

**BURKINA FASO
UNITE-PROGRES-JUSTICE**

**MINISTRE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE,
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-DIOULASSO

INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL



MEMOIRE

Pour l'obtention du

DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES

En Biologie Appliquée et Modélisation des Systèmes Biologiques

Présenté par :

Hyacinthe K. TOE

Maître es-Sciences Biochimie/Microbiologie Appliquée

Sur le thème

**Ecologie larvaire des deux formes chromosomiques
d'*Anopheles funestus* à l'Ouest du Burkina Faso : l'expérience
de la transplantation larvaire.**

Soutenu le 04 juillet 2008

Devant le jury composé de :

Pr Jean Anicet OUEDRAOGO (Université Polytechnique de Bobo Dioulasso) Président du jury

Dr Frédéric SIMARD (Chargé de recherche à IRD/ Bobo Dioulasso)

Dr Roch K. DABIRE (Chargé de recherche à IRSS/ Bobo Dioulasso) Directeur de mémoire

N°.....

Larval ecology of two chromosomal forms of *Anopheles funestus* in west of Burkina Faso: larvae transplantation experience.

Abstract: Cytogenetic investigations in Burkina Faso have shown within *An. funestus* populations the existence of two chromosomal entities called "Kiribina" and "Folonzo". These two chromosomal forms should have a different bio-ecology suggesting incipient speciation phenomena. To better understand the larval ecology of these two chromosomal forms in terms of operating environment, we conducted larvae transplantation experiences in the Sudanian zone to the west of Burkina Faso. The study was conducted in September/October and November-January respectively the rainy season and dry and cold season in 2006 and 2007 in two ecologically different sites: Bama a locality with irrigated rice fields and at Soumouso a classic savanna village.

The overall emergence rate was higher at Soumouso than in Bama. With regard to the chromosomal forms, the emergence rate of "Kiribina" was higher in Bama while that of "Folonzo" was higher in Soumouso. However the emergence rate of the two forms is similar in the rice fields. In puddles, the emergence rate of "Folonzo" was higher in Soumouso (43% vs 15%) while it was higher for "Kiribina" in Bama (35% vs 18%). The emergence rate of "Folonzo" was higher than "Kiribina" in rainy season (9% vs 1% in Bama and 43% vs 15% in Soumouso) and conversely "Kiribina" would have an emergence rate higher during the dry and cold season (23% vs 9% in Bama, 68% vs 15% in Soumouso). The larval development of "Folonzo" was faster than "Kiribina" whatever the locality, larval habitat and period. The overall larval development has been faster in the rainy season and slower in the cold and dry season for the two chromosomal forms.

Our results confirm that the two chromosomal forms should have different bio-ecology. This could explain the natural structure of their populations already proven by previous studies reinforcing the hypothesis of reproductive isolation between these two forms.

Key words: *Anopheles funestus*, chromosomal forms "Kiribina" "Folonzo", larval ecology, Burkina Faso.

DEDICACE

- A la mémoire de mon très cher oncle Zéphérin TOE

- A mes grands parents Anne, Damantoa Gilbert (in memorium), Marie Simone et Dipina Marcel (in memorium)
J'ai été votre petit fils chéri, que le Tout Puissant vous bénisse d'avantage afin que vous voyiez votre progéniture prospérer pour sa propre gloire.

- A mon père Richard et ma mère Marcelle Madeleine
Votre amour et vos conseils m'ont toujours donné l'envie d'aller plus loin et à ne guère baisser les bras. Que Dieu vous garde toujours près de nous.

- A Monsieur et Madame PARE
Comme un fils, je me sentais si bien chez vous, merci pour votre soutien qui, d'ailleurs continu. Que le Tout Puissant soit toujours à vos cotés.

- A mes frères, sœurs, cousins et cousines
Vos encouragements, conseils, soutiens et surtout l'ambiance familiale m'ont toujours réconforté. Que Dieu nous garde toujours unis.

- A mes oncles et tantes
Vous qui m'avez soutenu tout au long de mon cursus scolaire et universitaire, recevez ce document comme étant le signe de ma parfaite reconnaissance. Que le Seigneur soit votre force.

- A tous mes ami(e) s
Nous avons partagé les moments de joie et les moments difficiles, l'union faisant la force. restons uni. Dieu viendra toujours au secours de nos faiblesses.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé grâce au support financier des projets 60098A et 50090A de la Multilateral Initiatives on Malaria (OMS/TDR/MIM) et effectué à l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé de Bobo-Dioulasso et au Centre Muraz que je tiens à remercier. Je tiens particulièrement à leur manifester toute ma reconnaissance.

Le Professeur Jean-Bosco Ouédraogo, Directeur Régional de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé. Merci de m'avoir accepté dans votre structure et mis à ma disposition tous les moyens matériels et techniques pour la réalisation de ce travail. Merci pour avoir coordonné la direction de ce travail auprès de l'Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso. Je vous exprime toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude.

Le Docteur Potiandi Serge Diagbouga, Directeur Général du Centre Muraz, pour m'avoir accueilli dans votre Centre. Je vous suis reconnaissant pour tous les moyens matériels mis à ma disposition.

Le Professeur Tenga Robert Guiguemdé, responsable de la section Parasitologie et Entomologie du Centre Muraz. Je suis sensible à l'intérêt que vous portez à la formation des jeunes. Je vous remercie de m'avoir accepté dans votre laboratoire pour cette étude. Pour vos encouragements et conseils, je vous dis merci.

Le Docteur Roch K Dabiré, Encadreur de ce mémoire, cela fut pour moi un honneur de faire mes premiers pas dans la recherche à vos côtés. J'ai été touché par votre rigueur scientifique, votre disponibilité, votre grand humanisme, votre simplicité. En dépit de vos multiples occupations, vous n'avez ménagé aucun effort pour un suivi rigoureux de ce travail. Je vous suis infiniment reconnaissant pour les moyens matériels et techniques mis à ma disposition pour ce travail. Merci de n'avoir pas souvent craqué face à nos erreurs de jeunesse. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude. Mille mercis.

Les Docteurs Sagnon N'Falé et Moussa W. Guelbéogo, chercheurs au Centre National de Recherche et de Formation sur le Paludisme, pour tout l'intérêt que vous avez porté à ce travail. Vous avez suivi tout les détails de ce travail et contribué ainsi à ma formation. Merci également pour le stage de formation en cytogénétique dont j'ai pu bénéficier dans votre structure. Je profite remercier mon formateur et ami Aziz Yaméogo. J'ai apprécié l'ambiance qui régnait dans le laboratoire. Je vous en suis entièrement reconnaissant.

Le Professeur Georges Anicet Ouédraogo, responsable de ce DEA et tous nos enseignants pour l'importance qu'ils accordent à la formation des jeunes. Merci pour toutes les connaissances que vous nous avez transmises. Merci également pour avoir présidé mon jury.

Docteur Frédéric Simard, merci d'avoir accepté de juger mon travail. Ses multiples corrections et suggestions m'ont permis d'améliorer la qualité de mon document final.

Mes compagnons de transplantation Tahirou, Tamboula, Millogo, Baudouin et Ouattara avec qui nous avons effectué toutes les sorties de terrain et les travaux de laboratoire à l'insectarium. L'ambiance et la bonne humeur qui régnaient au sein de l'équipe nous faisaient souvent oublier le périple de Soumouso.

Mes remerciements vont également à l'ensemble du personnel du laboratoire de Parasitologie et d'Entomologie de l'IRSS et du Centre Muraz pour toute la collaboration et la bonne humeur qui a prévalu tout au long de mon séjour. Je vous dis merci à tous.

Liste des figures et illustrations

Figures

Figure 1.1: Cycle de développement des anophèles.....	4
Figure 1.2 : Carte chromosomique d' <i>Anopheles funestus</i> revue par Sharakhov et al., (2002)....	10
Figure 1.3 : Diagramme de l'algorithme employé pour assigner les spécimens d' <i>An. funestus</i> ...	11
Figure 2.1 : Localisation et caractéristique des deux sites d'études.....	13
Figure 3.1 : Vallée du Kou, Transplantation T ₁ dans le gîte A ₁ Septembre /Octobre 2006.....	18
Figure 3.2 : Vallée du Kou, Transplantation T ₂ dans le gîte A ₁ Novembre/Décembre 2006.....	19
Figure 3.3 : Vallée du Kou, Transplantation T ₃ dans le gîte B ₁ Novembre/Décembre 2006.....	19
Figure 3.4 : Soumouso, Transplantation T ₁ dans le gîte B ₂ Octobre 2006.....	20
Figure 3.5 : Soumouso, Transplantation T ₂ dans le gîte A ₂ Novembre/Décembre 2006.....	21
Figure 3.6 : Soumouso, Transplantation T ₃ dans le gîte A ₂ –Novembre/Décembre 2006.....	21
Figure 3.7 : Soumouso, Transplantation T ₄ dans le gîte A ₂ Novembre 2007.....	22
Figure 3.8 : Soumouso, Transplantation T ₅ dans le gîte A ₂ -décembre/Janvier 2007.....	23
Figure 3.9 : Soumouso, comparaison des taux d'émergence entre le gîte ouvert (B ₂) et le gîte à végétation dressée de type casier rizicole A ₂ , en Octobre et Novembre/Décembre (2006).....	24
Figure 3.10 : Nombre total de moustiques récoltés à Soumouso et à la Vallée du Kou au cours de l'année 2006.....	24

Illustrations

Illustration 1: gîte A ₁ casier rizicole de la Vallée du Kou. mise en place des cages de transplantation avec lâcher des larves (Septembre 2006).....	16
Illustration 2 : gîte B ₂ gîte ouvert de Soumouso avec les cages de transplantation (Octobre 2006).....	16

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
1. GENERALITES.....	3
1.1-Classification des moustiques.....	3
1.2-Cycle de développement de l'Anophèle.....	3
1.3-Le groupe <i>Anopheles funestus</i>	5
1.4-Bio-écologie d' <i>An. funestus</i>	6
1.5-Polymorphisme chromosomique chez les Anopheles.....	7
1.5.1-Arrangement chromosomique des Anophèles.....	7
1.5.2- Forme chromosomique et forme moléculaire chez <i>An. gambiae</i>	8
1.5.3-Polymorphisme chromosomique chez <i>An. funestus</i>	8
2. MATERIELS ET METHODES.....	12
2.1- Description des zones d'étude.....	12
2.1.1-Vallée du Kou (11°24'N ;04°24'W).....	12
2.1.2 Soumouso (11°00'46''N ; 04°02'45''W).....	12
2.2- Collecte des moustiques et mise en oviposition.....	13
2.3-Dissection et identification cytogénétique.....	13
2.4- Transplantation des larves.....	14
2.4.1-Les cages de transplantation.....	14
2.4.2-Le dispositif expérimental.....	14
2.4.3-Suivi et collecte des adultes émergents.....	17
2.5-Analyse statistique des données.....	17
3. RESULTATS.....	18
3.1-Les transplantations réalisées en 2006.....	18
3.1.1 Vallée du Kou.....	18
3.1.2-Soumouso.....	20

3.2-Les transplantations réalisées en 2007	22
3.2.1 Vallée du Kou : T ₄ A ₁ (Novembre) et T ₅ B ₁ (Décembre/Janvier)	22
3.2.2.-Soumousso	22
3.3- Variation du taux d'émergence en fonction du type de gîte.....	23
3.4- Variation du taux d'émergence en fonction de la localité	24
3.5- Variation de la durée du cycle en fonction du type de gîte et de la localité.	25
3.6- Influence de la saison sur le développement larvaire.....	25
3.6.1 Variation du taux d'émergence en fonction de la saison	25
3.6.2- Variation de la durée de développement en fonction de la saison.....	26
4. DISCUSSION	27
4.1-Variabilité du taux d'émergence des deux formes chromosomiques en fonction de la zone	27
4.2- Variabilité du taux d'émergence en fonction de la typologie des gîtes.....	27
4.3- Variabilité temporelle du développement larvaire	28
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	29
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	31

INTRODUCTION

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 350 à 500 millions d'épisodes palustres surviennent chaque année dans le monde avec environ 60% des cas en Afrique subsaharienne, entraînant un million de décès (WHO, 2005). Au Burkina Faso on estime à 50 000 le nombre de consultations et à 25 000 le nombre d'hospitalisations dues au paludisme dans les centres hospitaliers régionaux et universitaires (DEP, 2007).

La transmission de cette maladie parasitaire est assurée par les moustiques du genre *Anopheles*. Parmi les nombreuses espèces d'anophèles, seule une soixantaine sont vecteurs du paludisme avec seulement une vingtaine assurant l'essentiel de la transmission dans le monde (Harbach, 1994). En Afrique Subsaharienne, les plus importants vecteurs sont deux espèces du complexe *Anopheles gambiae* (*An. gambiae* s.s. Giles et *An. arabiensis* Patton) et *Anopheles funestus* Giles. Au Burkina Faso, ces mêmes vecteurs assurent l'essentiel de la transmission avec le pic d'abondance d'*An. gambiae* situé en saison pluvieuse et celui d'*An. funestus* en fin de saison pluvieuse (Dabiré *et al.*, 2007; Guelbeogo, 2004).

Les investigations menées sur le rôle vecteur, la systématique et la biologie des vecteurs du paludisme ont montré la complexité du système vectoriel en Afrique. Dans la majorité des cas, plusieurs espèces transmettent le parasite en même temps ou de façon alternée au cours de l'année (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2002). Compte tenu de l'hétérogénéité dans la transmission du paludisme tant au sein d'une région, d'un pays ou d'une ville, la lutte anti vectorielle pour être efficace, doit prendre en compte la bio-écologie des espèces ciblées (Pages *et al.*, 2007). La connaissance de la complexité vectorielle est nécessaire pour une meilleure stratégie de lutte. Certaines espèces comme *An. funestus* Giles joue un rôle très important devenant localement le vecteur majeur. Malheureusement peu d'études ont porté sur cette espèce surtout sur son polymorphisme génétique, son comportement, malgré son rôle important dans la transmission. A l'instar d'*An. gambiae* s.s. où cinq formes chromosomiques ont été décrites (Coluzzi *et al.*, 1985; Touré *et al.*, 1998; Coluzzi *et al.*, 2002), certaines hétérogénéités génétiques basées sur les arrangements chromosomiques ont été décelées au sein d'*An. funestus* Giles (Green & Hunt, 1980).

Au Burkina Faso les études cytogénétiques ont révélé au sein des populations d'*An. funestus* ss un polymorphisme chromosomique (Boccolini *et al.*, 1998). A partir d'un algorithme, deux formes chromosomiques «Kiribina» et «Folonzo» ont été formellement identifiées et seraient considérées comme des espèces en cours de spéciation (Costantini *et al.*, 1999; Guelbéogo *et al.*,

2005). Ces entités seraient caractérisées par un flux génique limité et un déséquilibre de liaison entre les inversions situées sur les différents bras chromosomiques mettant en évidence un déficit d'hétérocaryotypes avec une différence marquée dans leur bio-écologie et leur comportement trophique. Cette différenciation génétique entre ces deux formes a été confirmée par l'analyse du gène ND5 de l'ADN mitochondrial et de 16 loci microsatellites (Michel *et al.*, 2005). Au Sénégal, trois formes chromosomiques allopatriques ont été observées (Dia *et al.*, 2000). Une zone de sympatrie de deux d'entre elles a été observée avec également un déficit en hétérocaryotypes. Les données moléculaires du Sénégal n'ont pas révélé de différenciation génétique entre les différentes formes. Ces résultats suggèrent donc que la question de forme chromosomique reste spécifique au Burkina Faso (Cohuet *et al.*, 2003).

Le déficit en hétérocaryotypes chez les populations d'*An. funestus* au Burkina Faso serait probablement dû au phénomène de sélection agissant contre ces individus. Cette sélection pourrait être post-zygotique. Elle agirait probablement contre les hétérozygotes et permettrait une adaptation sélective des deux formes dans la colonisation de l'habitat larvaire. Une compréhension de l'écologie larvaire de ces formes d'*An. funestus* reste donc importante pour élucider la question de leur bio-écologie au Burkina Faso.

La plupart des travaux portant sur la caractérisation des ces formes chromosomiques (surtout leur bio-écologie et leur rôle dans la transmission du paludisme) ont été réalisés dans la partie centrale du pays limitant la conclusion de ces résultats à l'échelle nationale. Pour mieux uniformiser les résultats, il est donc nécessaire d'étendre ces études à d'autres situations agro-écologiques du Burkina Faso. C'est dans cette optique, que nous avons entrepris cette étude sur l'écologie larvaire des deux formes chromosomiques d'*An. funestus* par des expériences de transplantation larvaire. Notre étude se fixe pour objectif de caractériser l'écologie larvaire des formes chromosomiques d'*An. funestus* dans l'Ouest du Burkina Faso, plus précisément:

1. Evaluer le développement larvaire des deux formes chromosomiques dans deux faciès écologiques locaux différents, la plaine irriguée rizicole de la Vallée du Kou (Bama) et dans la zone de savane humide de Soumouso.
2. Déterminer l'influence du type de gîte larvaire et de la saison sur le développement des deux formes chromosomiques.

I. GENERALITES

1.1. Classification des moustiques.

Les moustiques appartiennent au règne animal, au sous-règne des *Métazoaires*, à l'embranchement des *Arthropodes* et à la classe des *Insectes*. Ce sont de petits Nématocères fins, à corps allongé, de 5 à 10 millimètres de long. Les moustiques appartiennent à la Famille des *Culicidae*. Cette Famille comprend essentiellement trois (03) sous Familles : les *Culicinae*, les *Anophelinae* et les *Toxorhynchitinae*. La sous Famille des *Anophelinae* à laquelle appartiennent les anophèles est divisée en trois genres: *Anopheles* (Meigen, 1818), *Chagasia* (Cruz, 1906), *Bironela* (Theobald, 1905).

Le genre *Anopheles* compte dans le monde plus de 400 espèces dont 70 sont capables de transmettre les *Plasmodium* humains. En 1994, Harbach a présenté une classification des anophèles, avec 6 sous-genres (définis selon des critères morphologiques). Les plus importants sont : *Anopheles*, *Cellia*, et *Nyssorhynchus* eux-mêmes subdivisés en différentes catégories taxonomiques informelles : section, séries, sous-séries, groupes, sous-groupes et complexes selon des critères morphologiques et de répartition géographique. *An. gambiae* se situe dans le sous-genre *Cellia* et dans la série *Pyretophorus* (Harbach, 2004). *An. funestus* se situe dans le même sous-genre *Cellia* mais dans la série *Myzomyia* (Knight *et al.*, 1977).

1.2. Cycle de développement de l'anophèle

Le développement du moustique passe par une vie aquatique. Les œufs, d'un millimètre sont déposés à la surface de l'eau par la femelle gravide. Les œufs des anophèles sont plus ou moins ovoïdes, et pourvus latéralement de flotteurs leur permettant de conserver une position horizontale (fig. 1.1). Les œufs éclosent généralement dans les deux ou trois jours qui suivent la ponte selon la température (Rodhain & Perez, 1985). A l'éclosion, la larve mesure à peine un millimètre. Elle subit trois mues consécutives qui la conduisent au quatrième stade. Les larves des anophèles sont dépourvues de siphons respiratoires et se tiennent parallèlement à la surface de l'eau. Les larves se nourrissent de microparticules. La durée de vie larvaire varie entre 7 et 20 jours en fonction des espèces et suivant les conditions du milieu. Elle peut être réduite ou allongée par les conditions défavorables (Holstein, 1949).

En fin de quatrième stade, la larve cesse de se nourrir et se transforme en nymphe qui va se métamorphoser en adulte ou imago.

A l'émergence, l'adulte se libère des parois nymphales suivant cet ordre chronologique: thorax, tête, antennes, ailes, trompe, pattes puis abdomen. Beaucoup de moustiques meurent en ce moment et la moindre agitation de l'eau provoque sa noyade. Quelques minutes après, ayant déplié et étalé ses ailes, il peut prendre son premier vol.

Après l'émergence, les femelles sont inséminées dans les essais, puis partent à la recherche d'un repas sanguin. Les femelles s'accouplent généralement une seule fois et conservent le sperme dans les spermathèques tout au long de leur vie pour féconder tous les lots d'œufs successifs. Elles ont besoin d'un repas sanguin pour porter les œufs à maturation. Le premier repas sanguin est pris entre le troisième et le sixième jour. Après chaque repas de sang, la femelle se repose dans un abri jusqu'au développement complet des œufs (cycle gonotrophique) qui dure environ 48 heures. A la maturation des œufs, elle se met à la recherche d'un site de ponte. Le type de gîte varie selon les espèces d'anophèle (taille, exposition solaire, collection d'eau artificielle ou naturelle, temporaire ou permanente, avec ou sans végétation).

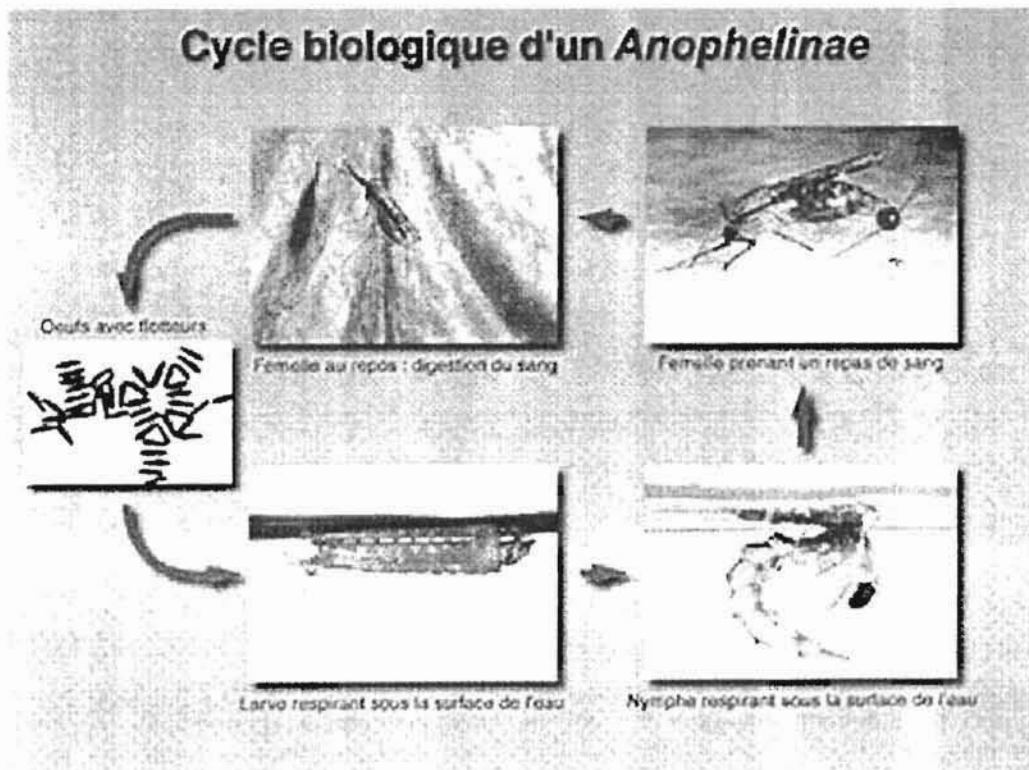


Figure 1.1: cycle de développement des anophèles (source : J. Brunhes et Coll., Les anophèles de la région afro-tropicale, logiciel ORSTOM Ed., 1998)

1.3. Le groupe *Anopheles funestus*

La notion de groupe d'espèces fait référence à un ensemble d'espèces très proches morphologiquement, mais qui présentent de petites différences à un stade au moins de leur développement (Harbach, 1994). Les nomenclatures « groupe *An. funestus* » et « groupe *Funestus* » sont indifféremment utilisées dans la littérature. Les espèces du groupe sont difficilement différenciables sur la base de caractères morphologiques des stades imaginaux. Par contre quelques caractères morphologiques mineurs existent pour différencier les stades pré-imaginaux. Le groupe *Funestus* est composé de :

- *Anopheles funestus* Giles
- *Anopheles parensis* Gillies
- *Anopheles aruni* Sobti,
- *Anopheles vanedeeni* Gillies & Coetzee,
- *Anopheles rivulorum* Leeson,
- *Anopheles brucei* Service
- *Anopheles confusus* Evan and Leeson,
- *Anopheles fuscivenosus* Leeson
- *Anopheles lesoni* Evans
- *Anopheles fluviatilis* James

Le maintien des deux (02) derniers dans ce groupe fait l'objet de controverse. Certains auteurs se sont basés sur des critères morphologiques et sur l'analyse des arrangements chromosomiques pour inclure ces deux espèces dans le groupe *Minimus* car plus proches des espèces asiatiques (Reid, 1961; Green, 1982; Pape, 1992; Harbach, 1994). D'autres par contre les considèrent comme des membres du groupe *Funestus* à cause de leur répartition géographique (Gillies & De Meillon, 1968 ; Gillies & Coetzee, 1987). Les premiers critères d'identification des espèces du groupe *Funestus* étaient morphologiques et surtout cytogénétiques. *An. funestus*, *An. rivulorum*, *An. lesoni*, *An. parensis* et *An. confusus* possèdent des inversions chromosomiques fixées spécifiques pour chaque espèce permettant de les identifier (Green, 1982). Par contre ces inversions sont polymorphes pour *An. vanedeeni* rendant ainsi difficile son identification à base de cette technique. Par la suite, la mise au point de techniques moléculaires a facilité leur identification. La mise au point récente de l'outil moléculaire en l'occurrence la PCR (*polymerase chain reaction*) utilisant un cocktail d'amorces spécifiques des différentes espèces a permis l'identification des six (06) espèces les plus fréquemment rencontrées (Koekemoer *et al.*, 2002 ; Cohuet *et al.*, 2003).

A partir de l'outil moléculaire, la répartition des espèces du groupe *Funestus* a été réactualisée en Afrique de l'Ouest et au Cameroun où en plus des espèces classiques *An. funestus*, *An. rivulorum*, *An. brucei*, *An. lesoni*, une nouvelle espèce provisoirement nommée *An. rivulorum-like* a été mise en évidence (Cohuet *et al.*, 2003). A l'Ouest du Burkina Faso seuls *An. funestus* s.s., *An. lesoni* et *An. rivulorum-like* ont été rencontrés (Dabiré *et al.*, 2007). L'intérêt de l'étude de ce groupe est principalement lié au fait que l'un de ses membres *An. funestus* s.s, est avec *An. gambiae* vecteur majeur du paludisme.

1.4. Bio-écologie d'*Anopheles. funestus*

- Stades pré-imaginaux

Les gîtes larvaires d'*An. funestus* sont dans la plupart des cas, des retenues d'eau permanentes ou semi-permanentes essentiellement caractérisées par une végétation herbacée émergente ou flottante. Ces gîtes sont généralement clairs, profonds, pauvres en matières organiques, et surtout ombragés (Gimnig *et al.*, 2001). Ils comprennent entre autres les ruisseaux, les bords des rivières, les rizières, les marécages herbeux, les mares, les marigots (Evans, 1938).

Le développement larvaire dure entre 20 et 30 jours. Les larves ont la particularité de rester très longtemps sous l'eau pouvant atteindre une heure. Ces larves partagent souvent les gîtes avec d'autres espèces comme *An. rufipes*, *An. coustani*, *An. pharoensis* mais très exceptionnellement avec les larves d'*An. gambiae*.

- Les adultes

La majeure partie des informations bioécologiques des membres du groupe *Funestus* se rapporte à *An. funestus* s.s. compte tenu de son importance médicale. C'est une espèce qui est largement distribuée en Afrique subsaharienne. Elle a longtemps été reconnue comme une espèce qui fréquente les habitations humaines. Son anthropophilie, son endophilie et sa longévité font d'elle un excellent vecteur de *Plasmodium*, de filaires de Bancroft et de certains virus.

En zone équatoriale elle assure avec d'autres espèces, la transmission pérenne du paludisme. En zone intertropicale, caractérisée par deux saisons bien marquées, *An. funestus* apparaît vers la fin des saisons des pluies juste après *An. gambiae* qui abonde pendant la première moitié de la saison des pluies. *An. funestus* constitue dans ce cas un vecteur relais de la transmission (Dabiré *et al.*, 2007). Dans certaines zones de forêt d'altitude notamment en Afrique centrale et dans les zones rizicoles des hauts plateaux de Madagascar, elle est le vecteur principal du paludisme. Son cycle d'agressivité se situe dans la seconde moitié de la nuit.

Son caractère anthropophile et endophile le rendent vulnérable en cas d'aspersions d'insecticides dans les maisons. Cependant, des cas de résistance aux insecticides ont été reportés. Au Burkina Faso, le premier cas de résistance d'*An. funestus* à la dieldrine a été signalé en 1968 à Soumouso (Hamon *et al.*, 1968). Au Bénin, au Cameroun, au Ghana, au Kenya, au Mali et au Nigeria, des cas de résistance à la dieldrine ont également été signalés (Brown, 1986; Touré, 1982). Une résistance aux pyréthrinoïdes a été reportée en Afrique du Sud et au Mozambique (Brooke *et al.*, 2001; Hargreaves *et al.*, 2000). Cependant aucune résistance aux pyréthrinoïdes n'a été observée au Burkina Faso (Dabiré *et al.*, 2007).

1.5. Polymorphisme chromosomique chez les Anophèles

1.5.1. Arrangement chromosomique des Anophèles

Les chromosomes polytènes sont des chromosomes géants atteignant 500 micromètres. Ils sont 200 à 300 fois plus grands que les chromosomes mitotiques. Ils ont été découverts par Balbiani en 1881 chez les chironomes. Les chromosomes polytènes se forment par appariement des chromosomes homologues point par point. Chez les anophèles, ces chromosomes se retrouvent dans les glandes salivaires des larves de quatrième stade (Frizzi & Holsein, 1956) ou dans les cellules trophocytaires des ovocytes en fin de stade Christophers III et début de stade IV des femelles semi-gravides (Coluzzi & Sabatini, 1967; Coluzzi, 1968). Les femelles semi-gravides sont des moustiques ayant entamés la digestion de leurs repas de sang et dont le développement ovarien est au stade III-IV de Christopher.

La garniture chromosomique des anophèles est constituée de 2 paires de chromosomes autosomaux médiocentriques et une paire de chromosomes sexuels qui sont subtélocentriques ($2n = 6$). Chaque chromosome autosomal est constitué de deux bras qui restent généralement liés au centromère. Par convention, les chromosomes autosomaux sont identifiés par un numéro (le plus long est le numéro 2 et l'autre le numéro 3). Les bras chromosomiques sont identifiés par des lettres alphabétiques R et L qui désignent respectivement les bras chromosomiques droit (*Right*) et gauche (*Left*).

L'arrangement des inversions paracentriques présente souvent un certain degré de polymorphisme utilisé pour caractériser ou pour distinguer différentes espèces jumelles vivant en sympatrie.

1.5.2. Forme chromosomique et forme moléculaire chez *An. gambiae*

Chez *An. gambiae*, en Afrique de l'Ouest, les arrangements chromosomiques se sont révélés très polymorphes, particulièrement sur les deux bras du chromosome 2 (bras 2R et 2L). Les déficits en hétérocaryotypes pour certaines inversions ainsi que les associations de ces inversions à certaines conditions écologiques ont permis de distinguer cinq (05) formes chromosomiques ou cytotypes suggérant un phénomène de spéciation en cours (Coluzzi *et al.*, 1985; Touré *et al.*, 1998; Coluzzi *et al.*, 2002). Ces cytotypes «Bamako», «Savana», «Mopti», «Forêt» et «Bissau», sont caractérisés par des inversions chromosomiques typiques parfois fixées. Ces cinq (05) formes chromosomiques sont regroupées en deux formes moléculaires M et S à partir de l'analyse de la séquence IGS de l'ADN ribosomal qui sont considérées comme des espèces en voie de formation (Favia *et al.*, 2001 ; Della Torre *et al.*, 2002). Au Burkina Faso, les formes moléculaires M et S correspondent respectivement aux formes chromosomiques «Mopti» et «Savana» (della Torre *et al.*, 2005).

1.5.3. Polymorphisme chromosomique chez *An. funestus*

A l'instar d'*An. gambiae*, *An. funestus* présente aussi un certain degré de polymorphisme chromosomique. Les études cytogénétiques du groupe *An. funestus* ont débuté en 1980 par la description de dix inversions polymorphes (Green & Hunt, 1980) à partir d'échantillons de l'Afrique de l'Est, du Sud et de l'Ouest. Une décennie plus tard, de nouvelles inversions chromosomiques ont été décrites correspondant aux inversions (2Rs, 2Rt, 2Rab et 2Ra) sur le bras chromosomique 2R au Mali et au Burkina Faso (Boccolini *et al.*, 1994; 1998) et la 2Rtz au Sénégal (Lochouart *et al.*, 1998).

Mais des divergences ont été révélées au niveau de la structure génétique d'*An. funestus* selon les localités.

A Madagascar et en Angola, quoiqu'un polymorphisme chromosomique ait été observé au sein des populations d'*An. funestus*, il n'a pas révélé de déficit en hétérocaryotypes et de déséquilibre de liaison indiquant que ces populations étaient panmictiques (Boccolini *et al.*, 1992; 2002).

Au nord Cameroun qui correspond à une zone de savane aride, les populations d'*An. funestus* sont monomorphes pour presque tous les arrangements tandis que le sud du pays correspondant à un faciès forestier abrite une population caractérisée par les inversions 2Ra, 3Ra, 3Rb et 3La quasi fixées (Cohuet *et al.*, 2005). Le centre du pays qui est une zone de transition abrite une population polymorphe caractérisée par un déficit d'hétérocaryotype et un déséquilibre de liaison

suggérant une subdivision locale de la population en deux formes chromosomiques (Cohuet, 2003).

Au Sénégal trois populations allopatriques en équilibre d'Hardy-Weinberg et ayant des comportements trophiques différents ont été observées (Lochouarn *et al.*, 1998, Dia *et al.*, 2000 ; Cohuet *et al.*, 2004). Une des populations est caractérisée par des inversions 3Ra et 3Rb presque fixées et un polymorphisme sur le bras 2R, la seconde est caractérisée par un homocaryotype standard pour les bras 2R et 3R et la dernière est caractérisée par des individus homocaryotypes standard pour la 3R et par l'inversion 2Rs presque fixée.

Au Burkina Faso, des études préliminaires de cytogénétique ont suggéré pour la première fois un phénomène de spéciation en cours au sein d'*An. funestus* (Boccolini *et al.*, 1994). Un fort déficit en hétérozygotes avait été observé pour toutes les inversions polymorphes (2Ra, 3Ra, 3Rb et 3La). Les inversions étaient en équilibre de liaison et différenciaient une forme chromosomique «homocaryotype standard» pour toutes les inversions et une seconde forme plus polymorphe. La forme homocaryotype standard était significativement plus anthropophile, plus endophile et présentait des indices sporozoïtiques significativement plus élevés. Ces travaux, bien que peu détaillés, ouvraient des perspectives intéressantes en suggérant que *An. funestus* s.s. pourrait être constitué de deux espèces de capacité vectorielle et biologique différentes. Des travaux complémentaires ont permis la description de nouvelles inversions: 2Rs et 2Rt au Burkina Faso et 2Rau et 2Rab au Mali (Boccolini *et al.*, 1998). La description de toutes ces nouvelles inversions a permis à Sharakov *et al.*, (2002) de reconsidérer la carte chromosomique initialement proposée par Green & Hunt (1980) (figure 1.2).

Par la suite, d'éminents travaux réalisés au Burkina Faso suivant un transect nord-sud ont relevé un polymorphisme chromosomique caractérisé par un déficit d'hétérozygote et un déséquilibre de liaison entre les arrangements chromosomiques (Costantini *et al.*, 1999). A partir d'un algorithme, ces auteurs ont assigné les spécimens étudiés à deux formes chromosomiques nommées «Kiribina» et «Folonzo» correspondant au nom des localités type à chaque forme chromosomique (Costantini *et al.*, 1999). Ces formes chromosomiques seraient caractérisées par un flux génique limité suggérant l'existence de phénomène de spéciation (Costantini *et al.*, 1999). La forme «Folonzo» est polymorphe et caractérisée par les inversions 3Ra et 3Rb presque fixées tandis que la forme «Kiribina» est caractérisée majoritairement par la forme standard et l'inversion 2Rs circulant à une fréquence élevée.

En plus des différentes inversions chromosomiques qui seraient spécifiques à chaque forme chromosomique notamment l'inversion 2Rs qui serait propre à la forme «Kiribina», les formes chromosomiques auraient une bio-écologie différente. Les «Folonzo» seraient plus endophiles

(Guelbeogo, 2004). En effet, l'algorithme proposé par (Costantini *et al.*, 1999) est qualitatif en ce sens qu'il assigne les individus aux différentes formes chromosomiques sans prendre en compte les fréquences des inversions au sein de chaque population. Ce qui a donc permis à (Guelbéogo *et al.*, 2005) de proposer un algorithme modifié en modifiant la première règle qui étend l'inversion 2Rs dans la forme «Folonzo» (figure 1.3). De ce fait, l'inversion 2Rs serait flottante entre les deux formes chromosomiques due à quelques rares hybridations entre ces formes, mais à une fréquence plus élevée chez la forme «Kiribina» (Guelbeogo *et al.*, 2005).

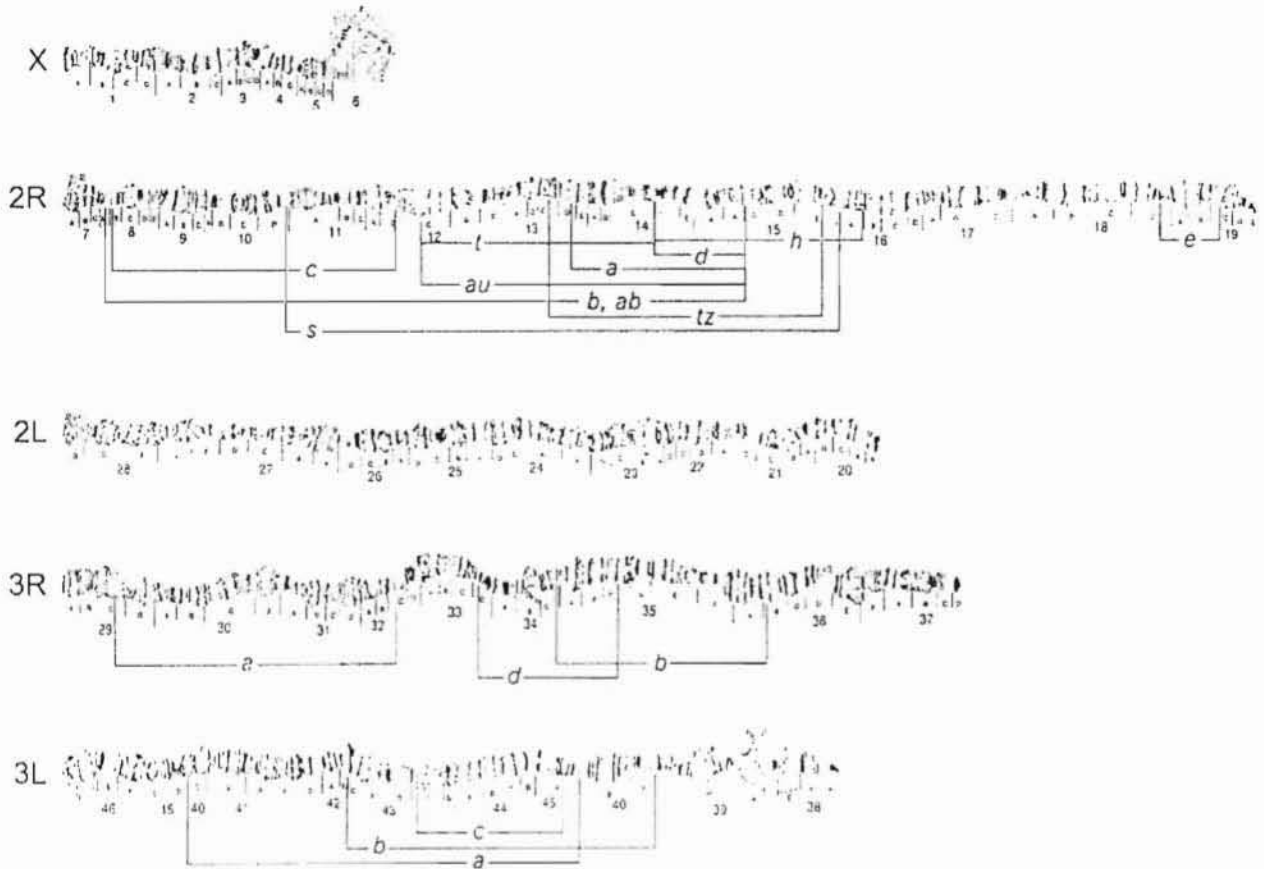


Figure 1.2: Carte chromosomique d'*Anopheles funestus* revue par Sharakhov *et al.*, (2002)

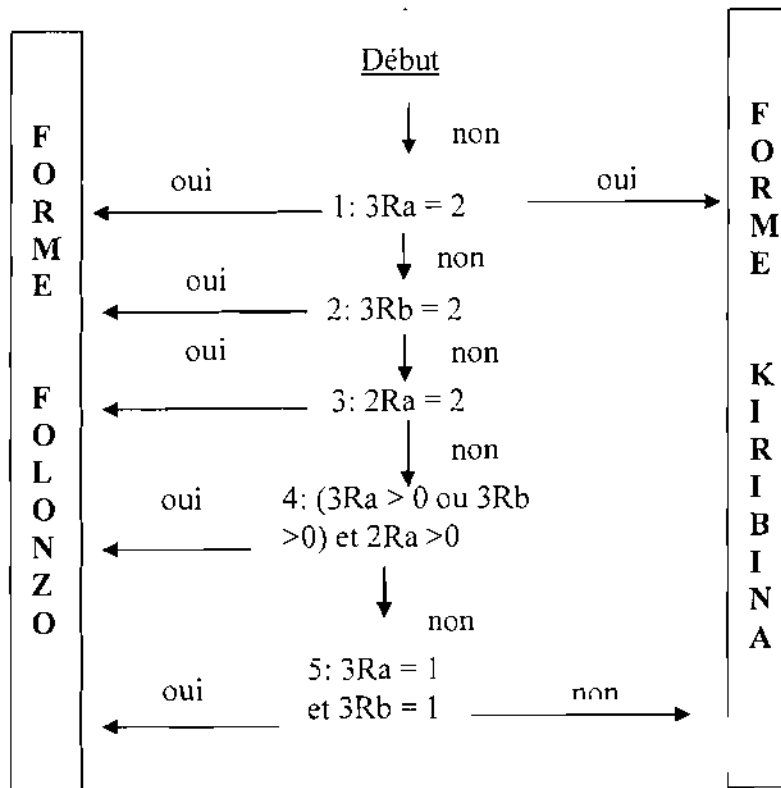


Figure 1.3: Diagramme de l'algorithme revue par Guelbéogo *et al* (2005) employé pour assigner les spécimens d'*An. funestus* aux formes chromosomiques

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Description des zones d'étude

L'étude s'est déroulée dans deux villages situés à l'ouest du Burkina Faso : Vallée du Kou (Bama) et Soumousso (figure 2.1). Ces deux sites présentent un faciès écologique local différent.

2.1.1. Vallée du Kou (11°24'N ; 04°24'W)

La Vallée du Kou située à 30 km au Nord-Ouest de Bobo-Dioulasso est une plaine rizicole irriguée depuis 1972. Les gîtes larvaires sont majoritairement constitués par les casiers rizicoles avec quelques rares étendues d'eau pouvant servir de gîtes secondaires surtout pendant la saison des pluies. Les vecteurs du paludisme sont essentiellement composés d'*An. gambiae* (forme M) avec une très faible proportion d'*An. funestus* (composée quasi exclusivement de la forme chromosomique «Kiribina»).

2.1.2. Soumousso (11°00'46 ''N ; 04°02'45''W)

Soumousso, situé à 45 km au sud-Ouest de Bobo-Dioulasso, est un site de savane classique. Il est caractérisé par la présence d'un ruisseau semi-permanent et le développement d'une riziculture pluviale. *An. gambiae* s.s est trouvé majoritairement dans ce village avec une augmentation des densités d'*An. funestus* vers la fin de la saison des pluies. Quelques études cytogénétiques ont révélé que quoique les deux formes chromosomiques soient trouvées dans ce village, la forme «Folonzo» est prédominante (Dabiré *et al.*, 2007).

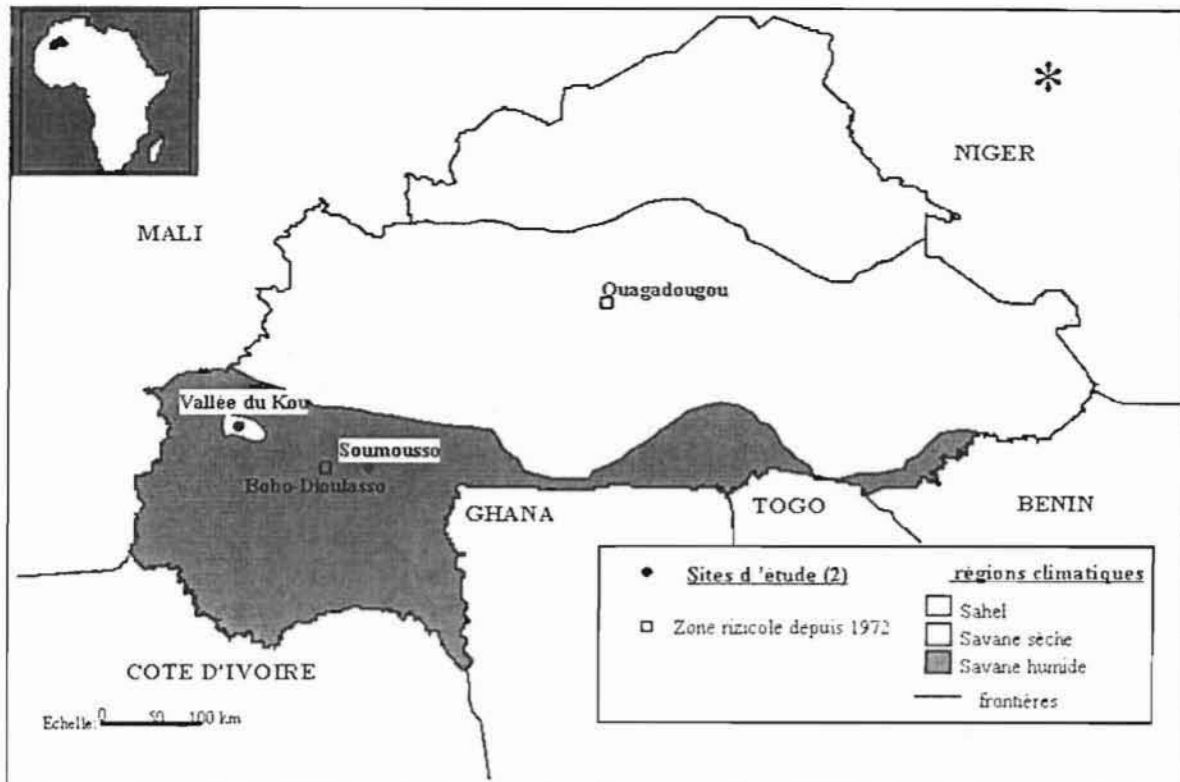


Figure 2.1 : Localisation et caractéristique des deux sites d'études, Vallée du Kou et Soumouso, Burkina Faso, 2006.

2.2. Collecte des moustiques et mise en oviposition

Afin d'obtenir des larves de même caryotype pour la transplantation, nous avons collecté matinalement les moustiques à l'aide des tubes à hémolyse et d'aspirateurs à bouche dans les maisons à Soumouso et à la Vallée. Les moustiques sont identifiés à l'aide de la clé de détermination morphologique (Gillies & De Meillon 1968; Gillies & Coetsee, 1987). Les femelles d'*An. funestus* semi gravides et gorgées ont été mis en oviposition à l'insectarium. Les pondoires individuels étaient des gobelets de 200 cm³ contenant de l'eau (environ 75 cl) où les moustiques ont déposé leurs œufs pendant 24 à 48 heures selon leur stade gonotrophique. Après la ponte, les femelles sont retirées des gobelets et regorgées sur du lapin afin de déterminer leur caryotype et éventuellement celui de leurs progénitures (larves qui vont éclore de ces pontes individuelles).

2.3. Dissection et identification cytogénétique

Au stade semi gravide, les ovaires ont été extraits des femelles et placés dans des tubes de 1.5 ml portant les mêmes références que les femelles et contenant du carnoy (solution fixatrice constituée d'une part d'acide acétique glacial et trois parts d'éthanol absolu) et conservés à -

20°C. Les carcasses correspondantes ont été conservées dans les tubes contenant du silicagel portant les mêmes numéros que ceux des ovaires.

Identification cytogénétique: Caryotypage des spécimens

Les ovaires ont été placés sur une lame porte objet contenant deux gouttes d'acide propionique à 50%. Puis sous la loupe, ils ont été nettoyés des restes des tissus abdominaux afin d'optimiser la lisibilité des chromosomes. Le tout est couvert d'une lamelle et les cellules nourricières des ovarioles sont éclatées par de légers tapotements sur la lame couverte de papier buvard qui sert à absorber l'excès de l'acide propionique.

La lecture a été faite sous microscope à contraste de phase en utilisant la carte chromosomique revue par Sharakhov en 2002 (fig. 1.2). Le diagramme mis à jour par Guelbéogo *et al.* (2005) a été utilisé pour assigner les spécimens à chaque chromosomique (fig. 1.3)

2.4. La transplantation des larves

2.4.1. Les cages de transplantation

Les cages de transplantation, de forme cylindrique, sont constituées de cerceaux de 35 cm de diamètre reliés par des barres métalliques hautes de 48 cm. Elles sont revêtues de toiles à maille très fines qui ne permettent pas le passage de larves d'anophèles et d'autres organismes tels les prédateurs mais seulement le mouvement d'eau et de particules fines (Diabaté *et al.*, 2005). La base qui repose sur le fond du gîte est fermée par un tissu plus étanche en contact avec la boue (illustration 1).

2.4.2- Le dispositif expérimental

La partie inférieure de la cage submergée dans l'eau du gîte est couverte de tissu de faible maille ne permettant que le passage de l'eau et des micronutriments. La moitié supérieure de la cage qui est hors de l'eau est couverte de tissu moustiquaire empêchant d'autres moustiques d'y pondre et abritant les moustiques adultes qui émergeront des larves transplantées.

- Préparation des larves pour la transplantation

Afin d'avoir l'effectif requis pour la transplantation, après éclosion, les larves sont regroupées en fonction de leur forme chromosomique (issues du même caryotype que leur maman) et de leur stade. Seules les larves de stade I ont été prises en compte. Les larves (L1) sont transplantées en raison de 100 larves par cage et par forme chromosomique.

Afin de synchroniser les différentes étapes de la transplantation dans les deux sites, les différentes transplantations ont été faites le même jour dans les différents gîtes apprêtés auparavant.

Les différentes transplantations se sont déroulées de Septembre à Janvier s'étalant ainsi sur deux périodes: en saison de pluies de Septembre- Octobre et une autre série en début de saison sèche froide Novembre – Janvier. Au total cinq séries de transplantations ont été effectuées, trois au cours de l'année 2006 et deux en 2007.

En 2006, la première transplantation (T_1) a été effectuée en septembre/octobre et les deux dernières (T_2 et T_3) en Novembre/Décembre. Les transplantations T_4 et T_5 se sont déroulées en 2007, dans la deuxième période de la saison entre Novembre et Janvier. Dans les deux sites, deux types de gîte ont été exploités.

- Vallée du Kou

- Casier rizicole aménagé ou gîte A_1 (illustration 1): ce gîte est caractérisé par une végétation importante (riz). On notait la présence de larves de *Culicidae*, d'*Anophelinae* et de prédateurs. Deux transplantations notées respectivement T_1 et T_2 ont été effectuées dans gîte en 2006 et une seule transplantation T_4 en 2007 soit au total trois transplantations.
- Etendue d'eau ou gîte B_1 avec une végétation abondante surtout de type rampant. Deux étendues d'eau correspondant aux caractéristiques décrites ont été utilisées pour la transplantation: l'une éloignée des casiers rizicoles avec présence de larves d'anophèles, de *Culex* et des prédateurs a servi à la transplantation T_3 de 2006; l'autre ayant les mêmes caractéristiques biologiques que la précédente mais située à proximité des casiers rizicoles a été utilisé pour la transplantation T_5 de 2007.



Illustration 1: gîte A₁ casier rizicole de la Vallée du Kou, mise en place des cages de transplantation avec lâcher des larves.

- Soumouso

- Casier rizicole de type pluvial ou gîte A₂ : ce gîte est un casier rizicole où du riz pluvial est cultivé dans le bras d'un marigot. L'eau avait un aspect limpide avec une importante présence de larves d'anophèles et de prédateurs. Ce gîte a été utilisé pour deux transplantations T₂ et T₃ en 2006 et pour deux autres transplantations T₄ et T₅ en 2007.
- Etendue d'eau, gîte ouvert et ensoleillé ou gîte B₂ (illustration 2) : c'est une cave de briques contenant de l'eau à l'aspect trouble avec de la végétation aux abords. On y notait la présence de larves d'*Anopheles*, de *Culex*, de prédateurs et des têtards. Ce gîte a été utilisé pour la première transplantation T₁ en 2006

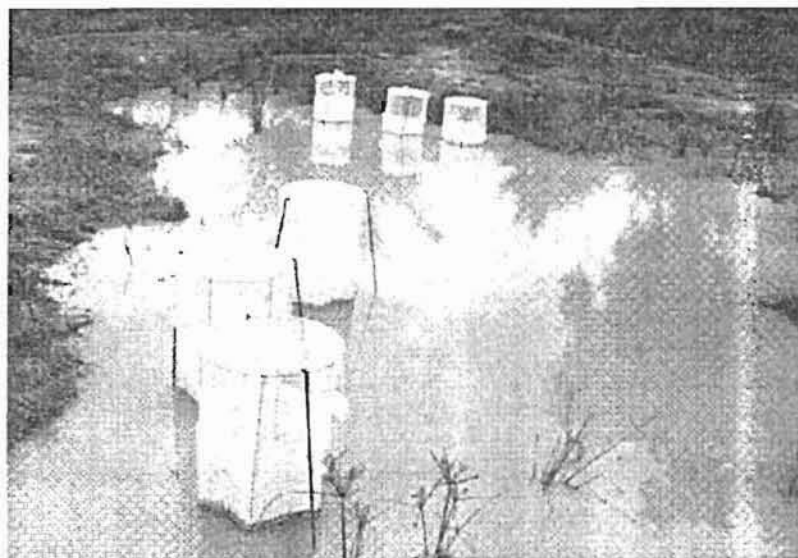


Illustration 2: gîte B₂ gîte ouvert de Soumouso avec les cages de transplantation

2.4.3. Suivi et collecte des adultes émergents

Quotidiennement, toutes les cages étaient visitées pour suivre la dynamique du développement des larves et noter éventuellement le taux de mortalité. A l'émergence, tous les adultes étaient systématiquement collectés à l'aide d'un aspirateur à bouche. Après la récolte du «dernier moustique», les cages restaient dans les gîtes quelques jours. Les paramètres suivants ont été étudiés: le taux de mortalité, le taux d'émergence, la durée moyenne du cycle de développement.

2.5. Analyse statistique des données.

Le taux d'émergence correspond au rapport du nombre total de moustiques récoltés dans la cage à la fin de l'expérience sur le nombre total de larves transplantées. La durée du développement larvaire est le temps moyen observé entre le début de la transplantation et l'émergence des adultes. La comparaison des taux d'émergence des moustiques pris dans les cages a été faite par le test Khi2 à l'aide du logiciel Epi Info version 6.04.

3. RESULTATS

3.1- Les transplantations réalisées en 2006

Sur un total de 1 200 larves de stade I transplantées tous sites confondus, 276 adultes ont été récoltés, soit un taux d'émergence global de 23 %.

3.1.1- Vallée du Kou

3.1.1.1-Transplantation T_1 dans le gîte A_1 (Septembre/Octobre)

Le taux d'émergence de la transplantation T_1A_1 était très faible. Un seul moustique a été récolté dans la cage «Kiribina» après 19 jours de transplantation correspondant à un taux d'émergence de 1% tandis qu'il était de 9% chez la forme «Folonzo» avec un temps de développement larvaire de 18 jours (figure 3.1).

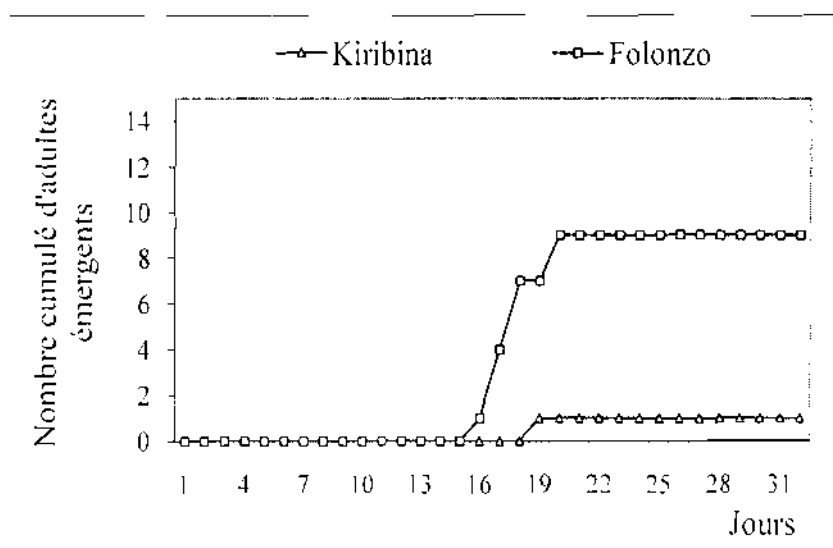


Figure 3.1 : Vallée du Kou. Transplantation T_1 dans le gîte A_1 Septembre /Octobre 2006 : Dynamique du développement larvaire.

3.1.1.2- La Transplantation T_2 dans le gîte A_1 (Novembre/Décembre)

Il n'y a pas eu d'émergence dans la cage de la forme «Folonzo». Le taux d'émergence de la forme «Kiribina» était de 10% avec un temps de développement larvaire d'environ 17 jours (figure 3.2).

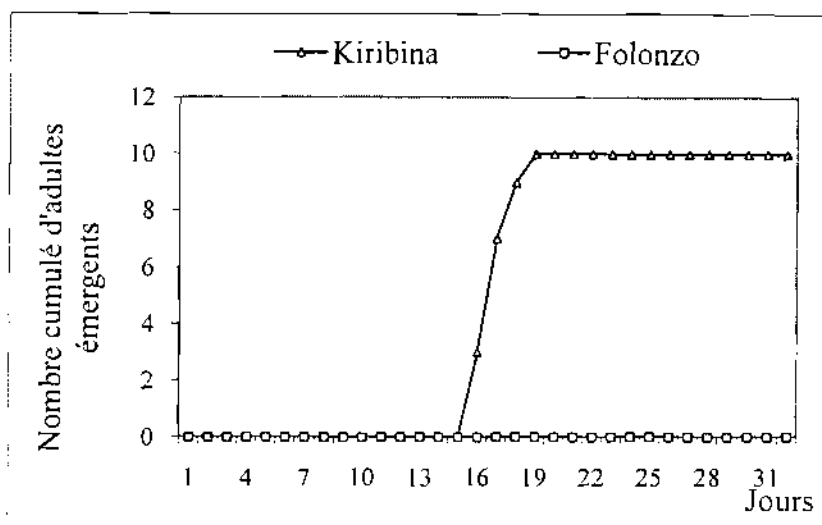


Figure 3.2 : Vallée du Kou, Transplantation T_2 dans le gîte A_1 Novembre/Décembre 2006: Dynamique du développement larvaire.

3.1.1.3- La transplantation T_3 dans le gîte B_1 -Novembre /Décembre.

Le taux d'émergence de la forme «Kiribina» de 35% était significativement plus élevé que celui de la forme «Folonzo» qui était de 19% ($\chi^2 = 7.42$, ddl = 1, $p = 0.006$). Cependant le développement larvaire de la forme Folonzo a été plus rapide (17 jours) que celui de la forme Kiribina avec 20 jours (fig. 3.3).

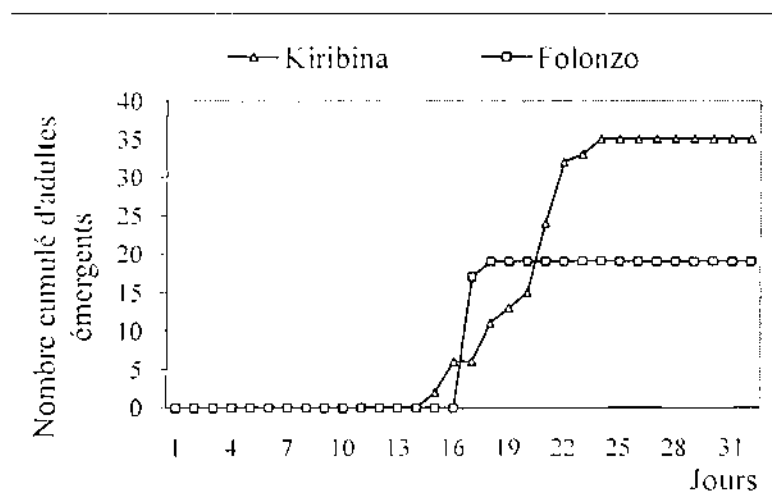


Figure 3.3: Vallée du Kou, Transplantation T_3 dans le gîte B_1 Novembre/Décembre 2006: Dynamique du développement larvaire.

3.1.2. Soumouso

3.1.2.1- Transplantation T₁ dans le gîte B₂ Octobre 2006

Le taux d'émergence des adultes de 43% pour la forme «Folonzo» a été significativement plus élevé ($\chi^2 = 19,04$; ddl = 1 ; $p = 0.00001$) que celui de la forme «Kiribina» avec seulement 15% d'émergence. Le temps de développement larvaire a été aussi plus rapide pour la forme «Folonzo» soit environ 15 jours contre 19 jours pour la forme «Kiribina» (fig. 3.4).

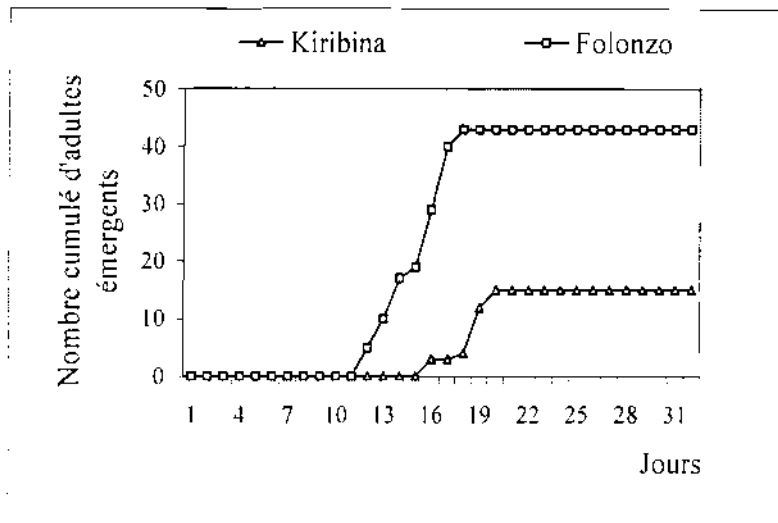


Figure 3.4: Soumouso. Transplantation T₁ dans le gîte B₂ Octobre 2006: Dynamique du développement larvaire.

3.1.2.3- La transplantation T₂ dans le gîte A₂ Novembre/Décembre 2006

Le taux d'émergence de la forme «Folonzo» de 42% a été significativement plus élevé que celui de la forme «Kiribina» avec 18% ($\chi^2 = 13.71$, ddl= 1, $p=0.0002$). A l'inverse, la forme «Kiribina» s'est développée plus rapidement soit environ 17 jours contre 22 jours pour la forme «Folonzo» (fig. 3.5).

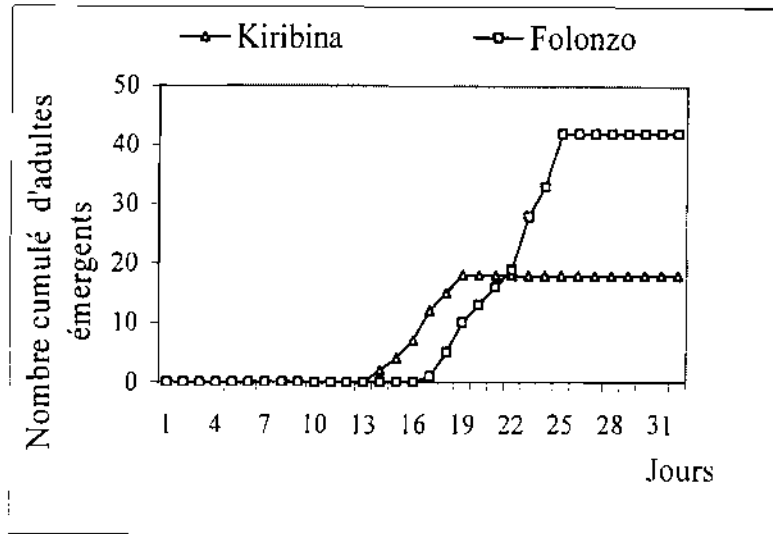


Figure 3.5: Soumouso, Transplantation T₂ dans le gîte A₂ Novembre/Décembre 2006; Dynamique du développement larvaire.

3.1.2.3- La Transplantation T₃ du gîte A₂ Novembre /Décembre 2006

Contrairement aux transplantations précédentes, le taux d'émergence global a été sensiblement amélioré. Il a été environ de 55% pour la forme «Kiribina» ce qui est significativement supérieur à celui de la forme «Folonzo» qui n'était que de 30% ($\chi^2 = 12,80$; ddl = 1 ; p = 0,0003). A l'inverse la durée du développement larvaire a été plus courte pour la forme «Folonzo» avec environ 16 jours contre 21 jours enregistrés pour la forme «Kiribina» (fig. 3.6).

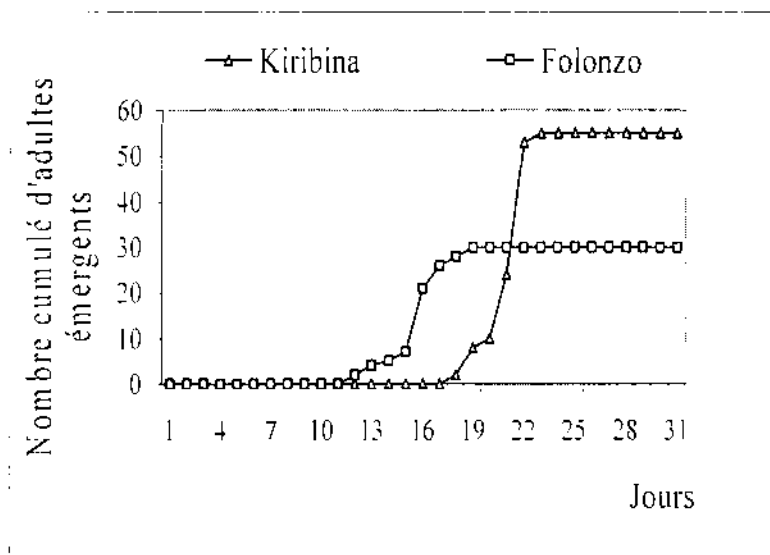


Figure 3.6: Soumouso, Transplantation T₃ dans le gîte A₂ Novembre/Décembre 2006 ; Dynamique du développement larvaire.

3.2. Les transplantations réalisées en 2007

3.2.1. Vallée du Kou : T₄ A₁ (Novembre) et T₅ B₁ (Décembre/Janvier)

Au cours de ces deux transplantations (T₄ et T₅) le taux de mortalité larvaire a été particulièrement élevé quel que soit le type de gîte. De ce fait aucun moustique n'a été collecté au stade adulte, la plupart des larves étant mortes soit au stade 4 soit au stade nymphal.

3.2.2. Soumouso

3.2.2.1. La transplantation T₄ du gîte A₂ Novembre 2007

Le taux d'émergence a été plus significativement plus élevé ($\chi^2 = 57,85$; ddl = 1 ; p = 0,000) pour la forme «Kiribina» atteignant 68% contre seulement 16% pour la forme «Folonzo» Mais le développement larvaire était légèrement plus rapide pour la forme «Folonzo», soit environ 12 jours contre 15 jours pour la forme «Kiribina» (fig. 3.7).

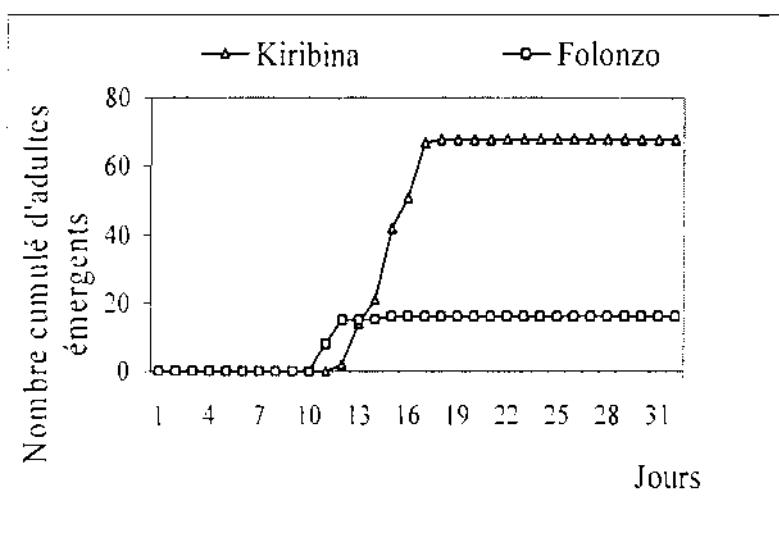


Figure 3.7: Soumouso. Transplantation T₄ dans le gîte A₂ Novembre 2007 : Dynamique du développement larvaire.

3.2.2.2. La transplantation T₅ du gîte A₂ Décembre /Janvier 2007

Le taux d'émergence a été identique et très faible ne dépassant pas 7% pour les deux formes chromosomiques. Quelle que soit la forme, le développement larvaire a été plus long avec respectivement 26 jours pour la forme «Folonzo» et 27 jours pour la forme «Kiribina» (fig. 3.8.).

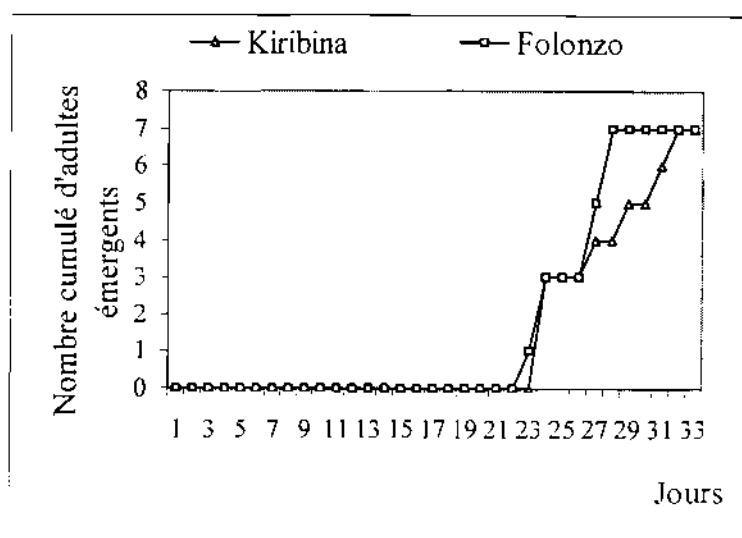


Figure 3.8: Soumouso, Transplantation T₃ dans le gîte A₂ décembre/Janvier 2007: Dynamique du développement larvaire.

3.3. Variation du taux d'émergence en fonction du type de gîte.

A Soumouso, il n'y a pas eu de différence entre le développement des deux formes chromosomiques dans le gîte rizicole A₂ (en moyenne 36 adultes par cage et par transplantation pour les deux formes). Par contre il a été observé une différence significative ($\chi^2 = 19,04$; ddl = 1 ; p = 0.00001) entre le taux d'émergence des deux formes dans le gîte B₂ (étendue d'eau). En effet le taux d'émergence de «Folonzo» était de 43% contre 15% pour «Kiribina». Le taux d'émergence des adultes de la forme «Folonzo» était de 36% et 43% respectivement dans les gîtes A₂ et B₂ et n'était statistiquement pas différent ($\chi^2 = 1,03$; ddl = 1 ; p = 0.3 > 0.05). A l'inverse, pour la forme «Kiribina», il variait significativement d'un gîte à l'autre atteignant 36% dans le gîte rizicole A₂ pour seulement 15% dans le gîte ouvert d'étendue d'eau B₂ ($\chi^2 = 11,61$, ddl= 1, p= 0.006 < 0.0001) (fig. 3.9).

A la Vallée du Kou, il n'y a pas eu de différence significative du taux d'émergence entre les deux formes dans le gîte A₁ représentant le casier rizicole. Mais le taux d'émergence global était très bas avec une moyenne par transplantation de 5% pour la forme «Folonzo» et 6% pour la forme «Kiribina». Dans le gîte B₁ représenté par la flaque d'eau, le taux d'émergence a été significativement plus élevé pour la forme «Kiribina» atteignant pratiquement le double (35% vs 18%) de celui obtenu avec la forme «Folonzo»

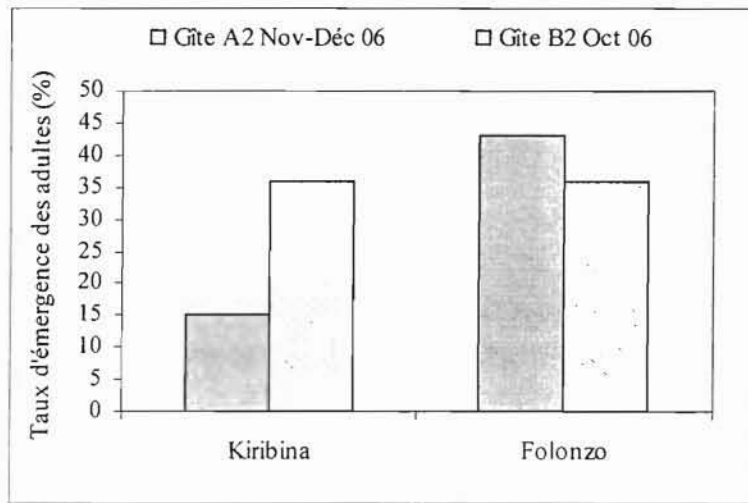


Figure 3.9 : Soumouso- comparaison des taux d'émergence entre le gîte ouvert (B₂) et le gîte à végétation dressée de type casier rizicole (A₂) en Octobre et Novembre/Décembre 2006.

3.4- Variation du taux d'émergence en fonction de la localité

Le nombre total de moustiques récoltés en 2006 à la Vallée du Kou (73/600) était plus faible que celui de Soumouso (203/600) (Fig. 3.10).

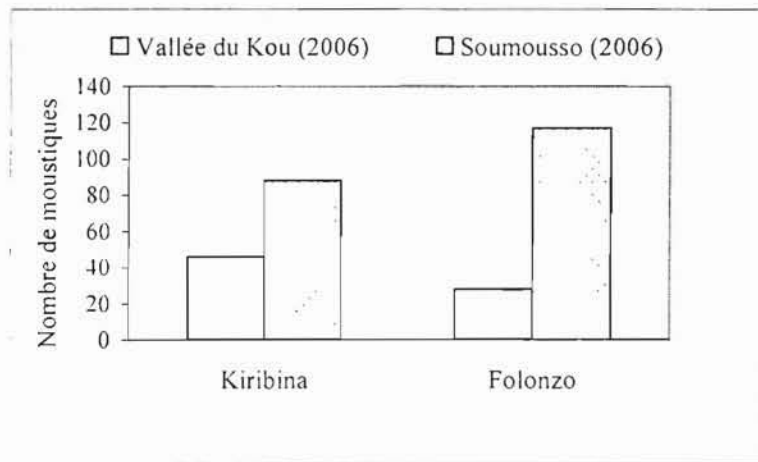


Figure 3.10: nombre total de moustiques récoltés à Soumouso et à la Vallée du Kou au cours de l'année 2006

A la Vallée du Kou le taux d'émergence de «Kiribina» de 15,33% a été significativement plus élevé ($\chi^2 = 5,63$; ddl = 1 ; p = 0,02) que celui de la forme «Folonzo» (09%). En effet sur 300 larves transplantées pour chaque forme, 46 adultes ont émergés pour la forme «Kiribina» contre seulement 27 pour la forme «Folonzo» (fig. 3.10)

A Soumouso le nombre de moustiques récoltés a été plus important. A la différence de la Vallée, le taux d'émergence de la forme «Folonzo» (38%) a été significativement plus élevé ($\chi^2 = 5,45$; ddl = 1, p = 0,019) que celui de la forme «Kiribina» (29%). Sur 300 larves transplantées pour chaque forme, 115 moustiques ont été récoltés pour la forme «Folonzo» contre 88 pour la forme «Kiribina».

3.5. Variation de la durée du cycle en fonction du type de gîte et de la localité.

A la Vallée du Kou, dans le gîte A₁ le temps de développement larvaire des deux formes était quasi identique avec respectivement 17 et 18 jours pour les formes «Kiribina» et «Folonzo». Par contre, dans le gîte B₁, c'était la forme «Folonzo» qui a eu un développement larvaire plus rapide de 17 jours, comparé à celui de la forme «kiribina» un peu plus long de 20 jours. Mais en comparant les types de gîtes entre eux, le développement larvaire de la forme «Kiribina» a été plus rapide dans le gîte A₁ que dans le gîte B₁ avec respectivement 17 et 20 jours.

A Soumouso, le développement larvaire de la forme «Folonzo» a été de 15 jours dans le gîte B₂, tandis que dans le même gîte celui de la forme «Kiribina» était de 19 jours. Le développement larvaire de «Folonzo» dans le gîte A₂ a été quasi identique à celui de la forme «Kiribina» soit respectivement 19 et 20 jours.

Indépendamment de la localité, la forme «Folonzo» aurait un développement larvaire plus rapide que celui de la forme «Kiribina».

3.6. Influence de la saison sur le développement larvaire.

3.6.1. Variation du taux d'émergence en fonction de la saison

Le taux d'émergence variait en fonction de la saison à Soumouso. Au début de la période froide (Novembre/Décembre) aucune différence significative n'a pas été observée entre les taux d'émergence des deux formes chromosomiques en 2006. Cependant en saison de pluie (Septembre/Octobre), le taux d'émergence de «Folonzo» a été plus élevé (43% contre 36% en période froide). En 2007, en début de la période froide (Novembre), le taux d'émergence obtenu pour la forme «Kiribina» a été très élevé (68% vs 15% pour «Folonzo»). Par contre à la fin de la période froide (Janvier) il n'y pas eu de différence entre le taux d'émergence des deux formes (7% pour les deux formes chromosomiques).

Dans toutes les localités, en milieu de la saison des pluies (Septembre-Octobre) la forme «Folonzo» a eu un développement plus important (9% contre 1% pour la forme «Kiribina» à la

Vallée du Kou, 43% contre 15% pour la forme «Kiribina» à Soumouso). Cette tendance tend à s'inverser en fin de saison de pluie (Novembre) avec la forme «Kiribina» qui prend le dessus. Le taux d'émergence a été de 22% pour la forme «Kiribina» contre 9% pour la forme «Folonzo» à la Vallée du Kou, de 36% pour les deux formes à Soumouso en 2006 et de 68% pour la forme «Kiribina» contre seulement 15% pour la forme «Folonzo» dans la même période en 2007.

3.6.2. Variation de la durée de développement en fonction de la saison

Dans toutes les deux localités et indépendamment de la forme chromosomique, le développement a été plus rapide en saison de pluie (17jours) qu'en début de saison froide (19jours). Le développement larvaire devient plus lent en pleine saison froide. Les mêmes tendances ont été observées d'une année à l'autre. En effet, en 2007 le développement larvaire était en moyenne de 14 jours en Novembre et de 23 jours en Décembre/Janvier.

IV. DISCUSSION

4.1. Variabilité du taux d'émergence des deux formes chromosomiques en fonction du site

Notre étude a montré un taux d'émergence élevé dans la savane classique de Soumouso. Ces observations révèlent que la surface rizicole irriguée ne serait pas favorable au développement larvaire d'*An. funestus* quelle que soit la forme chromosomique. Cela pourrait être dû à la bio-écologie d'*An. funestus* qui serait inféodé aux zones de savane boisée et moins fréquent dans les zones inondées en l'occurrence les aménagements rizicoles. Ces résultats confirment l'observation classique qu'*An. funestus* ne se développe pas dans les casiers rizicoles (Carnevale et al., 1999) mais exploiterait les gîtes à côté des canaux d'irrigation. Ces mêmes observations ont été faite à Mwea au Kenya où les périmètres rizicoles irrigués ne permettaient pas le développement d'*An. funestus* (Muturi et al., 2008).

Le taux d'émergence de la forme «Kiribina» a été plus élevé en zone rizicole tandis que celui de la forme «Folonzo» est plus élevé dans la savane classique de Soumouso. Ce qui signifierait que la forme «Kiribina» est plus inféodée aux zones rizicoles que «Folonzo» quelque soit le gîte considéré. Ceci correspond à la distribution des deux formes trouvée par Dabiré et al (2007). En effet dans cette étude, il avait été montré que la forme «Kiribina» était la seule forme présente à la Vallée et qu'à Soumouso la forme «Folonzo» était trouvée à 70%. Ces observations sont également en concordance avec les résultats trouvés par Costantini et al. (1999) où Kiribina prédominait dans les zones irriguées.

4.2. Variabilité du taux d'émergence en fonction de la typologie des gîtes

L'étude de l'écologie larvaire des deux formes chromosomiques revêt toute son importance en ce sens qu'aucune donnée n'existe encore sur ce sujet. Quelques hypothèses ont été formulées par Guelbéogo (2004) pour tenter d'expliquer la variabilité spatio-temporelle du polymorphisme chromosomique dans la partie centrale du pays. Cette colonisation préférentielle des gîtes de reproduction structurés en fonction du milieu pourrait confirmer l'hypothèse de l'existence d'une barrière post-copulatoire qui sous-tend le processus de spéciation en cours au sein d'*An. funestus*. Les études de l'écologie larvaire pourraient donc compléter l'évidence chromosomique du phénomène de spéciation en cours dans notre pays (Guelbéogo et al., 2005). Cette hypothèse

mériterait d'être vérifiée dans la partie Ouest, dans un contexte qui se rapproche des conditions naturelles.

Notre étude a montré que les deux formes chromosomiques pouvaient se développer dans les mêmes types de gîte, toutefois avec des taux d'émergence spécifiques à chaque forme qui reflètent leur distribution naturelle en fonction des caractéristiques éco-climatiques. Indépendamment de la zone, la forme «Kiribina» se développerait mieux dans le milieu rizicole naturel ou irrigué. Ce qui explique que malgré que nous soyons à Soumousso qui n'est pas typiquement rizicole, on trouve quand même du «Kiribina» en faible proportion (Dabiré *et al.*, 2007). Et comme les gîtes ouverts avec de la végétation favorable à la forme «Folonzo» sont plus nombreux en savane, on a donc une prédominance logique de cette forme en savane confirmant les résultats des études précédentes portant sur distribution géographique des populations de ces deux formes chromosomiques (Guelbéogo *et al.*, 2005 ; Dabiré *et al.*, 2007).

4.3- Variabilité temporelle du développement larvaire

Quelle que soit la forme chromosomique, le développement larvaire et le taux d'émergence sont meilleurs pendant la saison des pluies que pendant la saison froide (temps de développement plus long). Ce qui pourrait s'expliquer par le changement des conditions du milieu notamment le taux d'humidité, les températures d'une saison à une autre. La même tendance est observée d'une année à l'autre. Cependant quel que soit le gîte et l'année, le taux d'émergence de la forme «Folonzo» est plus élevé en fin de saison pluvieuse (Septembre – Octobre). Cette tendance tend à s'inverser en début de période froide qui correspond au début de la saison sèche (Novembre – Décembre) avec un taux d'émergence plus élevé pour la forme «Kiribina». Cela confirmerait l'hypothèse que «Folonzo» serait mieux adapté aux environnements humides comparativement à «Kiribina» qui se reproduirait probablement durant les mois qui suivent la fin de la saison des pluies (Guelbéogo, 2004).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'étude de l'écologie larvaire des deux formes chromosomiques d'*An. funestus* par des expériences de transplantation larvaire relève des divergences en fonction de la zone et du type de gîte. Cette étude nous a donc permis de confirmer que les périmètres rizicoles aménagés constituaient de très mauvais gîtes larvaires pour *An. funestus*. En effet, il ressort de cette étude :

- que les étendues d'eau claire à végétation dressée, rampante ou émergente seraient propices au développement larvaire des deux formes chromosomiques d'*An. funestus*.
- que les zones inondées de la Vallée du Kou ou de Soumousso seraient plus favorables au développement de la forme «Kiribina».
- que, dans nos conditions expérimentales, la forme «Folonzo» serait mieux adaptée que «Kiribina» au gîte ouvert sans végétation.
- que la forme chromosomique «Folonzo» aurait également un développement plus rapide que «Kiribina».
- Que le temps de développement larvaire est plus long en saison froide.

Ces travaux ont donc permis de confirmer que les deux formes chromosomiques auraient une bio-écologie différente traduite par une exploitation différentielle des gîtes de reproduction, qui expliquerait la structuration naturelle de leurs populations déjà révélées par des études antérieures renforçant l'hypothèse d'isolement reproductif entre ces deux formes.

En perspectives, d'autres études sont nécessaires pour mieux élucider ce problème.

- Cette étude pourrait être reprise en incluant des transplantations mixtes de ces deux formes dans les mêmes gîtes afin de donner une idée sur le degré de compétition entre ces deux formes si elles devaient exploiter les mêmes gîtes.
- Une prospection larvaire pourrait être effectuée afin de compléter la structure populationnelle des adultes. La détermination du caryotype des adultes qui émergeront de ces larves permettrait de mieux comprendre si une sélection naturelle induite par des facteurs biotiques (présence de prédateurs et/ou de microorganismes spécifiques) ou abiotiques (nature des micronutriments, chimie de l'eau du gîte) favorisait l'une ou l'autre forme qui donnerait la structure finale des populations des adultes.

- D'autres études telles le comportement de repos, de piqûre, du taux d'anthropophilie et de zoophilie, le taux d'infection au Plasmodium permettraient de mieux préciser le rôle de chaque forme chromosomique dans la transmission du paludisme et conforteraient largement l'idée qu'elles sont bien en voie de spéciation.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Antonio-Nkondjio, C., Awono-Ambene, P., Toto, J.C., Meunier, J.Y., Zabaze-Kemleu, S., Nyambam, R., Wondji, C., Tchoumkam, T., Fontenille, D., (2002) High malaria transmission intensity in a village close to Yaoundé, the capital city of Cameroun. *J. Med. Entomol* **39**, 350-355.
- Boccolini, D., Carrara, G.C., Cani, P.J., Costantini, C., (2002). Preliminary data on *Anopheles funestus* chromosomal polymorphism in a peri-urban site of Western Angola. *Parassitologia* **44**, 22.
- Boccolini, D., Rakotoson, R., Ralisoa, O., Sabatini, A., Randrianarisoa, E. & Coluzzi, M. (1992) Polimorfismo cromosomico di *Anopheles funestus* in Madagascar. *Parassitologia*, **34**, 14-15.
- Boccolini, D., Sabatini, A., Sanogo, E., Sagnon, N., Coluzzi, M., Costantini, C., (1994) Chromosomal and vectorial heterogeneities in *Anopheles funestus* from Burkina Faso, West Africa. *Parassitologia* **36**, 20.
- Boccolini, D., Sagnon, N.F., Toure', Y.T. (1998) Chromosomal polymorphism in *Anopheles funestus* and description of new inversions in Burkina Faso and Mali. *Parassitologia*, **40**, 14.
- Brooke, B.D., Kloke, G., Hunt, R.H., Koekemoer, L.L., Temu, E.A., Taylor, M.E., (2001) Bioassay and biochemical analyses of insecticide resistance in southern African *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae) *Bull Entomol Res* **91**, 265-272
- Brown, A.W., (1986) Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review. *J Am Mosq control Assoc* **2**, 123-140
- Carnevale, P., Guillet, P., Robert, Fontenille, D., Doannio J., Coosemans M., Mouchet J., (199) Diversity of malaira in rice growing areas of the tropical region. *Parassitologia*, **41**, 273-276
- Cohuet, A. (2003). Biologie et génétique des populations d'*Anopheles funestus*, vecteurs du paludisme en Afrique., Thèse de Doctorat. Université Montpellier II France, 205 pages
- Cohuet, A., Dia, I., Simard, F., Raymond, M., Rousset, F., Antonio-Nkondjio, C., Awono-Ambene, P. H., Wondji, C. S., Fontenille, D. (2005) Gene Flow Between Chromosomal Forms of the Malaria Vector *Anopheles funestus* in Cameroon, Central Africa, and Its Relevance in Malaria Fighting. *Genetics* **169**, 301-311
- Cohuet, A., Simard, F., Toto, J., Kengne, P., Coetzee, M., and D. Fontenille. (2003). Species identification within the *Anopheles funestus* group of malaria vectors in Cameroon and evidence for a new species. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **69**, 200-205.

- Coluzzi, M. (1968) Cromosomi politenici delle cellule nutrici ovariche nel complesso *gambiae* del genere *Anopheles*. *Parassitologia*, **10**, 179-183.
- Coluzzi, M., Petrarca, V., Di Deco, M. A. (1985) Chromosomal inversion intergradation and incipient speciation in *Anopheles gambiae*. *Boll. Zool.* **52**, 45-63.
- Coluzzi, M., Sabatini, A., (1967). Cytogenetic observation on species A and B of the *Anopheles gambiae* species complex. *Parassitologia*, **9**, 73-78.
- Coluzzi, M., Sabatini, A., della Torre, A., Di Deco, M.A., Petrarca, V. (2002) A polytene chromosome analysis of the *Anopheles gambiae* species complex. *Science Express Report*, Oct 2002 4 pages (published online).
- Costantini, C., Sagnon, N.F., Ilboudo-Sanogo, E., Coluzzi, M., Boccolini, D. (1999) Chromosomal and bionomic heterogeneities suggest incipient speciation in *Anopheles funestus* from Burkina Faso. *Parassitologia* , **41**:595-611.
- Dabiré, K. R., Baldet, T., Diabaté, A., Dia, I., Costantini, C., Cohet, A., Guiguemdé, T. R., Fontenille, D., (2007) *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae) in a Humid Savannah Area of Western Burkina Faso: Bionomics, Insecticide Resistance Status, and Role in Malaria Transmission. *J. Med. Entomol* **44** (6), 990-997
- Della Torre, A., Costantini, C., Besansky, N., Caccone, A., Petrarca, V., Powell, J.R., Coluzzi, M., (2002). Speciation within *Anopheles gambiae* – the glass is half full. *Science*, **298**: 115-117.
- Della Torre, A., Tu, Z., Petrarca, V., (2005). On the distribution and genetic differentiation of *Anopheles gambiae* ss molecular forms. *Insect Bioch. Mol. Biol.* **35**: 7055-7069
- Dia, I., Lochouart, L., Boccolini, D., Costantini, C., Fontenille, D. (2000) Spatial and temporal variations of the chromosomal inversion polymorphism of *Anopheles funestus*. *Senegal. Parasite* **7**, 179-184.
- Diabate, A., Dabire, K. R., Kim, E., Dalton, R., Millogo, N., Baldet, T., Simard, F., Gimnig, J. E., Hawley, A. W., Lehmann, T. (2005) Larval Development of the Molecular Forms of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) in Different Habitats: A Transplantation Experiment. *J. Med. Entomol.* **42**(4): 548-553
- Direction des études et de la planification, annuaire statistique/santé 2006, Mai 2007
- Evans, A. (1938) Mosquitoes of the Ethiopian Region.II. *British Museum of Natural History*
- Favia, G., Lanfrancotti, A., Spanos, L., Sidén-Kiamos, I., Louis, C (2001) Molecular characterisation of ribosomal polymorphisms discriminating among chromosomal forms of *Anopheles gambiae* s.s. *Insect Mol Biol.* **10**, 19-30

- Frizzi, G., Holstein, M., (1956). Etude cytogénétique d'*Anopheles gambiae*. *Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé*, **15**, 425-435.
- Gillies, M.T., Coetzee, M. (1987) A Supplement to the Anophelinae of Africa South of the Sahara. *South African Institute for Medical Research, Johannesburg*.
- Gillies, M.T., De Meillon, B. (1968) The Anophelinae of Africa South of the Sahara. *South African Institute for Medical Research, Johannesburg*.
- Gimnig, J. E., Ombok, M., Kamau, L., Halley, W. (2001). Characteristics of larval anopheline (Diptera: Culicidae) habitats in western Kenya. *J. Med. Entomol.* **38**: 282-288.
- Green, C.A., (1982). Cladistic analysis of chromosome data (Anopheles (Cellia) Myzomyia). *Journal of Heredity*. **73**, 2-11
- Green, C.A., Hunt, R.H. (1980) Interpretation of variation in ovarian polytene chromosomes of *Anopheles funestus* Giles, *A. parensis* Gillies, and *A. aruni*? *Genetica* **51**, 187-195.
- Guelbeogo, W. M. (2004). Variabilité génétique et bio-écologie chez le moustique vecteur *Anopheles funestus* Giles, (Diptera : Culicidae), vecteur de paludisme au Burkina Faso, Thèse de doctorat, Université de Ouagadougou, 162 pages
- Guelbeogo, W. M., Grushko O., Boccolini, D., Ouedraogo, P. A., Besansky, N.J., Sagnon, NF., Costantini, C., (2005) Chromosomal evidence of incipient speciation in the Afrotropical malaria mosquito *Anopheles funestus*. *Med. Vet. Entomol.* **19**, 458- 469.
- Hackett, B.J., Gimnig, J., Guelbeogo, W., Costantini, C., Koekemoer, L.L., Coetzee, M., Collins, F.H., Besansky, N.J., (2000). Ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS2) sequences differentiate *Anopheles funestus* and *Anopheles rivulorum* and uncover a cryptic taxon. *Insect Molecular Biology*: **9**, 369-374.
- Hamon, J., Sales, S., Venard, P., Coz, J., Brengues, J., 1968. Présence dans le Sud-Ouest de la Haute-Volta de populations d'*Anopheles funestus* Giles résistantes à la dieldrine. *Med. Trop.*, **28**: 221-226
- Harbach, R (1994). Review of the internal classification of the genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): the foundation for comparative systematics and phylogenetic research. *Bull Entomol Res* : **84**, 331-42.
- Harbach, R. E., (2004) The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships *Bulletin of Entomological Research* **94**, 537-553
- Hargreaves, K., Koekemoer, L.L., Brooke, B.D., Hunt, R.H., Mthembu, J., Coetzee, M. (2000) *Anopheles funestus* resistant to pyrethroid insecticides in South Africa. *Med Vet Entomol* **14**, 181-189
- Holstein, M., (1949). Guide pratique de l'anophélisme en A.O.F. 55p

- Knight, K.L., Stone, A. (1977) A catalog of the mosquitoes of the world. The Thomas Say Foundation.
- Koekemoer, L. L., Kamau, L., Hunt, R. H., Coetzee, M., (2002) A cocktail polymerase chain reaction assay to identify members of the *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae) group. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **6**, 804-811.
- Lochouart, L., Dia, I., Boccolini, D., Coluzzi, M., Fontenille, D., (1998) Bionomical and cytogenetic heterogeneities of *Anopheles funestus* in Senegal. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **92**, 607- 612.
- Michel, A.P., Guelbeogo, W.M, Grushko, O., Schemerhorn, B.J, Kern, M., Willard, M.B., Sagnon, N., Costantini, C., Besansky, N.J, (2005): Molecular differentiation between chromosomally defined incipient species of *Anopheles funestus*. *Insect Mol Biol* , **14**(4):375-387.
- Muturi, E.J., Muriu, S., Shililu, J., Mwangangi, J., Jacob, B. G., Mbogo, C., Githure, J., Novak, R. J. (2008) Effect of Rice Cultivation on Malaria Transmission in Central Kenya. *Am J Trop Med Hyg* **78**, 270-275.
- Pages, F., Orlandi-Pradines, E., Corbel, V. (2007) Vecteurs du paludisme : biologie, diversité, contrôle et protection individuelle Vectors of malaria: biology, diversity, prevention, and individual protection. *Médecine et maladies infectieuses* **37**, 153-161
- Pape, T. (1992) Cladistic analyses of mosquito chromosome data in *Anopheles* subgenus *Cellia* (Diptera: Culicidae). *Mosq syst* **24**. 1-11
- Reid, J. A., Knight, K.L., (1961) Classification within the subgenus *Anopheles* (Diptera, Culicidae). *An trop Med Parasitol* **55**. 474-488
- Rodhain, F., Perez C. (1985). Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. éditeur Maloine s. a. Paris. France 458p
- Sharakhov, I.V., Serazin, A.C., Grushko, O.G., Dana, A., Lobo, N., Hillenmeyer, M.E., Westerman, R., Romero-Severson J., Costantini, C., Sagnon, N., Collins, F.H., Besansky, N.J., (2002) Inversions and gene order shuffling in *Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus*. *Science* **298**, 182-185.
- Toure, Y. T. (1982) Study of *Anopheles funestus* and *Anopheles gambiae s.l.* susceptibility to insecticides in rural area of sudan savanna in Mali. *Cahiers ORSTOM, série Entomologie Médicale et Parasitologie* **20**. 125-131
- Toure, Y. T., Petrarca, V., Traoré, S.F., Coulibaly, A., Maïga, H.M., Sankaré, O., Sow, M., Di Deco, M.A., Coluzzi, M. (1998) The distribution and inversion polymorphism of

chromosomally recognised taxa of the *Anopheles gambiae* complex in Mali, West Africa.
Parasitologia **40**, 477-511.

WHO 2005. World malaria Report. *RBM/WHO/UNICEF, Geneva*, 120p

RESUME

Des études cytogénétiques ont montré l'existence au sein des populations d'*An. funestus* de deux entités chromosomiques nommées «Kiribina» et «Folonzo» bien structurées au niveau de leur bio-écologie suggérant une spéciation en cours. Pour mieux comprendre l'écologie larvaire de ces deux formes chromosomiques en terme d'exploitation du milieu, nous avons effectué des expériences de transplantation larvaire dans la zone soudanienne à l'Ouest du Burkina Faso. Nous avons comparé le taux d'émergence et la durée du développement larvaire des deux formes chromosomiques en Septembre/Octobre et Novembre-Janvier en 2006 et 2007 dans deux sites écologiquement différents: la Vallée du Kou, site rizicole irrigué, et Soumouso, un village de savane humide.

Indépendamment du type de gîte et de la forme chromosomique, le taux d'émergence global était plus élevé à Soumouso qu'à la Vallée du Kou. Comparant les types de gîte (casier rizicole vs retenue d'eau) dans les deux localités, le taux d'émergence des deux formes chromosomiques était similaire dans les casiers rizicoles. Cependant dans le gîte à étendue d'eau, le taux d'émergence de la forme «Folonzo» était plus élevé à Soumouso (43% vs 15% pour la forme «Kiribina») tandis que celui-ci était plus élevé pour la forme «Kiribina» (35% vs 18%) à la Vallée du Kou pour le même type de gîte.

Quelle que soit la localité et le type de gîte, le taux d'émergence de la forme «Folonzo» était plus élevé que celui de «Kiribina» en saison pluvieuse chaude (9% vs 1% à la Vallée et 43% vs 15% à Soumouso) et inversement la forme «Kiribina» a présenté un taux d'émergence plus élevé en saison sèche et froide (23% vs 9% à la Vallée, 68% vs 15% à Soumouso). Le développement larvaire de la forme «Folonzo» était plus rapide que celui de «Kiribina» quelque soit la localité, le type de gîte et la période. Globalement le temps de développement larvaire a été plus rapide en saison pluvieuse et plus lent en saison sèche et froide quelque soit la forme chromosomique considérée.

Ces travaux ont donc permis de confirmer que les deux formes chromosomiques auraient une bio-écologie différente traduite par une exploitation différentielle des gîtes larvaires. Cela expliquerait la structuration naturelle de leurs populations déjà révélée par des études antérieures renforçant l'hypothèse d'isolement reproductif entre ces deux formes.

Mots clés: *Anopheles funestus*, formes chromosomiques, «Folonzo», «Kiribina», écologie larvaire, Burkina Faso.