie aussi longtemps :

48 h du repas au stade prégravide 1
48 h du repas au stade prégravide 2
72 h du repas au stade prégravide 3
84 h du repas au stade gravide
24 h du stade gravide à la ponte

soit un cycle gonotrophique de 13 jours au minimum.

Il ne nous a pas été possible encore de déterminer si les trois stades prégravidés sont obligatoires pour chaque ponte ou seulement pour la première. Nous savons en tout cas que pour celles-là il y a au moins 2 stades prégravidés, l'ayant constaté sur plusieurs femelles isolées à l'état gravide et observées journellement après leur ponte.

Pour les femelles pares, le repas est pris en moyenne une vingtaine d'heures après la ponte.

Il est remarquable de constater que le rythme des repas est extrêmement variable. Nous avons noté, entre deux repas consécutifs, les temps suivants : 48 h - 62 h - 72 h - 73 h 30 - 135 h 30 - 136 h 30 - 156 h. Or, dans tous les cas, les femelles avaient possibilité de se gorger au moins deux fois par jour.

5 - 5 - 6. Pelotons trachéolaires et oeufs résiduels

Chez *A. hamoni*, comme cela a été décrit chez *A. maculipennis* (DETINOVA, 1945) et de nombreux autres Anophèles, les trachéoles ovariennes sont, au moment où la femelle quitte l'exuvie nymphale, enroulées à leurs extrémités en pelotons serrés. Ces pelotons caractérisent donc les femelles n'ayant pas encore effectué de cycle ovulaire.

A la dissection, on rencontre un assez grand nombre de femelles présentant quelques ovules au stade V dans l'un ou l'autre ovaire, ou parfois les deux ovaires, le reste des ovules étant au stade II, III ou IV. Cette observation indique que l'on a affaire à des femelles pares (HADDOW et GILLETT, 1958), elle montre que la population comporte un pourcentage important de femelles âgées.

5-6. Rôle dans la transmission d'Hémosporidies

En Juillet 1963, nous avons effectué la dissection des glandes salivaires de 164 ♀ d'*Anopheles hamoni*. L'examen extemporané a donné les résultats suivants :

TABLEAU III

Disséqués	Glandes examinées	Glandes infectées	Pourcentage
164	164	2	1,2%

L'infection, dans les deux cas, était intense et les sporozoïtes très semblables à ceux d'un *Plasmodium* humain. Nous n'avons pas recherché les oocystes.

Nos observations, tant dans la grotte qu'en captivité, nous ayant convaincu que l'hôte d'*A. hamoni* était une chauve-souris, nous avons systématiquement prélevé du sang aux cheiroptères capturés. L'examen des gouttes épaisses et des frottis n'est pas encore terminé mais nous avons trouvé dès à présent une infection nette à Hémosporidie chez trois *Miniopterus inflatus*. Puisque cet animal est l'hôte préférentiel de *A. hamoni*, tout laisse penser que celui-ci est le vecteur de l'Hémosporidie actuellement à l'étude.

6 - LES MÉCANISMES DE MAINTIEN DE L'ESPÈCE

Les conditions écologiques du biotope très particulier que constitue la grotte de Meya-Nzouari sont dominées par une dépendance assez étroite au rythme des précipitations. En effet, si celles-ci sont trop écartées dans le temps, les gîtes larvaires, disponibles en nombre toujours limité, peuvent disparaître entièrement pour d'assez longues périodes. Par ailleurs, même en saison humide, certains gîtes ne restent en eau que trois ou quatre jours après la pluie et ne renferment plus ensuite qu'une boue humide jusqu'à la précipitation suivante.

L'existence d'une population anophélienne dans le domaine limité de la grotte dénonçait donc l'existence de certains processus permettant à l'espèce de persister en dépit des circonstances défavorables et malgré la lenteur de son développement larvaire.

La longueur exceptionnelle d'un cycle gonotrophique comportant trois phases prégravidés constitue l'un de ces mécanismes, en étalant les pontes d'une femelle sur une longue période (plus de 13 jours entre le premier repas et la ponte). Ce temps peut d'ailleurs encore être prolongé considérablement. En effet, après chaque repas, si la femelle utilise une partie du sang ingéré pour faire progresser l'évolution de ses ovaires, une part importante est aussi stockée sous forme de corps gras qui tapisse la paroi interne de l'abdomen. Cette réserve, qu'on peut assimiler à celle des femelles en diapause des *Anopheles* des régions tempérées, permet à la femelle d'*A. hamoni* de rester quarante huit à soixante douze heures au stade pré-gravide avant de se nourrir à nouveau.

Nous avons vu plus haut que les stades préimaginaux eux-mêmes présentaient des facteurs d'opposition aux conditions hostiles du milieu : résistance des œufs à la mise hors eau sur milieu à saturation ; longue survie des larves dans les mêmes conditions.

Le taux moyen de survie de l'espèce n'a pas encore été évalué mais d'après la longévité des exemplaires conservés en captivité, et compte tenu du nombre important de femelles dont les ovaires renferment des œufs résiduels, il doit être élevé.

7 - DISCUSSION

Anopheles hamoni, espèce dont tout le cycle a lieu dans la grotte, et dont aucun stade n'a jamais été trouvé hors de celle-ci, est un "troglobie". Son adaptation à l'habitat cavernicole semble être la conséquence de sa très grande hygrophilie (stenohygrobie de Jeannel).

Du point de vue physiologique, la différence fondamentale entre les troglobies et les insectes peuplant les autres biotopes tient dans l'activité de leurs métabolismes respectifs. Chez les troglobies, celui-ci se trouve extrêmement ralenti par l'association de plusieurs facteurs dont les principaux sont l'humidité très élevée, la température modérée, l'éclairage nul, l'absence de mouvement d'air, le taux relativement élevé du CO₂.

D'après les observations de divers auteurs, il semble que plus encore que leur niveau, c'est la faible amplitude des variations de ces divers facteurs qui impose à l'insecte cavernicole, privé des stimuli qui dominent l'existence des formes peuplant le domaine épigée, son métabolisme très bas.

Chez les moustiques, le cycle gonotrophique est réglé par des facteurs neuro-hormonaux et singulièrement par les sécrétions endocrines des corpora-allata. Il a été prouvé que le fonctionnement de ces glandes était conditionné par divers facteurs extrinsèques et intrinsèques. Les premiers, dont l'action est surtout marquée pendant la vie larvaire de l'insecte, conditionnent en quelque sorte le fonctionnement futur de la glande. Il apparaît que là aussi, température, éclairage, état physico-chimique de l'eau, etc., agissent principalement par l'amplitude et le rythme de leurs variations plutôt que par leur niveau.

Le principal facteur interne est l'état de distension de l'estomac qui accompagne le repas. Celui-là doit agir sur les corpora-allata par une décharge d'influx nerveux. Il a un rôle déclenchant pour le processus d'évolution des ovaires.

Nous avons été frappés de l'analogie existant entre les états prégravidés mis en évidence chez *A. hamoni* et *A. caroni* et l'état de diapause présenté par certaines espèces d'Anophèles des régions tempérées froides. Pour ceux-ci, il est connu qu'à l'automne les femelles sont préconditionnées à la diapause, dès le stade larvaire, par les modifications dans le rythme et l'amplitude des variations des facteurs du milieu.

Les ovaires des femelles en diapause sont bloqués au stade I. Cette inertie est entretenue par la température basse et la stabilité des conditions écologiques des gîtes de repos hivernal. Dans cet état, les anophèles peuvent se nourrir. Le repas ne détermine cependant pas d'évolution des ovaires mais se traduit par un développement du corps gras. L'état de diapause est rompu lorsque les stimuli extérieurs sont remontés, au printemps, à un niveau suffisant. Le premier repas de sang déclenche alors le processus d'évolution des ovaires qui se poursuit jusqu'à la maturité des œufs et la ponte.

Chez *A. hamoni*, le niveau toujours très bas des stimuli extrinsèques liés aux faibles variations des facteurs écologiques, détermine, chez les femelles, une grande inertie des ovaires. Cependant, peut-être en raison de la température relativement élevée du biotope, chaque repas sanguin est suffisant pour déclencher, chez elles, le processus d'évolution ovarien. Il ne permet pas toutefois de l'entretenir jusqu'à son terme. Il y a blocage précoce du développement et la portion du repas non mobilisée est affectée, comme chez les femelles en diapause d'*A. maculipennis*, au développement du corps gras.

Dans la partie amont de la grotte de Meya-Nzouari où ont été capturés tous les anophèles ayant servi aux dissections, nous n'avons jamais observé la présence de Roussettes. Cette zone est peuplée par des microcheiroptères appartenant aux genres et espèces : *Rhinolophus alcyone* Temminck, *Hipposideros caffer* Sandevall, *Miniopterus inflatus* Thomas. La dernière espèce citée domine massivement et nous avons vu que, en élevage, elle constitue l'hôte préférentiel d'*A. hamoni*. C'est aussi la seule espèce que nous ayons trouvée jusqu'alors infectée

d'Hémosporidie. Comme en dehors de *A. hamoni* nous n'avons jamais trouvé de sporozoïtes d'Hémosporidie chez les autres hématophages disséqués (*Afrocimex* sp., *Streblidae* divers), nous pensons que cet Anophèle est le vecteur de l'hématozoaire de *Miniopterus inflatus*.

L'élevage d'*A. hamoni* est facile dans la grotte. Il pourrait constituer un bon matériel pour l'étude de la transmission des Hémosporidies de cheiroptères si son élevage pouvait être obtenu en laboratoire.

*
* *
*

RÉSUMÉ

Les auteurs exposent le résultat d'observations biologiques menées depuis 1961 sur l'*Anophèles* troglobie *A. hamoni* Adam 1962. Conséquences probables d'une adaptation cavernicole due à sa très grande hygrophilie, *A. hamoni* présente, outre un développement larvaire et un cycle gonotrophique anormalement longs, une remarquable dysharmonie gonotrophique caractérisée par trois stades prégravidés.

A. hamoni, dont l'élevage a été réalisé dans son biotope naturel, est vecteur d'une hémosporidie dont l'hôte vertébré est probablement *Miniopterus inflatus* Gray.

SUMMARY

The authors give the results of biological observations carried out since 1961 on a cave dwelling anopheline : *A. hamoni* Adam, 1962. Probably as a consequence of an adaptation to living conditions in caves due to its strong hygrophily, *A. hamoni* shows, besides a larval development and a gonotrophic cycle of unusual length, a remarkable gonotrophic dysharmony characterised by three pregravidic stages.

A. hamoni, which was reared in its natural environment, is the vector of a Haemosporidium strain, for which *Miniopterus inflatus* Gray probably acts as the vertebrate host.

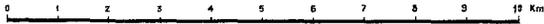
ZUSAMMENFASSUNG

Die Autoren berichten ueber die Resultate von biologischen Beobachtungen die seit 1961 an Höhlenbewohnende *Anopheles* : *A. hamoni* Adam, 1962 gemacht wurden. *A. hamoni* liess eine bemerkenswerte gonotrophische Dysharmonie erkennen, die durch drei praegravide Stadien charakterisiert ist, ebenso wie durch eine Entwicklung der Larvenstadien und einen gonotrophischen Zyklus von aussergewöhnlicher Länge. Diese Eigenschaften sind vermutlich als eine Folge einer Anpassung an ein Höhlendasein aufzufassen das wiederum auf die hygrophilen Neigungen von *A. hamoni* zurückzuführen ist.

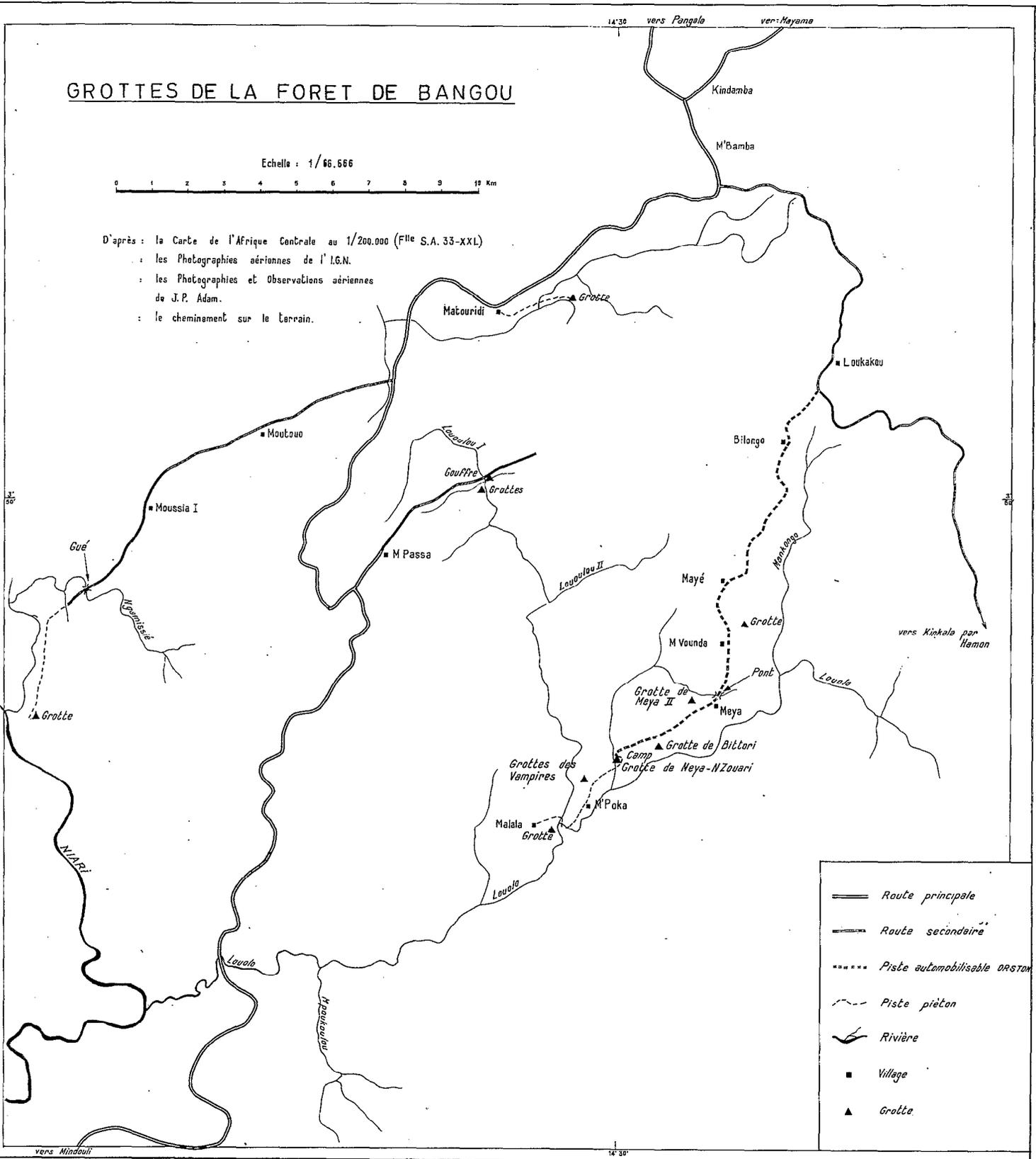
A. hamoni, die unter natürlichen Lebensbedingungen gezüchtet wurde, ist die Uebertragerin eines Haemosporidienstammes dessen Wirbeltierzwischenwirt der *Miniopterus inflatus* Gray ist.

GROTTES DE LA FORET DE BANGOU

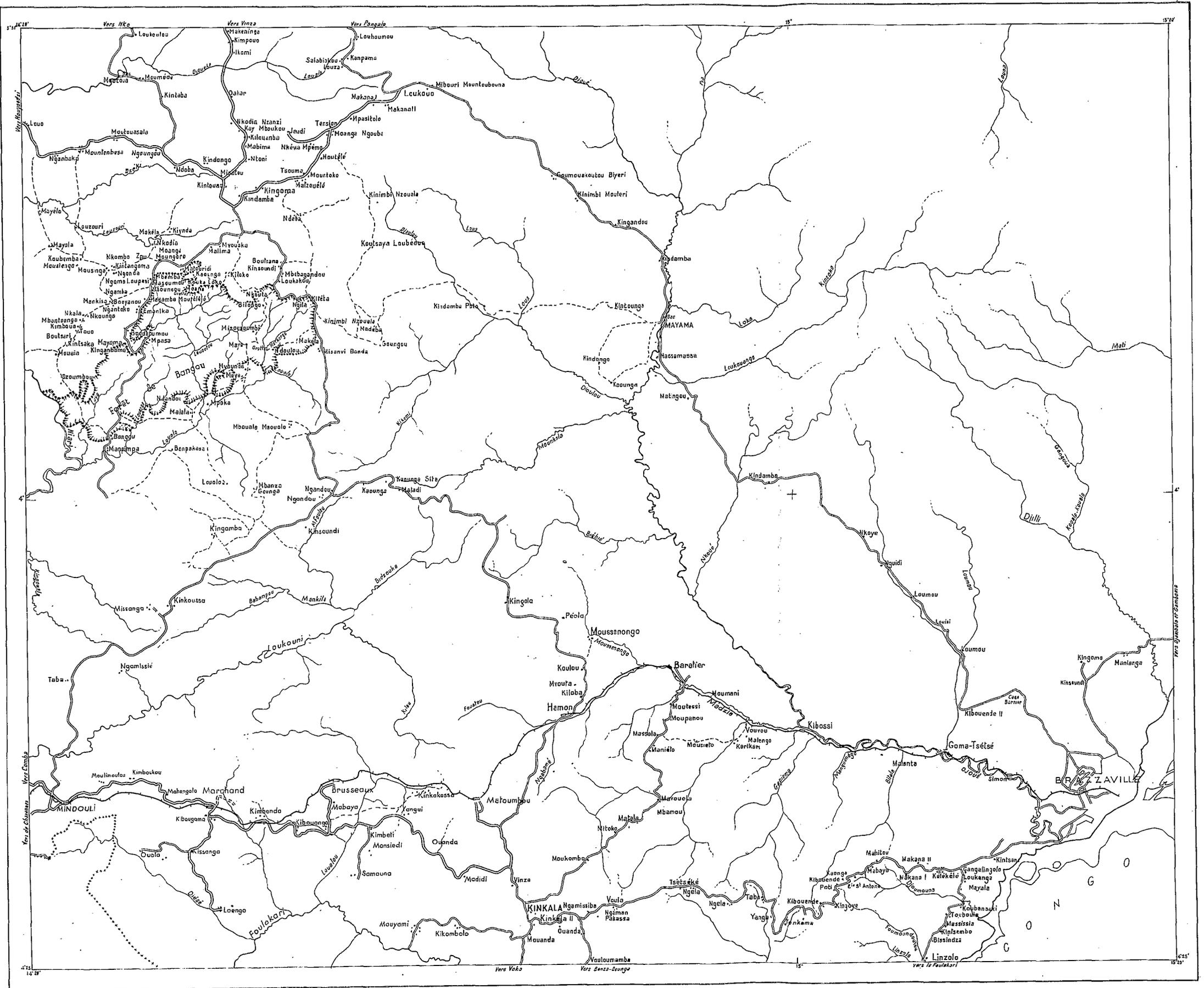
Echelle : 1/66.666



D'après : la Carte de l'Afrique Centrale au 1/200.000 (F^{lle} S.A. 33-XXL)
 : les Photographies aériennes de l'I.G.N.
 : les Photographies et Observations aériennes de J.P. Adam.
 : le cheminement sur le terrain.

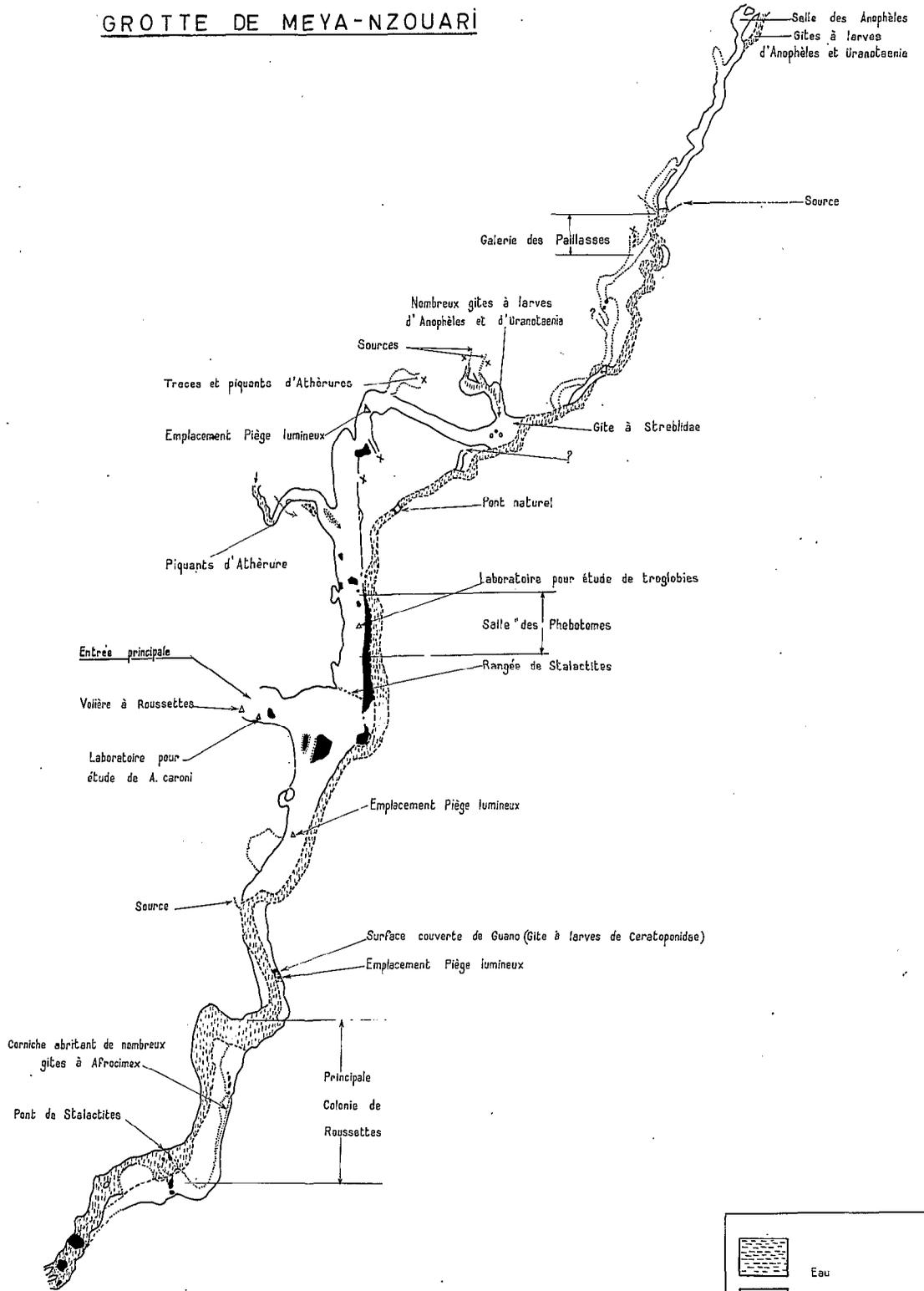


	Route principale
	Route secondaire
	Piste automobile non motorisée
	Piste piéton
	Rivière
	Village
	Grotte



— Routes - - - Pistas • Villages ——— Rivieres [Dotted Line] Limites de Forêt de Bangou —+—+— Chemin de Fer Congo Océan Echelle : 1/200.000

GROTTE DE MEYA-NZOUARI



Echelle approximative: 1/1.000



	Eau
	1 ^{er} Etage supérieur
	2 ^e Etage supérieur
	Etage inférieur
	Laminier impraticable
	Pilier complet
	Pilier incomplet ou Bloc

Croquis provisoire réalisé d'après les levés de J.P. Adam et R. Caron (1961) et F. Vincent (1963)

BIBLIOGRAPHIE

- ADAM, J.P. — Prospection des grottes de la Sous-Préfecture de Kindamba (17-22 Avril 1961) - rapport inédit à l'Institut de Recherches Scientifiques au Congo, 1961 a.
- ADAM, J.P. — *Anopheles caroni* n. sp., un anophèle (*Diptera-Culicidae*) cavernicole nouveau de la République du Congo - *Bull. Soc. Path. exot.*, **54**, 714-717, 1961 b.
- ADAM, J.P. — Un Anophèle cavernicole nouveau de la République du Congo (Brazzaville) : *Anopheles (Neomyzomyia) hamoni* n. sp. (*Diptera - Culicidae*) - *Bull. Soc. Path. Exot.*, **55**, 153-165, 1962.
- ADAM, J.P., VATTIER, G., DEMELLIER, M. — Contribution à l'étude de la faune cavernicole de la République du Congo — IV Reconnaissance et prospection des grottes de Meya II, M'Poka, Malala, M'Vounda, Mazabata, Bitorri et M'Passa. Rapport de l'I.R.S.C. non publié, 1964.
- DETINOVA, T.S. — (Détermination of the physiological age of female *Anopheles* from the changes of the tracheal système of the ovaries) *Med. Parazit. (Mosk)*, **14**, 45, 1945 (en russe), 1945.
- FALCOZ, L. — Biospeologica n° 49 Pupirata (Diptères) - *Arch. Zool. exp. gén.*, **61**, 521, 1923.
- GILLIES, H.T. — The recognition of age-groupe within population of *Anopheles gambiae* by the pregravid rate and the sp. oozoite rate. - *Ann. trop. Med. Parasit.*, **48**, 58, 1954.
- GILLIES, H.T. — The pregravid phase of ovarian development in *Anopheles funestus* - *Ann. Trop. Med. Parasit.*, **49**, 320, 1955.
- HADDOW, A.S. et GILLET, J.D. — Laboratory observations on the oviposition cycle in the mosquito *Taeniorhynchus (Coquillettia) fuscopennatus* Theobald. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, **52**, 320, 1958.
- HAMON, J. et MOUCHET, J. — La résistance aux insecticides chez les insectes d'importance médicale. Méthodes d'étude et situation en Afrique au Sud du Sahara - *Med. Trop.*, **21**, 565-596, 1961.
- HOOGSTRAAL, H. — *Ornithodoros (Reticulinasus) faini* n. sp. (*Ixodoidea - Argasida*) from Congo fruit bats, *Roussettus leachii* (Smith) - *Rev. Zool. Bot. Afr.*, **62**, 358-372, 1960.
- HUDELEY, H. — Rapport de fin de séjour (inédit) et feuille Sibiti-E de la carte géologique de reconnaissance des états d'Afrique Equatoriale (Echelle 1/5.000.000), 1953.
- JOBLING, B. — *Strebliidae* from the Belgian Congo, with a description of a new genus and three new species (*Diptera*) - *Rev. Zool. Bot. Afr.*, **50**, 89-115, 1954.
- JOBLING, B. — New species of *Raymondia* from the Belgian Congo (*Diptera, Strebliidae*) - *Rev. Zool. Bot. Afr.*, **51**, 208-211, 1955.
- MATTINGLY, P.F. — Notes on Ethiopian *Uranotaenia (Diptera-Culicidae)* with a description of a new species - *Proc. R. Ent. Soc. Lond.*, **23**, part 9-19, 167-171, 1945.

- MEILLON, B. de — *The Anophelini* of the Ethiopian Geographical Region - *Publ. South Afr. Inst. Med. Res.*, 1947.
- PAJOT, F.X. — Contribution à l'étude de la biologie d'*Anopheles caroni* Adam, 1961 (en cours de publication).
- PAJOT, F.X. et ADAM, J.P. — Notes morphologiques sur *Anopheles caroni* Adam, 1961 (*Diptera-Culicidae*) (en cours de publication).
- PARROT, L. et SCHWETZ, — Phlebotomes du Congo Belge, VI - *Rev. Zool. Bot. Afr.*, 29, 221-228, 1937.
- PARROT, L. et WANSON, M. — Phlebotomes du Congo Belge, XI, *Phlebotomus mirabilis* n. sp. - *Rev. Zool. Bot. Afr.*, 32, 149-151, 1939.
- SCHOUTEDEN, H. — Un genre nouveau de Cimicide du Katanga - *Rev. Zool. Bot. Afr.*, 44, 278-280, 1951.
- SELLA, M. — Relazione della campagna antianofelica di Fiumicino (1919) con speciale riguardo alla biologia degli Anofeli ed agli Anofeli infetti. - *Ann. Igiene*, 30 Supplemento 85, 1920.
- STONE, A., KNIGHT, K.L. et STARCKE, H. — A synoptic catalog of the Mosquitoes of the World - *Ent. Soc. Amer.*, 1959.
- WALKER, F. — List of the Species of Diptera Insects in the Collection of the British Museum, part N, 1146, 1849.
-