



**HAL**  
open science

**Traits d'histoire de vie et démographie du moustique  
Aedes caspius (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae):  
impact des traitements larvicides.**

Alexandre Carron

► **To cite this version:**

Alexandre Carron. Traits d'histoire de vie et démographie du moustique *Aedes caspius* (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae): impact des traitements larvicides.. *Ecologie, Environnement*. Université Paul Valéry - Montpellier III, 2007. Français. NNT: . tel-00202734

**HAL Id: tel-00202734**

**<https://theses.hal.science/tel-00202734>**

Submitted on 8 Jan 2008

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.





*Comme le sait tout praticien, la recherche coûte tant de temps et d'efforts qu'au moment où elle cesse d'être distrayante, cela ne vaut plus la peine de continuer. Les scientifiques mènent une vie de plaisirs !*

Stephen Jay Gould

Un hérisson dans la tempête, 1987



## Remerciements

"Mais ce que j'ai dit ou dirai ne pourra jamais que suggérer le nombre et la nature de mes obligations personnelles envers tous ceux dont les suggestions et les critiques ont, à un moment ou un autre, soutenu et dirigé mon développement intellectuel", T.S. Kuhn (1983).

Salutations à toi, lecteur ! Ici débute mon mémoire, mais sache que pour moi c'est ici que finit ma rédaction. Que de joie d'ailleurs de terminer par ces remerciements! Essayons donc de rendre à César ce qui appartient à César.

Tout d'abord, je tiens à remercier mes deux courageux directeurs de thèse, Gérard Duvallat et Jean-Pierre Hervé. Gérard, vous avez toujours su être présent pour répondre à mes sollicitations et avez fait preuve de beaucoup d'attentions. Quand à Jean-Pierre, que dire à part merci d'avoir jonglé entre les épidémies en Bolivie, les emails insistants et les inquiétudes d'un thésard pas toujours sûr de lui. Ensuite, je me dois de présenter mes respects et ma gratitude envers les membres de mon comité de thèse pour leurs conseils avisés et leurs remarques des plus pertinentes. Merci donc à Messieurs Gérard Metge, Francis Schaffner (*Schaffnurus robustus*, je te salue), Michel Raymond, Dominique J. Bicout, Jean Cousserans et à Madame Christina Nielsen-LeRoux. Un merci particulier au Professeur Rioux pour ces agréables moments passés à discuter philosophie, démarche hypothético-déductive par falsification et "-ismes" en tout genre. Je remercie aussi vivement les membres de mon jury, Frank Cézilly, Yannis Michalakis, Michel Marjolet, Didier Fontenille et Gérard Metge. Frank pour avoir accepté de juger de l'évolution d'un ancien élève, Yannis pour gérer un "énervé" de la pesée de moustiques, Michel Marjolet pour apporter une vision de connaisseur de l'EID, Didier Fontenille pour supporter un "acharné" des collaborations IRD-EID et Gérard Metge pour les dérangements de dernières minutes et pour la connaissance des *caspius* locaux.

Maintenant, un mot pour mes collègues de l'EID Méditerranée. Tout d'abord, merci à Monsieur le Président Christian Jean pour m'avoir autorisé à réaliser ma thèse dans le cadre de ma formation continue. Merci à Monsieur le Directeur Général Didier Amadou pour avoir toujours su être à l'écoute et pour m'avoir apporté le soutien technique et logistique dont j'avais besoin. Merci à Christophe Lagneau, mon directeur de laboratoire et aussi directeur de thèse officieux, pour sa bonne humeur, ses remarques avisées et ses recadrages nécessaires. Merci à la Direction des Ressources Humaines pour l'organisation et la gestion de mon armée de stagiaires. Ensuite, merci à Michel Babinot, personne incontournable et essentielle, pour ces longues discussions à bâtons rompus sur les moustiques, sur la meilleur façon de les contrôler et sur les techniques de pêche méditerranéenne. Vos enseignements ne resteront pas dans les tréfonds de ma mémoire. Merci à Olivier Bardin et Dominique Gindre pour les corrections et commentaires. Merci aux chefs d'agences et aux opérationnels pour m'avoir aidé à trouver de belles confitures de larves et pour avoir accepté les sollicitations d'un petit jeunot à des moments bien incongrus. Merci à Odile Moussiégt ; que de longues heures passées à corriger mon anglais et à retrouver des trésors bibliographiques! Je souhaite adresser à Alain Jacquinet ma sympathie pour les

moments de discussions lors des pauses déjeuner (protégeons les pies). Merci à tous mes collègues du laboratoire, notre Gérard Vigo national, Jean-Louis Jullien, Bruno Gaven, Sandie Bellec, Michel Tolosa, Charles Jeannin, Marie-Laure Setier-Rio, Bruno Mathieu et tous les autres. Ce serait faire preuve d'ingratitude de ne pas remercier Claire Duchet de m'avoir présenté Gérard Duvallat lors du colloque Life. Merci enfin à Sandrine Bouis et Stéphanie Dimiglio, mes deux mamans, sans qui mes captures d'adultes, mes conférences et mes déplacements n'auraient pu se faire.

Après mes collègues internes, notons l'aide apporté par les "extérieurs". Merci à l'IRD de m'avoir accueilli dans ses locaux pour de longues heures de pesées, de réunions et discussions. Merci à toute l'équipe du GEMI, en particulier Phil Agnew, Christine et Valérie. N'oublions pas les autres laboratoires incarnés par Myriam Haijaj (dur dur de publier), Thomas Balenghien (le toujours calme et sympathique "matheux"), Manuel Etienne (vive les stats), Pierrick Labbé (que la force soit avec toi), Nicolas Ponçon (vous avez dit Anophèles ?), les thésards du SERL 2007 (à fond, à fond, à fond) et tous les autres que j'oublie sûrement. N'oublions pas mon armée de stagiaires, sans eux 80% du travail de laboratoire n'aurait été fait. Donc merci à Luckana Singkaew (nanny na), Caroline Angélard (oui, j'ai bien dormi), Laurence Bichaud (des larves encore des larves), Nelly Platz (sea, sex and eggs), Balbine Houndenou (le calme et la sérénité) et Hervé Lepissa (ne dort jamais).

Sur un plan plus personnel, merci aux Kuhn, Dawkins, Darwin, Gould, Lorenz, Cuvier, Monod, Jacob et confrères pour ces lectures de chevet pour insomniaques. J'ai souvent eu des moments de dépit mais aussi des moments de grandes émotions après des événements heuristiques. La lecture du livre de Thomas S. Kuhn fut l'un de ces événements et je l'en remercie vivement. Enfin, je peux remercier ma femme, Isabelle, pour m'avoir supporté et soutenu lors de ces quatre années de labeur. Il n'a pas été évident d'arriver à composer avec une personne qui se lève en pleine nuit pour aller coucher des idées sur le papier ou qui interrompt une conversation pour aller vérifier une info sur le net. Je remercie aussi ma famille pour avoir pris sa part de désagréments dus à tant d'enthousiasme stressant. Merci à mes amis pour les moments de détente et de rires, en particulier à Bad (Oh! Mon Maître, Seigneur de la CarpoTanche, moult remerciements !!!) et Marie (la pêchou des mioussoux), Den's et Céline (au pays où il ne fait jamais chaud), The Fab (le chat noir de service), Alouexé (à roulettes), Marie et Nicolas (Haribo et Cie), Anne et David (les nollandais), Martine et Yaël (Do you spik anglighe ?), Steph (il est où mon corso) et Sundar (l'épicurien en puissance). En dernier remerciement personnel, je tenais à exprimer mon bonheur pour cet enfant qui arrive...

Pour finir, merci à tous les *caspius* pour les jours, nuits, dimanches et jours fériés, passés à les surveiller et merci pour vos douces attentions sanguines.

Enfin, merci à toi lecteur, pour l'intérêt porté à ce mémoire.

## Liste des travaux

### Publications

- Nielsen-LeRoux C., Rao D.R., Murphy J.R., **Carron A.**, Mani T.R., Hamon S. et Mulla M.S. (2001) Various levels of cross-resistance to *Bacillus sphaericus* strains in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) colonies resistant to *B. sphaericus* strain 2362. *Applied and Environmental Microbiology*. **67** (11) : 5049-5054.
- Carron A.**, Duchet C., Gaven B. et Lagneau C. (2003) An easy field method for estimating the abundance of culicid larval instars. *Journal of the American Mosquito Control Association*. **19** (4) : 353-360.
- Hajaj M., **Carron A.**, Deleuze J., Gaven B., Setier-Rio M-L., Vigo G., Thiéry I., Nielsen-LeRoux C. et Lagneau C. (2005) Low persistence of *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* spores in four mosquito biotopes of a salt marsh in southern France. *Microbial Ecology*, **50** (4) : 475-487.
- Sarrafzadeh M.H., Guiraud J-P., Lagneau C., Gaven B., **Carron A.** et Navarro J-M. (2005) Growth, sporulation, delta-endotoxins synthesis, and toxicity during culture of *Bacillus thuringiensis* H14. *Current Microbiology* **51** (2) : 75-81
- Carron A.**, Angelard C., Boulet A. et Lagneau C. (2007) Christophers' stage durations and effect of interrupted blood meal in the mosquito *Aedes caspius* (Diptera: Culicidae). *Parasite* **14** : 225-229
- Carron A.**, Bichaud L., Platz N et Bicout D.J. Life history traits of *Aedes caspius* (Diptera: Culicidae): a laboratory study of larval stages. *Bulletin of Entomological Research*. Sous presse.
- Carron A.** Correlation between wing size and dry body weight in male and female *Aedes caspius* (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae). *Journal of the European Mosquito Control Association*. Sous presse.
- Carron A.**, Bichaud L., Platz N et Bicout D.J. Survivorship characteristics of the mosquito *Aedes caspius* adults from southern France under laboratory conditions. *Medical and Veterinary Entomology*. Soumis.
- Balenghien T., **Carron A.**, Sinègre G. et Bicout D.J. Mosquito densities predicted by rainfalls: population dynamics model for *Aedes caspius* (Pallas, 1771). En preparation.

## Congrès et séminaires

- Carron A.**, Deleuze J., Duchet C., Setier-Rio M-L., Jullien J-L., Gaven B., Vigo G. et Lagneau C. An easy field method for estimating the abundance of culicid larval instars. Poster 3<sup>e</sup> congrès international *Society for Vector Ecology*, Barcelone (Espagne), 2001.
- Carron A.** et Lagneau C. A frequency index method used to determine cohorts, life span and impact of larvicide treatments on a *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) population. Exposé 3<sup>e</sup> *European Mosquito Control Association* workshop, Osijek (Croatie), 2004.
- Carron A.** Life history traits and demography of the mosquito *Ochlerotatus caspius* (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae): the impact of larvicide treatments. Exposé 2<sup>e</sup> *Rencontres "Ecologie et Comportement"*, Strasbourg, 2006.
- Carron A.** et Lagneau C. Survival of *Ochlerotatus caspius* (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae) pupae in mud: an adaptation to temporary breeding sites. Poster 15<sup>e</sup> congrès européen *Society of Vector Ecology*, Serres (Grèce), 2006.
- Carron A.**, Platz N., Bichaud L. et Lagneau C. Gonotrophic cycles of *Ochlerotatus caspius* (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae): number of cycles and their duration, and variations in fecundity. Poster 15<sup>e</sup> congrès européen *Society of Vector Ecology*, Serres (Grèce), 2006.
- Carron A.** Traits d'histoire de vie et démographie du moustique *Ochlerotatus caspius* (Pallas, 1771) (Diptera : Culicidae) : impact des traitements larvicides. Exposé séminaire du *Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive*, Montpellier, 2006.
- Carron A.** Traits d'histoire de vie et démographie du moustique *Ochlerotatus caspius* (Pallas, 1771) (Diptera : Culicidae) : impact des traitements larvicides. Exposé séminaire *Génétique et Evolution des Maladies Infectieuses IRD*, Montpellier, 2006.
- Carron A.** Traits d'histoire de vie et démographie du moustique *Ochlerotatus caspius* (Pallas, 1771) (Diptera : Culicidae) : impact des traitements larvicides. Exposé journée scientifique du *Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive*, Montpellier, 2007.
- Carron A.**, Hervé J-P., Duvallet G. et Lagneau C. Life history traits and demography of *Aedes caspius* (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae): impact of larvicide treatments and density dependence. Exposé 4<sup>e</sup> *European Mosquito Control Association* workshop, Prague (République Tchèque), 2007.

# Table des matières

<b>INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
UN PEU DE PHILOSOPHIE	3
Science normale et paradigme	3
La démarche hypothético-déductive	4
La téléonomie de l'évolution	4
DEMOGRAPHIE ET DYNAMIQUE DES POPULATIONS	5
De l'individu à la population	5
La démographie, un pivot de la compréhension de l'évolution	6
Applications concrètes	6
Le problème "moustique"	7
La lutte en France	7
Le hic	8
Objectifs	9
<b>Chapitre I. <i>Aedes caspius</i> : POSITION SYSTEMATIQUE, CYCLE DE VIE ET GITES</b>	
<b>PRE-IMAGINAUX</b>	<b>11</b>
I.1. RAPPELS GENERAUX SUR <i>Aedes caspius</i>	13
I.1.1. Position systématique	13
I.1.2. Un vif débat	13
I.1.3. Répartition géographique et identification morphologique d' <i>Aedes caspius</i>	14
I.1.4. Cycle de développement	16
I.1.5. Ecologie larvaire	17
I.1.6. Parasitisme et prédation	17
I.1.7. Rôle vecteur	18
I.2. ETUDE DU CYCLE DE VIE D' <i>Aedes caspius</i>	19
I.2.1. Une approche mixte	19
I.2.2. Le cycle décomposé en laboratoire	19
I.2.3. Le cycle recomposé sur le terrain	19
I.2.4. Suivis et synthèses	19
I.3. PRESENTATION DES SITES D'ETUDES	21
I.3.1. Présentation générale	21
I.3.2. Climatologie	21
I.3.3. Géomorphologie	24
I.3.4. Groupements végétaux	24
I.3.5. Faune associée	25
I.3.6. Historique des mises en eau du gîte de Mourgues	26
I.3.7. Conclusion	27

<b>Chapitre II. LES ŒUFS : DE LA VIE AERIENNE A LA VIE AQUATIQUE</b>	<b>29</b>
II.1. INTRODUCTION	31
II.2. MORPHOLOGIE ET IDENTIFICATION DES ŒUFS D' <i>AE. CASPIUS</i>	31
II.3. CHOIX DES LIEUX DE PONTE ET DISTRIBUTION SPATIALE DES ŒUFS	32
II.4. EMBRYOGENESE ET ECLOSION	32
II.5. DIAPAUSE ET ADAPTATION A L'ENVIRONNEMENT TEMPORAIRE	33
II.6. METHODOLOGIE D'ETUDE DES ŒUFS	33
II.7. CONCLUSION	34
<b>Chapitre III. LA PHASE AQUATIQUE : DEVELOPPEMENT LARVAIRE ET NYMPHAL</b>	<b>35</b>
III.1. UNE VIE DE "LARVE" DE LABORATOIRE	37
III.1.1. Traits d'histoire de vie des stades pré-imaginaux en laboratoire	37
III.1.2. To eat or not to eat?	48
III.2. ETUDE SUR LE TERRAIN : LES SUIVIS LARVAIRES	50
III.2.1. Mise au point de l'outil : une méthode de terrain simple pour estimer l'abondance des différents stades larvaires	50
III.2.2. Les suivis larvaires	59
III.3. SYNTHESE SUR LES LARVES	69
III.3.1. Rappel des résultats	69
III.3.2. Les larves ont du succès	69
III.3.3. Le lièvre et la tortue	69
III.3.4. Des arguments en faveur d'un effet de la densité	69
<b>Chapitre IV. L'EMERGENCE : TRANSITION VERS LA VIE AERIENNE</b>	<b>71</b>
IV.1. UNE ADAPTATION AUX GITES TEMPORAIRES : SURVIE DES NYMPHES LORS DE L'ASSECHEMENT DES GITES	73
IV.1.1. Matériels et méthodes	73
IV.1.2. Résultats et discussion	74
IV.2. SEX-RATIO ET DISTORSION	76
IV.2.1. Evaluation de la sex-ratio en fonction de la quantité de nourriture et de la densité	76
IV.2.2. Sex-ratio à l'émergence sur le terrain	78
IV.2.3. Discussion	82
IV.2.4. Une conclusion bien difficile	87
IV.3. DETERMINISME DE LA TAILLE ET DU POIDS DES ADULTES	89
IV.3.1. Corrélation entre la longueur de l'aile et le poids	89
IV.3.2. Taille des adultes en fonction de l'origine des pontes	95
IV.3.3. Influence des gîtes sur le poids des adultes	99

IV.4. SYNTHÈSE SUR L'ÉMERGENCE	107
IV.4.1. L'adaptation aux milieux temporaires	107
IV.4.2. Dominés <i>versus</i> dominants	107
IV.4.3. Distorsion de sex-ratio	107
IV.4.4. Émergence et densité dépendance	107
<b>Chapitre V. LA PHASE AÉRIENNE : L'ADULTE BOUCLE LA BOUCLE</b>	<b>109</b>
V.1. ÉTUDE DU CYCLE TROPHOGONIQUE D' <i>AE. CASPIUS</i>	111
V.1.1. Durée des différents stades de Christopher et effets des repas interrompus sur le déroulement du cycle	111
V.1.2. Durée des cycles trophogoniques et fécondité	117
V.2. LONGÉVITÉ ET TAUX DE SURVIE	126
V.2.1. Longévité en conditions de laboratoire	126
V.2.2. Variation du taux de parité et estimation de la survie sur le terrain	134
V.3. FLUCTUATIONS DE LA DENSITÉ EN FONCTION DES PLUIES : MISE AU POINT D'UN MODÈLE PREDICTIF	145
V.4. SYNTHÈSE SUR LES ADULTES	156
V.4.1. Principaux résultats	156
V.4.2. Des longévités similaires en laboratoire et sur le terrain	156
V.4.3. L'hypothèse de fécondité densité dépendante	156
<b>SYNTHÈSE, CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES</b>	<b>159</b>
SYNTHÈSE GÉNÉRALE	161
Rappel de la problématique	161
Rappel des résultats	161
Critiques générales	161
Un effet densité dépendance prépondérant	162
Le coût de la reproduction	163
Taux d'accroissement des populations	163
La compensation de la démoustication	165
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	167
Pertinence des traits	167
"Et maintenant, que vais-je faire ?" (Gilbert Bécaud)	167
Un dernier mot	168
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>171</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>189</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1-1</b> : Répartition géographique d' <i>Aedes caspius</i> . .....	15
<b>Tableau 3-1</b> : Résultats des comparaisons deux à deux des temps de transit entre les stades larvaires. ....	49
<b>Tableau 3-2</b> : Résultats des tests de Shapiro-Wilk d'ajustement à la normalité pour les trois variables dépendantes morta, tdev et probaP. ....	62
<b>Tableau 3-3</b> : Résultats du test global de la MANOVA pour les quatre statistiques multivariées. ....	63
<b>Tableau 3-4</b> : Résultats des ANOVA univariées pour les trois variables dépendantes morta, probaP et tdev. ....	64
<b>Tableau 3-5</b> : Résultats des deux MANOVA qui ne prennent pas en compte soit la variable explicative gîte soit la variable densité. ....	66
<b>Tableau 4-1</b> : Résultat de l'ANCOVA de la sex-ratio en fonction du gîte, du logarithme de la densité larvaire initiale et de l'interaction du gîte avec le logarithme de la densité pour les données de laboratoire.....	77
<b>Tableau 4-2</b> : Résultat des ANOVA hiérarchisées pour l'étude de la variation temporelle de la sex-ratio au cours d'une émergence. ....	80
<b>Tableau 4-3</b> : Sex-ratio calculée pour chaque gîte et chaque mise en eau en cumulant les cages d'émergence. ....	80
<b>Tableau 4-4</b> : Résultat de l'ANCOVA de la sex-ratio cumulée par gîte et par cage en fonction du gîte et de la densité larvaire initiale pour les données de terrain.....	82
<b>Tableau 4-5</b> : Synthèse bibliographique des facteurs de distorsion de la sex-ratio. ....	85
<b>Tableau 4-6</b> : Densité larvaire utilisée pour l'expérimentation et résultats des tests de Shapiro-Wilk pour chaque gîte et chaque densité (nb larves / l). ....	96
<b>Tableau 4-7</b> : Résultat de l'analyse de covariance. ....	97
<b>Tableau 4-8</b> : Moyenne et erreur standard du poids pour les densités larvaires similaires des deux gîtes MO et PDG. ....	100
<b>Tableau 4-9</b> : Moyenne et erreur standard du temps de développement et du poids par gîte et par sexe. .	101
<b>Tableau 4-10</b> : Résultats du test global de la MANOVA pour les quatre statistiques multivariées. ....	101
<b>Tableau 4-11</b> : Résultats des ANOVA univariées pour le temps de développement et le poids. ....	102
<b>Tableau 5-1</b> : Résultats de la comparaison de la durée du cycle trophogonique entre les cycles et les gîtes. ....	119
<b>Tableau 5-2</b> : Résultats de l'ANOVA à deux facteurs de la durée du cycle trophogonique en fonction du gîte et du cycle sans les données du premier cycle trophogonique. ....	120
<b>Tableau 5-3</b> : Résultats de la comparaison de la fécondité entre les cycles et les gîtes.....	120
<b>Tableau 5-4</b> : Résultats de l'ANOVA à deux facteurs pour la comparaison de la fécondité entre les générations et les gîtes. ....	121

<b>Tableau 5-5</b> : Moyenne de la durée du premier cycle trophogonique pour plusieurs espèces des genres <i>Aedes</i> , <i>Anopheles</i> , <i>Culex</i> , <i>Haemagogus</i> et <i>Ochlerotatus</i> .....	122
<b>Tableau 5-6</b> : Moyenne de la fécondité au cours du premier cycle trophogonique pour plusieurs espèces du genre <i>Aedes</i> , <i>Anopheles</i> , <i>Culex</i> et <i>Ochlerotatus</i> .....	124
<b>Tableau 5-7</b> : Synthèse des résultats des captures et estimations des taux de parité effectuées sur les gîtes de MO et de PDG pour les deux années 2004 et 2005.....	136
<b>Tableau 5-8</b> : Résultats des régressions linéaires du taux de parité en fonction de la température et de l'humidité relative. ....	138
<b>Tableau 6-1</b> : Synthèse des calculs de $l_x$ , taux de survie des femelles au début de cycle trophogonique $x$ , et $m_x$ , nombre de femelles nées des femelles ayant pondu au cours du cycle trophogonique $x$ .....	165

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Zone d'action de l'EID Méditerranée. ....	8
<b>Figure 1-1</b> : Répartition par pays d' <i>Ae. caspius</i> sur le continent européen. Reproduit avec la permission de Schaffner <i>et al.</i> (2001). ....	14
<b>Figure 1-2</b> : Localisation des deux gîtes d'études.....	21
<b>Figure 1-3</b> : Climagramme pluviothermique de Sauvage (1963) donnant les caractéristiques climatiques des deux années d'études pour les deux gîtes MO (rond) et PDG (carré). ....	22
<b>Figure 1-4</b> : Rose des vents pour a) MO et b) PDG. Ces graphiques ont été réalisés à l'aide du logiciel R (R Development Core Team, 2005). ....	23
<b>Figure 1-5</b> : Précipitations (en mm) et températures minimales et maximales (en °C) pendant la période 2004 - 2005 sur a) le gîte de MO (station Météo France d'Aigues-Mortes) et b) le gîte de PDG (Station Météo France des Saintes-Maries-de-la-Mer).....	24
<b>Figure 1-6</b> : Photo aérienne de MO et carte des groupements végétaux. ....	25
<b>Figure 1-7</b> : Photo aérienne de PDG et carte de groupements végétaux. ....	25
<b>Figure 1-8</b> : Cumul du nombre de mises en eau pour le gîte de MO et moyenne et erreur standard des précipitations dans le Gard pour les mois de mars à octobre (période de présence d' <i>Ae. caspius</i> ) entre 1974 et 2004. ....	26
<b>Figure 2-1</b> : Ornementation chorionique de l'œuf d' <i>Ae. caspius</i> vu en lumière réfléchie (contraste interférentiel).....	31
<b>Figure 2-2</b> : Schématisation de la phase œuf du cycle de vie. ....	34
<b>Figure 3-1</b> : Moyenne et erreur standard des temps de transit pour chaque stade larvaire. ....	49
<b>Figure 3-2</b> : Illustration de la hiérarchie dans les données de suivi larvaire sur le terrain.....	61
<b>Figure 3-3</b> : Moyenne et erreur standard de la mortalité en fonction de la date de suivi pour chaque mise en eau pour a) le gîte de MO et b) le gîte de PDG.....	64
<b>Figure 3-4</b> : Moyenne et erreur standard de la probabilité de passage en fonction du groupe de stades et du gîte. ....	64
<b>Figure 3-5</b> : Moyenne et erreur standard du temps de développement en fonction du groupe de stades et du gîte. ....	65
<b>Figure 3-6</b> : Moyenne et erreur standard pour chaque gîte de a) la mortalité, b) la probabilité de passage et c) le temps de développement. ....	66
<b>Figure 3-7</b> : Schématisation de la phase aquatique du cycle de vie. ....	70
<b>Figure 4-1</b> : Logarithme du nombre d'adultes émergés en fonction du temps. ....	74
<b>Figure 4-2</b> : Moyenne et erreur standard du temps de développement des nymphes pour les mises en eau des mois d'avril et de mai. ....	75

<b>Figure 4-3</b> : Pourcentage de chaque sexe par rapport au nombre total d'émergents et sex-ratio en fonction de la quantité de nourriture.....	78
<b>Figure 4-4</b> : Sex-ratio en fonction de la densité larvaire pour le gîte de MO (rond bleu) et le gîte de PDG (triangle rouge). .....	78
<b>Figure 4-5</b> : Exemple de représentation de la hiérarchie dans les données de suivi d'émergence sur le terrain. ....	79
<b>Figure 4-6</b> : Variation de la sex-ratio en fonction du temps de développement pour le gîte de MO (rond) et le gîte de PDG (triangle). ....	81
<b>Figure 4-7</b> : Sex-ratio en fonction de la densité larvaire pour le gîte de MO (rond bleu) et pour le gîte de PDG (triangle rouge). ....	81
<b>Figure 4-8</b> : Plan de base de la nervation alaire des culicidés. ....	96
<b>Figure 4-9</b> : Régression de la taille de l'aile (en mm) avec la densité larvaire (en nombre de larves par litre). ....	97
<b>Figure 4-10</b> : Exemple de représentation de la hiérarchie dans les données de suivi d'émergence sur le terrain. ....	100
<b>Figure 4-11</b> : Moyenne et erreur standard du temps de développement en fonction de la densité larvaire pour le gîte de MO et de PDG.....	102
<b>Figure 4-12</b> : Moyenne et erreur standard du poids en fonction de la densité larvaire pour a) le gîte de MO et b) le gîte de PDG. ....	103
<b>Figure 4-13</b> : Variation selon la densité larvaire initiale, du coefficient de corrélation du poids en fonction du temps de développement pour a) le gîte de MO et b) le gîte de PDG. ....	103
<b>Figure 4-14</b> : Variation selon le logarithme de la densité, du coefficient de corrélation du poids en fonction du temps de développement. ....	104
<b>Figure 4-15</b> : Schématisation de l'émergence. ....	108
<b>Figure 5-1</b> : Moyenne et erreur standard de la durée des cycles trophogoniques en fonction des cycles successifs pour les femelles du gîte de MO (en noir) et du gîte de PDG (en rouge).....	120
<b>Figure 5-2</b> : Moyenne et erreur standard de la fécondité en fonction des cycles trophogoniques successifs pour les femelles du gîte de MO (en noir) et celle du gîte de PDG (en rouge).....	121
<b>Figure 5-3</b> : Moyenne et erreur standard de la fécondité du premier cycle trophogonique en fonction de la génération pour les femelles du gîte de MO (en noir) et celles du gîte de PDG (en rouge). ....	121
<b>Figure 5-4</b> : Variation de la fécondité en fonction de la durée du cycle trophogonique pour des espèces du genre <i>Aedes</i> , <i>Anopheles</i> et <i>Ochlerotatus</i> . ....	125
<b>Figure 5-5</b> : Photos de trachéoles d'ovaires nullipare (a) et pare (b) chez <i>Ae. caspius</i> . ....	135
<b>Figure 5-6</b> : Exemple d'autocorrélogramme présentant une stationnarité (a) ou une saisonnalité (b). D'après Malgras, 1996 p. 27. ....	136
<b>Figure 5-7</b> : Photos des microorganismes non identifiés trouvés dans les ovaires de certaines femelles d' <i>Ae. caspius</i> capturées sur le terrain. ....	137

<b>Figure 5-8</b> : Variations temporelles du nombre et du taux de parité des femelles d' <i>Ae. caspius</i> capturées sur le gîte de MO pour les années a) 2004 et b) 2005. ....	137
<b>Figure 5-9</b> : Variations temporelles du nombre et du taux de parité des femelles d' <i>Ae. caspius</i> capturées sur le gîte de PDG pour les années a) 2004 et b) 2005. ....	138
<b>Figure 5-10</b> : a) Régression du taux de parité en fonction de la température minimale pendant la durée des captures sur le gîte de PDG pour l'année 2005. b) Variation temporelle de la température minimale sur le gîte de PDG pour l'année 2005. ....	139
<b>Figure 5-11</b> : Autocorrélogrammes du taux de parité pour chaque gîte et chaque année de suivi. ....	139
<b>Figure 5-12</b> : Autocorrélogrammes du nombre de femelles capturées pour chaque gîte et chaque année. ....	140
<b>Figure 5-13</b> : Autocorrélogramme de la fonction d'autocorrélation croisée entre le taux de parité et le nombre de femelles capturées pour chaque gîte et chaque année. ....	141
<b>Figure 5-14</b> : Autocorrélogramme de l'autocorrélation croisée des moyennes mobiles du taux de parité et du nombre de femelles capturées pour chaque gîte et chaque année. ....	142
<b>Figure 5-15</b> : Schématisation de la phase aérienne du cycle de vie. ....	157
<b>Figure 6-1</b> : Synthèse du cycle de vie d' <i>Ae. caspius</i> en laboratoire et sur le terrain. ....	161
<b>Figure 6-2</b> : Diminution de la fécondité entre les cycles successifs pour les femelles de MO et de PDG. ...	163
<b>Figure 6-3</b> : Hypothèse de la compensation de la démoustication. ....	166
<b>Figure 6-4</b> : Schématisation du cycle de vie d' <i>Ae. caspius</i> . ....	169

## Liste des annexes

Note : le premier chiffre renvoi au numéro de chapitre.

<b>Annexe I-1</b> : Clé de détermination des larves des principales espèces de moustiques du littoral méditerranéen français. D'après Sinègre (1979).....	191
<b>Annexe I-2</b> : Clé de détermination des adultes des principales espèces de moustiques du littoral méditerranéen français. D'après Sinègre (1979). ....	193
<b>Annexe I-3</b> : Détail des espèces présentes dans chaque groupement végétal pour les gîtes de MO et PDG. ....	195
<b>Annexe III-1</b> : Calendrier des suivis des mises en eau pour les deux gîtes d'études. ....	197
<b>Annexe III-2</b> : Nombre de points d'échantillonnage par zone pour chaque gîte et chaque mise en eau.....	198
<b>Annexe III-3</b> : Contour de mise en eau et points d'échantillonnages larvaires. ....	199
<b>Annexe III-4</b> : Description méthodologique de la technique non paramétrique de Pontius et al. (1989) pour le calcul du temps de développement larvaire. ....	208
<b>Annexe IV-1</b> : Survival of <i>Ochlerotatus caspius</i> (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae) pupae in mud: an adaptation to temporary breeding sites. ....	209
<b>Annexe IV-2</b> : Contours de mises en eau et emplacement des cages d'émergence. ....	210
<b>Annexe V-1</b> : Gonotrophic cycles of <i>Ochlerotatus caspius</i> (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae): number of cycles and their duration, and variations in fecundity. ....	219



# Introduction

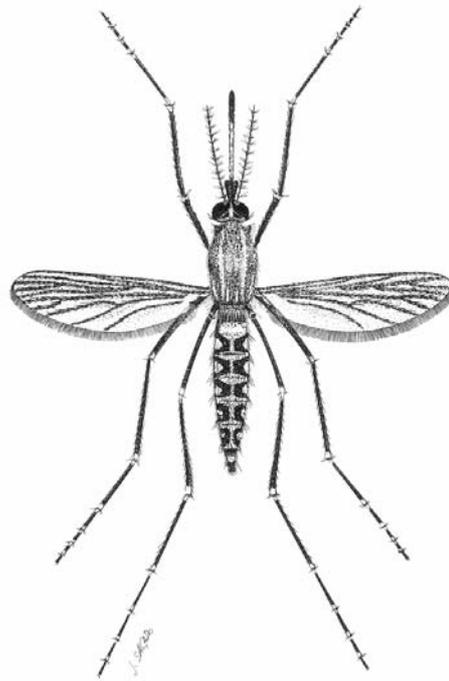


Fig. 3 A - Imago femelle d'*Aedes caspius*.

*Dans le monde du vivant comme ailleurs, il s'agit toujours d' "expliquer du visible compliqué par de l'invisible simple", selon le mot de Jean Perrin.*

François Jacob

La logique du vivant, une histoire de l'hérédité, 1970



## Un peu de philosophie

"Most ecologists do their science without giving much thought to the philosophical issues underlying what they do. [...] I believe that such philosophical discussions are important, because they affect how we do ecology" (Turchin, 2003). C'est fort de ce précieux conseil que débute ce mémoire de thèse présenté pour l'obtention d'un doctorat de biologie des populations et d'écologie. Cette thèse a donc été réalisée sous le couvert du paradigme de l'Évolution car comme l'a dit François Jacob dans son livre *La logique du vivant* (1970), "il n'est pas un biologiste aujourd'hui qui n'ait, tôt ou tard, à se référer à l'évolution pour interpréter les résultats de son analyse".

Ce qui suit n'est pas le panégyrique de l'évolution, mais un humble essai d'explication de l'état d'esprit général dans lequel cette thèse a été réalisée. C'est pourquoi il me faut d'emblée présenter des excuses si mes idées sont mal exprimées car "Tous les hommes de science ont dû, je pense, prendre conscience de ce que leur réflexion, au niveau profond, n'est pas verbale : c'est une *expérience imaginaire*, simulée à l'aide de formes, de forces, d'interactions qui ne composent qu'à peine une "image" au sens visuel du terme" (Jacques Monod, 1970).

Cette thèse s'appuie, quoique de manière relativement éloignée, sur le paradigme de l'Évolution pendant une période de science normale, utilise une démarche hypothético-déductive et fait appel à la notion de téléonomie de l'évolution.

### Science normale et paradigme

Thomas S. Kuhn (1970) entend par *science normale* une "recherche solidement fondée sur un ou plusieurs accomplissements scientifiques passés, accomplissements que tel groupe scientifique considère comme suffisants pour fournir le point de départ d'autres travaux". Cet auteur précise, dans son excellent ouvrage "La structuration des révolutions scientifiques", que ces accomplissements ou "découvertes scientifiques universellement reconnues qui, pour un temps, fournissent à une communauté de chercheurs des problèmes types et des solutions" sont les *paradigmes*. En d'autres mots, ceux-ci servent "à définir implicitement les problèmes et méthodes légitimes d'un domaine de recherche pour des générations successives de chercheurs".

La plupart des chercheurs en biologie et écologie d'aujourd'hui appuient leurs recherches sur les travaux de Darwin. Avec les apports de la biologie moléculaire et de la génétique, ceux-ci ont pu être complétés et le paradigme de l'Évolution élaboré. Ce dernier postule que les espèces vivantes proviennent les unes des autres par descendance avec modifications qui résultent de variations (mutations) lors de la copie (reproduction, réplication) des êtres vivants (David et Samadi, 2000). De telles variations peuvent être fixées dans les populations (100% des individus d'une population ont la même mutation) par la dérive génétique et la sélection naturelle. Pour plus de détails, l'ouvrage de Patrice David et Sarah Samadi (2000) présente une très bonne synthèse de ce paradigme. Cette thèse a donc été réalisée pendant une période de science normale fondée sur le paradigme de l'Évolution.

### **La démarche hypothético-déductive**

Dans une phase de science normale, le paradigme définit des hypothèses de travail, qui, à leur tour, permettent l'émission de prédictions qui seront testées par leur comparaison avec des données récoltées en laboratoire ou sur le terrain. Les tests valident ou invalident les hypothèses et de nouvelles, plus précises, peuvent ainsi être élaborées et, à partir de ces dernières, de nouvelles prédictions sont émises. La démarche hypothético-déductive consiste en cette succession cyclique d'émission d'hypothèses, de déduction de prédictions et de test par comparaison à des données. Cette thèse a aussi été réalisée avec une part de réductionnisme puisque le cycle de vie d'une espèce a été décomposé (réduit) en parties plus simples. Les propriétés émergentes, le tout n'étant pas la somme des parties, n'ont donc pas été étudiées.

A noter qu'il existe un débat sur la méthode de construction d'une hypothèse : accommodation versus prédiction. Dans le cas de "l'accommodation", une hypothèse est construite pour correspondre ("to fit") à des observations déjà effectuées. Dans celui de la "prédiction", elle est formulée avant la déduction d'affirmations empiriques qui seront vérifiées par observations. Le débat porte sur le fait que les prédictions tendent à fournir à une hypothèse des éléments de soutien plus forts que ceux apportés par l'accommodation (Lipton, 2005). Certes, le pouvoir des prédictions est tout puissant, mais que seraient les prédictions sans données ? Réciproquement, que seraient les données sans prédictions ? "Il est un grand nombre de cas où notre connaissance théorique des rapports des formes ne suffirait point, si elle n'était appuyée sur l'observation" annonce Georges Cuvier (1812), qui toutefois ne croyait pas au paradigme de l'évolution. Mais sur le fond, il a peut être raison d'insister sur l'importance de la récolte de données. Selon moi, ce débat n'a pas lieu d'être, les deux approches accommodation et prédiction sont complémentaires et indissociables.

### **La téléonomie de l'évolution**

D'après Jacques Monod (1970), une des propriétés fondamentales qui caractérisent tous les êtres vivants sans exception est d'être des "objets doués d'un projet", ce qui constitue sa définition même de la téléonomie. Une telle propriété leur permet de se distinguer "de toutes les autres structures de tous les systèmes présents dans l'univers". D'autre part, poursuit-il, "tout projet particulier, quel qu'il soit, n'a de sens que comme partie d'un projet plus général. Toutes les adaptations fonctionnelles des êtres vivants comme aussi tous les artefacts façonnés par eux accomplissent des projets particuliers qu'il est possible de considérer comme des aspects ou des fragments d'un projet primitif unique, qui est la conservation et la multiplication de l'espèce". Sans vouloir être le sycophante des résultats présentés dans ce mémoire de thèse, il sera démontré que le modèle biologique étudié est particulièrement bien adapté à son environnement, avec en particulier une capacité étonnante de variation de la fécondité qui lui permet de compenser les fortes pressions de sélection. Nous verrons aussi que ces adaptations sont orientées vers la téléonomie de survie et de reproduction de l'espèce. Mais à présent, arrêtons de divulguer les résultats et entrons dans le vif du sujet.

## Démographie et dynamique des populations

Le terme "démographie" a été défini pour la première fois en 1855 par A. Guillard comme "l'histoire naturelle et sociale de l'espèce humaine" (Chesnais, 2002). Une définition plus complète est présentée dans le dictionnaire démographique multilingue des Nations-Unies : "La démographie est une science ayant pour objet l'étude des populations humaines et traitant de leur dimension, de leur structure, de leur évolution et de leurs caractères généraux, envisagés principalement d'un point de vue quantitatif" (Chesnais, 2002). Ces deux définitions sont axées sur l'étude des hommes, mais il est possible de trouver une définition plus générale applicable à l'ensemble du règne vivant : "La démographie est une discipline dont l'objet est l'étude de la structure instantanée et de la dynamique des populations au plan quantitatif aussi bien dans sa dimension spatiale que temporelle" (Encyclopedia Universalis, 1999). Dans cette définition se retrouvent les notions de quantification et de dynamique des populations. Cette dernière porte sur l'étude des raisons et des origines du changement spatial et temporel du nombre d'individus d'une population (Turchin, 2003).

Il existe deux postulats fondamentaux dans la dynamique des populations (Caswell, 2001). Le premier concerne la croissance exponentielle potentielle d'une population. En effet, tout le monde connaît l'histoire de ce couple de mouches qui coloniserait la totalité de la planète en seulement quelques générations si tous les descendants survivaient jusqu'à la reproduction (Darwin, 1859 ; Reynolds et Freckleton, 2005). Or, ce n'est pas ce qui arrive dans la nature, ce qui amène au deuxième postulat : les populations ne peuvent pas continuer à croître de façon exponentielle pendant longtemps. Il existe des mécanismes qui régulent les tailles des populations comme la prédation, le parasitisme ou la densité dépendance. Ce dernier mécanisme est un des plus importants car il est en relation forte avec le taux de croissance d'une population (Sibly *et al.*, 2005).

### De l'individu à la population

La démographie et la dynamique des populations s'intéressent donc à l'étude quantitative des variations des individus qui constituent ces populations, en abordant les phénomènes de la mortalité, de la natalité ou de la fertilité. Cependant, ce n'est pas une population mais bien les individus qui naissent, meurent ou se reproduisent. Donc, ces disciplines s'attachent finalement à ce qui advient aux individus. Le cycle de vie est l'unité fondamentale de description d'un organisme (Caswell, 2001). Les études d'écologie, de génétique, d'évolution et de physiologie convergent toutes vers la détermination de ce cycle, ce qui revient à estimer les traits d'histoire de vie des individus. Un trait d'histoire de vie se définit comme une propriété quantitative d'un organisme vivant (Krebs et Davies, 1997), telle que, par exemple, le nombre d'œufs pondus ou la longévité.

### **La démographie, un pivot de la compréhension de l'évolution**

"Rien en biologie n'a de sens si ce n'est à la lumière de l'évolution" (Theodosius Dobzhansky). Charles Darwin, dans son livre sur l'origine des espèces, avait bien compris cet adage et la théorie de la sélection naturelle qu'il a élaborée a permis une avancée importante dans la compréhension de la nature (Darwin, 1859). Avec l'avènement de la biologie moléculaire et de la génétique, sa théorie a été complétée et améliorée et est maintenant connue sous le nom de théorie de l'Évolution. Ce paradigme stipule, dans les grandes lignes, que les mutations des gènes ont lieu au hasard et que celles qui donnent un avantage par rapport aux gènes non mutés sont sélectionnées. Ces mutations donnent de nouveaux gènes qui vont diffuser dans les populations par sélection. Il est possible d'associer au processus de sélection naturelle une quantité qui mesure l'aptitude d'un organisme à perpétuer ses gènes dans un environnement (David et Samadi, 2000). Cette quantité est connue sous le nom de "fitness" ou valeur sélective qui peut être estimée par le nombre de descendants qu'un individu obtient sur la totalité de sa vie. Les individus n'étant que le véhicule de leurs gènes (Dawkins, 1976), la diffusion d'un gène dans une population dépendra de la fitness de l'individu, qui dépendra elle-même de sa survie et de sa fécondité. Ainsi, la démographie et la dynamique des populations constituent les pivots, avec la génétique, de la théorie de l'Évolution. Rien n'a de sens en dehors de l'évolution, ce qui rend la démographie incontournable.

### **Applications concrètes**

Les changements de taille de populations ont toujours fasciné et déconcerté l'humanité (Turchin, 2003). Les effets dévastateurs de nuées de sauterelles ou les pullulations de rats sont inscrits dans les textes bibliques. Le folklore nordique a fourni une base pour le mythe des lemmings marchant vers la mer pour commettre un suicide collectif. Les chasseurs connaissent bien les variations périodiques de leurs gibiers. Tous ces phénomènes ont favorisé l'apparition des notions démographiques telles que la croissance, la mortalité et la migration. La démographie et ses méthodes et concepts afférents ont donc été utilisés pour mieux comprendre l'environnement dans lequel l'homme se situe et, parfois, pour mieux pouvoir l'exploiter. Il y est fait recours aujourd'hui pour une meilleure gestion des populations chassées par l'homme (Kokko et Lindström, 1998 ; Jonzén et Lundberg, 1999), pour déterminer la dynamique de maladies infectieuses (Choisy *et al.*, 2006), ou pour des problématiques de conservation des populations (Leblois, 2004). La démographie trouve aussi son utilité dans la lutte contre les espèces envahissantes. En effet, pour pouvoir enrayer l'installation d'organismes exotiques, il est nécessaire de connaître les mécanismes qui les régulent. Enfin, cette discipline est utile pour répondre à des questions très concrètes posées par les opérateurs de lutte contre les insectes nuisants. Voici, dans le reste de ce mémoire, l'exemple d'une espèce de moustique particulièrement nuisante pour l'homme.

### **Le problème "moustique"**

La relation entre l'homme et le moustique est une histoire ancienne. Dès 1491, il est possible de trouver des textes précisant que le moustique "a en la bouche une fistule et instrument en maniere d'ung esguillon, par lequel il perce la chair affin qu'il boyve le sang" (Ysidore dans Hortus sanitatis, 1491). A cette période "on les fait fuyre par la suye de cheminee, ou galbanum, ou soulfhre" (Palladius dans Hortus sanitatis, 1491). Le moustique le plus vieux identifié à ce jour est le *Burmaculex antiquus* âgé de 90 à 100 millions d'années (Borkent et Grimaldi, 2004). Il y a actuellement plus de 3000 espèces de moustiques dans le monde groupées dans 39 genres et 135 sous-genres (Crans, 2004). Ceux-ci constituent le plus important groupe d'insectes impliqués dans la transmission de maladies humaines, le cas le plus important étant le paludisme. La nuisance qu'ils génèrent peut avoir des conséquences économiques importantes (Service, 1993 ; Becker *et al.*, 2003) : il n'est pas rare de mesurer occasionnellement, dans les secteurs non démoustiqués, plus de 300 piqûres en 15 minutes (observations personnelles) pouvant conduire à la fermeture de campings ou d'écoles ou à l'interruption inopinée des vendanges. En France, les moustiques ont longtemps été impliqués dans la transmission de maladies parasitaires, le dernier cas de paludisme ayant été signalé en 1943 (Sautet, 1944). Aujourd'hui, ils n'y jouent certes plus un rôle majeur dans la transmission de maladies mais on a toutefois pu assister au cours de la dernière décennie à quelques épizooties localisées due au virus du West Nile (Balenghien, 2006).

### **La lutte en France**

L'ampleur de la nuisance culicidienne conduit parfois à devoir mettre en place une stratégie de lutte à grande échelle confiée à des opérateurs publics ou privés spécialisés dont l'objectif est de "supprimer la nuisance en respectant au maximum les équilibres biologiques et le souci d'entraîner le moins de perturbations du milieu rural" (Marjolet, 1977). Conscient de l'avenir touristique et économique exceptionnel qui s'offrait à la région Languedoc-Roussillon, les conseils généraux de l'Hérault, du Gard et des Bouches-du-Rhône décident la création, dès 1958, de l'Entente Interdépartementale pour la Démoustication du littoral méditerranéen (EID Méditerranée). En 1963, l'Aude et les Pyrénées-Orientales les rejoignent. Cette même année, l'État a créé la mission interministérielle d'aménagement touristique du Languedoc-Roussillon. Cette dernière, connue sous le nom de mission Racine, a fixé comme préalable au développement de la région la nécessité de mettre en oeuvre une démoustication, pérennisant ainsi la mission de l'EID Méditerranée. Aujourd'hui, la zone d'action de cet établissement se situe entre l'étang de Berre et la frontière espagnole. La Grande Camargue est hors du champ de la démoustication, à l'exception des agglomérations de Port Saint Louis du Rhône et de Salin de Giraud depuis le premier septembre 2006, en raison de son statut de parc naturel régional (Figure 1). L'espèce la plus abondante le long du littoral méditerranéen français est *Aedes caspius* (Pallas, 1771). En raison de sa forte agressivité envers l'homme, elle est la plus nuisante dans la région (Rioux *et al.*, 1968) et est donc la cible principale des actions engagées par l'EID Méditerranée. A ce jour, l'essentiel de la stratégie opérationnelle en France métropolitaine repose

sur l'utilisation d'un larvicide d'origine microbiologique à base de *Bacillus thuringiensis* ser. *israelensis*.



Figure 1 : Zone d'action de l'EID Méditerranée.

### Le hic

Depuis près de 50 ans, l'EID Méditerranée contrôle la nuisance générée par *Ae. caspius*. Malgré une diminution hautement significative de celle-ci depuis le début des opérations de contrôle, les densités larvaires observées avant traitement sont parfois élevées dans des gîtes de la zone démosquée. Ces fortes densités ne sont pas dues à de la résistance aux insecticides car la sensibilité de cette espèce n'a pas évolué depuis le début des opérations (EID Méditerranée, données non publiées) et la probabilité de développer des résistances pour les espèces du genre *Aedes* est faible en raison de contraintes moléculaires (Weill *et al.*, 2004). Cette espèce a donc probablement développé des mécanismes démographiques pour compenser les effets des traitements larvicides.

### Objectifs

L'objectif majeur de ce mémoire est d'apporter des éléments pour la compréhension de l'évolution de la démographie d'*Ae. caspius* dans ce contexte historique de démosquation à grande échelle. Pour cela, il est nécessaire de prendre en compte l'ensemble du cycle de vie du moustique et de comparer chacune de ses phases dans deux situations de traitement insecticide différentes (zone traitée et zone non traitée). L'approche, à *priori* la plus cohérente, aurait été de réaliser cette étude à une échelle opérationnelle sur au moins 1000 ha de la zone d'action de l'EID Méditerranée et sur une superficie équivalente dans une zone indemne de toute intervention insecticide, zone qui a le mérite d'exister encore à ce jour : la Grande Camargue. Les difficultés techniques et logistiques, notamment en raison du grand nombre de traits à estimer, nous ont conduits à travailler non pas à l'échelle de la zone mais à celle du gîte. Cette approche s'inscrit

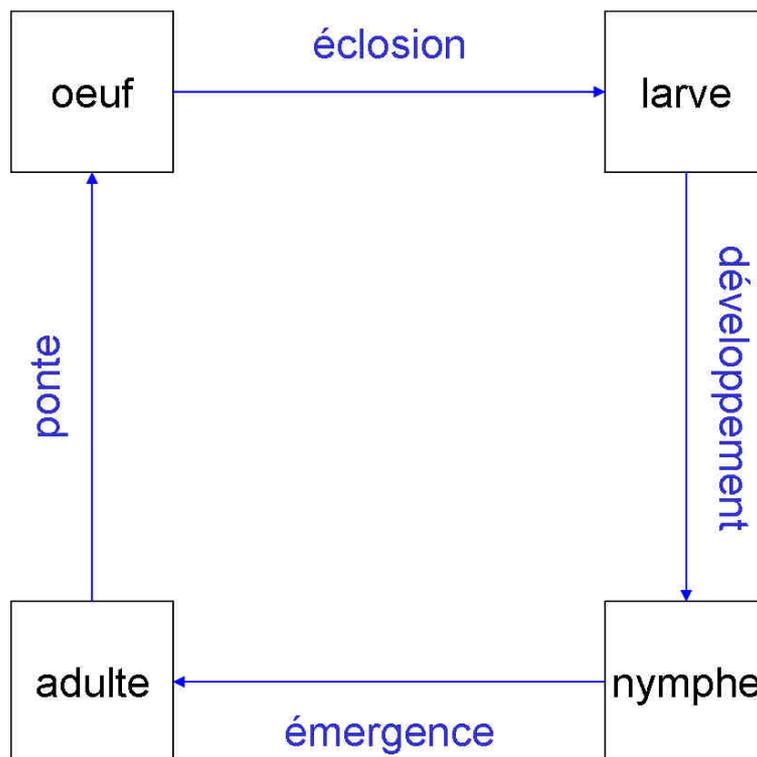
comme une première étape permettant d'évaluer la faisabilité d'une étude élargie à la taille d'un territoire plus vaste.

Ainsi, le cycle de vie d'*Ae. caspius* a été étudié et comparé pour deux populations issues de deux gîtes, l'un en zone démosstiquée, l'autre en zone non démosstiquée. La description de l'espèce et des deux gîtes retenus est présentée en première partie de la thèse. Le cycle de vie est composé de quatre phases : l'œuf, la phase immature aquatique, l'émergence et la phase imaginale aérienne, chacune sera traitée dans autant de parties distinctes et successives. Enfin, une hypothèse sur la compensation des traitements, une proposition de choix des traits les plus pertinents à étudier à l'échelle opérationnelle et un protocole adapté sont présentés dans une sixième et dernière partie.



# Chapitre I

## *Aedes caspius* : position systématique, cycle de vie et gîtes pré-imaginaux



*Not only the adult, but the whole life cycle will be considered the organism.*

J.T. Bonner

Size and cycle, 1965



## I.1. Rappels généraux sur *Aedes caspius*

### I.1.1. Position systématique

*Aedes (Ochlerotatus) caspius caspius* est un diptère nématocère de la tribu des Aedini. Il appartient à la famille des Culicidae et à la sous-famille des Culicinae. Cette espèce a été décrite pour la première fois par Pallas (1771) (seconde édition Pallas, 1967) sous le nom de *Culex caspius* et a été désigné sous un grand nombre de taxons mis par la suite en synonymie, avant d'être nommé *Aedes (Ochlerotatus) caspius caspius* en 1920 (Edwards, 1920 ; Lang, 1920 ; Wesenberg-Lund, 1920-1921). *Ae. caspius* est un complexe systématique qui comprend deux sous-espèces : *Ae. (Och.) caspius meira* endémique à l'archipel du Cap Vert et *Ae. caspius caspius*. Au sein de la sous-espèce *caspius*, seule présente en Europe (Schaffner *et al.*, 2001), deux formes génétiques ont été décrites sous la nomenclature *A* et *B* (Cianchi *et al.*, 1980), la forme *A* étant la seule identifiée en France à ce jour.

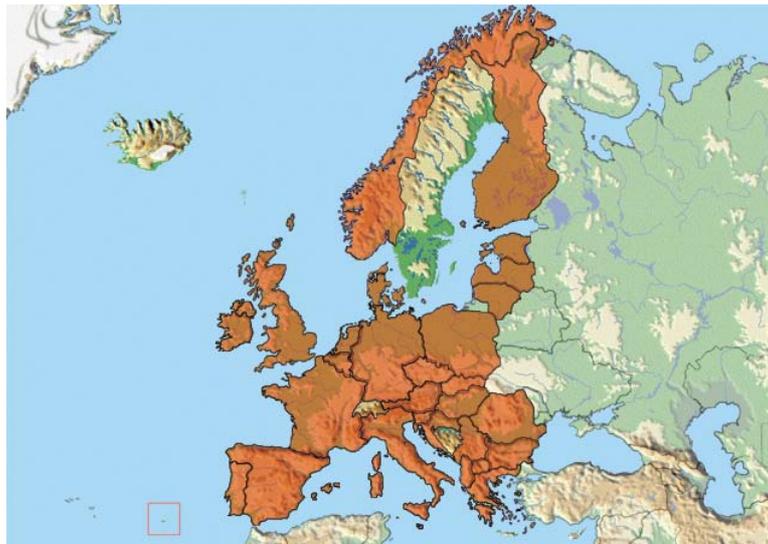
Le statut taxonomique d'*Ae. caspius* n'est encore aujourd'hui pas très simple et fait l'objet d'un vaste débat entre les spécialistes. Le genre *Aedes*, en raison de son fort polymorphisme, a été scindé en deux taxons génériques, le sous-genre *Ochlerotatus* étant élevé au rang de genre sur la base de caractères morphologiques primaires (Reinert, 2000 ; Reinert *et al.*, 2004). En tenant compte de cette nouvelle classification, *Aedes (Ochlerotatus) caspius* prendrait aujourd'hui le nom d'*Ochlerotatus (Ochlerotatus) caspius*. Cependant, cette espèce a été classée récemment, en même temps qu'une quarantaine d'autres espèces, "*Incertae sedis*" c'est-à-dire en position taxonomique incertaine (Reinert et Harbach, 2005).

### I.1.2. Un vif débat

Le classement "*Incertae sedis*" d'*Ae. caspius* et des autres espèces concernées suscite aujourd'hui un vif débat. L'analyse et la fiabilité de l'interprétation ont été critiquées et le bouleversement des usages de l'ancienne nomenclature notamment envers le grand public a été soulevé. Suite à ces débats, un comité de révision de la taxonomie des moustiques a été créé en mars 2005 (<http://wrbu.si.edu/>). Ce comité ainsi que les éditeurs de plusieurs revues scientifiques encouragent les auteurs à maintenir l'ancienne nomenclature (avant Reinert, 2000) en l'absence de nouvelles avancées sur le sujet (JME-Editors, 2005); les auteurs peuvent toutefois utiliser *Ochlerotatus* en tant que genre s'ils sont convaincus par cette nouvelle nomenclature. Dans un souci de cohérence pour la communication de ces travaux de thèse et sans arguments en faveur de l'adoption de la nouvelle classification, nous avons décidé d'utiliser l'ancienne nomenclature. Il est cependant possible que, dans certaines publications présentées dans ce mémoire, l'espèce ait été dénommée *Oc. caspius* en accord avec la nomenclature en vigueur à la date de rédaction de ces documents.

### I.1.3. Répartition géographique et identification morphologique d'*Aedes caspius*

*Aedes caspius* est principalement localisé dans la région paléarctique, mais est aussi retrouvé dans les régions éthiopienne et orientale (Tableau 1-1). Elle est également bien installée en Russie. Sur le continent européen, sa présence génère surtout de la nuisance (Figure 1-1) en particulier sur le pourtour méditerranéen. L'identification peut s'effectuer à l'état d'œuf, aux différents stades larvaires (L3 ou L4 de préférence, les caractères étant difficilement visibles aux stades L1 et L2) ou sur l'adulte. L'œuf, de couleur marron foncé à noir dense, est de forme allongée, fusiforme dans sa partie postérieure et possède une asymétrie dorso-ventrale discrète (Gabinaud *et al.*, 1975). Sa description détaillée est présentée dans le second chapitre. La larve, de couleur plutôt sombre, s'identifie principalement par un siphon doté d'un peigne, par des soies antennaires divisées et par des soies frontales simples (Schaffner *et al.*, 2001 ; Annexe I-1). Les adultes sont de taille moyenne et de couleur grise à l'œil nu. Ils présentent des palpes courts, un abdomen effilé, des tarsi avec des anneaux blancs inter-articulaires et une bande medio-dorsale claire (Annexe I-2). Il faut noter qu'*Ae. caspius* est très difficile à distinguer morphologiquement d'*Ae. dorsalis* (Meigen, 1830), la différenciation entre ces deux espèces ne pose cependant pas de problème au niveau larvaire (Lambert *et al.*, 1990 ; Schaffner *et al.*, 2001).



**Figure 1-1** : Répartition par pays d'*Ae. caspius* sur le continent européen. Reproduit avec la permission de Schaffner *et al.* (2001).

**Tableau 1-1** : Répartition géographique d'*Aedes caspius*. Données obtenues à partir de synthèses bibliographiques (Moussiegt, 1988 ; Schaffner *et al.*, 2001) et mise à jour en décembre 2006 à partir des publications de la *Review of Medical and Veterinary Entomology*. Seules les références non citées dans les travaux de Moussiegt (1988) et Schaffner *et al.* (2001) sont présentées dans la bibliographie de ce mémoire (marquées d'un astérisque dans le tableau).

Continent	Pays	Référence
Afrique	Afars et Issas (Djibouti)	Rodhain <i>et al.</i> , 1977
	Algérie	Benabadji & Larrouy, 1969
	Cap Vert	Ribeiro <i>et al.</i> , 1980
	Egypte	Gad <i>et al.</i> , 1987
	Ethiopie	Mekuria <i>et al.</i> , 1978
	Libye	Shalaby, 1972
	Maroc	Metge, 1986
	Soudan	Lewis, 1955
	Tchad	Rioux, 1961
	Tunisie	Mery <i>et al.</i> , 1979
Yémen	Mattingly & Knight, 1956	
Asie	Afghanistan	Danilov, 1985
	Chine	Li <i>et al.</i> , 1985
	Mongolie	Minar, 1978
	Pakistan	Reisen & Milby, 1986
	Qinghai (province de Chine)	* Yu, 1999
	Xinjiang	* Cao <i>et al.</i> , 1993
Russie	Arménie	Akopyan <i>et al.</i> , 1981
	Azerbaïdjan	Turchenko, 1982
	Estonie	Maslov, 1989
	Géorgie	Mgeladze, 1981
	Kazakhstan	Dzerzhinskii & Nakanova, 1986
	Kirghizstan	* Frese <i>et al.</i> , 1997
	Lituanie	Pakalniskhis <i>et al.</i> , 2000
	Moldavie	Maslov, 1989
	Ouzbékistan	Kupriyanova <i>et al.</i> , 1984
	Russie	Gornostaeva, 2000
	Tadjikistan	Bulychev <i>et al.</i> , 1985
	Turkménistan	Mamedniyazov, 1983
Ukraine	Maslov, 1989	
Moyen Orient	Arabie Saoudite	Abdel-Malek, 1960
	Emirats Golfe Persique	Service, 1986
	Iran	Zaim, 1987
	Iraq	Abul-Hab, 1986
	Israël	Margalit <i>et al.</i> , 1987
	Koweït	* Salit <i>et al.</i> , 1994
	Jordanie	* Al-Khalili <i>et al.</i> , 2000
	Syrie	Abdel-Malek, 1960
	Turquie	Ramsdale <i>et al.</i> , 2001

Continent	Pays	Référence
Europe	Andorre	Torres Canamares, 1979
	Autriche	Dahl & Nielsen, 1994
	Albanie	Adhami, 1987
	Belgique	Ramsdale & Snow, 1994
	Biélorussie	Maslov, 1989
	Bulgarie	Bojkov, 1966
	Bosnie H.	Apfelbeck, 1929
	Croatie	Merdic, 2004
	Chypre	Hadjivassilis, 2000
	Danemark	Dahl in Nilsson, 1997
	Finlande	Dahl in Nilsson, 1997
	France	Schaffner, 2000
	France Corse	Moussiegt, 1988
	Allemagne	Becker & Kaiser, 1995
	Grèce	Samanidou & Harbach, 2004
	Grèce - Crête	Samanidou, 1998
	Hongrie	Mihalyi <i>et al.</i> , 1963
	Islande	Messersmith, 1982
	Irlande	Ashe <i>et al.</i> , 1991
	Italie	Zamburlini & Carnius, 1998
	Lettonie	Spungis, 2000
	Luxembourg	Beck <i>et al.</i> , 2001
	Monaco	Fauran <i>et al.</i> , 1995
	Macédoine	Coluzzi, 1965
	Madère	Capela, 1982
	Malta	Gatt, 1996
	Pays Bas	Ramsdale & Snow, 1994
	Norvège	Ramsdale & Snow, 1994
	Norvège - Spitzberg	Dahl, 1997
	Pologne	Kubica-Biernat, 1999
	Portugal	Ribeiro <i>et al.</i> 1988
	Roumanie	Nicolescu, 1995
	Sardaigne	Marchi & Munstermann, 1987
	Sicile	Romi <i>et al.</i> , 1997
	Slovénie	Adamovic & Paulus, 1986
	Slovaquie	Jalili <i>et al.</i> , 2000
	Espagne	Eritja <i>et al.</i> , 2000
	Espagne – Iles Canaries	Senevet & Andarelli, 1959
	Espagne, Iles Baléares	Torres Canamares, 1979
	Suède	Dahl in Nilsson, 1997
	Suisse	Briegel, 1973
République Tchèque	Minar & Halgos, 1997	
Royaumes uni	Ramsdale & Snow, 1994	
Yougoslavie	Adamovic, 1984	

#### I.1.4. Cycle de développement

La femelle d'*Ae. caspius* pond ses œufs sur le sol humide, à la base de touffes de végétation, dont la mise en eau provoque l'éclosion des œufs (Gabinaud, 1975 ; Metge et Hassaïne, 1998 ; Caceres et Ruiz, 2004). Plusieurs cycles de submersion – assèchement peuvent être nécessaires pour induire cette éclosion (phénomènes de quiescence et de diapause ; Sinègre, 1974 ; Sinègre, 1981 ; Abdel-Rahman et Adham, 1983). Le développement préimaginal, dont la durée dépend de

la température, comprend quatre stades larvaires et un stade nymphal. Les larves se nourrissent d'algues, de déchets végétaux et de zooplanctons morts (Gozhenko et Titova, 1981). Il a été signalé que les larves sont également carnivores et qu'elles peuvent s'attaquer à d'autres culicidés (Séguy, 1923). Les émergences des adultes sont massives et liées aux caractéristiques météorologiques saisonnières. Les plus importantes sont observées après les pluies des équinoxes vernal et automnal. L'accouplement s'effectue à proximité du gîte larvaire toujours à la faveur d'un vol nuptial (Reisen *et al.*, 1977), qui a été particulièrement bien décrit par Gabinaud (1975). Les adultes se nourrissent du nectar de diverses plantes (Nielsen et Nielsen, 1958 ; Andersson et Jaenson, 1987). La recherche d'un hôte par la femelle pour la prise du premier repas sanguin s'effectue après l'accouplement. Les hôtes préférentiels sont les mammifères mais exceptionnellement un repas peut être pris sur oiseau (Balenghien *et al.*, 2006 ; Fyodorova *et al.*, 2006). Des captures de femelles gorgées au repos ont été réalisées en 2005 sur des populations camarguaises d'*Ae. caspius*. L'origine du sang de ces individus a été analysée par des tests ELISA et a permis de montrer que sur les 22 individus analysés, la totalité ont pris leurs repas de sang sur un cheval (C. Toty et N. Ponçon, communication personnelle). Espèce "explosive" par excellence, *Ae. caspius* possède un fort pouvoir de dispersion pouvant dépasser 20 km (Rioux, 1958 ; Juminer *et al.*, 1964 ; Sudari Bogojevi *et al.*, 2006). Sa dynamique saisonnière se caractérise par une présence des adultes de mars à novembre avec deux pics, un vernal et un automnal, et par un passage de l'hiver à l'état d'œuf.

#### **I.1.5. Ecologie larvaire**

Les larves d'*Ae. caspius* colonisent des milieux variés, tant naturels qu'artificiels, tous subissant une mise en eau temporaire provoquée par la pluie, par un débordement de la mer ("coup de mer" ou "entrée maritime") ou par une irrigation (Rioux, 1958). Elles se développent donc, dans la plupart des cas, dans une eau saumâtre (de 1 à 5 g.l<sup>-1</sup> de NaCl), mais peuvent se rencontrer parfois dans des eaux douces ou au contraire dans des eaux très fortement chargées en sel (jusqu'à 70 g.l<sup>-1</sup> de NaCl ; Gabinaud, 1975). Les gîtes larvaires naturels sont constitués de marais saumâtres, tels que les roselières et les sansouires, eux-mêmes situés en bordure d'étangs saumâtres et de lagunes. Leur surface, généralement très importante, peut dépasser les 300 ha. Les gîtes artificiels sont variés depuis les fossés de drainage (communément appelés "roubines" ou "agouilles") jusqu'à la parcelle de mise en culture irrigable en passant par tous les intermédiaires. Les plus productifs et les plus importants en surface sont les prairies submersibles et les rizières, ces dernières constituant même en Italie et en Grèce les principales zones de développement d'*Ae. caspius* (Bellini *et al.*, 1994).

#### **I.1.6. Parasitisme et prédation**

*Ae. caspius* a été rencontré infecté dans les conditions naturelles par divers pathogènes (vers, champignons tels que des microsporidies, bactéries et virus). Seul un ver de la famille des mermithidés, *Culicimermis schakhovii*, a été trouvé parasitant *Ae. caspius* (Isaeva, 1977). Des champignons, tel que *Coelomomyces psorophorae* var. *psorophorae*, ont été isolés de cette

espèce (Tampieri *et al.*, 1997). La microsporidie *Thelohania opacita*, également signalée dans des populations larvaires naturelles (Tour *et al.*, 1971), induit des modifications de développement larvaire, de sex-ratio et de fécondité (Alikhanov, 1973a ; Alikhanov, 1973b ; Alikhanov, 1979). Plus récemment, deux nouveaux genres de microsporidies, *Aedispora* et *Krishtalia*, ont été identifiés chez des larves d'*Ae. caspius* (Kilochitskii, 1997), mais aucune étude n'a porté à ce jour sur leur influence sur les traits d'histoire de vie de cette espèce. Plusieurs espèces bactériennes ont été isolées chez les larves de ce moustique, la plupart ayant un effet pathogène pour ce culicidé (Thiery *et al.*, 1992 ; Gros *et al.*, 1996). Enfin, un virus irisant a été isolé dans l'Est de l'Europe (Buchatskii et Raikova, 1978 ; Dubitskii, 1978).

Dans la littérature, quelques prédateurs sont cités, en particulier des poissons (Dabrowska-Prot, 1979 ; Bouattour, 2003) utilisés pour la lutte biologique mais aussi des insectes tels que des fourmis, prédatrices des œufs à Dubaï (Service, 1986) ainsi que des hémiptères ou encore des larves de coléoptères aquatiques prédateurs des stades larvaires (Akhmetbekova *et al.*, 1982).

#### I.1.7. Rôle vecteur

*Aedes caspius* a été suspecté être vecteur d'helminthes et de divers arbovirus. Soupçonné d'être un hôte intermédiaire de *Dirofilaria immitis* responsable de la filariose canine (Roubaud et Colas-Belcour, 1937), cette espèce s'est avéré être réfractaire à l'infection par cet helminthe (Cancrini *et al.*, 2006). *Ae. caspius* peut aussi ingérer *Wuchereria bancrofti*, responsable de la filariose lymphatique chez l'homme, sans que ce nématode n'atteigne le stade infectieux en raison de défenses physiologiques qui inhibent son développement (Gad *et al.*, 1996). En fait, la plupart des documents traitant du rôle vectoriel de ce moustique concernent des arbovirus et plus spécialement le virus Tahyna (Moussiegt, 1988 ; Medlock *et al.*, 2006). Capable d'ingérer le virus West Nile au laboratoire (Akhter *et al.*, 1982), des adultes ont également été trouvés naturellement infectés (Vinograd et Obukhova, 1975). Cependant, ces auteurs ont testés la capacité d'*Ae. caspius* à ingérer ce virus (passage de la barrière intestinale) mais pas le passage de la barrière salivaire. De plus, des travaux récents ont montré que ce culicidé ne jouait qu'un rôle mineur dans sa transmission (Balenghien, 2006). *Ae. caspius* est considéré comme vecteur potentiel de la fièvre de la vallée du Rift (RVF) en Egypte suite à des infections expérimentales démontrant la capacité de ce virus à pénétrer dans les glandes salivaires (Turell *et al.*, 1996). Il est vecteur occasionnel d'autres virus tels que le virus de Bakten (Frese *et al.*, 1997) ou la myxomatose (Joubert *et al.*, 1967).

*Ae. caspius* ne doit pas être, dans les conditions naturelles, considéré comme un vecteur d'importance, excepté pour les virus Tahyna et RVF. C'est donc surtout par son caractère nuisant que cette espèce a acquis sa réputation. L'étude de son écologie, plus particulièrement des aspects relevant des contacts "homme-vecteur" et de sa durée de vie, devrait permettre de préciser sa capacité vectorielle dans les conditions naturelles.

## **I.2. Etude du cycle de vie d'*Aedes caspius***

### **I.2.1. Une approche mixte**

Le cycle de vie d'un moustique se décompose en quatre phases successives : l'œuf, la phase aquatique comprenant quatre stades larvaires et un stade nymphal, la phase d'émergence (passage du milieu aquatique au milieu aérien) et le stade imaginal. La première phase a été abordée au travers d'une synthèse bibliographique (voir chapitre II). Les trois autres ont été analysées par la mesure de traits d'histoire de vie en laboratoire et sur le terrain.

### **I.2.2. Le cycle décomposé en laboratoire**

Les larves et les nymphes utilisées lors des investigations en laboratoire, ont été obtenues à partir d'œufs prélevés sur le terrain (voir chapitre II). Ce matériel a permis d'estimer divers traits tels que la mortalité ou la probabilité de passer au stade suivant (voir chapitre III.1). Des cages d'émergence ont été utilisées pour récolter les adultes et pour mesurer la sex-ratio (voir chapitre IV.2) et la structure de taille basée sur la longueur de l'aile (voir chapitre IV.3). La corrélation entre la longueur de l'aile et le poids de l'adulte a été étudiée (voir chapitre IV.3). Enfin, l'oogenèse a été décomposée et mesurée, ainsi que la durée du cycle trophogonique, la fécondité (voir chapitre V.1) et la longévité (voir chapitre V.2).

### **I.2.3. Le cycle recomposé sur le terrain**

Un outil visuel d'estimation de l'abondance a été développé et utilisé quotidiennement sur une centaine de points d'échantillonnage afin de calculer les temps de développement, les mortalités ainsi que les probabilités de passage au stade suivant (voir chapitre III.2). La mise en place, dès le début de la nymphose, de quatre à cinq cages d'émergence a permis de collecter quotidiennement les adultes. La survie des nymphes à une exondation et la capacité d'émerger dans ces conditions ont pu être confirmées (voir chapitre IV.1). Les adultes collectés ont été sexés et pesés pour évaluer la sex-ratio (voir chapitre IV.2) et la structure de poids à l'émergence (voir chapitre IV.3).

Parallèlement, d'avril à octobre, des captures hebdomadaires d'adultes ont été réalisées à l'aide de pièges à CO<sub>2</sub>. Le taux de parité hebdomadaire a été estimé par dissection des ovaires. La durée de présence d'une cohorte de femelles a été estimée à partir de ces suivis temporels du taux de parité (voir chapitre V.2). Les captures ont permis d'élaborer un modèle de description de la dynamique temporelle et d'estimer le taux de disparition des populations (voir chapitre V.3).

### **I.2.4. Suivis et synthèses**

Les études de terrain ont été conduites en 2004 et 2005 dans deux gîtes situés respectivement dans une zone où ont eu lieu des traitements insecticides et dans une zone non démoustiquée (voir chapitre I.3). Sur cette période, neuf mises en eau de ces gîtes (4 pour le gîte démoustiqué et 5 pour le non démoustiqué) ont fait l'objet d'un suivi. Au total, 102 séances de captures ont été réalisées dont 53 sur le gîte démoustiqué et 49 sur le non démoustiqué.

Une synthèse des résultats est proposée pour les larves (voir chapitre III.3), l'émergence (voir chapitre IV.4) et les adultes (voir chapitre V.4) permettant d'émettre une hypothèse pour expliquer le maintien de densités larvaires fortes après 50 ans de déoustication (voir synthèse et conclusions). Enfin, une argumentation est développée pour déterminer les traits les plus pertinents à considérer avant d'étendre l'étude à l'ensemble de la zone d'action de l'EID Méditerranée, seule à même d'infirmier ou de confirmer les hypothèses avancées au terme de ces travaux (voir synthèse et conclusions).

### I.3. Présentation des sites d'études

#### I.3.1. Présentation générale

Les deux gîtes dans lesquels ont été réalisés les études sont situés dans le sud de la France, sur le delta du Rhône dans la zone Camarguaise. Le gîte de Mourgues (MO) est localisé dans la zone démoistiquée en petite Camargue gardoise à 10 km au sud-est d'Aigues-Mortes (4°15'52"E; 43°30'45"N; altitude 1,76 m; Figure 1-2). Le gîte de Pont de Gau (PDG) est localisé en grande Camargue, dans la zone non démoistiquée, à 10 km environ au nord des Saintes-Maries-de-la-Mer (4°23'34"E; 43°30'04"N; altitude 1,62 m).

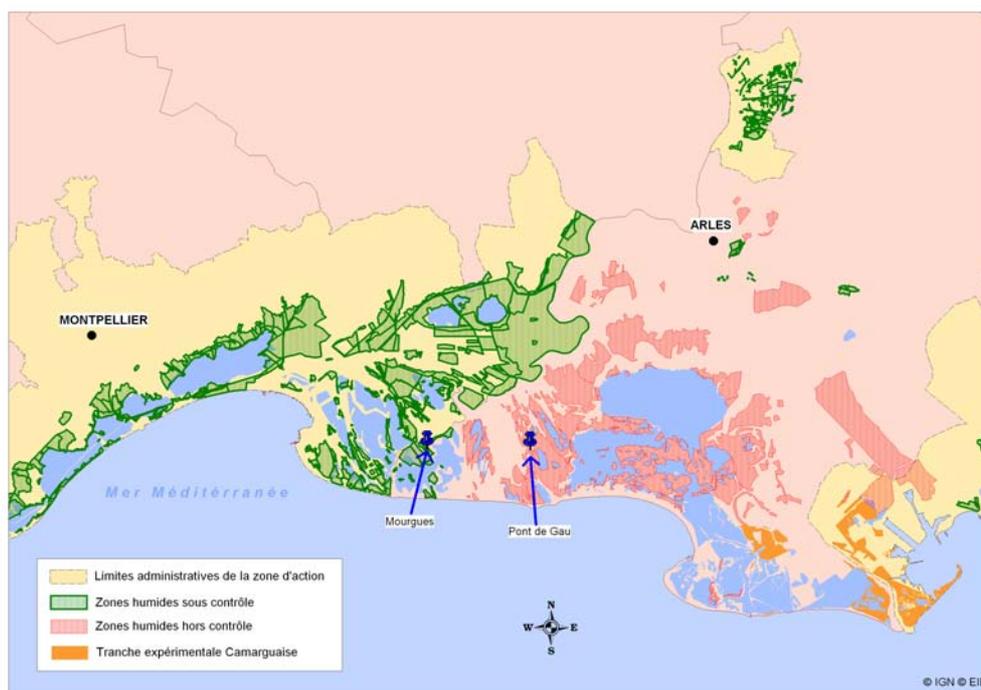


Figure 1-2 : Localisation des deux gîtes d'études.

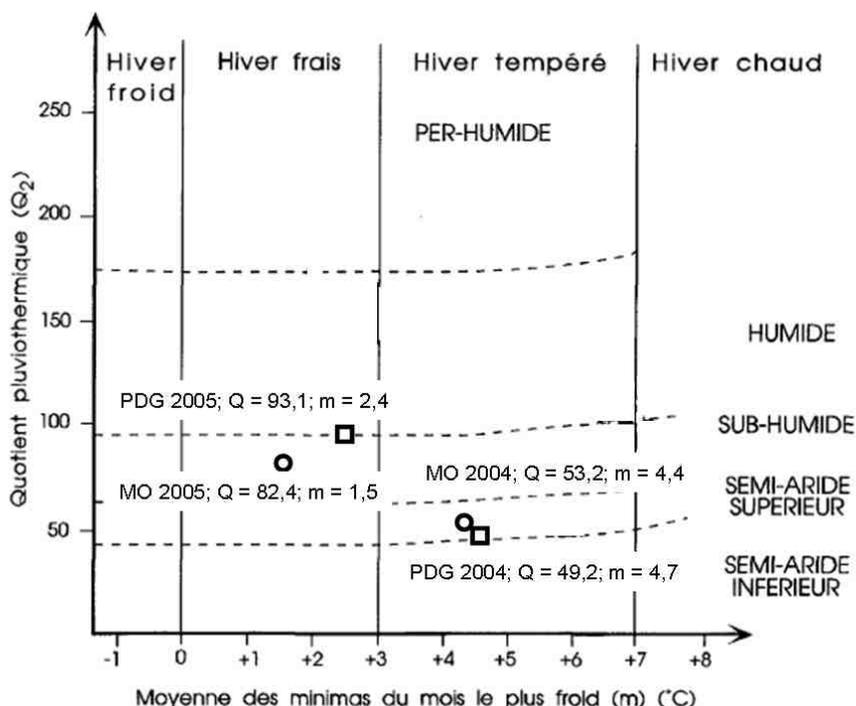
#### I.3.2. Climatologie

Les deux gîtes sont soumis à un climat méditerranéen caractérisé par des saisons thermiques nettement tranchées et à pluviosité concentrée sur la partie froide de l'année (Emberger, 1942 dans Rioux, 1958). Le coefficient pluviothermique d'Emberger (pluviosité estivale divisée par la moyenne des températures maximales du mois le plus chaud) démontre l'existence d'un climat méditerranéen lorsqu'il est inférieur à 7. Ce coefficient pour les deux années d'études sur le terrain 2004 et 2005 est de 3,5 pour le gîte de MO et de 3,4 pour le gîte de PDG. Il existe un deuxième coefficient pluviothermique d'Emberger, nommé quotient d'Emberger Q (Emberger, 1971 dans Debussche *et al.*, 1997), qui permet de distinguer six étages au sein des climats méditerranéens : les étages saharien, aride, semi-aride, subhumide, humide et de haute montagne. Ce coefficient Q se calcule selon la formule :

$$Q = \frac{2000P}{(M + m + 546,4).(M - m)}$$

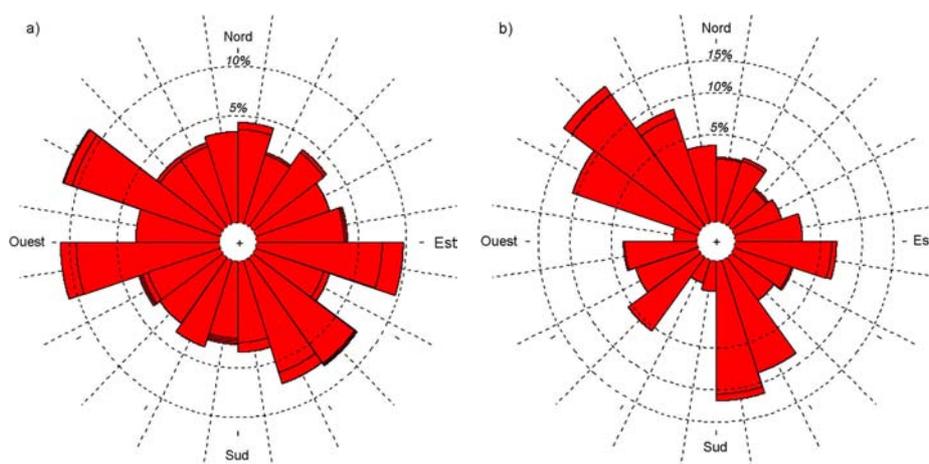
où  $P$  est la pluviosité annuelle en mm,  $M$  la moyenne des maxima du mois le plus chaud et  $m$  la moyenne des minima du mois le plus froid (températures exprimées en °C).

Le climagramme pluviothermique dressé par Sauvage (1963 dans Guilvard, 1983) est représenté Figure 1-3 : pour le gîte de MO l'année 2004 a été semi-aride à hiver tempéré et l'année 2005 a été subhumide à hiver frais ; pour le gîte de PDG, l'année 2004 a été semi-aride à hiver tempéré et l'année 2005 a été humide à hiver frais. Les années 2004 et 2005 sont classées, pour les deux gîtes, comme une période humide à hiver frais. Les climagrammes des deux gîtes sont différents pour l'année 2005, cette différence étant due à une pluviométrie légèrement supérieure sur le gîte de PDG (voir plus bas).



**Figure 1-3** : Climagramme pluviothermique de Sauvage (1963) donnant les caractéristiques climatiques des deux années d'études pour les deux gîtes MO (rond) et PDG (carré). Ce diagramme utilise le calcul du quotient d'Emberger et de la moyenne des températures minimales du mois le plus froid ( $m$  en °C).

Le vent souffle presque constamment sur les deux gîtes (4 jours de vent nul sur le gîte de MO et aucun sur le gîte de PDG durant les deux années 2004 et 2005). Les vents les plus fréquents et les plus forts viennent du quart nord-ouest et du quart sud-est. Toutefois il existe de légères différences entre les vents sur les deux gîtes. Les vents du quart nord-ouest pour le gîte de MO sont à dominance ouest et nord ouest alors que pour le gîte de PDG ils sont plutôt orientés nord-ouest uniquement. Les vents du quart sud-est sont orientés est et sud-est pour le gîte de MO et principalement sud en ce qui concerne le gîte de PDG (Figure 1-4).

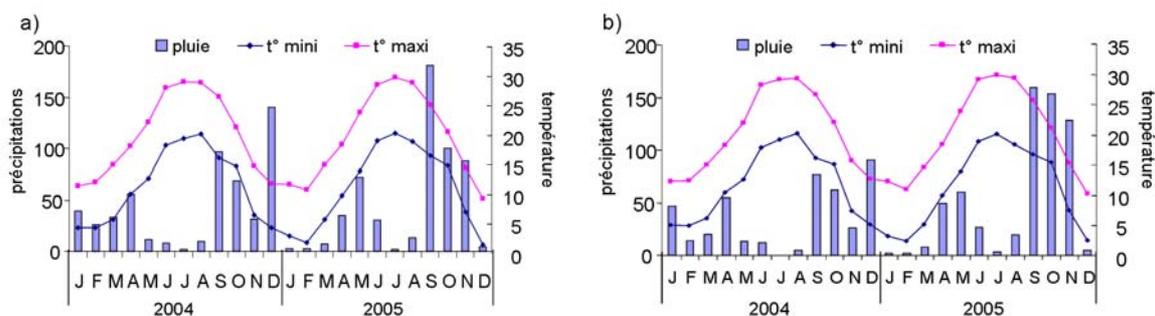


**Figure 1-4** : Rose des vents pour a) MO et b) PDG. Ces graphiques ont été réalisés à l'aide du logiciel R (R Development Core Team, 2005).

Les précipitations ont été de 380,9 mm en 2004 et de 673,5 mm en 2005 sur le gîte de MO et de 329,9 mm en 2004 et 701,3 mm en 2005 sur le gîte de PDG. La moyenne annuelle des précipitations dans le département du Gard entre 1993 et 2003 a été de  $623 \pm 48$  mm (moyenne  $\pm$  erreur standard), l'année 2004 a donc été une année avec un déficit hydrique relativement important alors que l'année 2005 a été une année plutôt pluvieuse. Les mises en eau des deux gîtes, et les éclosions des œufs d'*Ae. caspius*, ont donc été peu nombreuses en 2004 alors qu'elles ont été fréquentes en 2005. Les répartitions saisonnières observées pour ces deux années montre les fractions pluviométriques suivantes :

	MO		PDG	
	2004	2005	2004	2005
Automne (septembre – novembre)	51,59%	54,79%	49,80%	62,84%
Hiver (décembre – février)	17,12%	21,60%	18,34%	13,40%
Printemps (mars – mai)	26,20%	16,84%	26,74%	16,74%
Été (juin – août)	5,09%	6,77%	5,12%	7,02%

Le régime pluviométrique reste relativement stable d'une année à l'autre (Figure 1-5), l'automne correspondant à la période des fortes précipitations. Le régime pluviométrique est similaire sur les deux gîtes. Pendant les deux années d'études, les températures mensuelles varient entre  $-4,7$  et  $35,1^{\circ}\text{C}$  sur le gîte de MO et entre  $-6$  et  $33,6^{\circ}\text{C}$  sur le gîte de PDG (Figure 1-5). Les températures les plus basses s'observent de décembre à février avec des minima descendant rarement au dessous de  $-4^{\circ}\text{C}$ . Les températures les plus chaudes sont enregistrées de juin à août et ne dépasse que rarement les  $35^{\circ}\text{C}$ . Les variations photopériodiques varient entre 8 heures de jour en décembre et 16 heures de jour en juin. Globalement, les deux gîtes d'études sont soumis à une climatologie assez similaire avec de légères différences, principalement en ce qui concerne la direction des vents dominants.



**Figure 1-5** : Précipitations (en mm) et températures minimales et maximales (en °C) pendant la période 2004 - 2005 sur a) le gîte de MO (station Météo France d'Aigues-Mortes) et b) le gîte de PDG (Station Météo France des Saintes-Maries-de-la-Mer).

### I.3.3. Géomorphologie

Le littoral méditerranéen français est constitué de trois grandes unités géomorphologiques. La côte primitive, formée de roches dures dont l'altitude varie de quelques mètres à plusieurs centaines de mètres, s'éloigne du rivage actuel sur plusieurs centaines de mètres à plusieurs dizaines de kilomètres. Le lido sableux, de faible altitude, s'étend sur 250 kilomètres entre les piliers rocheux de la côte primitive. Le complexe lagunaire, situé en arrière du lido sableux, est soumis à une sédimentation fluviale ou marine intense. Son altitude est inférieure ou très légèrement supérieure au niveau de la mer (Guilvard, 1983). Les deux gîtes MO et PDG sont situés sur ce complexe lagunaire, le gîte de MO provenant plutôt d'une sédimentation marine alors que le gîte de PDG provient plutôt d'une sédimentation fluviale du petit Rhône. Le sol des deux gîtes est plutôt sableux avec quelques zones argilo-limoneuses.

### I.3.4. Groupements végétaux

Les études réalisées sur le terrain ont fait appel à un outil cartographique développé par l'EID Méditerranée montrant les relations entre les biocénoses et l'environnement végétal (Rioux, 1958). L'environnement végétal est lui-même en relation avec le milieu et plus particulièrement avec les variations d'altitude, qui influe sur la fréquence de submersion, et de salinité au sein d'un gîte. C'est pourquoi la végétation et plus particulièrement certaines associations d'espèces végétales donnent une image à la fois de l'altitude et de la salinité mais aussi de la présence et de la densité d'œufs dans le gîte. Cet outil établit ainsi une nomenclature basée sur la corrélation entre les aires de pontes des *Aedes* et la végétation des gîtes. Il permet, grâce à la réalisation de cartes de groupements végétaux, de localiser précisément les zones de ponte et, a fortiori, les zones de développement larvaire au sein d'un gîte (Gabinaud, 1975). Ces cartes sont réalisées en identifiant sur une photo aérienne récente (orthophotos) les contours des groupements végétaux dont on vérifie la composition floristique selon la nomenclature spécifique lors de relevés sur le terrain. La carte des groupements végétaux a été établie pour chacun des deux gîtes MO et PDG (Figure 1-6 et 1-7). Le détail des espèces, des surfaces et des couleurs associées à chaque groupement est présenté en annexe I-3.



Figure 1-6 : Photo aérienne de MO et carte des groupements végétaux.

Le gîte de MO, d'une surface totale de 5,42 ha, est constitué des groupements à *Elytrigia acuta*, à *Parapholis filiformis* et *Sarcocornia perennis*, à *Juncus maritimus* et *Inula crithmoides*, à *Sarcocornia fruticosa*, à *Salicornia europaea* et le groupement de sol nu à couverture de cyanophycées. Le gîte de PDG, d'une surface totale de 4,86 ha, présente les mêmes groupements que ceux de MO à l'exception du groupement à *Parapholis filiformis* et *Sarcocornia perennis*. Il faut noter que le groupement à *Juncus maritimus* de PDG qui ne contient pas d'*Inula crithmoides* mais l'espèce *Sarcocornia fruticosa*, est plus favorable aux pontes que celui de MO. Le gîte de PDG contient en plus les groupements à *Juncus subulatus*, à *Bolboschoenus maritimus* et à *Phragmites australis*. Les deux gîtes sont mis en eau essentiellement par la pluie, ce qui signifie une dynamique d'éclosion similaire, et servent de pâtures pour des chevaux. Enfin, ils peuvent être considérés comme bien représentatif des milieux culicidogènes du littoral méditerranéen français (Babinot M., communication personnelle).



Figure 1-7 : Photo aérienne de PDG et carte de groupements végétaux.

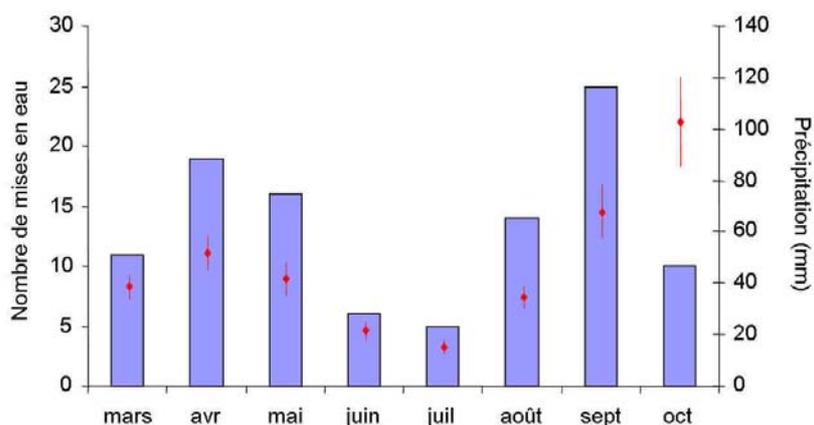
### I.3.5. Faune associée

La faune de vertébrés rencontrée dans ces milieux est essentiellement composée d'oiseaux. Les grands mammifères sont représentés par les chevaux et les taureaux d'élevage ainsi que par les renards et les sangliers présents naturellement. Parmi les petits mammifères, les lapins sont abondants ainsi que les ragondins, introduits par l'homme. Des couleuvres de Montpellier ont été

observées ainsi que quelques anoues non identifiés. La faune aquatique présente dans les gîtes à *Ae. caspius* est relativement pauvre. Parmi les insectes récoltés au cours des prélèvements larvaires, figurent des Corixidae, des Disticidae ainsi que quelques larves de Syrphidae. Au niveau de la faune de microcrustacés, des ostracodes, copépodes et daphnies sont présents à des abondances variables selon la saison et leur répartition spatiale au sein d'un gîte est plutôt agrégative.

### I.3.6. Historique des mises en eau du gîte de Mourgues

Le gîte de MO étant en zone démoustiquée, il a été possible, en utilisant les archives de l'EID Méditerranée, de dresser un historique relativement précis des dynamiques d'éclosions. Ce gîte était initialement une rizière, ce qui explique sa forme rectangulaire et son organisation en une succession de petits rectangles (Figure 1-6) avec un fossé principal qui traverse toute la surface du gîte. De 1974 à 2004, ce gîte a été inondé 106 fois à une fréquence comprise entre 3 et 4 fois par an. L'année 1983 ayant été particulièrement sèche, le gîte n'a pas été mis en eau. Certaines années, comme en 1975 ou encore en 1990, il y a eu jusqu'à six mises en eau. Celles-ci ont eu lieu le plus fréquemment pendant les mois d'avril et de septembre qui cumulent plus de 40% des mises en eau sur 30 ans (Figure 1-8). Durant cette période, chaque mise en eau a donné lieu à un traitement anti-larvaire réalisé dans les premières années de l'existence de l'EID Méditerranée avec des organochlorés, par la suite avec des organophosphorés pour être aujourd'hui réalisé avec du *Bti* (*Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis*), insecticide d'origine biologique. Le gîte de MO est situé en bordure de la zone non démoustiquée, ainsi, lors d'invasion d'*Ae. caspius* provenant de Camargue, des traitements anti-adultes y ont été réalisés. Ces traitements adulticides ont été effectués principalement au fénitrothion (organophosphoré).



**Figure 1-8** : Cumul du nombre de mises en eau pour le gîte de MO et moyenne et erreur standard des précipitations dans le Gard pour les mois de mars à octobre (période de présence d'*Ae. caspius*) entre 1974 et 2004. Les données de mise en eau ont été tirées des archives des agences opérationnelles de l'EID Méditerranée. Les données de précipitations ont été collectées par Météo France.

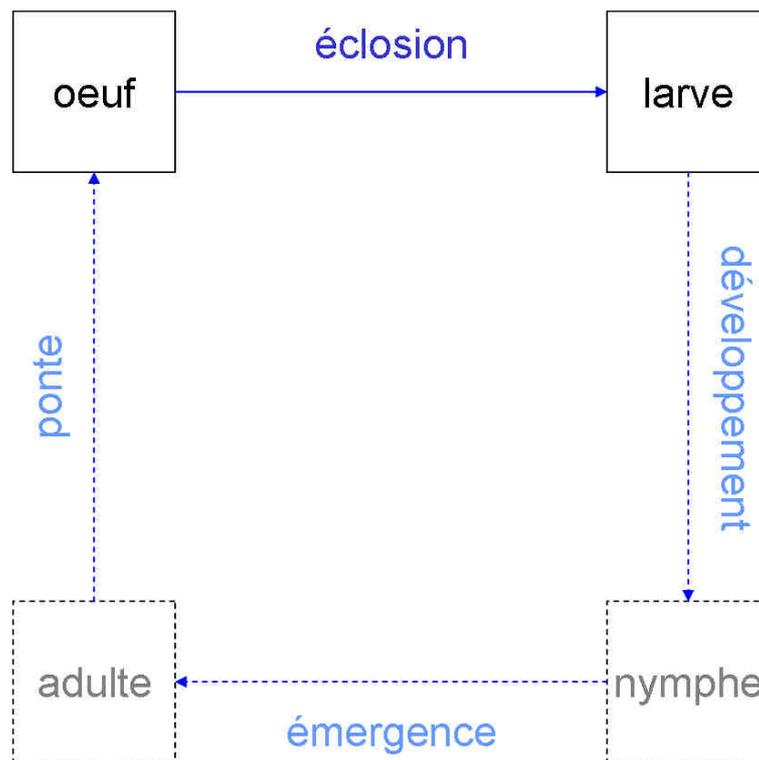
### **I.3.7. Conclusion**

Les deux gîtes étudiés sont relativement similaires au niveau de la climatologie, avec cependant de légères différences dans la direction des vents dominants, au niveau des groupements végétaux, de leur mode de gestion et de la dynamique d'éclosion des moustiques. La principale différence réside donc bien dans les pratiques de démoustication. Ces deux gîtes sont éloignés d'environ 50 km à vol d'oiseaux et sont représentatifs de la majorité des zones humides temporaires rencontrées sur la zone opérationnelle de l'EID Méditerranée. Ils correspondent ainsi parfaitement à la problématique d'un suivi sans intervention extérieure en dehors des traitements insecticides. D'un point de vue pratique, leur faible éloignement a permis d'être présent sur les deux gîtes durant la même journée. Le matériel laissé pendant les suivis de terrain y était en sûreté en raison de leur statut privé. De plus, ils avaient tous les deux des densités larvaires suffisantes pour réaliser les échantillonnages et assurer une récolte de données satisfaisantes.



# Chapitre II

## Les œufs : de la vie aérienne à la vie aquatique



*Si on part du principe qu'une chose est la vérité absolue, on referme son esprit dessus et un esprit fermé ne va nulle part. Il faut toujours tout remettre en question.*

David et Leigh Eddings

Belgarath le sorcier I. Les années noires, 1995



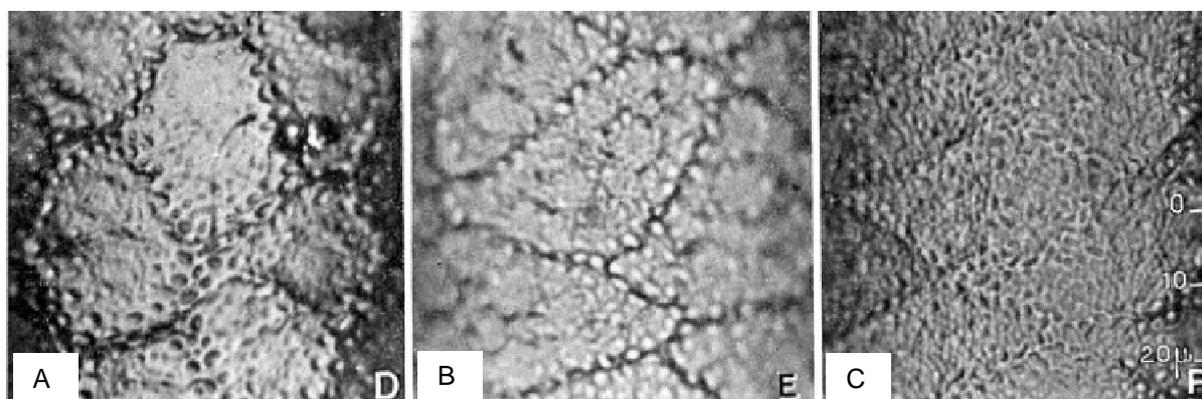
## II.1. Introduction

Il était initialement prévu d'étudier cette phase par la détermination du pourcentage d'éclosion. Pour cela, il est nécessaire d'estimer le stock d'œufs avant les mises en eau, puis de réaliser une seconde estimation de ce stock après l'assèchement du gîte. Des essais préliminaires ont cependant montré qu'il était indispensable de réaliser un très grand nombre de prélèvements de sol pour obtenir une estimation fiable (données non présentées), tout simplement en raison de la distribution très hétérogène des œufs. Or, les prélèvements de sol pour l'extraction et l'identification des œufs sont destructifs du milieu. Estimer régulièrement le stock d'œuf présent aurait de fait induit des variations non naturelles et donc risqué de biaiser les suivis réalisés à l'état larvaire. Comme le stock d'œufs peut être extrapolé indirectement de l'abondance larvaire après mise en eau, il a été décidé de ne pas procéder au comptage direct des œufs et c'est pourquoi ce chapitre est sous la forme d'une synthèse bibliographique.

Après un bref rappel de la morphologie des œufs, l'analyse bibliographique sera consacrée au choix du lieu de ponte afin de mieux comprendre la distribution spatiale des œufs au sein d'un gîte. Dans une troisième partie, l'embryogenèse et les mécanismes d'éclosion seront explicités. La quatrième partie traitera de l'adaptation à l'environnement temporaire avec un point particulier sur la diapause. Enfin, en dernière partie, les méthodes d'études des œufs seront décrites.

## II.2. Morphologie et identification des œufs d'*Ae. caspius*

L'œuf d'*Ae. caspius* est constitué d'un exo- et d'un endo-chorion. L'exochorion est épais et irrégulièrement adhérent et il présente des réticulations très apparentes dessinant des polygones ponctués, délimités par des bourrelets épais ornés de ponctuations (Figure 2-1). Ce sont ces réticulations qui permettent l'identification des œufs (Gabinaud, 1975 ; Gabinaud *et al.*, 1975). L'œuf présente trois faces bien identifiables. Des polygones de forme régulière, pentagonale ou hexagonale, allongés parallèlement à l'axe longitudinal de l'œuf sont visibles sur la face ventrale. Les polygones des faces latérales sont de forme sub-losangique, à bords arrondis ou rectilignes, orientés perpendiculairement à l'axe longitudinal de l'œuf. Les polygones de la face dorsale sont plus étirés que les latéraux et orientés perpendiculairement à l'axe longitudinal de l'œuf.



**Figure 2-1** : Ornementation chorionique de l'œuf d'*Ae. caspius* vu en lumière réfléchi (contraste interférentiel). A) Face ventrale, B) Faces latérales, C) Face dorsale. D'après Gabinaud et al (1975).

### II.3. Choix des lieux de ponte et distribution spatiale des oeufs

La ponte des oeufs représente une part importante du cycle de vie d'un moustique, le déroulement de ce cycle dépendant du moment et du lieu où la ponte se produit. La femelle gravide répond à des stimuli visuels (Badano et Regidor, 2002), olfactifs (Rejmankova *et al.*, 2005), tactiles (Service, 1968) et de prédation (Kiflawi *et al.*, 2003) pour choisir son lieu de ponte. Une excellente synthèse est présentée dans les travaux de Clements (1999).

La femelle d'*Ae. caspius* sélectionne son lieu de ponte au sein d'un gîte en fonction principalement de l'humidité du sol, de sa texture et de la présence d'oxydes ferriques (Franquet *et al.*, 2002). La texture semble jouer un rôle indirect en n'intervenant pas au niveau du type textural lui-même mais au niveau des propriétés physiques et mécaniques qu'elle confère au sol (Vigo, 1974). Les lieux riches en matière organique sont attractifs pour les femelles d'*Ae. caspius* (Vigo, 1974). Tous ces paramètres sont "traduits" par la végétation et c'est pourquoi cette dernière constitue un très bon indicateur de la présence des œufs de cette espèce (voir chapitre précédent). Il existe aussi des stimuli de choix non traduits par la végétation. C'est le cas des stimuli olfactifs émis par des phéromones. Lors de l'oviposition, certaines espèces de moustiques déposent des phéromones d'agrégation qui vont jouer un rôle attractif sur les femelles gravides (Clements, 1999). De plus, les larves et les nymphes peuvent dégager des éléments volatils qui vont exercer un pouvoir attractif (Clements, 1999), ces éléments pouvant même être récupérés pour faciliter la ponte des femelles en laboratoire (Rejmankova *et al.*, 2005). Cette technique a été utilisée pour les expérimentations nécessitant de faire pondre des femelles. Pour cela, il suffisait de passer l'eau de l'élevage de larves obtenues en laboratoire dans un filtre en papier avant de servir à l'humidification des pondoires. Cette méthode a permis de supprimer la quasi-totalité des phénomènes de rétention de ponte (voir chapitre V-2).

Au-delà de tous ces paramètres, le niveau de l'eau dans le gîte au moment de l'oviposition des femelles gravides apparaît être plus important encore. En effet, une première sélection macroscopique s'exerce en faveur des lieux exondés qui vont subir la variation la plus importante du niveau d'eau, car c'est cette dernière qui déclenche l'éclosion (voir ci-dessous). Ensuite, la femelle choisit le meilleur site de ponte disponible en répondant aux micros variations olfactives, visuelles et tactiles. La combinaison de toutes ces réponses fait que la distribution des œufs est particulièrement agrégative et hétérogène au sein d'un gîte (Gabinaud, 1975 ; Franquet *et al.*, 2002).

### II.4. Embryogenèse et éclosion

L'embryogenèse des moustiques a été particulièrement bien décrite par Clements (1992). Celle-ci débute dès l'instant où l'œuf est pondu et sa durée dépend en grande partie de la température (Becker *et al.*, 2003). Au moment de la ponte, seule une masse deutoplasmique est observable dans l'œuf. Après 43 heures d'incubation, la segmentation de l'abdomen est visible, la membrane pellucide est entièrement formée. La différenciation des trois parties du corps s'observe vers le troisième jour qui suit la ponte. Dès le cinquième jour, les taches oculaires et le bouton céphalique d'éclosion se distinguent. Pour *Ae. caspius*, l'œuf peut éclore au bout de 6 jours s'il se

développe à une température de 25°C (Sinègre, 1974). L'œuf fraîchement pondu doit rester exondé au cours du développement embryonnaire car l'anoxie consécutive à la mise en eau bloque l'organogenèse et tue l'embryon si l'immersion se prolonge (Sinègre, 1974). L'éclosion se produit dès la submersion. Lors de cette dernière, une intense activité bactérienne de la litière organique provoque une désoxygénation extrêmement rapide à l'interface sol-eau. Par la suite, s'effectue une re-oxygénation de l'eau par des phénomènes d'échange gazeux. C'est cette variation du taux d'oxygène dissous dans l'eau qui stimule l'éclosion de l'œuf (Sinègre, 1974).

## II.5. Diapause et adaptation à l'environnement temporaire

De par leurs adaptations, les moustiques sont capables de prospérer dans des milieux variés tels que les milieux temporaires (Becker, 1989). Les adaptations à ces derniers sont particulièrement prononcées chez les espèces du genre *Aedes*. L'œuf est ainsi constitué qu'il est résistant à la dessiccation (Clements, 1992). Même les œufs d'espèces de culicidés pondant sur l'eau, comme par exemple pour *Anopheles gambiae*, sont capables d'y résister (Shililu *et al.*, 2004). Les moustiques ont développé la diapause, mécanisme bien connu chez les insectes, qui permet de survivre lorsque les conditions de développement sont défavorables. Pour *Ae. caspius*, la diapause est hivernale, c'est-à-dire que pendant l'hiver, où les températures sont trop froides pour assurer le développement larvaire, s'il y a submersion, les œufs n'éclosent pas. Des facteurs environnementaux régulent l'induction et la levée de la diapause, en l'occurrence la photopériode (Sinègre, 1974 ; Abdel-Rahman et Adham, 1983) et la température (Sinègre, 1981). Au-dessus de 24°C, les œufs sont insensibles à la durée du jour et il n'y a pas d'induction de diapause. Au-dessous de 12°C, la diapause s'installe indépendamment du régime lumineux. C'est entre 16 et 20°C que les œufs d'*Ae. caspius* sont le plus sensibles à la photopériode, leur diapause étant alors induite lorsque la durée de jour diminue. Les facteurs de levée de diapause sont l'augmentation de la température et le rallongement de la durée du jour (Sinègre, 1974). Cependant, les œufs peuvent n'éclore qu'après plusieurs mises en eau (Service, 1968). Ce phénomène, nommé diapause prolongée ou quiescence (Gabinaud, 1975), peut durer jusqu'à 6 années (G. Vigo, communication personnelle).

Chez *Ae. cantans*, très peu de mortalité est observée à l'état d'œuf et aucun pathogène n'a été observé, seuls quelques arthropodes étant suspectés jouer un rôle de prédateurs (Service, 1972). Plus récemment, des mortalités embryonnaires ont été signalées, résultant d'une infection par la bactérie endosymbiotique *Wolbachia* (Duron et Weill, 2006). Les œufs ne sont pas seulement résistants aux conditions environnementales, aux prédateurs ou aux parasites, ils le sont aussi aux insecticides. Parmi tout le panel d'insecticides existants, seuls des extraits de plantes (Muse *et al.*, 2002 ; Rajkumar et Jebanesan, 2004) ont des effets d'inhibition de l'éclosion.

## II.6. Méthodologie d'étude des œufs

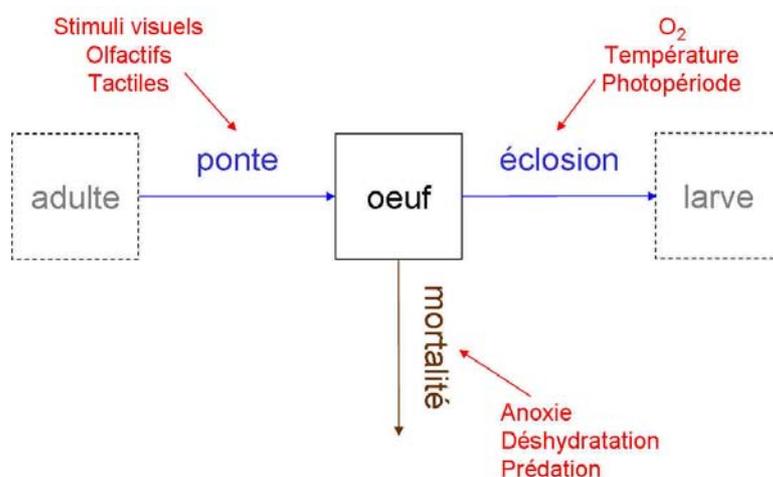
Les œufs étant pondus sur le sol exondé, des prélèvements de la couche superficielle du sol doivent être réalisés pour être ramenés en laboratoire (Garcia *et al.*, 1982 ; Service, 1993). Ces prélèvements, effectués à l'aide d'un emporte-pièce (Gabinaud, 1975), pourront être utilisés pour

obtenir des larves. Pour cela, trois méthodes sont possibles. La première consiste à placer l'échantillon de sol dans un plateau d'élevage et à l'inonder doucement en utilisant un débit de 1 litre d'eau par minute environ (Service, 1968). La seconde méthode utilise l'action mécanique de vibrations réalisées en tapant sur le bord du plateau contenant l'échantillon inondé (Roberts, 2001). La troisième méthode, employée à l'EID Méditerranée, se base sur l'action de l'acide ascorbique, qui, ajouté à l'eau, consomme l'oxygène dissous et a donc pour effet de créer la variation du taux d'oxygène nécessaire (Sinègre, 1974). Il est également possible de dénombrer les oeufs présents dans un échantillon de sol en réalisant une extraction. La méthode utilise une succession de mixage et de tamisage dans une série de tamis de mailles différentes, puis une flottation sur saumure (Gabinaud, 1975). Cela permet de récupérer et compter les œufs. Leur identification est possible sous microscope à contraste interférentiel ou à contraste de phase. Une autre méthode, qui a été utilisée pour estimer la distribution spatiale d'*Ae. vigilax* en Australie (Ritchie et Jennings, 1994), consiste à estimer le nombre de coquilles vides dans les prélèvements de sol, nombre permettant le calcul d'un indice d'abondance (Addison *et al.*, 1992).

## II.7. Conclusion

Le nombre de larves à l'éclosion, c'est-à-dire l'abondance des individus produit par un gîte, dépend de trois facteurs. Le premier concerne le choix du gîte et plus précisément le choix du lieu de ponte par la femelle, qui est dépendant de stimuli visuels, olfactifs et tactiles (Figure 2-2). La mortalité de l'œuf est influencée par l'anoxie, la déshydratation et la prédation. Enfin, l'éclosion des œufs est fonction de la température, de la photopériode (diapause) et de la variation du taux d'oxygène dissous.

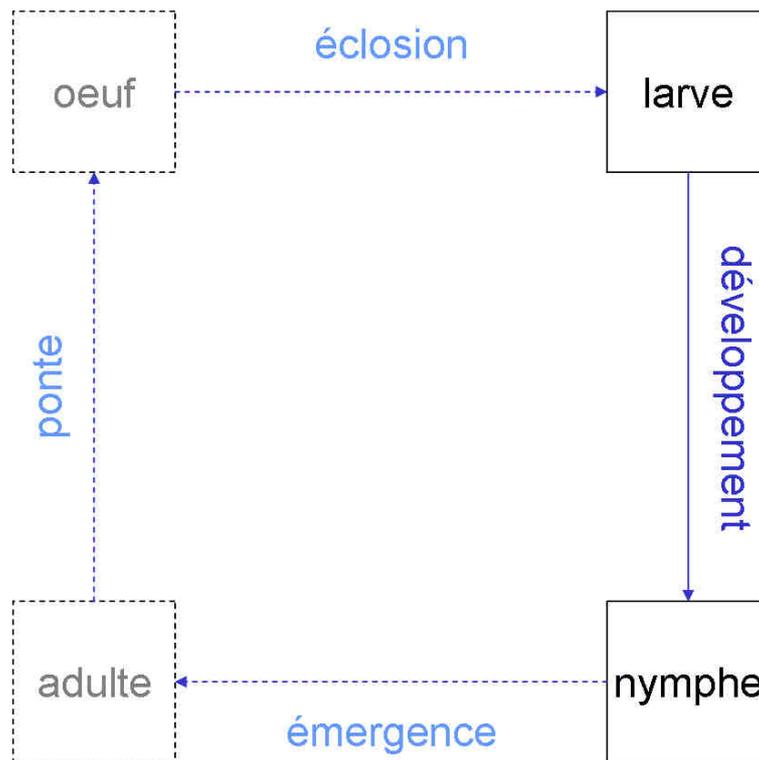
Bien évidemment, le pourcentage d'éclosion est un trait d'histoire de vie important pour apporter des explications sur le fonctionnement comparatif des deux gîtes étudiés. Cependant, même si de telles données sont intéressantes, elles ne sont pas essentielles pour l'étude démographique. En effet, une estimation du stock d'œufs peut être obtenue indirectement par la mesure de l'abondance larvaire juste après la mise en eau.



**Figure 2-2** : Schématisation de la phase œuf du cycle de vie. Les flèches rouges représentent les facteurs qui influent sur les traits d'histoire de vie.

# Chapitre III

## La phase aquatique : développement larvaire et nymphal



*La vie du naturaliste serait bien heureuse s'il ne pouvait qu'observer et se passer d'écrire*

Charles Darwin



L'analyse de la phase aquatique a consisté a réaliser une comparaison entre les deux gîtes de la survie des différents stades pré-imaginaux, de leur durée de développement ainsi que les facteurs intrinsèques et extrinsèques susceptibles d'influer sur ces traits. Pour cela, deux séries d'études ont été effectuées, la première en laboratoire à partir d'œufs provenant des deux gîtes, la seconde par la réalisation de suivis larvaires sur le terrain après mises en eau.

### **III.1. Une vie de "larve" de laboratoire**

#### **III.1.1. Traits d'histoire de vie des stades pré-imaginaux en laboratoire**

Deux groupes de traits d'histoire de vie des larves d'*Ae. caspius* ont été étudiés en laboratoire. Le premier groupe considère la survie des larves et le second la durée de vie ou temps de développement. Pour cela, des prélèvements d'œufs ont été réalisés et l'éclosion de ceux-ci a été effectuée en laboratoire. Par la suite, des comptages journaliers du nombre d'individus dans chaque stade ont été réalisés. Le taux de survie, la probabilité de survie journalière, la probabilité de transition, le temps de développement et le temps de développement physiologique intrinsèque ont été estimés pour chaque stade et l'influence du gîte, de la densité larvaire et du stade sur ces traits a été testée. Cette partie a été acceptée pour publication dans la revue *Bulletin of Entomological Research*.

**Life history traits of *Aedes caspius* (Diptera: Culicidae): a laboratory study of larval stages.**

A. Carron<sup>1</sup>, L. Bichaud<sup>1</sup>, N. Platz<sup>1</sup>, D. J. Bicout<sup>2</sup>

<sup>1</sup> EID Méditerranée, 165 avenue Paul Rimbaud - 34184 Montpellier Cedex 4 - France.

<sup>2</sup> Unité Biomathématiques et Epidémiologie, EPSP, TIMC – Ecole National Vétérinaire de Lyon. 1, avenue Bourgelat, F- 69280 Marcy l'Etoile, France.

**Abstract**

Larval survival and development time of *Aedes caspius* (Diptera: Culicidae) were examined in the laboratory. These life history traits were estimated using life tables constructed for two populations, one of which had been subjected to a long-term larvicide control program. Traits were evaluated for eight different population densities. The effects of population, larval stage, and larval density were investigated using a general linear model. Density was positively correlated with larval survival but did not affect development time. The fourth instar and pupae had the lowest larval survival rates. First and fourth instar larvae had the longest development times. These traits were not significantly different between the two populations. The effect of larvicide control on these traits is discussed.

**Keywords:** life history trait, life table, *Aedes caspius*, larvae, larvicide

**Introduction**

The evaluation of life history traits and construction of life tables are particularly valuable in the elucidation of the population dynamics of a species (Southwood & Henderson, 2000). Life tables summarise the survival and mortality of a population (Service, 1993). They were first used to study mosquito populations in the 1970s (Service, 1971; Southwood *et al.*, 1972; Lakhani & Service, 1974). In particular, life tables were used to evaluate the effect of predation on the survival of anopheline immature mosquitoes in rice fields (Mogi *et al.*, 1986) and to compare life history traits of *Toxorhynchites rutilus* between two different habitats (Campos & Lounibos, 2000). In this study, we examine life history traits and construct life tables with the aim of comparing a population of *Aedes caspius* (Pallas, 1771) that had been subjected to a long-term larvicide control program with an *Ae. caspius* population that was free of treatment.

*Ae. caspius* is widely distributed in Europe (Gabinard, 1975) and breeds in a variety of places (Rioux, 1958). This species is of particular economic importance due to its capacity to cause substantial nuisance (Becker *et al.*, 2003). *Ae. caspius* can transmit filariae such as *Dirofilaria immitis* (Roubaud & Colas-Belcour, 1937) or arboviruses such as Tahyna virus (Hannoun *et al.*, 1966). It is one of the vectors of Rift Valley fever in Egypt (Beier *et al.*, 1987). Akhter *et al.* (1982) successfully infected Pakistani *Ae. caspius* with West Nile virus in the laboratory and this virus was isolated from a number of *Ae. caspius* individuals in Ukraine (Vinograd & Obukhova, 1975).

The EID Méditerranée (*Entente Interdépartementale pour la Démoustication*, a regional centre for mosquito control on the Mediterranean coast; <http://www.eid-med.org>) has been using larvicides to control nuisance mosquito populations along the French Mediterranean coast for over 40 years. The control programme had reduced the level of nuisance, but high *Ae. caspius* larval densities were still frequently observed. These high larval densities are not due to resistance. Indeed, the sensitivity of *Ae. caspius* to insecticides has not changed since the beginning of the control programme (unpublished data). In addition, *Aedes* is unlikely to develop resistance due to molecular constraints (Weill *et al.*, 2004). It is possible that *Ae. caspius* may have developed demographic mechanisms to compensate the effect of larvicide treatments.

To identify these demographic mechanisms, large-scale studies are required to compare the life cycles (egg hatching, larval and pupal development, emergence, adult longevity, fecundity, gonotrophic cycle, etc.) of different populations under larvicide control and with uncontrolled larval populations. However, such large-scale studies incorporating the full life cycle is rather difficult due to logistic constraints. Therefore, in 2003, the Mediterranean EID initiated a demographic study of two *Ae. caspius* populations: one from an area that has undergone 40 years of treatment, and another from an untreated area. Life history traits of all stages of the life cycle (eggs, larvae and pupae, adults) were evaluated and compared between these two populations. The overall aim of this study was to determine which life history traits are different between these two populations, with a view to designing a simplified protocol for a large-scale study. Some results of this study are presented. Larval survival and development time were evaluated in the laboratory and the potential effects of population, larval density and developmental stage on these traits were tested.

### Materials and methods

**Cohort surveys.** The two populations studied were collected from southern France. One (Mourgues: MO; 4°15'52"E; 43°30'45"N) had been controlled with larvicides for 40 years; the other (Pont de Gau: PDG; 4°23'34"E; 43°30'04"N) has never been controlled with larvicides. The two breeding sites are located about 50 km apart, harbour the same vegetation and are only flooded by rainfall.

Larvae were collected from each breeding site after a flooding during summer 2005. They were reared to adult stage in the laboratory at  $28.4 \pm 0.3^\circ\text{C}$ ,  $52 \pm 0.7\%$  relative humidity (RH) with a 16:8 light:dark cycle. Copulation was induced due to eurygamy (McDaniel & Horsfall, 1957). Females were then placed in a 40x40x40 cm cage with a laying-box. A guinea pig was provided for blood-feeding 48h after induced copulation. Eggs were maintained for at least 10 days following oviposition. Egg hatching was induced with ascorbic acid (Sinègre, 1974). *Ae. caspius* is a salt-marsh species; thus, larvae were transferred to a 33x22x6 cm plastic tray containing 3 litres of water with 2 g/litre of NaCl after 24h. They also require at least 16 mg of dry dog food powder for complete development (Sinègre, 1974); thus, a surplus amount (5 g) was added to each tray to avoid larval starvation and competition. At 9:00 am every day, alive and dead individuals were counted for each stage (L1, L2, L3, L4, and Pupae), dead larvae were removed and the water was refilled to compensate for evaporation.

Three F1 larvae densities for MO and five for PDG were studied: 30, 35.33, and 69 larvae per litre for MO and 6.67, 7, 30, 35.33, and 65.67 larvae per litre for PDG. Life history traits were calculated for each breeding site, density, and stage.

**Life history trait estimations.** A closed population is composed of  $k$  stages with  $k = 1, 2, \dots, K$ ;  $N_k(n)$  is the total number of individuals in stage  $k$  at time  $t = n\Delta$ , where  $n = 0, 1, 2, \dots, \infty$  and  $\Delta$  is the time unit. The diagram of the *Ae. caspius* life cycle is shown in Fig. 1 with  $K = 5$ . The time variation in the population for each stage is described by:

$$N_k(n+1) = N_k(n) - D_k(n) - E_k(n) + E_{k-1}(n) \quad (1)$$

where  $D_k(n)$  is the total number of dead individuals in stage  $k$  between  $n$  and  $n+1$ ,

$$D_k(n) = [1 - p_k(n+1)]N_k(n) \quad (2)$$

$E_k(n)$  is the total number of individuals undergoing transition from stage  $k$  to  $k+1$  between  $n$  and  $n+1$ ,

$$E_k(n) = q_k(n+1)p_k(n+1)N_k(n) \quad (3)$$

where  $p_k(n+1)$  and  $q_k(n+1)$  are the probabilities of survival and transition from stage  $k$  to stage  $k+1$  between  $n$  and  $n+1$ , respectively. Equation (1) is supplemented with the initial number of individuals,  $N_k(0) = N_0$  for  $k = 1$  and  $N_k(0) = 0$  otherwise. The summation over time of equation (1) from  $n = 0$  to  $n = \infty$  (i.e. when all individuals have disappeared) gives:

$$M_{k+1} = N_k(0) + M_k - D_k = N_{total,k} - D_k \quad (4)$$

where  $N_{total,k} = N_k(0) + M_k$  is the cumulated number of individuals observed in stage  $k$ ,

$M_k = \sum_{n=0}^{\infty} E_{k-1}(n)$  is the total number of individuals found entering stage  $k$  such that as  $M_1 = 0$ , and

$D_k = \sum_{n=0}^{\infty} D_k(n)$  is the cumulated number of dead individuals observed in stage  $k$ . Combining the

initial conditions with  $M_1 = 0$ , equation (4) is transformed into equation (5). This provides the cumulated number of individuals observed in stage  $k$  calculated from the total number of observed individuals and the total number of dead individuals at stage  $k-1$ ,

$$N_{total,k+1} = N_{total,k} - D_k \text{ if } k > 1 \quad (5)$$

Now, equations (1) to (5) are used to define and derive expression of life history traits. Five quantities are of interest:

1 – The survival rate  $\Phi_k$  of individuals in stage  $k$  is defined as:

$$\Phi_k = \frac{N_{total,k+1}}{N_{total,k}} = 1 - \frac{D_k}{N_{total,k}} \quad (6)$$

2 – The stage duration  $\tau_k$  (i.e. the mean time spent in stage  $k$  for individuals) is calculated from:

$$\tau_k = \Delta \frac{\sum_{n=0}^{\infty} N_k(n)}{N_{total,k}} \quad (7)$$

3 – The daily survival probability  $p_k$  of individuals in stage  $k$  is assumed to be constant over time (for sufficient short  $\tau_k$ ),

$$p_k = 1 - \frac{(1 - \Phi_k)\Delta}{\tau_k} \quad (8)$$

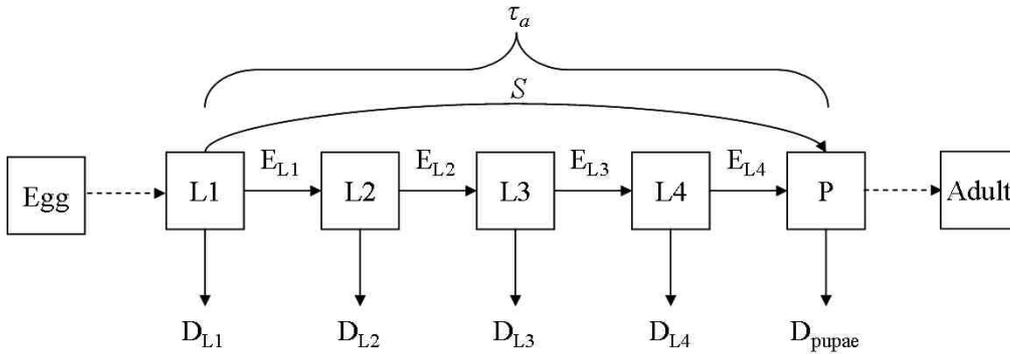
4 – The transition probability  $q_k$ , assumed to be constant over time (for sufficient short  $\tau_k$ ), from stage  $k$  to stage  $k+1$  is calculated from previous traits as:

$$q_k = \left( \frac{\Delta}{\tau_k} \right) \left( \frac{\Phi_k}{p_k} \right) \quad (9)$$

5 – The intrinsic physiological stage duration  $T_k$ , i.e. the bare stage duration without mortality effect ( $T_k \geq \tau_k$ ), is

$$T_k = \Delta \left[ \frac{\ln(\Phi_k)}{\ln(p_k)} \right] \quad (10)$$

The life history traits can be summarised by two comprehensive characteristics:  $S$ , the overall larval survival, and  $\tau_a$ , the total larval development time. The overall larval survival is defined as the product from  $k = 1$  to 5 of all  $\Phi_k$  times  $q_k$ , and the total larval development time  $\tau_a$  as the summation from  $k = 1$  to 5 of all  $\tau_k$ .



**Fig. 1.** Diagram of *Ae. caspius* life cycle.  $E_i$  denotes the total number of individuals undergoing transformation from stage  $i$  to stage  $i+1$ ; and  $D_i$ , the total number of dead individuals in stage  $i$ .  $S$  is the overall larval survival;  $\tau_a$  is the total larval development time. Only the larval and pupal stages were considered in this study.

**Statistical analysis.** The normality of the life history traits was tested using a Shapiro-Wilk test (Zar, 1999). When normality was rejected, the transformation of Box-Cox (Box & Cox, 1964) was used. This method uses the  $\lambda$  transformation to normalise the data using,

$$y_{trans} = \frac{y^\lambda - 1}{\lambda}$$

where  $y_{trans}$  is the transformed data and  $y$  the raw data. Then the normality of  $y_{trans}$  was tested using a Shapiro-Wilk test.

The effects of the breeding site (*bs*), larval density (*ld*) and stage (*st*) on  $\Phi_k$ ,  $\tau_k$ ,  $p_k$ ,  $q_k$ , and  $T_k$  were analysed using a generalised linear model (glm). The life history trait variable was a continuous response variable. The breeding site and stage variables were treated as categorical explanatory variables, and the larval density variable was an ordinal explanatory variable. The glm  $y_{trans} = bs * ld * st$ , with interactions between explanatory variables, was fitted using a Gaussian error structure, the identity as link function and tested by F statistics (Crawley, 2005). A second glm  $y_{trans} = bs + ld + st$  was fitted without the interactions between explanatory variables. The model selected for interpretation was the model with the lower Akaike's information criterion (AIC; Akaike, 1987). In the case where a significant effect of developmental stage was detected using the glm, an ANOVA (Zar, 1999) and pairwise comparison with the Bonferroni corrected *post-hoc* test were used. The same procedure was used for *S* and  $\tau_a$  without the explanatory variable stage. All statistical analyses were performed using the R 2.1.0 software (R Development Core Team, 2005).

### Results

The transition probability  $q_k$  and the total larval development time  $\tau_a$  were normally distributed (Shapiro-Wilk test:  $W = 0.9687$ ,  $p = 0.326$  and  $W = 0.9534$ ,  $p = 0.746$ , respectively). However, the other life history traits were not normally distributed using the Shapiro-Wilk test:  $\Phi_k$  ( $W = 0.7959$ ,  $p < 0.001$ ),  $\tau_k$  ( $W = 0.9331$ ,  $p = 0.02$ ),  $p_k$  ( $W = 0.7399$ ,  $p < 0.001$ ),  $T_k$  ( $W = 0.9078$ ,  $p = 0.003$ ), and *S* ( $W = 0.807$ ,  $p = 0.034$ ). Therefore, Box-Cox transformations were performed for these traits (with  $\lambda = 10.6$ ,  $-0.3$ ,  $18$ ,  $-0.3$ , and  $0.4$ , respectively) and the transformed traits were adjusted to normality (Shapiro-Wilk test,  $W > 0.94$  and  $p > 0.05$  for all traits).

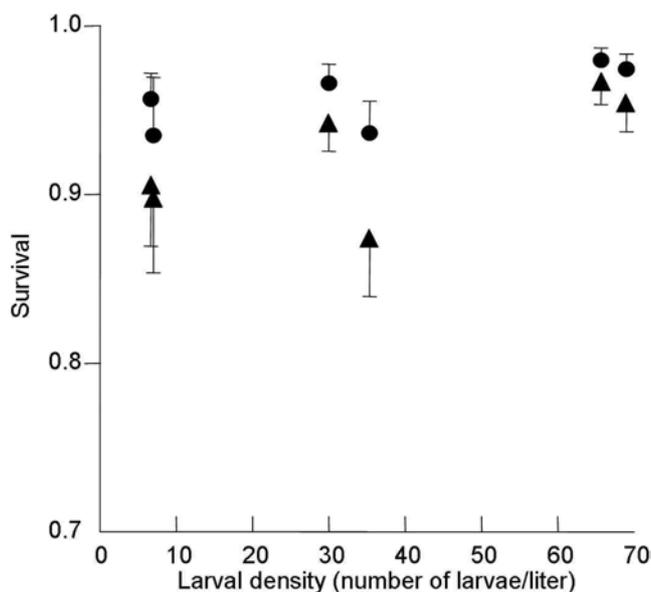
Two types of glm were fitted: with or without interactions. For each life history trait, the model without interaction gave the lower AIC; this model was therefore used for interpretation. Breeding site did not have a significant effect on  $\Phi_k$ ,  $\tau_k$ ,  $p_k$ ,  $q_k$ ,  $T_k$ , *S* or  $\tau_a$  (Table 1). Density did not have a significant effect on  $\tau_k$ ,  $q_k$ ,  $T_k$ , *S* or  $\tau_a$ , but showed a positive correlation with  $\Phi_k$  and  $p_k$  (Fig. 2).

**Table 1.** Akaike information criterion (AIC) and statistics (F statistic, degrees of freedom (*df*), and p-value) of the generalised linear models without interaction fitted on life history traits (LHT).  $\Phi_k$  the survival rate,  $\tau_k$  the stage duration,  $p_k$  the daily survival probability,  $q_k$  the transition probability,  $T_k$  the intrinsic stage duration, *S* the overall larval survival, and  $\tau_a$  the total larval development time.

LHT	AIC	breeding site			larval density			stage		
		F	df	p <sup>a</sup>	F	df	p <sup>a</sup>	F	df	p <sup>a</sup>
$\Phi_k$	-269	0.146	1-38	0.706	7.592	5-33	<b>&lt; 0.001</b>	24.258	4-29	<b>&lt; 0.001</b>
$\tau_k$	-40.45	0.659	1-38	0.424	0.979	5-33	0.447	10.249	4-29	<b>&lt; 0.001</b>
$p_k$	-6.87	0.264	1-38	0.612	5.165	5-33	<b>0.002</b>	20.506	4-29	<b>&lt; 0.001</b>
$q_k$	-12.25	0.625	1-38	0.436	1.345	5-33	0.274	9.438	4-29	<b>&lt; 0.001</b>
$T_k$	-229.2	0.689	1-38	0.413	0.982	5-33	0.446	9.993	4-29	<b>&lt; 0.001</b>
<i>S</i>	-6.67	0.328	1-6	0.669	1.612	5-1	0.534	NA	NA	NA
$\tau_a$	20.06	0.599	1-6	0.581	1.099	5-1	0.616	NA	NA	NA

<sup>a</sup> Significant p-values are in italic and boldface.

The developmental stage had a significant effect on  $\Phi_k$ ,  $\tau_k$ ,  $p_k$ ,  $q_k$ , and  $T_k$  (Table 1, Figs. 3 and 4). L4 larvae and pupae had lower  $\Phi_k$  values than L1, L2, and L3 larvae (ANOVA,  $F = 12.653$ ,  $df = 4-35$ ,  $p < 0.001$ ). Pupae had a lower  $p_k$  than the other stages (ANOVA,  $F = 13.028$ ,  $df = 4-35$ ,  $p < 0.001$ ). L2, L3 larvae and pupae had higher  $q_k$  values than L1 and L4 larvae (ANOVA,  $F = 9.086$ ,  $df = 4-35$ ,  $p < 0.001$ ). L1 and L4 had higher values for both  $\tau_k$  and  $T_k$  than L2, L3 larvae and pupae (ANOVA,  $F = 10.381$  for  $\tau_k$  and  $F = 10.109$  for  $T_k$ ,  $df = 4-35$ ,  $p < 0.001$ ).

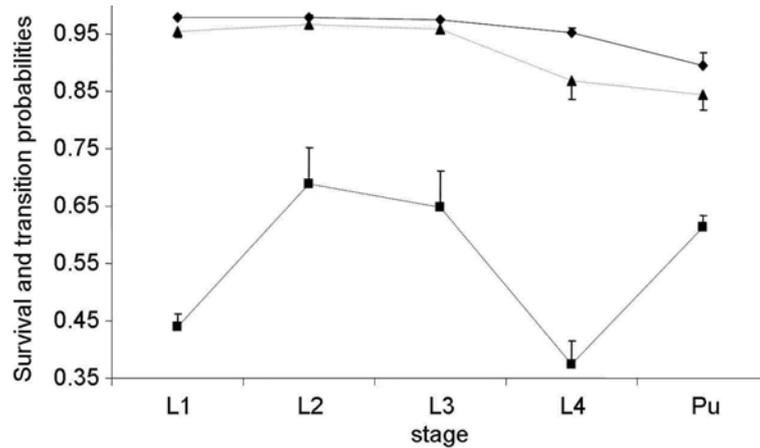


**Fig. 2.** Relationship between the survival rate  $\Phi_k$  (filled triangle) and daily survival probability  $p_k$  (filled circle), and the larval density. Means and standard errors were calculated from raw data.

## Discussion

The aims of this study were to evaluate larval life history traits of *Ae. caspius* in laboratory conditions, to study the effects of larval stage and density on these traits, and to determine which life history traits are relevant for a large-scale study. The life history traits can be divided into two groups. The first group includes  $\Phi_k$ ,  $p_k$ , and  $q_k$ , defining the survival of the larva, i.e. the capacity to survive and to develop from one stage to the next. These three traits were dependent on both larval density and stage. The second group includes  $\tau_k$  and  $T_k$  and defines larval development time. The life history traits of this second group were stage-dependent only.

During the study, induced copulated females were maintained in one cage. The efficacy of induced copulation was less than 100% (Sinègre, 1974), so some eggs laid were not viable. Therefore the number of hatched eggs was not counted and the egg stage was not included in evaluation of the survival rate ( $\Phi_k$ ). The mean and standard deviation of survival rate for *Ae. caspius* ( $91.9 \pm 7.4\%$ ) was higher than those previously measured for other species such as *Aedes cantans* (8.9%; Lakhani & Service, 1974), rice-field *Anopheles* (2%; Mogi *et al.*, 1986), or *Toxorhynchites rutilus* (1.8-5.6%; Campos & Lounibos, 2000). However, these previous studies took the egg stage into account and were performed in the field. Indeed, survival rates measured in our study may have been lower if the egg stage had been included in our estimations or if they had been evaluated in the field.

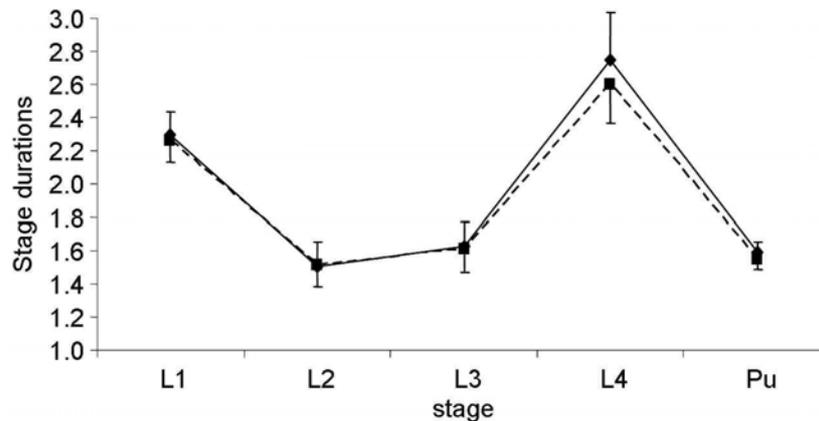


**Fig. 3.** Mean and standard errors of raw data for the survival rate  $\Phi_k$  (filled triangle), the daily survival probability  $p_k$  (filled diamond) and the transition probability  $q_k$  (filled square) for each aquatic stage.

We detected a positive correlation between larval density and both  $\Phi_k$  and  $p_k$  values. In theory, increased larval density increases larval competition, leading to decreased larval survival; thus we expected a negative correlation between larval density and survival. Most mosquito species display gregarious behaviour to optimise survival (Delgado, 1998). This may explain the positive correlation observed between larval density and  $\Phi_k$  in conditions of surplus of food, which we added to avoid larval starvation and competition. The daily survival probability ( $p_k$ ) was density-dependent because it was calculated using the survival rate ( $\Phi_k$ ; see equation 8), which itself was density-dependent. We did not detect an effect of larval density on the life history traits,  $\tau_k$  and  $T_k$ . However, previous studies have shown the duration of developmental stage in mosquitoes to be density-dependent (Hassell *et al.*, 1989; Delgado, 1998; Aigbodion & Okaka, 2001), with a greater average stage duration detected at higher larval densities (Aigbodion & Okaka, 2001). Moreover, most studies incorporating more than one generation detected this density effect on survival. Indeed, this effect of density may be obscured by variability acting upon the population within a generation; in this case it would not be easily detected using a conventional life table (Hassell *et al.*, 1989). We only studied one generation; thus, the limited range of densities used and the addition of surplus food may have prevented detection of density-dependence in our study.

All life history traits studied were stage-dependent. The survival rate ( $\Phi_k$ ) of the L1 instar was slightly, but not significantly, lower than that of the L2 and L3 instars, but was significantly lower for L4 and pupae than for all the other stages. Moreover, the transition probabilities ( $q_k$ ) of the L1 and L4 instars were significantly lower than that of the other stages. The longer the stage duration, the higher the probability of death. This explains the variation in  $\Phi_k$  and  $q_k$  between different instars. Indeed, the L1 and L4 instars had significantly longer stage durations ( $\tau_k$  and  $T_k$ ) than the others. The L1 instar has a longer stage duration because, coming just after the egg stage, its energy is low and therefore needs more time to accumulate the energy to moult. As the pupae do not feed, the L4 instar larvae need store a maximal amount of energy, and so also require a longer stage duration (Clements, 1992). Therefore, the first and fourth instars are key stages (Yamamura, 1999 in Campos & Lounibos, 2000) of the aquatic life of *Ae. caspius*. The

identification of these key stages may be useful in mosquito control programs and in population dynamic models.



**Fig. 4.** Stage duration  $\tau_k$  (filled square), in days, and the intrinsic stage duration  $T_k$  (filled diamond), in days, for each aquatic stage. Means and standard errors were calculated from raw data.

For MO and PDG, the mean and standard deviation for  $S$  was  $0.025 \pm 0.015$  and  $0.039 \pm 0.03$ , respectively, and for  $\tau_a$  was  $9.85 \pm 0.85$  and  $9.36 \pm 0.89$  days, respectively.  $S$  and  $\tau_a$  were not statistically different between the two breeding sites. These two sites, approximately 50 km apart, have similar vegetation and flooding tendencies. The similarity detected between these two different populations for  $\Phi_k$ ,  $\tau_k$ ,  $p_k$ ,  $q_k$ ,  $T_k$ ,  $S$ , and  $\tau_a$  may be due to the high migratory capacity (over 20 km) of *Ae. caspius* (Juminer *et al.*, 1964).

This is the first study to estimate the larval survival and development time of *Ae. caspius* in laboratory conditions. No differences were detected between the two populations, which may be due to three possible explanations. Firstly, larvicide may not affect larval survival and development time of *Ae. caspius*. In this case, they would not be suitable for a large-scale study. Secondly, there may be an effect of larvicide treatment that was not detected due to lack of replication (only two populations) or due to the close proximity of the two populations given the high migratory capacity of *Ae. caspius*. These factors would need to be evaluated for a large-scale study. Thirdly, larvicide treatment may have an indirect effect, causing a decrease in larval density, which in turn modifies larval survival and development time. In this case, only the larval density would be a relevant factor to investigate in a large-scale study. Field evaluations on these two populations need to be carried out to determine the relevant factors to be considered for a large-scale study. Daily larval surveys will be performed and similar life tables to those presented here will be constructed to achieve this.

### Acknowledgments

I thank J-A Rioux, J. Cousserans, G. Duvallet, J-P Hervé and C. Lagneau for their help in revising the manuscript. We are grateful to O. Moussiegt and Alex Edelman & Associates for help in translation and correction of the manuscript.

**References cited**

- Aigbodion, F. & Okaka, C. (2001) Influence of larval diet and population density on pre-adult developmental rate of laboratory populations of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Tropical Freshwater Biology* **10**, 1-8.
- Akaike, H. (1987) Factor analysis and AIC. *Psychometrika* **52**, 333-342.
- Akhter, R., Hayes, C.G., Bagar, S. & Reisen, W.K. (1982) West Nile virus in Pakistan. III. Comparative vector capability of *Culex tritaeniorhynchus* and eight other species of mosquitoes. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **76**, 449-453.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Dahl, C., Lane, J. & Kaiser, A. (2003) *Mosquitoes and their control*. Kluwer New York, USA, Academic / Plenum Publishers, 498 p.
- Beier, J.C., Zimmerman, J.H., Kenawy, M.A., El-Said, S. & Abbassy, M.M. (1987) Host-feeding patterns of the mosquito community (Diptera: Culicidae) in two Faiyum Governorate villages. *Egyptian Journal of Medical Entomology* **24**, 28-34.
- Box, G. & Cox, D. (1964) An analysis of transformations. *Journal of the Royal Statistical Society* **B26**, 211-252.
- Campos, R. & Lounibos, L. (2000) Life tables of *Toxorhynchites rutilus* (Diptera: Culicidae) in nature in southern Florida. *Journal of Medical Entomology* **37**, 385-392.
- Clements, A.N. (1992) *The biology of mosquitoes. Volume 1. Development, nutrition and reproduction*. London, UK, Chapman & Hall, 509 p.
- Crawley, M. (2005) *Statistics. an introduction using R*. Chichester, England, Wiley J.& Sons, 327 p.
- Delgado, N. (1998) Parametros demograficos de las fases inmaduras de *Anopheles aquasalis* Curry 1932 (Diptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio. *Bol Entomol Venez* **13**, 27-43.
- Juminer, B., Kchouk, M., Rioux, J-A. & Ben Osman, F. (1964) A propos des culicides vulnerants de la banlieue littorale de Tunis. *Extrait des archives de l'Institut Pasteur de Tunis* **41**, 23-32.
- Gabinaud, A. (1975) *Ecologie de deux Aedes halophiles du littoral méditerranéen français Aedes (Ochlerotatus) caspius (Pallas, 1771) Aedes (Ochlerotatus) detritus (Haliday, 1833) (Nematocera - Culicidae)*. PhD dissertation, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, France.
- Hannoun, C., Panthier, R. & Corniou, B. (1966) Isolation of Tahyna virus in the south of France. *Acta Virologica* **10**, 362-364.
- Hassell, M., Latto, J. & May, R. (1989) Seeing the wood for the trees: detecting density dependence from existing life-table studies. *Journal of Animal Ecology* **58**, 883-892.
- Lakhani, K. & Service, M. (1974) Estimated mortalities of the immature stages of *Aedes cantans* (Mg.) (Diptera, Culicidae) in a natural habitat. *Bulletin of Entomological Research* **64**, 265-276.
- McDaniel, I. & Horsfall, W. (1957) Induced copulation of Aedine mosquitoes. *Science* **125**, 745.

- Mogi, M., Okazawa, T., Miyagi, I., Sucharit, S., Tumrasvin, W., Deesin, T. & Khamboonruang, C. (1986) Development and survival of anopheline immatures (Diptera: Culicidae) in rice fields in northern Thailand. *Journal of Medical Entomology* **23**, 244-250.
- R Development Core Team. (2005) *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rioux, J-A. (1958) *Les culicides du "midi" méditerranéen*. *Encyclopédie Entomologique*. Paris, France, Editions Paul Lechevalier, 303 p.
- Roubaud, E. & Colas-Belcour, J. (1937) Nouvelles recherches sur l'évolution expérimentale de *Dirofilaria immitis* chez quelques culicides indigenes. *Bulletin de la Société des Pathologies Exotiques* **30**, 480-484.
- Service, M.W. (1971) Studies on sampling larval populations of the *Anopheles gambiae* complex. *Bulletin of the World Health Organisation* **45**, 169-180.
- Service, M.W. (1993) *Mosquito ecology. Field sampling method*. London, UK, Chapman & Hall, 988 p.
- Sinègre, G. (1974) *Contribution à l'étude physiologique d'Aedes (Ochlerotatus) caspius (Pallas, 1771) (Nematocera - Culicidae)*. PhD dissertation. Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, France.
- Southwood, T.R.E., Murdie, G., Yasuno, M., Tonn, R.J. & Reader, P.M. (1972) Studies on the life budget of *Aedes aegypti* in Wat Samphaya, Bangkok, Thailand. *Bulletin of the World Health Organisation* **46**, 211-226.
- Southwood, T.R.E. & Henderson, P.A. (2000) *Ecological methods*. Oxford, UK, Blackwell Science, 575 p.
- Vinograd, I. & Obukhova, V. (1975) [Isolation of arboviruses from birds in western Ukraine] (in Russian). *Sbornik Trudov Institutia Virusologii (Moskva)* **3**, 84-87.
- Weill, M., Berthomieu, A., Berticat, C., Lutfalla, G., Nègre, V., Pasteur, N., Philips, A., Leonetti, J., Fort, P. & Raymond, M. (2004) Insecticide resistance: a silent base prediction. *Current Biology* **14**, 2.
- Zar, J. (1999) *Biostatistical analysis*. Upper Saddle River, New Jersey, Prentice Hall, 663 p.

### III.1.2. To eat or not to eat?

La survie des larves est dépendante du stade et de la densité larvaire. Le temps de développement des différents stades est uniquement dépendant du stade. Il est en outre apparu que les larves des stades L1 et L4 ont une durée de développement plus longue que celles des autres stades. Il a été supposé que, comme les larves au stade L1 viennent juste après le stade œuf, elles ont peu d'énergie et donc ont besoin de passer plus de temps dans le stade en compensation. Sachant que les nymphes ne se nourrissent pas, il est vraisemblable également que les larves L4 doivent accumuler suffisamment d'énergie pour assurer la métamorphose. En toute hypothèse, on peut donc considérer que ces deux stades sont les stades clés de la vie aquatique d'*Ae. caspius*. Afin d'étudier plus en détails cette différence de temps de développement, le temps de transit intestinal a été mesuré en laboratoire, c'est-à-dire le temps pris par une masse de nourriture pour passer de la bouche à l'extrémité anale (Boisvert et Lacoursiere, 2004). L'hypothèse à démontrer est qu'il existe des différences de temps de transit entre les stades, différences qui sont la conséquence de besoins énergétiques différents.

#### III.1.2.1. Matériels et méthodes

Pour les expérimentations en laboratoire, des prélèvements de sol susceptibles de contenir des oeufs ont été réalisés sur un gîte proche de celui de PDG au lieu-dit du Mas de Badet. L'éclosion a été induite par utilisation de la vitamine C (voir chapitre II). Les larves obtenues, âgées de 24 h, ont été isolées individuellement dans des piluliers de 60 ml contenant 42 ml d'eau d'éclosion, sans nourriture ajoutée. Par la suite, 20 larves de chacun des quatre stades, respectivement âgées de 24, 48, 72 et 120 h, ont été transférées dans une solution de bleu de méthyle à la concentration de 400 µg/l. Après 10 min de contact avec le colorant, les larves ont été rincées et transférées dans une plaque multi-puits. A compter de l'instant où les larves sont retirées du colorant, toutes les 10 min jusqu'à la 60<sup>e</sup>, puis toutes les heures, les larves sont observées sous une loupe binoculaire afin de détecter la présence de colorant dans le tube digestif. Les temps de transit estimés, correspondant au temps mis par le colorant pour disparaître du tube digestif, ont été comparés entre les stades à l'aide d'un test de Kruskal-Wallis puis d'un test de comparaisons deux à deux de Mann-Withney (Siegel et Castellan, 1988).

#### III.1.2.2. Résultats et discussion

Les durées moyennes du temps de transit sont significativement différentes entre les stades larvaires (test de Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ). Les temps de transit des larves aux stades L1 et L4, non différents entre eux, sont significativement plus long que ceux des stades L2 et L3, eux-mêmes égaux entre eux (Tableau 3-1; Figure 3-1).

Les temps de transit chez *Ae. caspius*, qui durent entre 5 et 15 h, sont apparus beaucoup plus longs que ceux observés dans une autre étude chez des larves de *Culex pipiens*, estimés entre 20 et 40 min (Agnew *et al.*, 2004). La comparaison de deux espèces de genres différents reste délicate, mais celle des méthodologies employées est possible. L'expérience réalisée par Agnew *et al* (2004) a consisté à transférer des larves dans un milieu contenant des algues vertes,

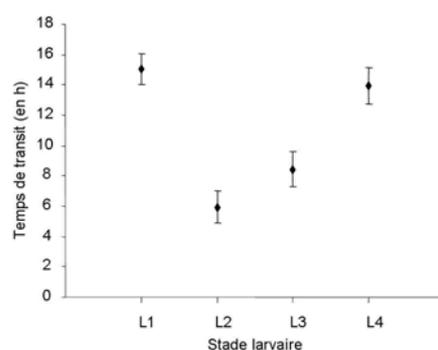
induisant une coloration sombre de l'intestin, puis à transférer ces mêmes larves dans un milieu contenant de la levure, qui induit une coloration blanche de l'intestin. La durée du transit a été déterminée en observant le déplacement de la frontière entre la coloration sombre et la coloration blanche. A contrario, la méthodologie employant le bleu de méthyle peut avoir surestimé le temps de transit en raison d'une fixation possible du colorant sur les parois intestinales (P. Agnew, communication personnelle), alors que la technique de succession algue – levure, en évitant cet inconvénient, pourrait s'avérer plus fiable pour l'estimation du temps de transit. De plus, les larves d'*Ae. caspius* n'ont eu pour seule nourriture que les éléments contenus dans l'eau d'éclosion et aucun ajout n'a été effectué. Il est donc possible que la quantité de nourriture disponible fût insuffisante pour les larves avec pour conséquence de perturber le temps de transit.

**Tableau 3-1** : Résultats des comparaisons deux à deux des temps de transit entre les stades larvaires. Les probabilités présentées dans le tableau ont été calculées à l'aide d'un test de Mann-Whitney.

	L1	L2	L3	L4
L1				
L2	< 0,001			
L3	< 0,001	0,155		
L4	0,291	< 0,001	< 0,001	

La méthodologie employée apparaît donc a posteriori critiquable pour prétendre à une estimation correcte du temps de transit réel d'*Ae. caspius*. Toutefois, l'expérience étant menée de façon rigoureusement identique pour tous les stades, la comparaison des résultats entre eux reste acceptable. La durée du transit intestinal est plus longue pour les larves L1 et L4 que pour les larves L2 et L3. Ce résultat est en accord avec les prédictions attendues.

En supposant ainsi que le temps de transit est en étroite relation avec l'assimilation des nutriments, il semble que les larves L1 et les L4 optimisent leur assimilation par un temps de transit long, alors que les larves L2 et les L3 assimilent de manière moins efficace avec un temps de transit court. L'hypothèse de l'existence d'un compromis entre la qualité d'assimilation et la quantité transitant dans l'intestin peut être émise : les stades jeunes et vieux privilégient la qualité alors que les stades intermédiaires privilégient la quantité. Ainsi ces dernières sont capables de stocker rapidement l'énergie nécessaire leur permettant de muer plus vite que les larves L1 et L4. L'ensemble de ces résultats donne des éléments en faveur de l'hypothèse que les stades 1 et 4 sont des stades clés de la phase aquatique d'*Ae. caspius*.



**Figure 3-1** : Moyenne et erreur standard des temps de transit pour chaque stade larvaire.

## **III.2. Etude sur le terrain : les suivis larvaires**

### **III.2.1. Mise au point de l'outil : une méthode de terrain simple pour estimer l'abondance des différents stades larvaires**

Une méthode a été mise au point pour faciliter l'estimation de l'abondance larvaire sur le terrain. Elle est basée sur la comparaison visuelle des échantillons prélevés par rapport à un abaque montrant des vues de classes d'abondance croissantes. Elle nécessite le recours à un plateau d'échantillonnage standardisé d'une capacité d'un litre, couramment utilisé par les agents prospecteurs de l'EID Méditerranée. L'exactitude de la méthode a été évaluée en conditions de laboratoire et de terrain en tenant compte notamment du biais induit par l'opérateur. Ce travail a été publié dans la revue *Journal of the American Mosquito Control Association*.

*Journal of the American Mosquito Control Association*, 19(4):353–360, 2003  
Copyright © 2003 by the American Mosquito Control Association, Inc.

## AN EASY FIELD METHOD FOR ESTIMATING THE ABUNDANCE OF CULICID LARVAL INSTARS

ALEXANDRE CARRON, CLAIRE DUCHET, BRUNO GAVEN AND CHRISTOPHE LAGNEAU

*Entente Interdépartementale pour la Démoustication du Littoral Méditerranéen, 165, avenue Paul Rimbaud, 34184 Montpellier Cedex 4, France*

**ABSTRACT.** A new method is proposed that avoids manual counting of mosquito larvae in order to estimate larval abundance in the field. This method is based on the visual comparison between abundance, in a standardized sampling tray (called an abacus), with 5 (abacus 5) or 10 (abacus 10) diagrammatically prepared abundance classes. Accuracy under laboratory and field conditions and individual bias have been evaluated and both abaci provide a reliable estimation of abundance in both conditions. There is no individual bias, whether people are familiar or not with its use. They could also be used for a quick estimation of larval treatment effectiveness, for the study of population dynamics and spatial distribution.

**KEY WORDS** Culicidae, abacus, abundance, visual tool

### INTRODUCTION

Information about animal populations is sought for a variety of purposes. Studies are frequently used to provide information on distribution and abundance for conservation or management programs. For pests or parasites, this knowledge of distribution and abundance provides assessments of incidence or damage and may guide the application of control measures (Southwood and Henderson 2000).

Population estimates can be classified into 2 different types: absolute and relative estimates (Morris 1955). The absolute population is defined as the number of animals per unit area. The relative estimates, in which the number caught cannot be expressed as a density per area unit, only allow comparisons in space or time. They are especially useful in extensive work on species distributions, monitoring changes in species abundance and richness and recording patterns of animal activity (Southwood and Henderson 2000). The abundance is defined as the number of individuals and density as the ratio between number of individuals and a surface or a volume unit.

In the case of culicid species, determination of the total number of larvae in a given place is essential for the analysis of various problems such as population dynamics, effectiveness of chemical treatment, and biological agents applied against larvae in the field (Wada 1962a). Numerous methods have been used to estimate the abundance and the density of mosquito larvae: capture–recapture (Hassett and Jenkins 1949; Bailey 1952; Croset et al. 1976), dipping (Andis et al. 1983; Linthicum et al. 1984; Reisen et al. 1989), removal method (Wada 1962a, 1962b; Service 1971; Croset et al. 1976), and sequential sampling (Waters 1955 in Knight 1964; Wada 1965). However, all these methods demand that the operator make a manual count to estimate larval abundance and appraise the larval density when the sampling surface is known. In most cases, it is very difficult or even impossible to count the total number of larvae. Moreover, mos-

quito larvae, like many other aquatic invertebrates, have a notorious nonuniform distribution (Hocking 1953; Nielsen and Nielsen 1953; Papierok 1972; Stewart and Schaefer 1983; Service 1993), and numerous samples are required for a reliable estimation of abundance when the population is randomly dispersed (Zippin 1956; Resh 1979; Morin 1985).

Up to now, manual counting was the sole method used to estimate mosquito larvae abundance and density. Agronomic methods (Chiarappa 1971) and a black fly study (Palmer 1994) were the first to use and test a visual tool called an abacus as a substitute for manual counting. We developed this type of tool for mosquitoes in southern France. This relative method is based on a visual comparison of larvae present in a standardized sampling tray with diagrammatically prepared abundance classes. The accuracy of the abacus as well as individual bias were tested in the laboratory and in the field. The abacus was also used to estimate the efficiency of a larvicide treatment.

### MATERIALS AND METHODS

#### The method

A series of schematic representations of pictures with a given known number of larvae made up the abacus. The range of the abacus goes from 1 larva to the maximum larval abundance, which is likely to occur in the field (Babinot, unpublished data). When the range of the abacus is established, it is divided into classes based on a semilog scale. Each class is visualized by the maximum number of larvae of this class. For each maximum number, the corresponding number of larvae is counted and put in a 13.5- × 13.5- × 6-cm white standardized tray and is photographed. The schematic representation of each photo, which represents an abundance class, was obtained with Microsoft PowerPoint® software. All schematic representations were printed on a single A4-size sheet of paper so that it

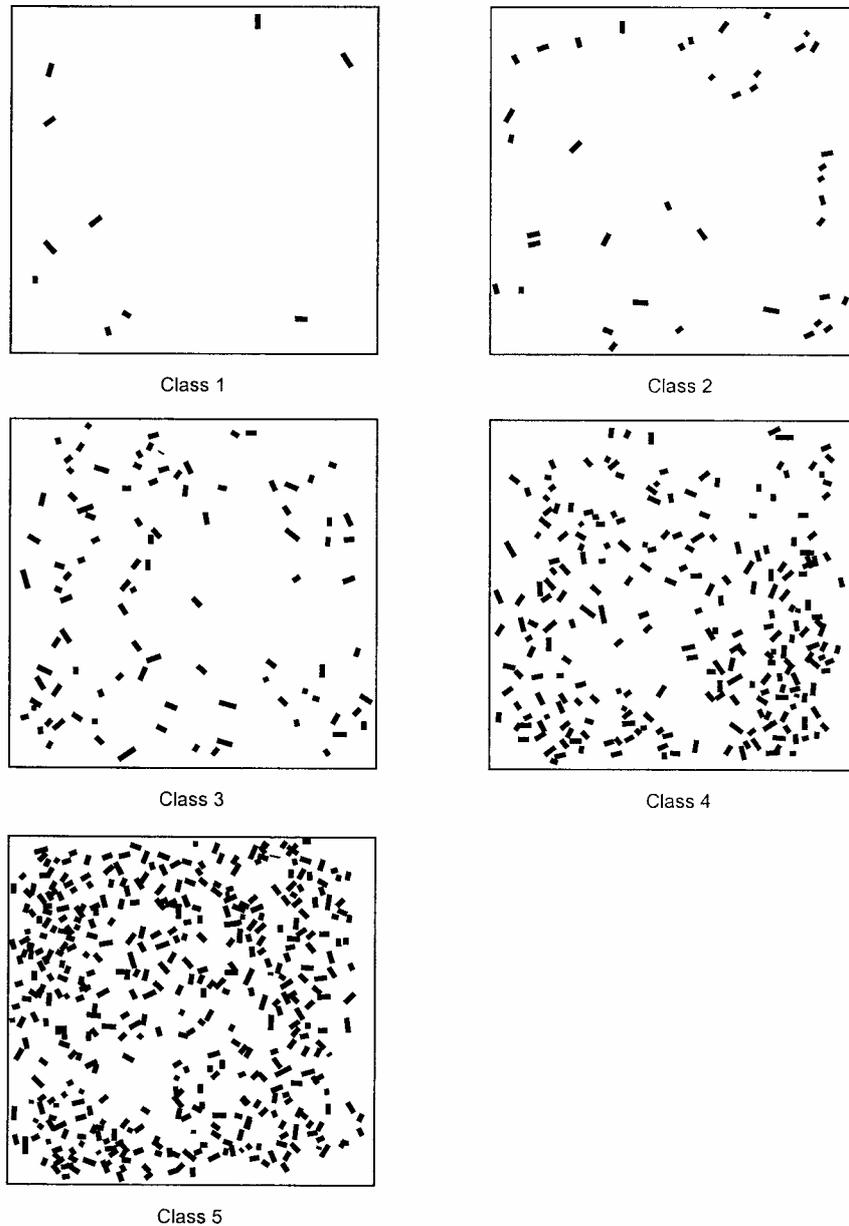


Fig. 1. Abacus 5, diagrammatic representation of semilogarithmically defined abundance scale to estimate population abundance of mosquito larvae. Classes correspond to the numbers shown in Table 1.

could be held with 1 hand, and be conveniently used in the field.

The sample is collected with the standardized tray. This sample is compared with the abacus from the first to the last class. When a doubt remains between 2 classes, the abundance is considered to belong to the upper class.

Two abacuses are proposed: an abacus with 5 abundance classes on a single A4 sheet (abacus 5, Fig. 1) and a more accurate one with 10 abundance

classes on 2 sheets (abacus 10, Fig. 2). Classes range from 1 larva (class 1) to an excess of 250 (class 5, Table 1) for abacus 5 and 1 larva (class 1) to an excess of 500 (class 10, Table 2) for abacus 10.

**Validation of the method: laboratory accuracy and individual biases**

This experiment was designed to test the accuracy of estimates and the possible effect of bias of

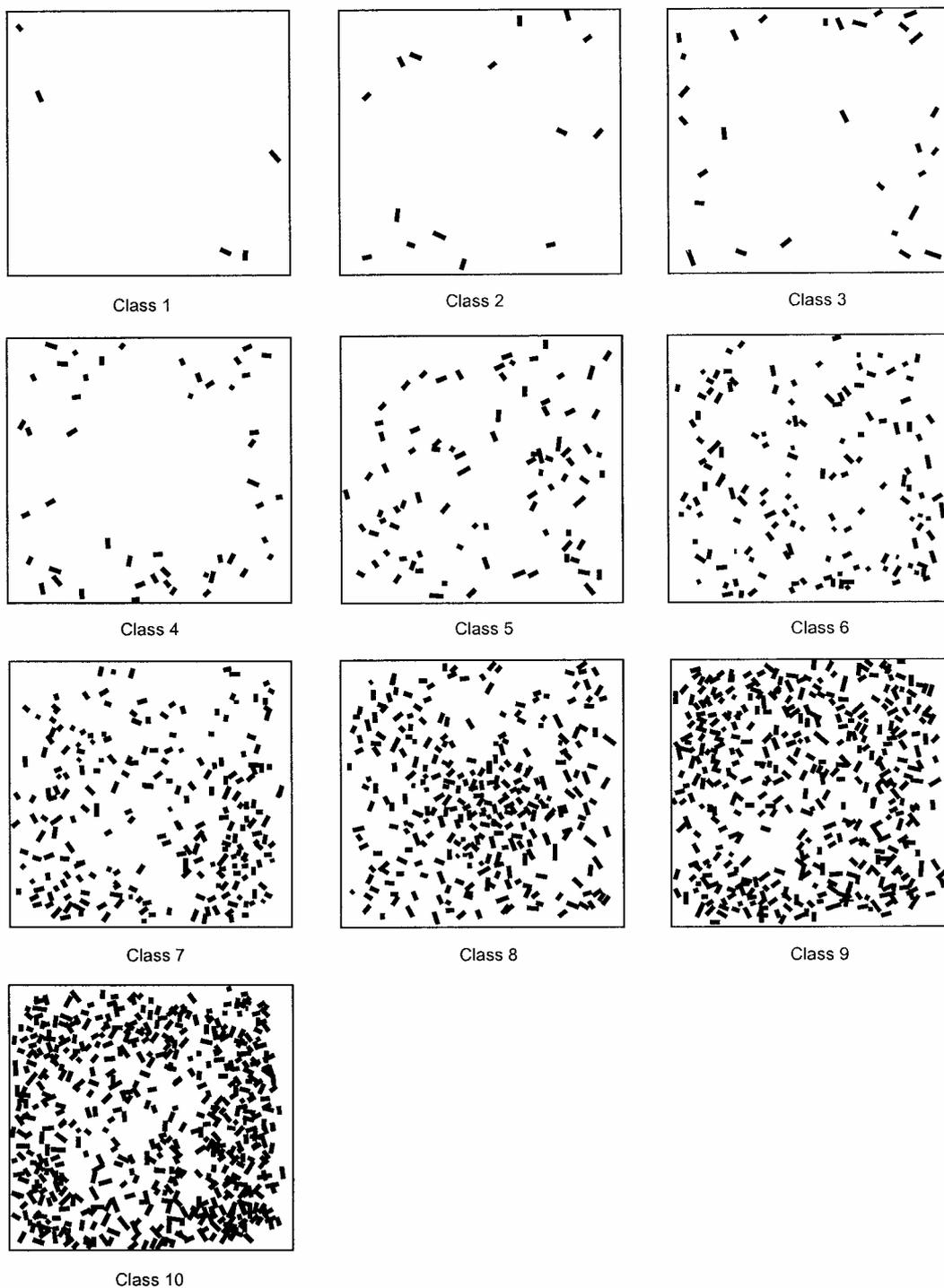


Fig. 2. Abacus 10, diagrammatic representation of semilogarithmically defined abundance scale to estimate population abundance of mosquito larvae. Classes correspond to the numbers shown in Table 2.

tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

Table 1. Larval numbers in each of the 5 abundance classes of abacus 5 used for estimating the abundance of mosquito larvae. Ranges for the classes are given in brackets.

Class	Larvae
1	10 (1–10)
2	40 (11–40)
3	100 (41–100)
4	250 (101–250)
5	600 (>250)

field and laboratory operators and to compare the 2 abacuses. A laboratory experiment was conducted at room temperature and under natural light and photoperiod. Three aquariums of 92.5 × 35 × 47 cm, with 10 cm of water, were used. An unknown number of 3rd- and 4th-stage larvae of *Culex pipiens* L. was put in each aquarium. Aquariums 1, 2, and 3 received respectively 1, 3, and 5 field dippings in order to obtain increasing abundances.

An operator collected larvae in an aquarium with the standardized tray. The abundance was estimated with abacus 5, then with abacus 10; then the larvae were manually counted. This larval number gave the true value of abundance, translated into true abundance class with Table 1 for abacus 5 and Table 2 for abacus 10. The larvae were put back into the aquarium. In order to test the laboratory accuracy of the abacus, comparisons were made between abundance classes, appraised with abacus 5 and abacus 10, and the true abundance classes obtained with manual counting.

Three operators carried out this experiment for each aquarium: operator A, familiar with the use of abacuses and unfamiliar with sampling, made 10 replicates; operator B, unfamiliar with the use of abacuses and familiar with sampling; and operator C, familiar neither with the use of abacuses nor with sampling, performed 5 replicates so that 20 replicates were made in each aquarium. Comparing the estimations of abundance classes of the 3 operators allowed displaying individual biases and manual counting allowed for testing the differences in larval sampling between operators.

#### Comparison between the two abacuses

Twenty replicates for each aquarium were used and the “residues” between estimated abundance and the true value of abundance were used to compare the accuracy. These residues were calculated by subtracting the estimated value from the true value of abundance given by manual counting and the absolute value of these differences was calculated. The estimated value is the maximum number of the estimated abundance class. For abacus 5, the abundance class is translated into abundance value with Table 1. For abacus 10, Table 2 is used. Twenty residues for each abacus were calculated and

Table 2. Larval numbers in each of the 10 abundance classes of abacus 10 used for estimating the abundance of mosquito larvae. Ranges for the classes are given in brackets.

Class	Larvae
1	5 (1–5)
2	15 (6–15)
3	30 (16–30)
4	50 (31–50)
5	90 (51–90)
6	150 (91–150)
7	250 (151–250)
8	350 (251–350)
9	500 (351–500)
10	600 (>500)

compared for each aquarium. The null hypothesis is that the residue values of abacus 10 are inferior to the residues of abacus 5.

#### Validation of the method: field accuracy

To test the field accuracy of the 2 abacuses, an operator collected 12 samples with the standardized tray in a nonturbid water ditch (50 × 0.5 × 0.4 m) colonized with 3rd- and 4th-stage instars of *Cx. pipiens* larvae (Mas de Badet, southern France). To avoid sampling bias, the operator must have the sun in one's eyes to avoid alarm reaction (e.g., diving) of the larvae due to his or her shadow (Hocking 1953). Moreover, when the operator reached the point of sampling, water is disturbed and the larvae dive (Duhkopf and Benny 1990), so the operator must wait at least 1 min before dipping. The abundance in each tray was estimated with abacus 5, then with abacus 10, and true values of abundance were determined by manual counting.

#### Efficiency of a larvicide treatment

The abacus can also be used to estimate the efficiency of larvicides used for mosquito control, mainly against *Ochlerotatus caspius* (Pallas, 1771) along the French Mediterranean coast. To estimate the percentage of mortality (Tables 3 and 4), differences between classes before and after treatment were used:

$$\% \text{ mortality} = (Y - X)/Y$$

where  $Y$  is the maximum number of larvae for the class before treatment and  $X$  is the maximum number of larvae for the class after treatment.

The larvicide used was *Bacillus thuringiensis* ser. *israelensis* (*Bti*, Vectobac® 12 AS, Valent Bioscience Inc., France, 1,200 UTI/mg). A dilution of 0.120 liter of *Bti* in 2.4 liters of water was applied with a knapsack sprayer during 3 min across a 1,200 m<sup>2</sup> marsh sheltering 3rd- and 4th-stage instars of *O. caspius* larvae. The discharge flow during the treatment was 800 ml/min. The estimation of the

Table 3. Changes in numbers between abundance classes for abacus 5 were used to estimate percentage mortality of mosquito larvae as a result of larvicide application.

Class after treatment (X)	% mortality Class before treatment (Y)				
	1	2	3	4	5
1	0	75	90	96	98
2		0	60	84	93
3			0	60	83
4				0	58
5					0

abundance at 15 points, localized by posts, was made immediately before and 24, 48, and 72 h after treatment with abacus 10.

**Statistical analysis**

All statistical tests were done with SYSTAT 9 software (SPSS Inc.). To test the laboratory and the field accuracies, a sign test (Zar 1999) was used to compare the abundance classes, appraised with the abacus, with the true values determined by manual counting translated into classes with Table 1 or Table 2. To evaluate individual bias, a Kruskal–Wallis test (Zar 1999) was used to compare the estimations of abundance classes appraised with both abacuses and to compare the expected classes given by the manual counting of the 3 operators. To test if abacus 10 was more accurate than abacus 5, a Kolmogorov–Smirnov test (Zar 1999) was used to check the normality law of the residues. A paired-sample *t*-test (Zar 1999) was then used to compare the residues calculated with abacus 5 and abacus 10. A Wilcoxon signed-rank test (Zar 1999) was used to study the differences in percentage of mortality induced by the treatment.

**RESULTS**

**Laboratory accuracy and individual bias**

There were no significant differences between the estimates with the 2 abacuses and manual counting (Table 5). For aquariums 1 and 2, no significant differences were found between the 3 operators with both abacuses and manual counting (Table 5). For aquarium 3, there were significant differences among the 3 operators in estimating the abundance with the 2 abacuses (Kruskall–Wallis one-way ANOVA, *KW* = 6.815, *df* = 2, *P* = 0.033 for abacus 5; *KW* = 7.76, *df* = 2, *P* = 0.021 for abacus 10) and for manual counting expected abundance classes (given by Table 2, Kruskal–Wallis one-way ANOVA, *KW* = 7.039, *df* = 2, *P* = 0.03).

**Comparison between the 2 abacuses**

All residues were adjusted to the normality (all Kolmogorov–Smirnov tests were not significant). There were highly significant differences between the residues calculated with abacus 5 and abacus 10 (paired-sample *t*-test, *t* = 2.956, *df* = 19, *P* = 0.008 for aquarium 1; *t* = 3.715, *df* = 19, *P* = 0.001 for aquarium 2; and *t* = 3.183, *df* = 19, *P* = 0.005 for aquarium 3). The residues calculated with abacus 5 were higher than those calculated with abacus 10.

**Field accuracy and efficiency of a larvicide treatment**

There were no significant differences between estimated abundances and manual counting (sign test, *P* = 0.25 for abacus 5; *P* = 0.625 for abacus 10, Table 6). The *Bti* treatment induced a reduction of the larval population (Fig. 3a, Table 7) and abacus 10 provided a quick estimation of this reduction (Fig. 3b). After 24, 48, and 72 h, a reduction of 51, 69, and 70%, respectively, of larval abundance was noted (Table 7). There was a significant difference

Table 4. Changes in numbers between abundance classes for abacus 10 were used to estimate percentage mortality of mosquito larvae as a result of larvicide application.

Class after treatment (X)	% mortality Class before treatment (Y)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0	67	83	90	94	97	98	98.6	99	99.2
2		0	50	70	83	90	94	95.7	97	97.5
3			0	40	67	80	88	91.4	94	95
4				0	44	67	80	85.7	90	91.7
5					0	40	64	74.3	82	85
6						0	40	57.1	70	75
7							0	28.6	50	58.3
8								0	30	42
9									0	16.7
10										0

tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

Table 5. Results of the laboratory experiment. The *P*-values were calculated for abacus and manual counting estimates and aquarium and operator differences with a Kruskal–Wallis test.<sup>1</sup>

Operator	Aquarium 1				Aquarium 2				Aquarium 3			
	Abc5	Mc1	Abc10	Mc2	Abc5	Mc1	Abc10	Mc2	Abc5	Mc1	Abc10	Mc2
A	3	3	5	5	3	4	6	6	4	4	7	9
A	3	3	4	5	4	4	7	7	5	5	9	9
A	2	3	4	4	4	3	6	6	5	4	8	7
A	3	3	5	5	4	4	6	6	4	4	7	7
A	3	3	5	6	4	4	7	7	4	4	7	7
A	3	3	5	5	4	4	7	7	5	5	8	9
A	4	3	6	6	4	4	7	7	5	5	8	8
A	4	4	6	6	4	4	6	6	5	5	8	8
A	4	4	7	7	4	4	6	6	5	5	9	9
A	4	4	6	7	4	4	6	6	4	4	7	7
B	4	4	6	6	4	4	7	7	5	5	9	9
B	4	4	7	7	4	4	7	7	5	5	9	9
B	3	3	5	5	4	4	7	7	5	4	8	7
B	3	3	5	5	5	5	8	8	5	5	9	9
B	5	5	8	8	5	5	8	8	5	5	9	8
C	3	3	6	6	5	5	8	8	4	4	7	7
C	3	3	5	6	3	3	5	5	4	4	6	6
C	4	4	6	6	3	3	5	5	3	3	5	5
C	3	3	5	5	4	4	7	7	5	5	9	8
C	3	3	5	5	4	4	6	7	4	4	6	6
<i>P</i> -value	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	*	*

<sup>1</sup> NS, *P* > 0.05; \*, *P* < 0.05. Abc5, abacus 5; Mc1, manual counting translated into classes with table 1; Abc10, abacus 10; Mc2, manual counting translated into classes with table 2.

in the percentage of mortality between 24 h and 48 h after treatment (Wilcoxon signed-rank test, count of differences = 6, *P* = 0.046) but no significant difference between 48 h and 72 h after treatment (Wilcoxon signed-rank test, count of differences = 9, *P* = 0.476).

**DISCUSSION**

In the laboratory, there were significant differences among the 3 operators when larval abundance was high (aquarium 3). In this aquarium, the significant differences noted between operators in estimating the abundance with abacus 10 were due to significant differences in sampling (Table 5). These differences were probably due to the fact that a more skilled operator collected significantly larger numbers of organisms (Clifford and Casey 1992). Operators A, B, and C collected respectively 275.9 ± 59.9, 342.8 ± 52.3, and 170.2 ± 92.5 larvae, which explained the significant differences found with abacus 5 in aquarium 3. No test was made with an operator familiar both with the abacus and with sampling because there is no such operator in the staff of the EID Mediterranee.

All the experiments were done with 3rd- and 4th-stage instars in nonturbid water. However, this visual method might give unreliable results when high densities of 1st- and 2nd-stage instars occur, as small larvae can be easily overlooked (Palmer 1994). Moreover, when the water is turbid, larvae are not easily seen and estimation of abundance is biased. Turbid water could be diluted, but operators

do not always have clean water near at hand. When the water contains large organic fragments, they should be carefully removed.

Although abacus 5 is easier to use, there are significant differences among operators when the abundance is high. Moreover, the residues calculated with abacus 10 are narrower than those obtained with abacus 5. Therefore, abacus 10 provides more accurate estimations. Either abacus can be used according to the accuracy wanted.

The abacus gives an estimation of abundance and not an estimation of density. However, estimation of larval density is possible: the larval numbers caught with a dipper related to the estimated water

Table 6. Results of the field experiment.<sup>1</sup>

Replicate	Abc5	Mc1	Abc10	Mc2
1	4	4	6	6
2	3	3	5	5
3	3	3	5	5
4	4	4	7	6
5	4	4	7	7
6	4	4	6	7
7	3	4	5	6
8	3	3	5	5
9	4	5	7	8
10	4	4	6	6
11	4	4	7	7
12	3	4	6	6

<sup>1</sup> Abc5, abacus 5; Mc1, manual counting translated into classes with table 1; Ab10, abacus 10, Mc2, manual counting translated into classes with table 2.

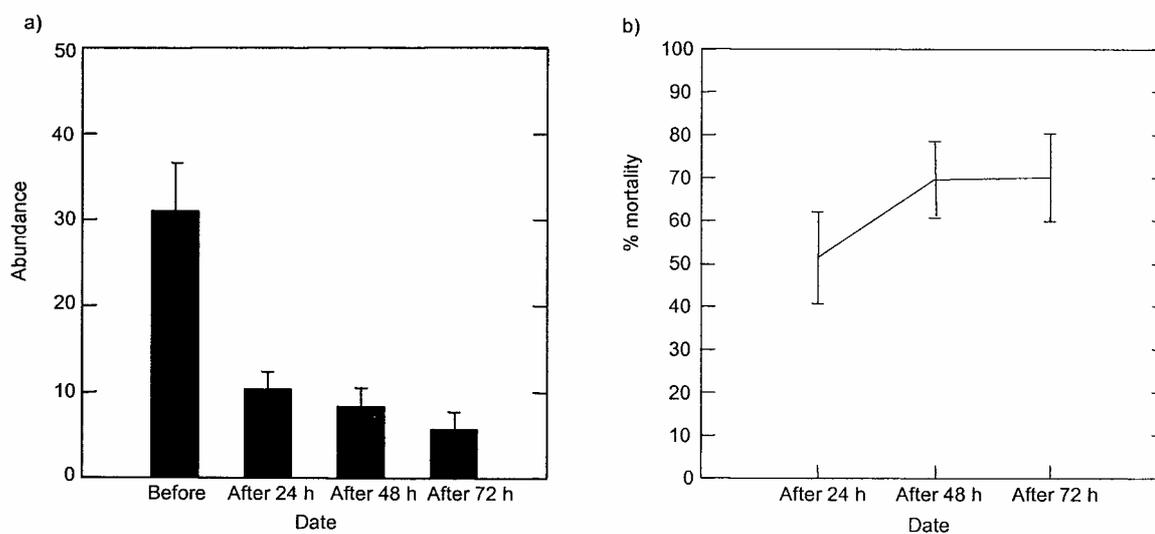


Fig. 3. (a) Changes in larval abundance induced by a larvicide treatment and (b) percentage of larval mortality induced by this larvicide treatment. The larval abundance considered is the upper number of the abundance class estimated with abacus 10. The mean and the standard error are represented for (a) the abundance estimated with abacus 10 and (b) the percentage of mortality.

volume allows calculating larval population estimates (Dixon and Brust 1972). In our experiments, the dipper used is a standardized tray. This method could be used with other dippers or other sampling techniques, but to use the abacus, the larvae collected must be transferred in the standardized sampling tray.

Manual counting is the most accurate existing method but it is time consuming and tiresome. Relative methods such as abacus or dipping are satisfactory in extensive research for nuisance-control programs (e.g., measurement of larvicidal efficiency; Papierok 1972) and may provide a reliable pop-

ulation estimate (Papierok et al. 1975; Stewart and Schaefer 1983) if a minimum number of samples is collected. Such is the case with mosquito larvae due to their nonuniform distribution (Resh 1979; Service 1993). The abacus can help to collect large numbers of samples as the operator spends less time to count larvae.

For life-table analysis (Service 1971; Lakhani and Service 1974; Reisen et al. 1989) or when different culicid species are present (Linthicum et al. 1983, 1984), instars and/or species must be separated. In such a case, the abacus cannot be used and the operator must proceed with manual count-

Table 7. Abundance classes before and after a larvicide treatment and percentage mortality, using Table 4.

Point	Class before treatment	Class 24 h		Class 48 h		Class 72 h	
		After treatment	% mortality	After treatment	% mortality	After treatment	% mortality
1	2	2	0	1	67	1	67
2	3	2	50	2	50	1	83
3	5	1	94	2	83	1	94
4	4	1	90	1	90	0	100
5	3	1	83	0	100	0	100
6	3	2	50	1	83	0	100
7	3	1	83	1	83	1	83
8	3	0	100	0	100	0	100
9	3	1	83	1	83	0	100
10	4	2	70	2	70	1	90
11	2	2	0	2	0	1	67
12	2	2	0	1	67	1	67
13	2	1	67	1	67	2	0
14	1	1	0	0	100	1	0
15	3	3	0	3	0	3	0
$\bar{x}$ percentage of mortality			51.33		69.53		70.07

ing. The abacus is a reliable tool to estimate the efficiency of larvicide treatments when the minimum sample number is known. In southern France, it was advisable to take 1 sample every 2 m to have an accurate estimation of larvae abundance (Croset et al. 1976). The abacus gives a relative estimation of abundance that could be used to study the influence of methodological and environmental factors on the efficiency of larvicides.

This visual method is effective with minimum equipment (1 or 2 sheets of paper) and minimum training. Whatever the sampling method used, the abacus allows the estimation of larval abundance without any manual counting. Despite its limitations, the visual method is practical, simple, and rapid, and is convenient for use in mosquito control programs whenever assessment of larval abundance is required.

#### ACKNOWLEDGMENTS

We thank J. A. Rioux, J. Cousserans, B. Papierok, and C. Nielsen-Leroux for help in revising the manuscript. We deeply appreciate the collaboration of all technicians of the laboratory and the operational staff of the EID Mediterranee. We are grateful to O. Moussiegt for help in translation of the manuscript.

#### REFERENCES CITED

- Andis MD, Meek CL, Wright VL. 1983. Bionomics of Louisiana riceland mosquito larvae I. A comparison of sampling techniques. *Mosq News* 43:195-203.
- Bailey NTJ. 1952. Improvements in the interpretation of recapture data. *J Anim Ecol* 21:120-127.
- Chiarappa L, ed. 1971. *Crop loss assessment methods. FAO manual on the evaluation and prevention of losses by pests, disease and weeds* Oxford: FAO.
- Clifford HF, Casey RJ. 1992. Differences between operators in collecting quantitative samples of stream macroinvertebrates. *J Freshwater Ecol* 7:271-276.
- Croset H, Papierok B, Rioux JA, Gabinaud A, Cousserans J, Arnaud D. 1976. Absolute estimates of larval populations of culicid mosquitoes: comparison of 'capture-recapture', 'removal' and 'dipping' methods. *Ecol Entomol* 1:251-256.
- Dixon RD, Brust RA. 1972. Mosquitoes of Manitoba. III. Ecology of larvae in the Winnipeg area. *Can Entomol* 104:961-968.
- Duhrkopf RE, Benny H. 1990. Differences in the larval alarm reaction in populations of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *J Am Mosq Control Assoc* 6:411-414.
- Hassett CC, Jenkins DW. 1949. Production of radioactive mosquitoes. *Science* 110:109-110.
- Hocking B. 1953. Notes on the activities of *Aedes* larvae. *Mosq News* 13:77-81.
- Knight KL. 1964. Quantitative methods for mosquito larval surveys. *J Med Entomol* 1:109-115.
- Lakhani KH, Service MW. 1974. Estimated mortalities of the immature stages of *Aedes cantans* (Mg.) (Diptera, Culicidae) in a natural habitat. *Bull Entomol Res* 64:265-276.
- Linthicum KJ, Davies FG, Bailey CL, Kairo A. 1983. Mosquito species succession in a dambo in an East African forest. *Mosq News* 43:464-470.
- Linthicum KJ, Davies FG, Bailey CL, Kairo A. 1984. Mosquito species encountered in a flooded grassland dambo in Kenya. *Mosq News* 44:228-232.
- Morin A. 1985. Variability of density estimates and the optimization of sampling programs for stream benthos. *Can J Fish Aquat Sci* 42:1530-1534.
- Morris RF. 1955. The development of sampling techniques for forest insect defoliators, with particular reference to the spruce budworm. *Can J Zool* 33:225-294.
- Nielsen ET, Nielsen AT. 1953. Field observations on the habits of *Aedes taeniorhynchus*. *Ecology* 34:141-156.
- Palmer RW. 1994. A rapid method of estimating the abundance of immature blackflies (Diptera: Simuliidae). *Onderstepoort J Vet Res* 61:117-126.
- Papierok B. 1972. *Dénombrement de populations larvaires de Culicidés (Diptera: Culicidae)*. Ph.D. dissertation. Paris: Université de Paris VI. 133 p.
- Papierok B, Croset H, Rioux JA. 1975. Estimation de l'effectif des populations larvaires d'*Aedes (O.) cataphylla* Dyar, 1916 (Diptera-Culicidae). II. Méthode utilisant le 'coup de louche' ou 'dipping'. *Cahier ORSTOM, Ent Méd Parasi*. 13:47-51.
- Reisen WK, Meyer RP, Shields J, Arbolante C. 1989. Population ecology of preimaginal *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) in Kern County, California. *J Med Entomol* 26:10-22.
- Resh VH. 1979. Sampling variability and life history features: basic considerations in the design of aquatic insect studies. *J Fish Res Board Can* 36:290-311.
- Service MW. 1971. Studies on sampling larval populations of the *Anopheles gambiae* complex. *Bull Wld Hlth Org* 45:169-180.
- Service MW. 1993. *Mosquito ecology. Field sampling methods* London: Chapman and Hall.
- Southwood TRE, Henderson PA. 2000. *Ecological methods* Oxford: Blackwell Science.
- Stewart RJ, Schaefer CH. 1983. The relationship between dipper counts and the absolute density of *Culex tarsalis* larvae and pupae in rice fields. *Mosq News* 43:129-135.
- Wada Y. 1962a. Studies on the population estimation for insects of medical importance. I. A method of estimating the population size of mosquito larvae in a fertilizer pit. *Endem Dis Bull Nagasaki Univ* 4:22-30.
- Wada Y. 1962b. Studies on the population estimation for insects of medical importance. II. A method of estimating the population size of larvae of *Aedes togoi* in the tide-water rock pool. *Endem Dis Bull Nagasaki Univ* 4:141-156.
- Wada Y. 1965. Population studies on Edmonton mosquitoes. *Quaest Entomol* 1:187-222.
- Zar JH. 1999. *Biostatistical analysis* Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall.
- Zippin C. 1956. An evaluation of the removal method of estimating animal populations. *Biometrics* 12:163-189.

### III.2.2. Les suivis larvaires

Le but de ce chapitre est d'étudier sur le terrain les deux groupes de traits d'histoire de vie larvaire, survie et temps de développement. Pour cela, à chaque mise en eau, les abondances larvaires et nymphales ont été estimées quotidiennement à l'aide de l'abaque (cf chapitre précédent). Pour le premier groupe de traits, la survie de l'individu, la probabilité de passage d'un stade donné au suivant ainsi que la mortalité tous stades confondus ont été estimées. Pour le second groupe, c'est le temps de développement de chaque stade immature qui a été calculé. L'objectif est de tester l'existence de différences entre les deux gîtes et d'essayer de déterminer ce qui influe sur les traits d'histoire de vie de la phase aquatique d'*Ae. caspius*.

#### III.2.2.1. Matériels et méthodes

##### III.2.2.1.1. Plan d'échantillonnage

Les différentes mises en eau durant les années 2004 et 2005 ont été suivies deux ou trois jours après le début de la submersion jusqu'à la fin de l'émergence (Annexe III-1). La superficie mise en eau a été séparée en zones et des points d'échantillonnage ont été définis au hasard sur chaque zone en fonction de sa superficie (Annexe III-2 et III-3). Chaque zone correspond à une unité de mise en eau isolée des autres zones. Un prélèvement larvaire a été réalisé sur chaque point d'échantillonnage à l'aide d'un plateau de 1 litre (Gilac® 135 x 135 x 60 mm) attaché à un manche à balai. L'utilisation du manche permet de réaliser un prélèvement à distance sans créer de mouvements d'eau provoqués par le déplacement de l'opérateur. Les remous entraînent en effet une fuite des larves et peuvent biaiser les échantillonnages (Hocking, 1953 ; Duhrkopf et Benny, 1990). L'abondance des groupes de stade larvaire L1-L2, L3-L4 et Nymphe (Ny) a été estimée à l'aide de l'abaque 10 (voir chapitre précédent). Pour les calculs, les classes d'abondance ont été transformées en valeur d'abondance en prenant la valeur supérieure de la classe (voir chapitre précédent). Au total, 10 260 échantillonnages larvaires ont été réalisés au cours de quatre mises en eau sur le gîte de MO et de cinq mises en eau sur le gîte de PDG. Le calendrier des suivis, qui ont duré entre 11 et 25 jours, est présenté en annexe III-1. Le nombre de points d'échantillonnage et leur position précise sur les gîtes sont présentés en annexes III-2 et III-3, respectivement.

##### III.2.2.1.2. Traits d'histoire de vie estimés

Les traits d'histoire de vie estimés à partir des données d'abondance sont la densité initiale ("dens"; nombre de larves pour un litre), la mortalité tous stades confondus ("morta"; pourcentage de morts journalier), le temps de développement ("tdev"; en jours) et la probabilité de passage au stade suivant ("probaP"). Les calculs ont été effectués sur la moyenne de l'abondance de tous les points d'échantillonnage pour une date de suivi, une zone et un groupe de stades donnés.

La somme des abondances moyennes des trois groupes de stade pour la première date de suivi a permis d'obtenir la densité larvaire initiale. Il est possible de parler de densité car l'abondance est estimée pour un prélèvement de 1 l. Le taux de mortalité tous stades confondus a été estimée en divisant la différence de la somme de l'abondance des stades entre deux dates

d'échantillonnages consécutives par la somme de l'abondance des stades à la date la plus ancienne. Le temps de développement de chaque groupe de stades a été calculé en utilisant la méthode de Pontius *et al.* (1989). C'est une méthode non paramétrique qui permet d'obtenir aisément le temps de développement pour des populations structurées en stades qui ont été échantillonnées régulièrement (Manly, 1990). Elle est décrite en annexe III-4. La durée de nymphose a été calculée à partir des données de suivi d'émergence (voir chapitre IV) car pour utiliser la méthode de Pontius *et al.* (1989), il faut estimer l'abondance des adultes.

La probabilité de passage d'un stade donné au suivant se calcule différemment pour les trois groupes de stades. Soient  $P_{i,j}$ , la probabilité de passage du groupe  $i,j$  au groupe  $i+1,j+1$ ,  $N_{ij}(t)$  l'abondance ou nombre d'individus du groupe  $i,j$  au temps  $t$ , et  $\Delta$  le nombre de jours entre deux dates de suivi (on suppose que  $P_{i,j}$  varie très peu à l'échelle de  $\Delta$ ). Ainsi, le nombre d'individus  $N_{ij}(t+\Delta)$  du groupe  $i,j$  au temps  $t+\Delta$  est égal au nombre d'individus  $N_{ij}(t)$  au temps  $t$  moins les sorties (*i.e.*, le nombre d'individus  $P_{i,j}(t) N_{ij}(t)$  ayant fait le passage du groupe  $i,j$  au groupe  $i+1,j+1$  entre  $t$  et  $t+\Delta$ ) plus les entrées (*i.e.*, le nombre d'individus  $P_{i-1,j-1}(t) N_{i-1,j-1}(t)$  ayant fait le passage du groupe  $i-1,j-1$  au groupe  $i,j$  entre  $t$  et  $t+\Delta$ ) :

$$N_{i,j}(t+\Delta) = N_{i,j}(t) [1 - P_{i,j}(t)] + P_{i-1,j-1}(t) \cdot N_{i-1,j-1}(t) \quad (1)$$

On peut ainsi, à partir de cette équation, obtenir la probabilité de passer du stade  $i,j$  au stade  $i+1,j+1$  comme suit :

$$P_{i,j}(t) = 1 - \frac{N_{i,j}(t+\Delta) - P_{i-1,j-1}(t) \cdot N_{i-1,j-1}(t)}{N_{i,j}(t)} \quad (2)$$

En prenant comme origine des transitions le groupe L1-L2, nous avons alors la probabilité de passage du groupe L1-L2 au groupe L3-L4 égale à :

$$P_{L1,L2}(t) = 1 - \frac{N_{L1,L2}(t+\Delta)}{N_{L1,L2}(t)} \quad (3)$$

En insérant l'équation (3) dans l'équation (2), la probabilité de passage du stade L3-L4 au stade Ny est égale à :

$$P_{L3,L4}(t) = 1 - \frac{N_{L3,L4}(t+\Delta) + N_{L1,L2}(t+\Delta) - N_{L1,L2}(t)}{N_{L3,L4}(t)} \quad (4)$$

De même, en insérant l'équation (4) dans l'équation (2), la probabilité de passage des nymphes au stade adulte est égale à :

$$P_{Ny}(t) = 1 - \frac{N_{Ny}(t+\Delta) - N_{L3,L4}(t) + N_{L3,L4}(t+\Delta) + N_{L1,L2}(t+\Delta) - N_{L1,L2}(t)}{N_{Ny}(t)} \quad (5)$$

### III.2.2.1.3. Analyse de données

Plusieurs mises en eau ont été suivies dans les deux gîtes et pour chaque mise en eau, il y a un nombre variable de zones qui ont chacune une densité larvaire initiale. Chaque zone a été suivie pendant un nombre variable de jours et pour chaque jour une mortalité tous stades confondus a été estimée. De plus, pour chaque jour de suivi et chaque groupe de stades, la probabilité de

passage au stade suivant a été calculée. Enfin, le temps de développement a été estimé pour chaque zone et chaque groupe de stade. Ainsi, les différentes variables obtenues (gîte, mise en eau, zone, densité, date de suivi, mortalité, stade, temps de développement, probabilité de passage) sont hiérarchisées et il faut en tenir compte dans l'analyse des données (Figure 3-2). C'est pourquoi plusieurs séries de tests de Shapiro-Wilk (Zar, 1999) ont été réalisées pour tester l'ajustement des données à la normalité. Un premier test est réalisé pour une variable sans tenir compte de la hiérarchie. Si ce premier test est significatif, une transformation de Box-Cox est appliquée (Box et Cox, 1964). Si cette transformation ne permet pas d'ajuster les données à la normalité, un test est effectué par gîte, puis par gîte et mise en eau (notée "mee"), puis par gîte, mise en eau et zone et ainsi de suite jusqu'à prendre en compte l'ensemble de la hiérarchie existante pour la variable considérée.

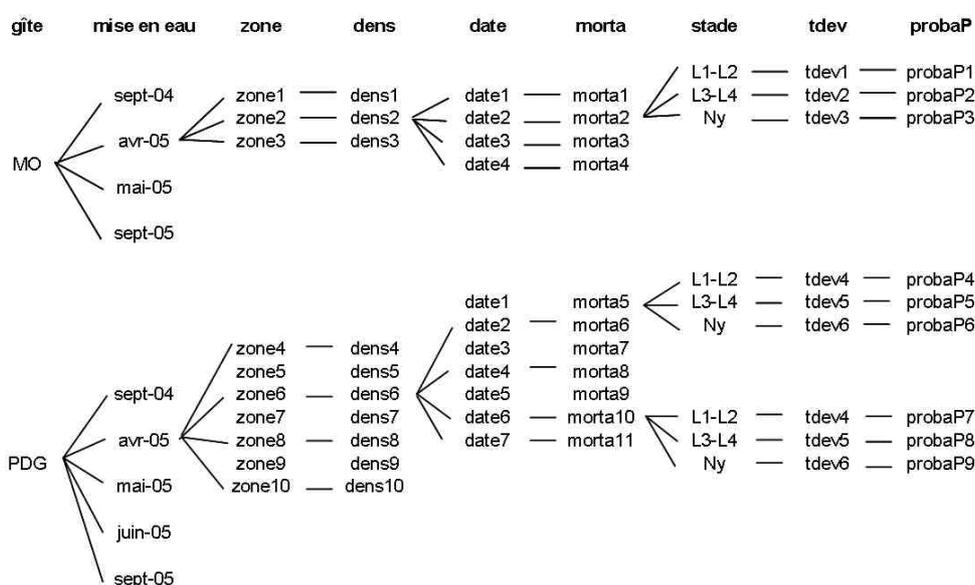


Figure 3-2 : Illustration de la hiérarchie dans les données de suivi larvaire sur le terrain.

Les variables hiérarchisées gîte, densité larvaire initiale, date de suivi et groupe de stades (noté "stade") sont considérées comme les variables pouvant expliquer les traits d'histoire de vie estimés à partir des données d'abondance. Afin de vérifier quelles variables explicatives ont un effet significatif sur les variables dépendantes, une analyse de la variance multivariée hiérarchisée est utilisée (MANOVA ; Bray et Maxwell, 1985). Cette MANOVA permet d'étudier le modèle suivant :

$$\{morta, tdev, probaP\} = f(gîte / dens / date / stade)$$

Le signe / signifie que les données sont hiérarchisées, par exemple *gîte/dens* signifie que l'analyse de données va tester l'effet de la densité pour chaque gîte. La variable zone n'est pas intégrée dans le modèle car pour une zone donnée au cours d'une mise en eau, il existe une seule valeur de densité initiale et donc ces deux variables ne peuvent pas être considérées comme indépendantes. D'autre part, les données de la mise en eau de juin 2005 pour PDG ne sont pas prises en compte dans la MANOVA car il n'y a pas eu de suivi à cette même date sur le

gîte de MO, ce qui a pour conséquence de déséquilibrer les données. Si le test global de la MANOVA, analogue au test F dans le cas d'une ANOVA, est significatif pour quatre statistiques multivariées (lambda de Wilk, trace de Pillai-Bartlett, la racine de Roy et la trace de Hotelling-Lawley), alors une ANOVA hiérarchisée est effectuée pour chaque variable dépendante. Des tests statistiques simples, tels que des tests de corrélations ou de comparaisons de moyennes appariées ou non appariées non paramétriques, peuvent être employés pour confirmer les résultats de ces ANOVA hiérarchisées. Toutes les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel R 2.4.0 (R Development Core Team, 2005).

### III.2.2.2. Résultats

#### III.2.2.2.1. Ajustement à la normalité

Les données de mortalité ne suivent pas la loi normale lorsque la hiérarchie entre les variables n'est pas prise en compte. Cependant, pour un gîte, une mise en eau et une date donnés, cette variable suit la normalité dans 30,2% des cas pour MO et dans 63,6% des cas pour PDG (Tableau 3-2). De même, la probabilité de passage ne suit pas la loi normale sans tenir compte de la hiérarchie et cette variable suit la normalité dans 21,9% des cas pour MO et dans 47,8% des cas pour PDG si les données sont considérées hiérarchisées par le gîte, la mise en eau, la date et le stade (Tableau 3-2). Le temps de développement ne suit pas la loi normale, cependant, il est possible de transformer les données selon la méthode de Box-Cox en prenant  $\lambda$  égal à 0,4. Pour un descriptif de la formule de transformation de Box-Cox, voir chapitre III.1. Cette variable temps de développement transformée suit la loi normale sans tenir compte de la hiérarchie dans les données (test de Shapiro-Wilk,  $p = 0,415$ ; Tableau 3-2).

**Tableau 3-2** : Résultats des tests de Shapiro-Wilk d'ajustement à la normalité pour les trois variables dépendantes morta, tdev et probaP. mee : mise en eau.

variable	hiérarchie	nb de Shapiro-Wilk	nb pvalue NS <sup>1</sup>	nb pvalue < 0,05	% pvalue NS
morta	sans	1	0	1	0,00%
	boxcox	1	0	1	0,00%
	gîte	2	0	2	0,00%
	gîte/mee	9	0	9	0,00%
	gîte/mee/zone	56	11	45	19,64%
	gîte/mee/date	87	41	46	47,13%
tdev	sans	1	0	1	0,00%
	boxcox	1	1	0	100,00%
probaP	sans	1	0	1	0,00%
	boxcox	1	0	1	0,00%
	gîte	2	0	2	0,00%
	gîte/mee	9	0	9	0,00%
	gîte/mee/zone	60	0	60	0,00%
	gîte/mee/zone/stade	163	53	110	32,52%
	gîte/mee/date	101	25	76	24,75%
gîte/mee/date/stade	193	65	128	33,68%	

<sup>1</sup> NS : non significatif,  $p > 0,05$

III.2.2.2.2. Influence des variables explicatives

Les résultats du test global de la MANOVA pour les quatre statistiques multivariées sont significatifs pour le gîte, pour la date à une densité et un gîte donnés et pour le stade à une date, une densité et un gîte donnés (Tableau 3-3). Il est donc possible de conclure qu'il y a un effet gîte, un effet date pour une densité au sein d'un gîte et un effet stade pour une date, une densité et un gîte donné. La densité au sein d'un gîte n'a pas d'effet sur les trois traits d'histoire de vie.

**Tableau 3-3** : Résultats du test global de la MANOVA pour les quatre statistiques multivariées.

statistique multivariée	variable explicative	ddl <sup>1</sup>	valeur de la statistique multivariée	F approximé	pvalue
lambda de Wilk	gîte	1	0,992	3,834	0,009
	gîte/dens	2	0,997	0,734	0,622
	gîte/dens/date	2	0,838	41,923	< 0,001
	gîte/dens/date/stade	4	0,797	26,873	< 0,001
trace de Pillai-Bartlett	gîte	1	0,008	3,834	0,009
	gîte/dens	2	0,003	0,734	0,622
	gîte/dens/date	2	0,162	40,148	< 0,001
	gîte/dens/date/stade	4	0,208	25,37	< 0,001
racine de Roy	gîte	1	0,008	3,834	0,009
	gîte/dens	2	0,003	1,456	0,225
	gîte/dens/date	2	0,19	86,198	< 0,001
	gîte/dens/date/stade	4	0,221	75,299	< 0,001
trace de Hotelling-Lawley	gîte	1	0,008	3,834	0,009
	gîte/dens	2	0,003	0,734	0,622
	gîte/dens/date	2	0,193	43,701	< 0,001
	gîte/dens/date/stade	4	0,249	28,167	< 0,001

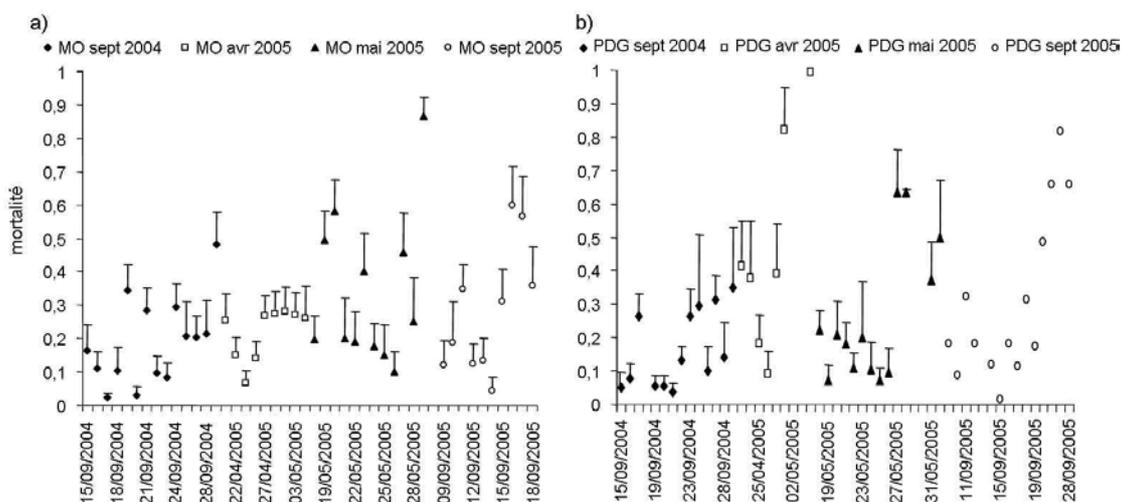
<sup>1</sup> ddl : degré de liberté

L'analyse des ANOVA univariées montre qu'il y a un effet de la date sur la mortalité (Tableau 3-4) et il existe une corrélation positive significative entre ces deux variables (Figure 3-3; test de corrélation de Spearman,  $p < 0,01$  pour chaque gîte et chaque mise en eau). Cela signifie que plus l'individu reste longtemps dans la phase aquatique et plus la probabilité de mourir est forte. La probabilité de passage est dépendante du stade (Tableau 3-4). Pour le gîte de MO, le groupe de stades L1-L2 présente une probabilité de passage supérieure au groupe L3-L4, lui-même ayant une probabilité supérieure aux nymphes (test de Friedman,  $p < 0,01$ ; Figure 3-4). Pour le gîte de PDG, la probabilité de passage du groupe L1-L2 est supérieure au groupe L3-L4 qui a une probabilité égale à celle des nymphes (test de Friedman,  $p < 0,01$ ; Figure 3-4).

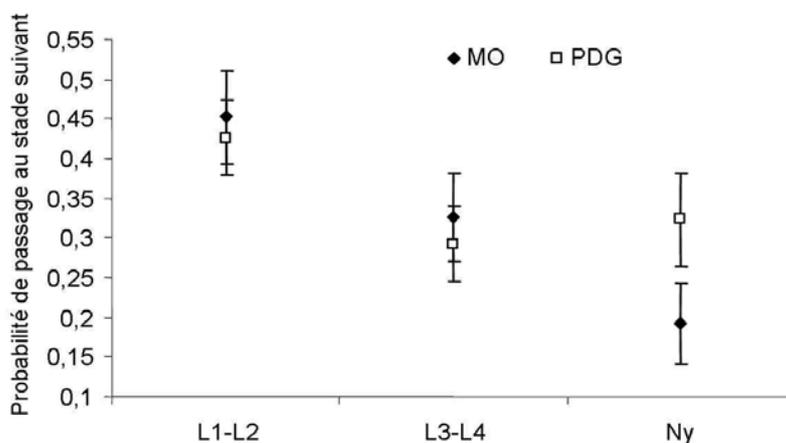
**Tableau 3-4** : Résultats des ANOVA univariées pour les trois variables dépendantes morta, probaP et tdev.

variable dépendante	variable explicative	ddl <sup>1</sup>	F	pvalue
morta	gîte	1	0,419	0,518
	gîte/dens	2	0,786	0,456
	gîte/dens/date	2	9,331	< 0,001
	gîte/dens/date/stade	4	< 0,001	> 0,99
probaP	gîte	1	3,408	0,065
	gîte/dens	2	1,744	0,175
	gîte/dens/date	2	2,709	0,067
	gîte/dens/date/stade	4	9,667	< 0,001
tdev	gîte	1	3,246	0,072
	gîte/dens	2	2,091	0,124
	gîte/dens/date	2	161,741	< 0,001
	gîte/dens/date/stade	4	91,413	< 0,001

<sup>1</sup> ddl : degré de liberté

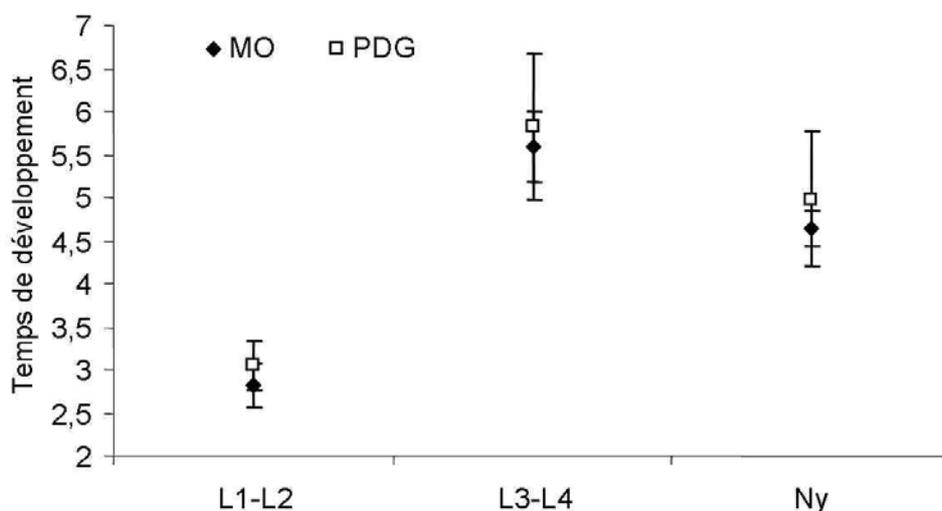


**Figure 3-3** : Moyenne et erreur standard de la mortalité en fonction de la date de suivi pour chaque mise en eau pour a) le gîte de MO et b) le gîte de PDG. Il n'y a pas d'erreur standard présentée pour les données de PDG sept 2005 car il n'y a qu'une zone mise en eau (annexe III-2 et III-3). L'axe des abscisses n'est pas à l'échelle.



**Figure 3-4** : Moyenne et erreur standard de la probabilité de passage en fonction du groupe de stades et du gîte.

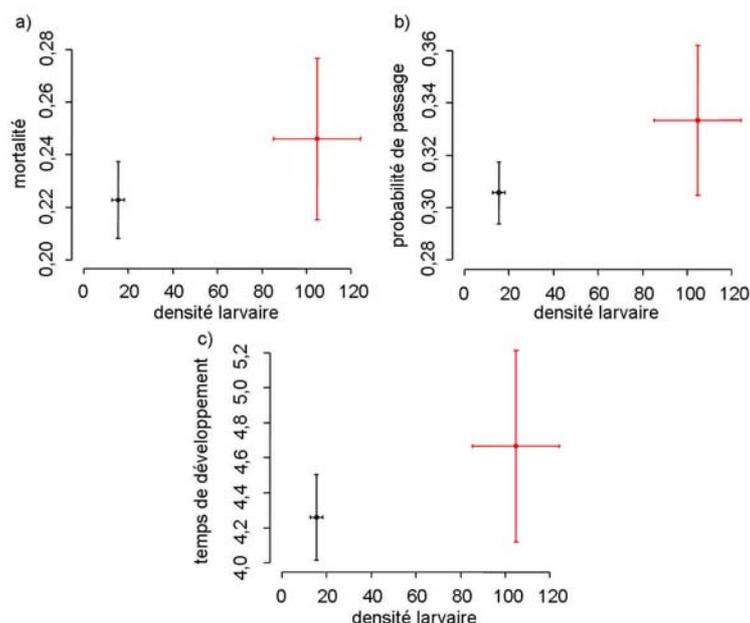
Le temps de développement est dépendant de la date et du stade (Tableau 3-4). Celui-ci étant calculé pour une zone et une densité données sur l'ensemble des dates de suivi de cette zone, il y a la même valeur de temps de développement pour toutes les dates d'une zone donnée (voir Figure 3-2). C'est pourquoi l'effet date constaté dans l'ANOVA univariée est uniquement dû à un effet stade. Le groupe L3-L4 présente un temps de développement plus important que les nymphes, qui ont elles-mêmes un temps de développement significativement supérieur au groupe L1-L2 (test de Friedman,  $p < 0,001$ ; Figure 3-5).



**Figure 3-5** : Moyenne et erreur standard du temps de développement en fonction du groupe de stades et du gîte.

#### III.2.2.2.3. Le cas particulier de l'effet gîte

L'analyse globale de la MANOVA montre qu'il y a un effet significatif du gîte sur les traits d'histoire de vie étudiés (Tableau 3-3). Cet effet gîte ne se retrouve pas sur les ANOVA univariées (Tableau 3-4). De plus, sur les figures 3-3 à 3-5, il ne semble pas y avoir de différences entre les deux gîtes pour les trois traits d'histoire de vie. En réalisant une comparaison de moyennes non paramétrique simple, la mortalité dans le gîte de PDG est significativement supérieure à celle de MO (test de Mann-Whitney,  $p = 0,019$ ; Figure 3-6a) et il en est de même pour la probabilité de passage au stade suivant (test de Mann-Whitney,  $p = 0,009$ ; Figure 3-6b). Il n'y a pas de différences significatives de temps de développement entre les deux gîtes (test de Mann-Whitney,  $p = 0,42$ ; Figure 3-6c). Il semble donc y avoir un effet gîte sur la mortalité et la probabilité de passage, effet qui est détecté par la MANOVA mais qui est masqué dans les ANOVA univariées. Pour essayer de comprendre cet effet gîte, il est nécessaire de prendre en compte l'effet possible de la densité larvaire.



**Figure 3-6** : Moyenne et erreur standard pour chaque gîte de a) la mortalité, b) la probabilité de passage et c) le temps de développement. Les barres horizontales représentent la moyenne et l'erreur standard de la densité larvaire initiale en fonction des gîtes. En noir le gîte de MO, en rouge le gîte de PDG.

Il existe des différences de densités entre les deux gîtes (test de Mann-Whitney,  $p < 0,001$ ; Figure 3-6). Il semble donc y avoir une dépendance entre ces deux variables explicatives, c'est pourquoi deux nouvelles MANOVA ont été réalisées : une MANOVA (notée MANOVA 2) en intégrant uniquement la variable gîte et une seconde (notée MANOVA 3) en intégrant uniquement la variable densité. Pour ces deux nouvelles MANOVA, les effets date et stade sont significatifs comme dans la première MANOVA (Tableau 3-5). De plus, l'effet gîte est significatif dans la MANOVA 2 et l'effet densité l'est aussi dans la MANOVA 3. En réalisant une comparaison de moyenne simple non paramétrique, il existe des différences significatives, entre les densités, de la mortalité (test de Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ; Figure 3-6a), la probabilité de passage (test de Kruskal-Wallis,  $p = 0,007$ ; Figure 3-6b) et du temps de développement (test de Kruskal-Wallis,  $p < 0,001$ ; Figure 3-6c). Il semblerait donc que l'effet gîte détecté dans les MANOVA réalisées soit dû à une différence de densité entre les deux gîtes.

**Tableau 3-5** : Résultats des deux MANOVA qui ne prennent pas en compte soit la variable explicative gîte soit la variable densité.

statistique multivariée	variable explicative	ddl <sup>1</sup>	valeur de la statistique multivariée	F approximé	pvalue
<b>MANOVA 2</b> $\{morta, tdev, probaP\} = f(g\hat{ite} / date / stade)$					
trace de Pillai-Bartlett	gîte	1	0,009	4,159	0,006
	gîte/date	2	0,212	53,816	< 0,001
	gîte/date/stade	4	0,373	48,524	< 0,001
<b>MANOVA 3</b> $\{morta, tdev, probaP\} = f(dens / date / stade)$					
trace de Pillai-Bartlett	dens	1	0,006	2,669	0,046
	dens/date	1	0,046	22,133	< 0,001
	dens/date/stade	2	0,111	26,724	< 0,001

<sup>1</sup> ddl : degré de liberté

### III.2.2.3. Discussion

#### III.2.2.3.1. Critiques de la méthode

Les suivis ont été réalisés deux à trois jours après les mises en eau. Ce délai peut avoir introduit un biais dans les estimations des différents traits d'histoire de vie. Cette absence d'information provient du fait que toutes les mises en eau sont consécutives de précipitations étalées sur deux ou trois jours et qu'il est difficile d'obtenir des prospections larvaires fiables pendant des phases pluvieuses. Par ailleurs, les estimations d'abondance avec la méthode de l'abaque sont biaisées pour les très jeunes stades larvaires (Carron *et al.*, 2003).

Les analyses de données ont été principalement réalisées à l'aide de statistiques paramétriques (MANOVA et ANOVA). Ces méthodes paramétriques nécessitent donc l'utilisation de variables dépendantes qui suivent la loi normale. La mortalité et la probabilité de passage ont été considérées comme des variables normales, cependant la normalité n'a pas été vérifiée dans tous les cas (47 % pour la mortalité et 34 % des cas pour la probabilité de passage, Tableau 3-2). Il est donc possible que les résultats des analyses paramétriques soient faussés en raison du non respect de la normalité. Ces analyses ont tout de même été utilisées en raison de leur puissance supérieure à celle des analyses non paramétriques. Des analyses non paramétriques plus robustes ont été employées pour confirmer les résultats et les réponses obtenues ont été cohérentes pour les deux types de statistiques.

Les estimations des traits de vie et les analyses de données ont été réalisées sur les moyennes des points d'échantillonnage par zone, or la distribution des larves au sein d'un gîte est agrégative (Service, 1993 ; Southwood et Henderson, 2000), ainsi ces moyennes ne sont probablement pas représentatives des abondances réelles. Les zones peuvent être cependant considérées comme des systèmes fermés quand bien même il puisse y avoir des déplacements d'individus entre les différents points d'une zone. Il a été jugé préférable d'utiliser une moyenne qui n'est probablement pas représentative plutôt que d'obtenir des estimations aberrantes : en effet la mortalité calculée en un point, par exemple, aurait une part de sa valeur réellement due à la mortalité et une part due à des migrations entre points.

#### III.2.2.3.2. Les traits d'histoire de vie sur le terrain

La mortalité a été estimée tous stades confondus et il existe une corrélation positive avec le temps passé à l'état larvaire, c'est-à-dire que plus la phase aquatique se prolonge et plus le risque de prédation, de parasitisme ou d'aléas augmente. Il existe une différence de probabilité de passage entre les groupes de stades immatures, le premier groupe L1-L2 ayant une probabilité supérieure par rapport aux L3-L4 et aux nymphes.

Le temps de développement des L3-L4 est supérieur à celui des nymphes, qui ont elles-mêmes un développement plus long que le groupe L1-L2. Des résultats similaires ont été obtenus en laboratoire où les stades L1 et L4 durent plus longtemps que les autres stades (voir Figure 4, chapitre III.1.). Les temps de développement calculés à partir de ces données de laboratoire pour les groupes L1-L2, L3-L4 et Ny sont respectivement de  $3,78 \pm 0,24$ , de  $4,21 \pm 0,33$  et  $1,55 \pm 0,06$  jours. La durée de la nymphose est inférieure à celle des L1-L2 contrairement aux données

obtenues sur le terrain. Cela peut être dû à la méthode d'estimation des temps de développement sur le terrain. En effet, celui des nymphes est estimé à partir des données de suivis d'émergences au moyen de cages alors que ceux des L1-L2 et L3-L4 le sont à partir des échantillonnages au plateau. Le temps total de la phase aquatique (des L1 aux nymphes) peut être estimé, pour les données de terrain, à  $13,04 \pm 0,19$  jours pour le gîte de MO et à  $13,84 \pm 0,42$  jours pour le gîte de PDG. Il est similaire à celui d'une souche sténogame d'*Ae. caspius* de Russie (temps de 14 jours en laboratoire ; Tamarina et Aleksandrova, 1977) mais est légèrement supérieur à celui mesuré sur le terrain pour des populations marocaines (temps de 6 à 11 jours ; Handaq et Boumezzough, 1999).

#### III.2.2.3.3. Effet gîte ou effet densité ?

L'analyse des données a montré l'existence d'un effet gîte sur les trois traits d'histoire de vie estimés. Cet effet peut être dû à des différences de biocénose, mais les deux gîtes peuvent être considérés comme globalement similaires tant au niveau des groupements végétaux que du mode de mise en eau (voir chapitre I.3.). Certaines caractéristiques biocénotiques ont toutefois pu être négligé qui pourraient expliquer des différences plus subtiles entre les gîtes. On sait que la température de l'eau a une influence importante sur le développement des larves (Sinègre, 1974 ; Service, 1993). On ne peut donc pas totalement exclure que de légères différences de températures entre les deux gîtes aient pu contribuer à l'effet gîte mis en évidence dans les MANOVA.

La densité larvaire significativement différente entre les gîtes peut aussi expliquer l'effet gîte constaté. Des analyses avec des statistiques simples indiquent que les traits estimés semblent influencés par la densité. Toutefois, au sein d'un même gîte, il n'y a pas d'effet densité significatif sur les trois traits estimés (Tableau 3-3). Or, elle est bien connue pour influencer négativement la mortalité larvaire (Casanova et Do Prado, 2002 ; Nekrasova, 2004 ; Gama *et al.*, 2005) et rallonger le temps de développement (Delgado, 1998 ; Aigbodon et Okaka, 2001 ; Nekrasova, 2004). Lorsque la densité augmente, la compétition entre individus est plus forte et ainsi la quantité de nourriture disponible par larve diminue (Renshaw *et al.*, 1993). Pour certaines espèces de culicidés, l'effet de la densité n'est cependant détecté que dans le cas d'un surpeuplement (Mogi, 1984 ; Renshaw *et al.*, 1993). Pour nos données de terrain, l'effet gîte pourrait donc être dû à une différence très importante de densité entre les deux gîtes, le gîte de PDG étant considéré en surpeuplement. En effet, en certains endroits de ce gîte, les densités excédaient 1000 larves par litre et la durée du développement observée localement était largement plus longue qu'aux endroits à plus faible densité (données non montrées).

### III.3. Synthèse sur les larves

#### III.3.1. Rappel des résultats

Deux groupes de traits de vie ont été définis pour *Ae. caspius*. L'un traite du succès de la larve, c'est-à-dire de sa capacité à passer d'un stade à l'autre et à survivre. L'autre concerne la durée de vie pré-imaginale. En laboratoire (voir chapitre III.1.), le premier groupe est dépendant à la fois de la densité larvaire et du stade, le second uniquement du stade. Les larves L1 et L4 sont les stades clés de la phase aquatique avec une durée de vie et un temps de transit intestinal supérieurs à ceux des autres stades. Pour confirmer ces résultats sur le terrain, une méthode d'estimation de l'abondance, nommé abaque, a été développé et validée (voir chapitre III.2.). Sur le terrain (voir chapitre III.3.), la dépendance du stade pour les deux groupes a bien été détectée mais pas l'effet densité.

#### III.3.2. Les larves ont du succès

La réussite de la phase aquatique a été étudiée en estimant la survie, la mortalité et la probabilité de passer au stade suivant, qui dépendent tous du stade. Les jeunes stades sont plus efficaces que les stades âgés (mortalité plus faible pour les jeunes), mais ces derniers ont quand même un taux de succès élevé. Globalement, les larves ont une réussite importante, avec un taux de réussite de passage du premier stade larvaire à la nymphe de près de 90 % en laboratoire et entre 70 et 80 % sur le terrain. La mise en eau des gîtes n'étant pas prédictible et l'assèchement pouvant être rapide, cette espèce a été amenée à adopter un mode de développement "explosif" dès la submersion. Les surpopulations sont donc fréquentes et les larves capables de tirer le meilleur parti de ces conditions de vie difficiles.

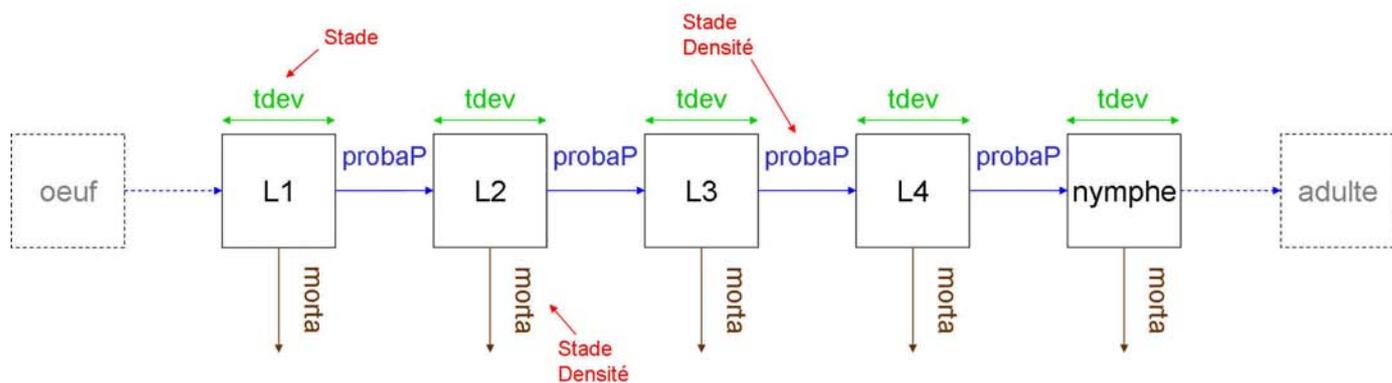
#### III.3.3. Le lièvre et la tortue

Le temps de développement est dépendant du stade larvaire et en sommant tous les stades, il est variable selon la saison et les conditions du milieu. Lorsque les températures sont élevées et les risques d'assèchement du gîte important, les larves sont capables de passer un stade par jour (observations personnelles sur le terrain). Pendant le mois de septembre où la submersion persiste trois semaines ou plus et où les températures sont relativement basses, elles peuvent mettre trois semaines pour compléter leur développement, démontrant leur capacité d'adaptation par rapport à la temporalité du milieu en jouant soit au lièvre soit à la tortue.

#### III.3.4. Des arguments en faveur d'un effet de la densité

Les études en laboratoire n'ont révélées aucunes différences de traits entre les deux populations mais plutôt un effet de la densité sur les traits associés au succès du développement. De plus, ce phénomène de densité dépendance est bien connu dans la littérature (voir chapitre III.1. et III.2.). Sur le terrain, les deux populations présentent des différences de traits d'histoire de vie. Il n'a pas été possible de conclure si cela résulte de différences de caractéristiques biocénétiques ou de densités larvaires entre les deux gîtes, mais au vu des résultats de laboratoire, il est fort probable

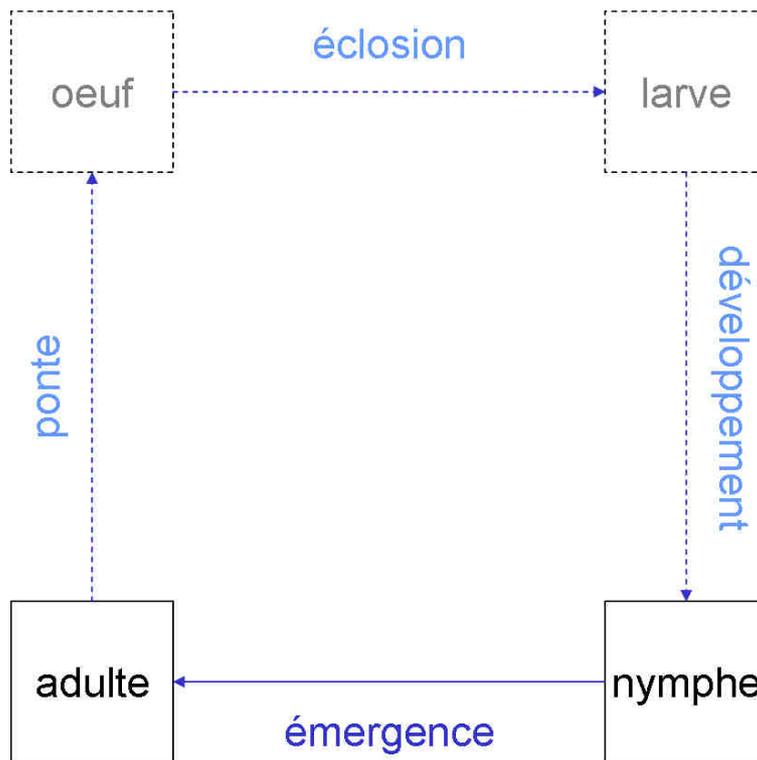
qu'elles soient dues à la densité dépendance. Ainsi, de l'ensemble des traits larvaires étudiés, seul la densité semble être pertinente à étudier à l'échelle opérationnelle. De plus, estimer la mortalité, la probabilité de passage et le temps de développement demande beaucoup de temps et donc n'irait pas vers l'élaboration d'un protocole simple.



**Figure 3-7** : Schématisation de la phase aquatique du cycle de vie. Les flèches en rouge représentent les facteurs qui influent sur les traits d'histoire de vie.

# Chapitre IV

## L'émergence : transition vers la vie aérienne



*Les rapports d'organismes à organismes sont les plus importants de tous les rapports.*

Charles Darwin

L'origine des espèces, 1859



Après avoir détaillé la phase aquatique d'*Ae. caspius*, le passage de la vie aquatique à la vie aérienne, période certainement difficile dans la vie de ce moustique, est étudiée dans ce chapitre. On pourra s'apercevoir que certains facteurs de l'écologie aquatique, telles que la densité ou l'alimentation, ont une influence directe et non négligeable en ce qui concerne notamment la sex-ratio et la taille des adultes, facteurs essentiels pour la compétitivité de l'espèce.

Dans ce chapitre seront abordés l'adaptation des nymphes à l'assèchement, l'émergence proprement dite et surtout les conséquences de la vie aquatique sur la composition et la "qualité" des adultes (sex-ratio, taille et poids). Tout cela dans l'objectif d'estimer l'influence des deux gîtes sur la taille, la densité et la composition de la population adulte.

#### **IV.1. Une adaptation aux gîtes temporaires : survie des nymphes lors de l'assèchement des gîtes**

*Aedes caspius*, comme de nombreux insectes de milieux temporaires, a développé des adaptations qui lui permettent de survivre malgré des conditions de vie difficile. Ainsi les larves au 4<sup>ième</sup> stade et les nymphes ont la capacité de poursuivre leur développement en l'absence d'eau libre, directement dans la boue (Gillett, 1971 ; Roberts et Scanlon, 1979). Malgré de nombreuses observations réalisées sur le terrain (C. Aranda, N. Becker, A. Talbalaghi, communications personnelles), peu de travaux ont été publiés sur le sujet. Ce n'est que très récemment qu'il a été démontré que des larves du vecteur *Anopheles gambiae* se déplacent dans la boue pour rejoindre une surface d'eau libre, s'y développent et en émergent (Koenraad *et al.*, 2003). Les larves d'*Ae. vexans* et d'*Ae. sticticus* réagissent à la diminution du niveau de l'eau en accélérant leur temps de développement, ce qui se traduit par une variation de la taille des adultes à l'émergence (Schäfer et Lundström, 2006). L'objectif de cette partie est de quantifier ce phénomène d'adaptation à l'exondation chez *Ae. caspius*.

##### **IV.1.1. Matériels et méthodes**

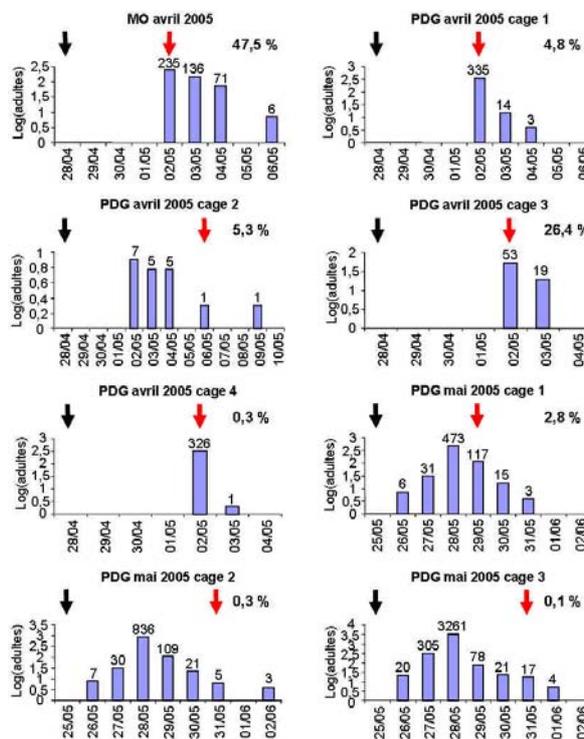
Dès l'apparition des nymphes, des cages d'émergence ont été placées sur les gîtes afin de suivre le phénomène (voir chapitre IV.2. et IV.5.). Il s'agit d'enceintes en altuglas de forme cubique de 500 mm de côté sans fond, enfoncées de quelques centimètres dans le substrat du gîte et recouvertes d'un tulle plombé (Annexe IV-1). Toutes les 24 h, les adultes sont collectés à l'aide d'un aspirateur à bouche et ramenés en laboratoire pour identification, sexage et pesée.

Au moment de la phase d'exondation qui suit à plus ou moins brève échéance la mise en eau, les cages d'émergence situées sur les parties limitrophes ou plus élevées du gîte se sont asséchées plus rapidement que les autres. Des individus se sont ainsi retrouvés emprisonnés dans la boue. Au cours de la saison estivale de 2005, huit cas de ce type ont été observés (un pour le gîte de MO et quatre pour le gîte de PDG pour la mise en eau du mois d'avril ; trois pour le gîte de PDG pour la mise en eau du mois de mai). Le nombre de jours écoulés entre l'assèchement et l'émergence a été noté et le pourcentage d'adultes qui ont émergé à partir de la boue par rapport au nombre total d'individus émergés calculé. La durée de nymphose a été estimée selon la méthode de Pontius *et al.* (1989; voir chapitre III.3.). La durée du développement

préimaginal étant identique dans les deux gîtes étudiés (voir chapitre III.3.), il a été possible de cumuler les temps mesurés tous gîtes confondus. Le temps de développement des nymphes a ensuite été comparé, pour chacun des deux gîtes, à ceux des nymphes en conditions normales sans assèchement.

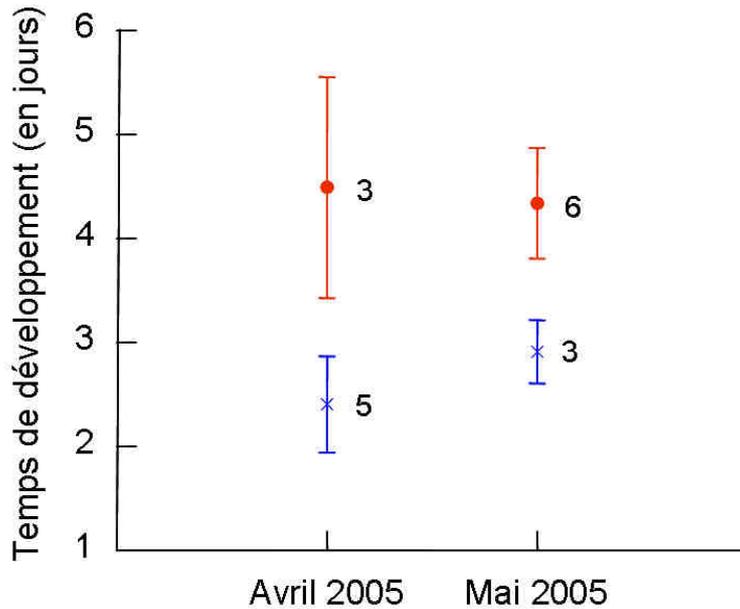
#### IV.1.2. Résultats et discussion

Pour le gîte de MO, des individus sont capables d'émerger après une durée d'assèchement de 4 jours. Pour le gîte de PDG, cette durée ne dépasse pas 3 jours (Figure 4-1). Il n'est cependant pas possible de déterminer si ces adultes sont issus d'individus emprisonnés au stade nymphal ou au 4<sup>e</sup> stade larvaire et ayant subi la nymphose dans la boue. De la seule cage d'émergence asséchée à MO, 47,5% des adultes ont émergés. Pour le gîte de PDG, ce pourcentage est en moyenne égal à  $5,71 \pm 3,54\%$  de la population d'adultes émergés (Figure 4-1). Comme aucune estimation de la population larvaire et nymphale dans la boue n'a été possible, la mortalité n'a pas pu être calculée. Par ailleurs, le degré d'humidité de la boue n'a pas été mesuré. De fait, seule une étude en laboratoire en conditions contrôlées permettrait d'apporter davantage de précisions sur ce phénomène de résistance à l'assèchement du gîte. En raison du faible nombre de réplicats, aucune analyses statistiques n'ont été réalisées ; le temps de développement des nymphes en conditions d'assèchement semble plus court que celui des nymphes en condition normale (Figure 4-2).



**Figure 4-1** : Logarithme du nombre d'adultes émergés en fonction du temps. Les flèches noires représentent la date de pose de la cage d'émergence, les flèches rouges représentent la date d'assèchement de la cage d'émergence. Les pourcentages présentés sur chaque graphique correspondent au pourcentage d'adultes émergés après l'assèchement par rapport au nombre total d'adultes émergés.

Les adultes d'*Ae. vexans* issus d'une situation d'assèchement similaire sont plus petits que ceux développés en eau libre. Par contre, les individus de l'espèce *Ae. sticticus* raccourcissent leur temps de développement sans que la taille à l'émergence en soit affectée (Schäfer et Lundström, 2006). Ces résultats indiquent donc que les espèces peuvent avoir des réponses différentes à l'exondation, *Ae. caspius* raccourcissant plutôt son temps de développement. Une mesure du poids des adultes à l'émergence en conditions de manque d'eau permettrait de savoir si cette adaptation s'accompagne d'une diminution de la taille et du poids à l'émergence.



**Figure 4-2** : Moyenne et erreur standard du temps de développement des nymphes pour les mises en eau des mois d'avril et de mai. Deux classes sont présentées sur le graphique : en rouge les cages d'émergence qui ne se sont pas asséchées et en bleu les cages d'émergence qui se sont asséchées. Le chiffre sur chaque classe représente le nombre de cages d'émergences utilisées pour réaliser le graphique.

Ces travaux ont fait l'objet d'une présentation sous forme de poster au 15<sup>e</sup> colloque de la Society of Vector Ecology à Serres en Grèce, du 10 au 14 avril 2006 (Annexe IV-1).

## IV.2. Sex-ratio et distorsion

En règle générale, chez la plupart des espèces du règne animal, la sex-ratio dans une population, c'est-à-dire le rapport relatif du nombre de mâles sur le nombre de femelles, est à l'équilibre et donc égale à 1 (Fisher, 1930). Cependant, sous l'influence de certains facteurs, ce rapport est susceptible de s'éloigner de l'équilibre (Mauffette et Jobin, 1985). C'est le cas en particulier pour la densité des populations, facteur important régulant la croissance des populations (Agnew *et al.*, 2002).

Chez *Ae. caspius*, il existe de grandes variations de sex-ratio à l'émergence en fonction de la saison et du lieu, ratios pouvant aller de 0,76 à 1,53 (Gabinaud, 1975). Selon cet auteur, le déterminisme de la sex-ratio dépend de l'intensité du stimulus d'éclosion ou de la dynamique hydrique du gîte. L'éclosion des œufs mâles d'*Ae. caspius* est provoquée par un stimulus de plus faible intensité que pour les œufs femelles. Or, en conditions naturelles, les facteurs susceptibles d'interagir sur l'éclosion sont variables. Ainsi, l'assèchement du gîte avant le développement complet des larves peut pénaliser davantage les femelles dont l'émergence se produit plus tardivement que celle des mâles (Gabinaud, 1975). D'autres auteurs estiment que la sex-ratio à l'émergence est influencée par la quantité de nourriture disponible dans le milieu d'élevage (Gozhenko et Titova, 1982) : plus celle-ci est faible et plus la sex-ratio penche en faveur des mâles.

L'objectif de cette partie est de détailler la sex-ratio à l'émergence chez *Ae. caspius* en étudiant plus particulièrement l'influence de la quantité de nourriture et de la densité larvaire. Ces travaux ont été réalisés en laboratoire et ont été complétés par le suivi d'émergences sur le terrain.

### IV.2.1. Evaluation de la sex-ratio en fonction de la quantité de nourriture et de la densité

#### IV.2.1.1. Matériels et méthodes

##### IV.2.1.1.1. Sex-ratio en fonction de la quantité de nourriture

Des travaux récents ont démontré l'effet de la quantité de nourriture sur la sex-ratio à l'émergence (Bedhomme *et al.*, 2004). Cet effet a été étudié en laboratoire sur des populations d'*Ae. caspius* provenant d'un gîte à proximité du gîte PDG au lieu-dit du Mas de Badet. Des prélèvements de substrats susceptibles de contenir des œufs ont été réalisés sur ce gîte. Après éclosion (voir chapitre II), les larves âgées de 24 h ont été transférées individuellement dans des piluliers de 60 ml contenant 42 ml d'eau du réseau avec 2 g/l de NaCl dissous. Les larves ont été nourries avec de la croquette pour chien en poudre. Au total 6 gammes de nourriture ont été préparées, à savoir 4, 8, 12, 16, 20 et 24 mg par larve et par pilulier qui correspond à des concentrations de 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 et 0,6 mg/ml. Chaque gamme comprend 200 piluliers soit 200 larves. Celles-ci ont été maintenues en insectarium à  $28,4 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ ,  $52 \pm 0,7\%$  d'humidité relative et à une photopériode de 16 h de jour et 8 h de nuit jusqu'à l'émergence de la totalité des individus. La sex-ratio à l'émergence a ainsi été estimée pour chaque gamme de nourriture.

IV.2.1.1.2. Sex-ratio en fonction de la densité larvaire

Pour cette étude en laboratoire de la sex-ratio à l'émergence en fonction de la densité, des individus de première génération pour les deux gîtes de MO et PDG ont été utilisés (voir chapitre V.2. pour la méthode d'obtention de cette première génération). L'éclosion de ces œufs a été provoquée et les larves âgées de 24 h ont été placées à des densités variables dans des plateaux d'élevage de 330 x 220 x 60 mm remplis avec 3 l d'eau du réseau contenant 2 g/l de NaCl dissous. Les densités testées ont été de 30, 35,33, 69 et 111,33 larves/l pour le gîte de MO et de 6,67, 30, 35,33, 60,67, 117,33 et 247 larves/l pour le gîte de PDG. Les larves ont été nourries avec une ration quotidienne de 1 mg par larve de croquettes pour chien en poudre. Les adultes ont été récoltés, identifiés et sexés puis congelés pour une autre expérimentation (voir chapitre IV.4.). Un test de Shapiro-Wilk a été utilisé pour vérifier la normalité de la sex-ratio à l'émergence. L'influence du gîte, du logarithme de la densité larvaire et de l'interaction gîte x logarithme de la densité ont été testées à l'aide d'une analyse de la covariance.

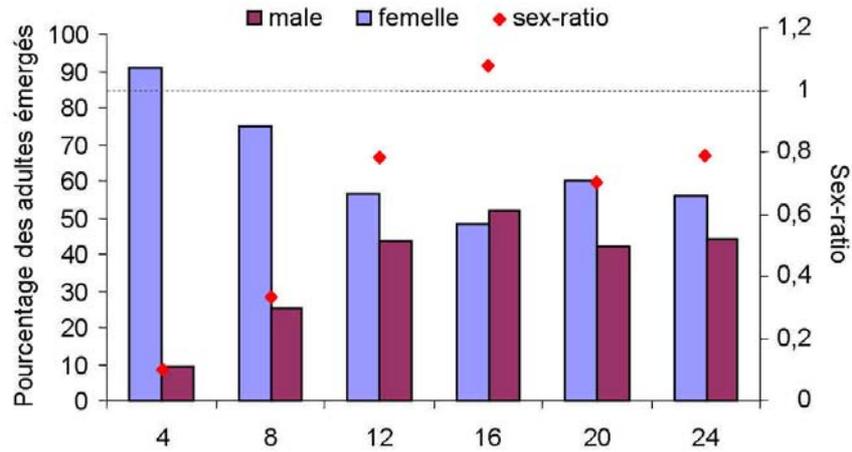
IV.2.1.2. Résultats

La sex-ratio à l'émergence varie en fonction de la quantité de nourriture dont dispose la larve (Figure 4-3). Lorsqu'il y a peu de nourriture, la sex-ratio est en faveur des femelles et elle s'équilibre avec l'augmentation de quantité de nourriture.

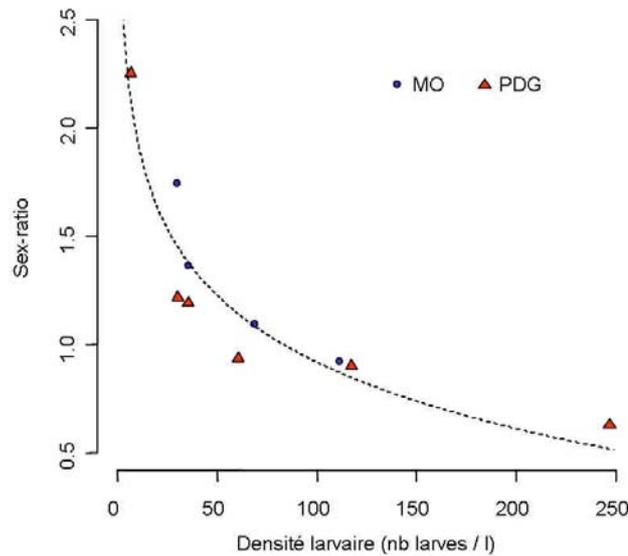
Les données de sex-ratio pour la première génération de laboratoire suit la loi normale (test de Shapiro-Wilk,  $p = 0,228$ ). L'ANCOVA est significative ( $F = 30,65$ , ddl = 2/7,  $p < 0,001$ ) et montre qu'il y a un effet significatif de la densité sur la sex-ratio (Tableau 4-1). L'interaction gîte x logarithme de la densité n'est pas significative, ainsi la pente n'est significativement pas différente entre les deux gîtes. De même, la variable explicative gîte n'étant pas significative, il n'y a donc pas de différence d'ordonnée à l'origine entre les deux gîtes. La pente du logarithme de la densité et de la sex-ratio est négative, ce qui signifie que plus la densité est importante, plus la sex-ratio est déséquilibrée en faveur des femelles (Figure 4-4).

**Tableau 4-1** : Résultat de l'ANCOVA de la sex-ratio en fonction du gîte, du logarithme de la densité larvaire initiale et de l'interaction du gîte avec le logarithme de la densité pour les données de laboratoire.

variable explicative	ddl	F	valeur de p
gîte	1	0,602	0,468
log(densité)	1	55,906	< 0,001
gîte x log(densité)	1	0,453	0,526
résidus	6		



**Figure 4-3** : Pourcentage de chaque sexe par rapport au nombre total d'émergents et sex-ratio en fonction de la quantité de nourriture. La ligne pointillée représente la sex-ratio à l'équilibre. Données de laboratoire.



**Figure 4-4** : Sex-ratio en fonction de la densité larvaire pour le gîte de MO (rond bleu) et le gîte de PDG (triangle rouge). La ligne pointillée représente la régression linéaire de la sex-ratio en fonction du logarithme de la densité, l'échelle sur le graphique n'étant pas en logarithme, la courbe présente une forme concave. Données de laboratoire.

## IV.2.2. Sex-ratio à l'émergence sur le terrain

### IV.2.2.1. Matériels et méthodes

Dès l'apparition des premières nymphes sur les deux gîtes d'études (voir chapitre III.3.), 4 ou 5 cages d'émergence ont été placées par gîte (chapitre IV-1, annexe IV-1 et IV-2). Une estimation de l'abondance des trois groupes de stades (L1-L2, L3-L4 et nymphes) est réalisée en effectuant 5 prélèvements par cage à l'aide d'un plateau d'échantillonnage Gilac® de 1 l et de l'abaque 10 (Carron *et al.*, 2003). En considérant que la répartition des larves au sein d'une cage est homogène et sachant qu'un plateau d'échantillonnage prélève un volume de 1 l, une estimation de la densité larvaire initiale est obtenue en calculant la moyenne de l'abondance des trois groupes de stades pour les 5 prélèvements effectués. Toutes les 24 h jusqu'à la fin des

émergences, les adultes sont collectés à l'aide d'un aspirateur à bouche et ramenés en laboratoire pour identification, sexage et pesée. Les adultes n'ont pas accès à de la nourriture avant d'être collectés. Les températures minimales et maximales moyennes de l'air sont calculées pour chaque mise en eau à partir des températures obtenues auprès de la station de Météo France d'Aigues-Mortes pour le gîte de MO et de celle des Saintes-Maries-de-la-Mer pour PDG. Pour chaque jour d'émergence, le temps de développement des adultes est estimé en comptant le nombre de jours entre la mise en eau et la collecte de l'adulte.

Un test de Shapiro-Wilk est utilisé pour vérifier la normalité des données. Les variables explicatives sont le gîte, la mise en eau, la cage d'émergence et sa densité larvaire initiale associée, la température minimale et maximale durant la mise en eau et le temps de développement. Les données obtenues sont, comme pour les suivis larvaires, hiérarchisées par le gîte, la mise en eau, la température, la cage d'émergence et le temps de développement (Figure 4-5). L'analyse a été réalisée en trois phases. La première a consisté à étudier, au moyen d'ANOVA hiérarchisées, la variation temporelle de la sex-ratio au cours d'une émergence pour voir si les deux sexes émergent à des moments différents. Lors de la seconde, la sex-ratio est calculée tous gîtes confondus, puis par mise en eau toutes cages confondues et enfin par cage d'émergence toutes dates confondues. Enfin, les influences du gîte et de la densité larvaire sur la sex-ratio totale calculée au sein d'un gîte et au sein d'une cage toutes dates confondues, ont été évaluées en utilisant une ANCOVA. La mise en eau du mois de juin 2005 pour le gîte de PDG n'est pas intégrée dans l'analyse car il n'y a pas eu de suivi concomitant sur le gîte de MO.

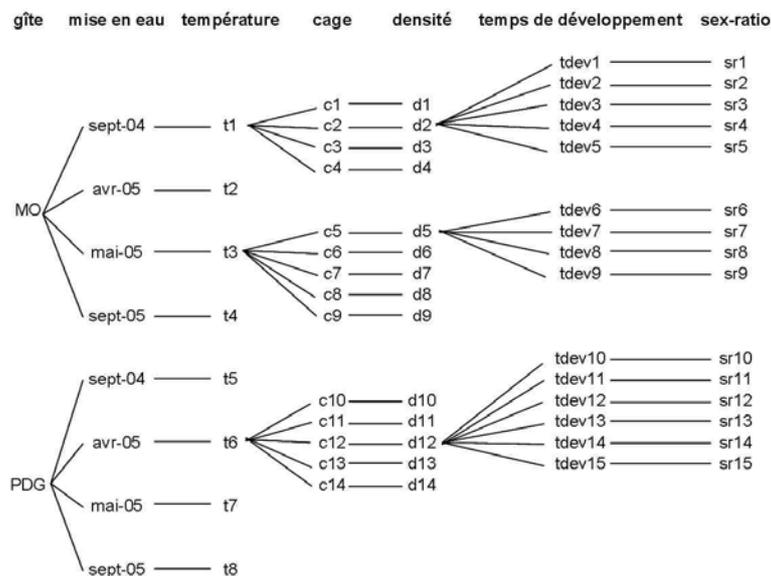


Figure 4-5 : Exemple de représentation de la hiérarchie dans les données de suivi d'émergence sur le terrain.

#### IV.2.2.2. Résultats

Au total sur les deux gîtes, 37028 adultes ont été récoltés à l'émergence dont 17287 mâles et 19741 femelles, ce qui donne une sex-ratio égale à 0,88, légèrement déséquilibrée en faveur des femelles. Les données de sex-ratio estimées à partir des suivis de terrain suivent la loi normale

(test de Shapiro-Wilk,  $p = 0,214$ ). La densité larvaire initiale dans chaque cage est dépendante de la mise en eau (régression linéaire simple,  $r^2 = 0,463$ ,  $p < 0,001$  pour MO et  $r^2 = 0,202$ ,  $p < 0,001$  pour PDG), ainsi seule la densité a été intégrée dans les analyses suivantes.

L'étude de la variation temporelle de la sex-ratio montre qu'il n'y a pas d'effet significatif des variables gîte, température, densité et temps de développement, cependant, lorsque la température n'est pas intégrée dans le modèle, le temps de développement a un effet significatif sur la sex-ratio (Tableau 4-2). Plus le temps de développement est long et plus la sex-ratio est déséquilibrée en faveur des femelles (Figure 4-6), les mâles émergent donc en premier.

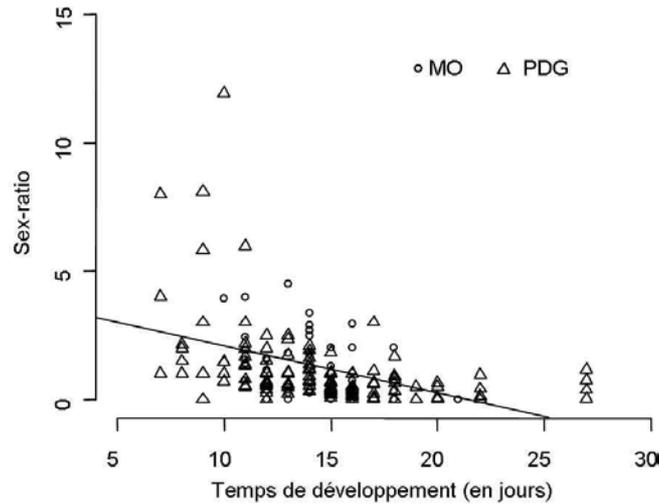
**Tableau 4-2** : Résultat des ANOVA hiérarchisées pour l'étude de la variation temporelle de la sex-ratio au cours d'une émergence. Le slash représente la hiérarchisation dans les variables explicatives (voir Figure 4-5).

variable explicative	ddl	F	valeur de p
<b>anova sex-ratio=f(gîte/tmin/densité/tdev)</b>			
gîte	1	1,212	0,273
gîte/tmin	2	1,216	0,299
gîte/tmin/densité	2	1,629	0,199
gîte/tmin/densité/tdev	2	2,561	0,081
<b>anova sex-ratio=f(gîte/tmax/densité/tdev)</b>			
gîte	1	1,231	0,269
gîte/tmax	2	1,566	0,212
gîte/tmax/densité	2	2,933	0,056
gîte/tmax/densité/tdev	2	2,267	0,107
<b>anova sex-ratio=f(gîte/densité/tdev)</b>			
gîte	1	1,217	0,272
gîte/densité	2	1,735	0,179
gîte/densité/tdev	2	3,054	0,049*

Tout confondu, la sex-ratio pour MO est de 1,517, en faveur des mâles et pour PDG, elle est de 0,737, en faveur des femelles. En la calculant pour chaque mise en eau en cumulant toutes les cages, la sex-ratio est en faveur des mâles pour MO et en faveur des femelles pour PDG, sauf pour la mise en eau d'avril 2005 où elle est en faveur des mâles (Tableau 4-3). Sur les 16 cages posées à MO, la sex-ratio était à l'équilibre sur 2 cages, en faveur des mâles sur 9 cages et en faveur des femelles sur 5 cages. Sur les 17 cages placées à PDG, la sex-ratio était à l'équilibre sur 1 cage, en faveur des mâles sur 6 cages et en faveur des femelles sur 10 cages. Globalement, la sex-ratio est en faveur des mâles à MO et en faveur des femelles à PDG que ce soit en cumulant toutes les mises en eau ou en analysant toutes les cages séparément.

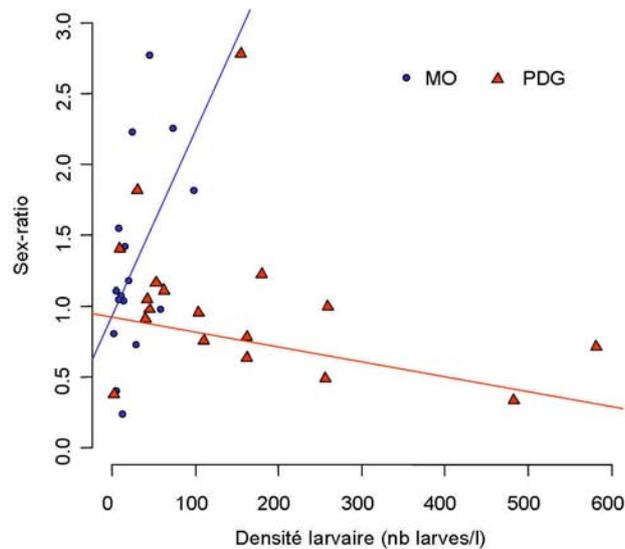
**Tableau 4-3** : Sex-ratio calculée pour chaque gîte et chaque mise en eau en cumulant les cages d'émergence.

	sept-04	avr-05	mai-05	sept-05
MO	1,407	1,947	1,614	1,19
PDG	0,769	1,455	0,983	0,517



**Figure 4-6** : Variation de la sex-ratio en fonction du temps de développement pour le gîte de MO (rond) et le gîte de PDG (triangle).

La sex-ratio a été cumulée sur les dates de suivi et a ainsi été obtenue par gîte, par mise en eau et par cage. L'ANCOVA est significative ( $F = 3,008$ ,  $ddl = 3/30$ ,  $p = 0,046$ ), les variables gîte et densité ne sont pas significatives et il y a un effet significatif de l'interaction gîte x densité (Tableau 4-4). Cela signifie qu'il n'y a pas de différence d'ordonnées à l'origine entre les deux gîtes et que la pente de la sex-ratio en fonction de la densité est différente pour chaque gîte (Figure 4-7). La régression entre la densité et la sex-ratio est positive pour MO et négative pour PDG. Ainsi, plus la densité est forte, plus elle est en faveur des mâles à MO et en faveur des femelles à PDG. Il faut noter qu'il existe des différences significatives de densité parmi les cages entre les deux gîtes (test de Mann-Withney,  $p = 0,001$ ).



**Figure 4-7** : Sex-ratio en fonction de la densité larvaire pour le gîte de MO (rond bleu) et pour le gîte de PDG (triangle rouge). La sex-ratio est calculée en cumulant les dates d'émergence pour un gîte et une cage d'émergence. Les deux droites présentées sont établies à partir d'une ANCOVA (Tableau 4-4).

**Tableau 4-4** : Résultat de l'ANCOVA de la sex-ratio cumulée par gîte et par cage en fonction du gîte et de la densité larvaire initiale pour les données de terrain.

variable explicative	ddl	F	valeur de p
gîte	1	1,671	0,206
densité	1	0,636	0,431
gîte x densité	1	6,718	0,015*
résidus	30		

### IV.2.3. Discussion

#### IV.2.3.1. Rapide synthèse

Les diverses études de la sex-ratio à l'émergence ont montré que les mâles d'*Ae. caspius* émergent avant les femelles. Celles-ci supportent mieux un appauvrissement du milieu que les mâles. Sur une première génération de laboratoire, la sex-ratio n'est pas différente entre les deux gîtes et elle se déséquilibre en faveur des femelles lorsque la densité augmente. Les observations de terrain mettent en évidence une corrélation entre la sex-ratio et la densité, mais qui ne s'exprime pas de la même manière selon le gîte. Les populations de MO, dans lequel les densités larvaires sont les plus faibles, montrent une augmentation de la sex-ratio en faveur des mâles lorsque la densité augmente, alors que les populations de PDG réagissent comme au laboratoire.

#### IV.2.3.2. Les facteurs de distorsion de la sex-ratio

Le sexe d'un individu est déterminé génétiquement au moment de la fécondation de l'œuf et on suppose qu'une femelle gravide va générer une descendance dont la sex-ratio sera équilibrée. Cependant, il existe un grand nombre de facteurs qui vont modifier la sex-ratio d'une population. Ces facteurs peuvent être regroupés en deux catégories : les facteurs pré-zygotiques qui agissent lors de la méiose, de la fécondation ou de la ponte et les facteurs post-zygotiques. Au sein de chacune de ces deux catégories, les facteurs de distorsion de la sex-ratio mentionnés peuvent être également classés en facteurs génétiques, environnementaux et de compétition intra spécifique. Le facteur de compétition peut être considéré comme faisant partie des facteurs environnementaux, cependant une nouvelle classe a été créée afin de souligner l'importance d'un tel facteur chez les culicidés. Une brève synthèse d'une partie de ces facteurs est présentée dans le tableau 4-5.

#### IV.2.3.3. Une variation du stimulus d'éclosion ou une action des facteurs retardant la croissance

Lors des études sur le terrain, la densité des larves est corrélée à la mise en eau, traduisant une variation saisonnière de la densité. Il est donc possible de supposer que les stimuli d'éclosion ont varié au cours de la saison. Les œufs mâles nécessitent un stimulus plus faible que les œufs femelles (Gabinaud, 1975). Les variations de sex-ratio observées sur le terrain ne résulteraient pas de variations de la densité mais plutôt de variations des stimuli d'éclosion. Cependant, la corrélation de la sex-ratio avec la densité a été observée en laboratoire où les stimuli d'éclosion peuvent être considérés comme identiques. Ainsi, cette hypothèse ne doit probablement pas être retenue.

Chez *Culex tarsalis*, une augmentation de la densité ou une diminution de la quantité de nourriture par larve induit la libération de facteurs de retardement de croissance (Reisen *et al.*, 1984). Ces facteurs pénalisent préférentiellement les femelles car elles ont un temps de développement plus long que les mâles, les exposant ainsi plus longtemps aux risques de prédation ou de parasitisme. L'existence de ce type de facteurs est possible chez *Ae. caspius* et expliquerait bien la corrélation positive de la sex-ratio avec la densité observée sur le gîte de MO. Cependant, en laboratoire et sur le gîte de PDG, la corrélation observée est à l'inverse de ce qui serait attendu si ces facteurs de retardement de croissance existaient.

#### IV.2.3.4. Un effet du parasitisme ?

Les infections par les microsporidies ou les bactéries du genre *Wolbachia* induisent des modifications de la sex-ratio (Tableau 4-5). Des ovaires de femelles capturées sur le terrain ont été observés infectés par des organismes proches des microsporidies (voir chapitre V.5.), mais le trop faible nombre d'individus contaminés (0,08% des femelles capturées) n'a pas permis de les identifier. De plus, il a été démontré chez une souche russe d'*Ae. caspius* que la microsporidie *Thelohania opacita* induisait une mortalité supérieure chez les mâles (Alikhanov, 1973b). On peut donc supposer que de tels parasitismes soient à l'origine des distorsions de sex-ratio observées chez *Ae. caspius*. Pour vérifier la pertinence d'une telle hypothèse, il est nécessaire de réaliser, à partir de prélèvements larvaires massifs, des observations directes sous microscopie optique dans le cas des microsporidies, voire recourir à des outils moléculaires (PCR) permettant de révéler les fragments d'ADN spécifiques.

La virulence de la microsporidie *Vavraia culicis* est dépendante des conditions de vie de son hôte *Ae. aegypti* (Bedhomme *et al.*, 2004). Ces auteurs ont montré que lorsque la quantité de nourriture est faible, la virulence du parasite diminue. Ainsi, dans les cas de fortes densités, là où la compétition est forte et donc la quantité de ressources par larve est faible, la virulence du parasite sera moindre entraînant une distorsion de sex-ratio moins importante que dans les cas de faibles densités. En admettant l'existence d'une microsporidie chez *Ae. caspius* qui induirait une mortalité plus importante des femelles, cela pourrait expliquer la différence de relation entre la sex-ratio et la densité pour les deux gîtes. Ainsi, la virulence pourrait être supposée plus importante à MO qu'à PDG.

#### IV.2.3.5. Une différence possible de capacité compétitive

Chez *Ae. aegypti*, les deux sexes ne réagissent pas de la même manière à la compétition en raison de différences de coût de cette compétition. Il existe un compromis entre la rapidité de développement et le poids à l'émergence, le mâle privilégiant la rapidité et la femelle plutôt le poids et la taille. La femelle de cette espèce est une rude compétitrice et dans les cas de fortes densités, elle se trouve favorisée (Bedhomme *et al.*, 2003). Il semble que ce soit aussi le cas pour *Ae. caspius* car, lorsque les individus sont placés dans des conditions de stress par manque de nourriture (en laboratoire) ou de forte densité (pour les deux gîtes en laboratoire et à PDG sur le terrain), la sex-ratio est en faveur des femelles. Cependant, pour le gîte de MO, elle est corrélée

positivement avec la densité et donc cela s'oppose avec l'argument d'une meilleure capacité compétitive de la femelle. Chez une souche russe d'*Ae. caspius*, une réduction de la nourriture entraîne une augmentation du nombre de mâles (Gozhenko et Titova, 1982), donc dans les cas de fortes densités, un changement de sex-ratio en faveur des mâles peut être prédit. Dans le cas de populations d'*Ae. caspius* du littoral méditerranéen français, lorsqu'il y a des surpopulations, comme à PDG, et donc des stress importants, les femelles sont meilleures compétitrices. Par contre, lorsque la densité est plus faible et le stress moindre, la quantité de nourriture par larve augmentant, les mâles pourraient alors s'avérer de meilleurs compétiteurs.

#### IV.2.3.6. Les mâles sont plus rapides à s'adapter

Lors de la mise en place d'un élevage d'une espèce d'anophèle particulièrement réticente à s'accoupler en laboratoire, des chercheurs brésiliens ont démontré que les mâles s'adaptent plus rapidement (Lima *et al.*, 2004). Ces résultats sont consistants avec la théorie du mâle rapide ("faster-male theory") qui prédit que la sélection sexuelle cause une évolution plus rapide des gènes exprimés chez les mâles. Certains insecticides sont connus aussi pour influencer sur la sex-ratio à l'émergence (Tableau 4-5). Les mâles des populations de MO qui subissent la démoustication depuis près de cinquante années ont peut-être évolué plus rapidement que les femelles, ce qui expliquerait la différence de sex-ratio entre les deux gîtes, mais aussi la différence de relation entre sex-ratio et densité.

#### IV.2.3.7. Une migration densité dépendante ou une influence de la génétique ?

Les habitats naturels sont de qualités différentes et la dispersion des individus varie en fonction de celles-ci. En considérant une dispersion dépendante du sexe, la sex-ratio à la naissance doit favoriser le sexe qui migre le plus. De plus, la théorie prédit que si la dispersion est dépendante de la qualité de l'habitat, le taux de dispersion doit être plus important dans les habitats de faible qualité. Ainsi, on peut s'attendre à ce que la sex-ratio dans ces derniers soit en faveur du sexe qui se disperse le plus (Leturque et Rousset, 2003). On peut supposer que le gîte de PDG soit de plus mauvaise qualité que le gîte de MO en raison de la forte compétition intra spécifique induite par la densité élevée. De plus, les observations de terrain démontrent que ce sont bien les femelles d'*Ae. caspius* qui se dispersent (EID, 1980). Ainsi, les différences de sex-ratio entre les deux gîtes trouveraient leur explication dans la théorie d'un taux de dispersion fort dans les habitats de faible qualité.

Au niveau pré-zygotique, il existe des gènes de distorsion de la sex-ratio (Tableau 4-5). Afin de confirmer l'hypothèse de l'existence de tels gènes, il faudrait vérifier que la sex-ratio à la ponte est déséquilibrée. Les moustiques possèdent en règle générale trois paires de chromosomes dont un sexuel hétéromorphe (Becker *et al.*, 2003). La réalisation de caryotypes d'œufs prélevés sur le terrain ou pondus par des femelles en laboratoire permettrait d'estimer la sex-ratio brute.

Tableau 4-5 : Synthèse bibliographique des facteurs de distorsion de la sex-ratio.

catégories	classes	facteurs	description	Distorsion sex-ratio	espèces	auteurs
pré-zygotique	génétique	consanguinité	la sex-ratio est modifiée pour éviter une trop forte consanguinité par augmentation de l'homozygotie	variable	aucune (modélisation)	Greeff et Taylor, 1997
		quantitative trait loci (QTL)	selon la position du QTL, il y a une augmentation du nombre d'œufs mâles ou femelles	variable	<i>Ochlerotatus triseriatus</i>	Graham <i>et al.</i> , 2004
		"meiotic drive"	il existe un gène de distorsion de la sex-ratio qui induit l'échec de la production de certains gamètes	en faveur des mâles	<i>Culex pipiens</i>	Sweeny et Barr, 1978
					<i>Aedes aegypti</i>	Hickey, 1970 ; Suguna et Curtis, 1974
	environnement	microsporidie	transmission verticale d'une microsporidie qui féminise la population	en faveur des femelles	<i>Gammarus duebeni</i>	Kelly <i>et al.</i> , 2004
					<i>Wolbachia</i>	l'infection par une bactérie <i>Wolbachia</i> induit des incompatibilités cytoplasmiques. Les femelles dans ce cas vont pondre des œufs qui ne vont pas tous éclore. Seuls les œufs femelles arriveront à terme
post-zygotique	environnement	insecticides / pesticides	effet secondaire des pesticides par une réaction différentielle de chaque sexe à l'augmentation de la prédation	en faveur des mâles	<i>Chironomus spp.</i>	Takamura, 1996
			l'hexaflumuron, un inhibiteur de croissance, induit une distorsion de la sex-ratio	en faveur des femelles	<i>Culex quinquefasciatus</i> / <i>Aedes aegypti</i> / <i>Anopheles stephensi</i>	Vasuki, 1993
			influence des doses sous létales de <i>Bacillus thuringiensis</i> H-14 sur la sex-ratio à l'émergence	variable	<i>Culex pipiens</i>	Saleh <i>et al.</i> , 1990
			le propoxur et la resmethrin causent une distorsion en faveur des mâles tandis que le methoprene induit une augmentation des femelles	variable	<i>Culex quinquefasciatus</i>	Robert et Olson, 1989
		microsporidie	la consommation des ressources de l'hôte par une microsporidie affecte la croissance des femelles plus que celle des mâles	en faveur des mâles	<i>Aedes aegypti</i>	Bedhomme <i>et al.</i> , 2004
			l'infection par une microsporidie induit une mortalité différentielle	en faveur des femelles	<i>Aedes caspius</i>	Alikhanov, 1973b

tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

catégories	classes	facteurs	description	Distortion sex-ratio	espèces	auteurs
post-zygotique	environnement	intersexe/ température	l'augmentation de température induit un changement morphologique des mâles en femelles sans forcément induire la capacité de reproduction de ces mâles féminisés	en faveur des femelles	<i>Aedes aegypti</i> / <i>Ae. stimulans</i>	Anderson, 2005
					<i>Aedes stimulans</i>	Horsfall et Anderson, 1961 ; Anderson et Horsfall, 1963
		intersexe/ parasites	les femelles prennent des caractères mâles sous l'action de parasites nématodes	en faveur des mâles	<i>Chironomus spp.</i>	Bergerard, 1972
		mortalité différentielle	les femelles ont une capacité de survie plus importante à l'état larvaire qui compense les risques de mortalités larvaires dus à un développement long	en faveur des femelles	<i>Aedes punctator</i>	Packer et Corbet, 1989
		qualité de la nourriture	la sex-ratio peut être modifiée selon la qualité de la nourriture	variable	<i>Culex quinquefasciatus</i>	Aigbodion et Okaka, 2001
	compétition intra-spécifique	coût de la compétition intersexuelle	chaque sexe n'investit pas dans les mêmes traits d'histoire de vie pour maximiser la fitness. Les mâles privilégient un temps de développement court alors que les femelles privilégient le poids et la taille de l'adulte	variable	<i>Aedes aegypti</i>	Bedhomme <i>et al.</i> , 2003
		facteur de retardement de croissance	l'augmentation de la densité ou du stress des larves par diminution de la quantité de nourriture induit la libération d'un facteur de retardement de la croissance qui pénalise les femelles	en faveur des mâles	<i>Culex tarsalis</i>	Reisen <i>et al.</i> , 1984
		cannibalisme	lors de densités fortes, il peut y avoir du cannibalisme qui peut être plus prononcé pour les femelles car plus grosses que les mâles	en faveur des femelles	<i>Culex tarsalis</i>	Reisen <i>et al.</i> , 1984
		densité larvaire	l'augmentation de la densité induit une augmentation du nombre de mâles	en faveur des mâles	<i>Coquillettidia richardii</i>	Gozhenko et Titova, 1982
		quantité de nourriture	lorsque la quantité de nourriture diminue, les mâles survivent mieux	en faveur des mâles	<i>Aedes caspius</i> / <i>Culex pipiens</i>	Gozhenko et Titova, 1982

#### IV.2.3.8. L'évolution de la stratégie de reproduction

Chez *Ae. punctator* et *Ae. cantans*, la sex-ratio est déséquilibrée en faveur des mâles et ceux-ci émergent avant les femelles (Snow, 1987). L'auteur de ce constat explique cette distorsion par la stratégie de reproduction développée par ces espèces. Après l'émergence, le mâle doit effectuer un retournement de 180° de ses génitalia pour pouvoir s'accoupler ("circum mutation"). Comme des changements similaires n'ont pas lieu chez les femelles, l'émergence anticipée des mâles est adaptative. Une sex-ratio en faveur des femelles augmente alors les chances de trouver un hôte et donc de produire des œufs. Cependant, l'émergence anticipée des mâles peut être aussi importante que la probabilité de trouver un hôte et de pondre. Cet auteur explique que les mâles sont susceptibles de subir un stress environnemental pendant la circum mutation. Ainsi cette stratégie permet d'assurer la survie d'un nombre suffisant de mâles jusqu'à l'émergence des femelles.

Les mâles d'*Ae. caspius* émergent avant les femelles pour les mêmes raisons. Dans les cas des fortes densités larvaires, la sex-ratio est en faveur des femelles. Le nombre de mâles produits, même s'il est inférieur au nombre de femelles, reste élevé et suffisant pour assurer l'accouplement de toutes les femelles. Ainsi, dans ce cas, il est plus intéressant pour *Ae. caspius* de privilégier une sex-ratio en faveur des femelles afin d'augmenter les probabilités de rencontrer un hôte et de pondre. Par contre, dans les cas de faibles densités, une sex-ratio en faveur des mâles permettrait d'accroître la probabilité de rencontre entre les deux sexes adultes. Par ailleurs, pour éviter les accouplements entre individus consanguins, il peut y avoir des changements de sex-ratio (Greeff et Taylor, 1997). En privilégiant une sex-ratio en faveur des mâles dans les cas de faibles densités et en tenant compte de leur taux de mortalité, la probabilité de s'accoupler avec un individu apparenté est faible. Dans les cas de fortes densités, ce risque étant considéré comme faible, la sex-ratio penche alors en faveur des femelles.

#### **IV.2.4. Une conclusion bien difficile**

Le déterminisme de la distorsion de sex-ratio observée chez *Ae. caspius* peut s'expliquer par des facteurs pré- ou post-zygotiques tant génétiques qu'environnementaux. En l'état actuel des connaissances, il n'est pas possible de savoir quels facteurs agissent et seules des hypothèses peuvent être émises. En utilisant le principe de parcimonie, l'hypothèse la plus simple expliquant cette distorsion est l'influence du parasitisme par des microsporidies ou des bactéries du genre *Wolbachia*. Des observations sous microscope d'individus collectés sur le terrain confirmées par l'utilisation d'outils moléculaires permettraient de vérifier cette hypothèse.

Le déséquilibre de sex-ratio induit par la densité favorise peut être la compétition spermatique ou résulte peut être d'une compétition d'accouplement local ("local mate competition"; Godfray et Werren, 1996). Cependant, il est important de tenir compte de deux concepts de l'écologie comportementale, à savoir le concept de la sex-ratio opérationnelle et celui du taux potentiel de reproduction (Cézilly, 2006 ; p28-29). Le premier peut se définir comme le rapport du nombre de mâles et de femelles participant réellement à la compétition pour l'accès au sexe opposé. Le taux potentiel de reproduction "permet de distinguer le sexe qui constitue une

ressource limitante pour l'autre, de celui sur lequel opère le processus de sélection sexuelle". Il semble que pour les deux populations étudiées, ce taux soit différent, mais est-ce que la sex-ratio opérationnelle est différente ?

La sélection sexuelle joue un rôle important dans la spéciation (Arnqvist *et al.*, 2000), cependant, la plupart des études sur les culicidés ne prennent en compte que les femelles. De récentes recherches ont démontré qu'il pouvait y avoir des conflits d'intérêts post-reproduction entre les deux sexes. Ces conflits peuvent conduire à une co-évolution antagoniste entre les mâles et les femelles et peuvent générer une divergence d'évolution des traits impliqués dans la reproduction. Il est donc nécessaire de considérer le rôle des mâles à sa juste valeur.

### **IV.3. Déterminisme de la taille et du poids des adultes**

#### **IV.3.1. Corrélation entre la longueur de l'aile et le poids**

La taille de l'aile et le poids des adultes à l'émergence ont été mesurés en laboratoire et sur le terrain, respectivement. Afin de pouvoir comparer les résultats, il a été nécessaire d'établir la relation entre ces deux mesures pour une même cohorte. La taille de l'aile a été estimée en mesurant la longueur, la largeur et la surface. La régression de la taille de l'aile sur le poids de l'adulte a été calculée et démontrée. La longueur de l'aile des mâles est supérieure à celle des femelles, par contre, la largeur et la surface de l'aile sont supérieures pour les femelles. Cette partie a été acceptée pour publication dans la revue *Journal of the European Mosquito Control Association*.

**Correlation between wing size and dry body weight in male and female *Aedes caspius* (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae).**

Alexandre Carron<sup>1</sup>

<sup>1</sup> EID Méditerranée, 165 avenue Paul Rimbaud, 34184 Montpellier Cedex 4, France

**Abstract**

The correlation between wing size and dry body weight in *Aedes caspius* (Pallas, 1771) was studied in the laboratory. Wing size was estimated using wing length, width and surface. The relationship between wing size and body weight was significant and positive. Wing length was longer for males than for females, wing width and wing surface were higher for females than for males.

**Key words:** *Aedes caspius*, body weight, wing size.

**Introduction**

Fecundity is a major life history trait often used as measure of mosquito fitness. To study the effects of intra- and inter-specific competition or to describe population dynamics, estimates of fecundity are often based on body size measurements (Armbruster and Hutchinson, 2002). The accuracy of these measurements can have important consequences for these estimates: mosquito's weight can sometimes give unreliable results due to different factors such as a recent meal (Siegel *et al.*, 1994). Wing length is used to estimate body weight because it is a relatively stable and easily measured character (Siegel *et al.*, 1994). For most species, wing length is greater for females than for males (Nasci, 1990; Agnew *et al.*, 2000, 2002).

*Aedes caspius* (Pallas 1771) is widely distributed in Europe (Gabinaud, 1975) and breeds in a variety of places (Rioux, 1958). This species is a pest of great economic importance (Becker *et al.*, 2003). During a preliminary experiment, unexpected results were obtained: wing length was greater for males than for females. To test this observation, body weight, wing length and width were measured. The wing surface was also coarsely estimated by multiplying the wing length and the wing width. Then the regressions between these three wing sizes and body weight for males and females were calculated and compared.

**Materials and methods**

During summer 2006, soil samples were collected from a breeding site in southern France (Rhône delta) to obtain eggs in the laboratory. Sampling was done using vegetation as an indicator of egg biotopes (Gabinaud, 1975). Ascorbic acid was used to initiate egg hatching (Sinègre, 1974) and larvae were reared to adult stage in the laboratory at  $28.4 \pm 0.3^\circ\text{C}$ ,  $52 \pm 0.7\%$  RH and 16:8 L:D. One day after emergence, 20 unfeeded imagos of each sex were killed, transferred to individual 1.5 ml plastic vials, dried at  $60^\circ\text{C}$  for at least 12 h, and weighed to a precision of  $\pm 1 \mu\text{g}$  using a

Mettler Toledo MX5 balance (Mettler-Toledo GmbH, Greifensee, Switzerland). Subsequently the left wing was removed, its length (from the axillary incision to the wing tip) and its maximum width were measured using a stereomicroscope (Zeiss Stemi 2000 C) coupled with the measurement software Ellix™ (Microvision instruments, France). The normality of the body weight, wing length, wing width and wing surface (length x width) was tested using the Shapiro-Wilk test (Zar, 1999). Analysis of covariance (ANCOVA) (Zar, 1999) was used to assess the regression between body weight and each wing measurement according to sex. Male and female body sizes were compared with a t test (Zar, 1999). All statistical analyses were done using R 2.4.0 software (R Development Core Team, 2005).

### Results and discussion

Body weight, wing length, wing width and wing surface were normally distributed (Shapiro-Wilk test,  $p = 0.158, 0.771, 0.157, 0.692$ , respectively). The slopes of the regression of body weight and each wing measurement were significant and positive (ANCOVA,  $p < 0.01$ ; Table 1, Fig. 1). Moreover, as the interactions between sex and body weight were not significant, the slopes between males and females were not significantly different. Hence, an increase in wing size denoted the same increase in body weight in males and females.

**Table 1.** ANCOVA results of the relationship of wing measurements (wing length, wing width and wing surface<sup>a</sup>) as a function of body weight and sex.

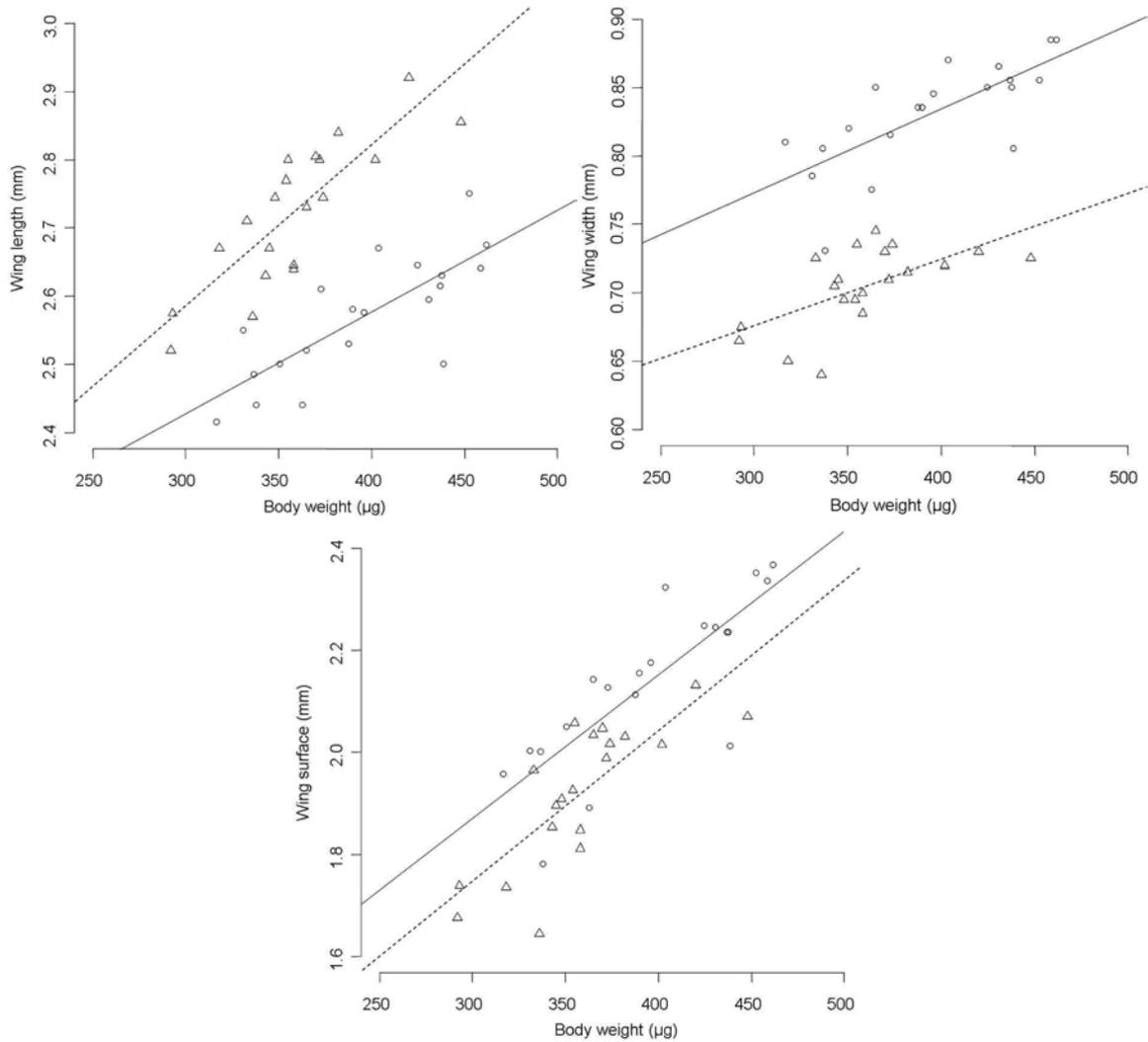
Wing measurement	r <sup>2</sup>	Source	Estimate	t-value
Wing length	0.77	Intercept female	1.846	19.914***
		Intercept male	2.067	10.539***
		Slope (body weight)	0.0018	7.879***
		Interaction (sexe:body weight)	NA	3.409 <sup>ns b</sup>
Wing width	0.89	Intercept female	0.609	15.859***
		Intercept male	0.503	12.245***
		Slope (body weight)	0.0005	5.858***
		Interaction (sexe:body weight)	NA	0.414 <sup>ns b</sup>
Wing surface	0.76	Intercept female	1.004	7.077***
		Intercept male	0.891	-3.518**
		Slope (body weight)	0.0029	8.072***
		Interaction (sexe:body weight)	NA	0.039 <sup>ns b</sup>

ns,  $p > 0.05$ ; \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$

a: wing surface = wing length x wing width

b: F-value of the interaction calculated with the ANCOVA

The intercepts of wing length, wing width and wing surface were different for the two sexes (Table 1). The wing length intercept was significantly higher for males than for females. Therefore for the same body weight, the wing length of males is greater than that for females (Fig. 1a). The intercepts of wing width and wing surface were significantly higher for females than for males (Table 1). Therefore for the same body weight, the wing width (Fig. 1b) was significantly larger for females than that for males, and female wing surface was significantly greater than for males (Fig. 1c).



**Fig. 1.** Regression of wing measurement (mm) as a function of dry body weight ( $\mu\text{g}$ ) for males (triangle, dashed line) and females (circle, solid straight line); a) wing length, b) wing width, c) wing surface (wing length  $\times$  wing width). The two regressions presented in each figure were calculated for each sex separately.

Nasci (1990) noted that the slopes of the regression between wing length and body weight were significantly different between the two sexes for three mosquito species reared in the laboratory and for five species collected in the field. Results presented here were different. This experiment could be criticized as only 20 males and 20 females were used. But if we consider the high  $r^2$  of the ANCOVA, increasing the number of adults will probably not affect so much regression values. Therefore, in spite of the low adult number studied, our results could be considered as reliable, and so wing length should be used with caution.

Wing size reflects body size, which is related to survival and reproductive success (Nasci, 1986; Clements, 1992). As for some species of *Aedes* and *Culex* (Nasci, 1990; Agnew *et al.*, 2000, 2002) females have longer wing lengths than that of males, it was expected this would be true for *Ae. caspius*. This was true for wing surface, but not for wing length. As the body weight of females was significantly higher than that of males (t-test,  $p < 0.01$ ), therefore wing length alone might give unreliable results to estimate the body size. These results suggest that wing surface is a better estimate of body size than wing length alone because the former give a better picture of

the wing lift. To compare within sex or within species, the wing length is a reliable estimation. However to compare between sexes or species the wing shape might change and then the wing length might not be the best measure for estimating body size. A simple estimation of the surface by the product of wing length and wing width is sufficient for an estimation of wing lift.

### Acknowledgments

I appreciate the collaboration of Dr Philip Agnew for his help in establishing this study and for the help in revising the manuscript. I also thank Pr J.-A. Rioux, Dr J. Cousserans, Dr G. Duvallet, Dr J.-P. Hervé and C. Lagneau for their help in revising the manuscript. We are grateful to O. Moussiegt for help in translation and correction of the manuscript.

### References

- Agnew, P., Haussy, C. & Michalakis, Y. (2000) Effects of density and larval competition on selected life history traits of *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **37** (5), 732-735.
- Agnew, P., Hide, M., Sidobre, C. & Michalakis, Y. (2002) A minimalist approach to the effects of density-dependent competition on insect life-history traits. *Ecological Entomology* **27**, 396-402.
- Armbruster, P. & Hutchinson, R. (2002) Pupal mass and wing length as indicators of fecundity in *Aedes albopictus* and *Aedes geniculatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **39** (4), 699-704.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Dahl, C., Lane, J. & Kaiser, A. (2003) *Mosquitoes and their control*. Kluwer Academic / Plenum Publishers. 498pp.
- Clements, A. (1963) *The physiology of mosquitoes*. Pergamon Press. 393pp.
- Clements, A. (1992) *The biology of mosquitoes. Volume 1 Development, nutrition and reproduction*. Chapman & Hall. 509pp.
- Gabinaud, A. (1975). Ecologie de deux *Aedes* halophiles du littoral méditerranéen français *Aedes (Ochlerotatus) caspius* (Pallas, 1771) *Aedes (Ochlerotatus) detritus* (Haliday, 1833) (Nematocera - Culicidae). Utilisation de la végétation comme indicateur biotique pour l'établissement d'une carte écologique. Application en dynamique des populations. PhD dissertation, Montpellier, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, 465pp.
- Nasci, R. (1986) The size of emerging and host-seeking *Aedes aegypti* and the relation of size to blood-feeding success in the field. *Journal of the American Mosquito Control Association* **2** (1), 61-62.
- Nasci, R. (1990) Relationship of wing length to adult dry weight in several mosquito species (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **27** (4), 716-719.
- Rioux, J.-A. (1958). *Les culicides du "midi" méditerranéen*. Encyclopédie Entomologique. Editions Paul Lechevalier. 303pp.
- Siegel, J., Novak, R. & Ruesink, W. (1994) Relationship between wing length and dry weight of mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association* **10** (2), 186-196.

- Sinègre, G. (1974). Contribution à l'étude physiologique d'*Aedes (Ochlerotatus) caspius* (Pallas, 1771) (Nematocera - Culicidae). Eclosion - Dormance - Développement - Fertilité. PhD dissertation, Montpellier, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, 285pp.
- R Development Core Team (2005) R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria, R Foundation for Statistical Computing.
- Zar, J. (1999) *Biostatistical analysis*. Prentice Hall. 663pp.

### IV.3.2. Taille des adultes en fonction de l'origine des pontes

La taille des ailes et le poids des adultes à l'émergence sont dépendants de certains facteurs du milieu. Parmi ces facteurs, la taille est corrélée négativement à la température. Par exemple, pour *Ae. aegypti*, celle-ci diminue lorsque la température de l'eau d'élevage augmente (Van Den Heuvel, 1963). La taille des imagos d'*Ae. caspius* est essentiellement dépendante de la quantité de nourriture dont disposent les larves et de leur densité, la température n'agit négativement qu'à partir de 28°C (Sinègre, 1974).

Un des facteurs essentiels qui déterminent la taille des imagos est la compétition densité-dépendance régulant la croissance des populations (Agnew *et al.*, 2002). Chez les moustiques, le plus souvent, la taille des imagos diminue lorsque la densité augmente. C'est le cas pour le genre *Aedes* (Willis et Nasci, 1994 ; Gama *et al.*, 2005) et *Culex* (Agnew *et al.*, 2000), par contre pour le genre *Anopheles*, il semble que la relation soit inversée (Manoukis *et al.*, 2006). Toutefois, l'effet densité dépendance pourrait être différent selon l'origine de la population. C'est pourquoi la corrélation entre la densité larvaire et la taille des imagos a été comparée entre les populations de MO et de PDG sur une première génération en laboratoire.

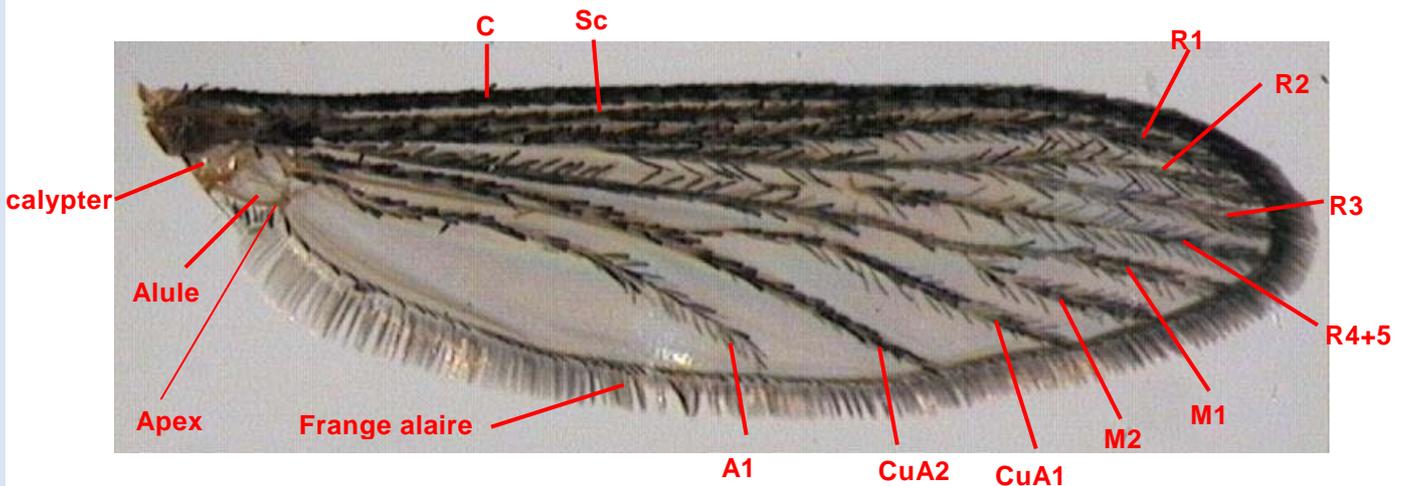
#### IV.3.2.1. Matériels et méthodes

Des prélèvements de sol ont été effectués sur les deux gîtes d'études et ramenés au laboratoire. L'éclosion des œufs a été induite par utilisation d'acide ascorbique (voir chapitre II). Les larves ont été élevées jusqu'à l'émergence. Après accouplement, un repas de sang a été proposé aux femelles puis elles sont isolées dans des gobelets pour évaluer leur fécondité (voir chapitre V.2.). Les œufs pondus ont été conservés pendant une dizaine de jour en insectarium à  $28,4 \pm 0,3^\circ\text{C}$ ,  $52 \pm 0,7\%$  RH sous une photopériode de 16h de jour et 8h de nuit pour favoriser l'embryogenèse. L'éclosion de ces œufs de première génération de laboratoire a été provoquée. Les larves, âgées de 24h, ont été placées à des densités croissantes (Tableau 4-6) dans des plateaux d'élevage de 330 x 220 x 60 mm remplis avec 3 l d'eau du réseau contenant 2 g/l de NaCl dissous et nourries avec une ration quotidienne d'1 mg par larve de croquettes pour chien réduites en poudre. Les adultes obtenus ont été congelés 24 h après l'émergence sans avoir eu accès à de la nourriture. Les ailes droites des mâles et des femelles ont été disséquées puis montées entre lames et lamelles. Leur longueur entre l'apex de l'alule et l'extrémité de la première branche radiale R1 (Figure 4-8) a été mesurée sous loupe binoculaire (Zeiss® Stemi SV 6) à l'aide du logiciel Ellix® (Microvision Instrument, France).

**Tableau 4-6** : Densité larvaire utilisée pour l'expérimentation et résultats des tests de Shapiro-Wilk pour chaque gîte et chaque densité (nb larves / l).

gîte	densité larvaire	p-value
MO	23	0,079
MO	30	0,122
MO	35,33	0,139
MO	66	0,42
PDG	6,67	0,413
PDG	30	0,773
PDG	35,33	0,104
PDG	66	0,05
PDG	114	0,539
PDG	247	0,748

Les ailes de 718 individus ont été mesurées et regroupées en 4 groupes : les mâles et les femelles de MO et les mâles et les femelles de PDG. La normalité a été testée à l'aide du test de Shapiro-Wilk (Zar, 1999). La régression entre la longueur alaire et la densité larvaire pour chaque groupe et la comparaison entre les groupes ont été réalisées par analyse de la covariance (ANCOVA; Zar, 1999). Les analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel R 2.4.0 (R Development Core Team, 2005).



**Figure 4-8** : Plan de base de la nervation alaire des culicidés. Les nervures sont disposées en plusieurs troncs, ou secteurs : costal (C), sous-costal (Sc), radial (R), médian (M), cubital (Cu) et anal (A). D'après Matile (2000).

#### IV.3.2.2. Résultats

En considérant la longueur de l'aile tous groupes confondus, les données ne suivent pas la loi normale (test de Shapiro-Wilk,  $p < 0.01$ ). Cependant, les données suivent la loi normale lorsque le test de Shapiro-Wilk est effectué pour chaque gîte et chaque densité (Tableau 4-6). Les pentes de la régression entre la longueur alaire et la densité larvaire pour chaque groupe sont significatives et positives (ANCOVA, F-statistic, ddl = 1,  $p < 0,01$ , Tableau 4-7). De plus, l'interaction entre la densité et le groupe n'est pas significative (ANCOVA, F-statistic, ddl = 3,  $p = 0,667$ ), ainsi les pentes entre les quatre groupes ne sont pas significativement différentes

(Figure 4-9). Par contre, les ordonnées à l'origine sont différentes (ANCOVA, F-statistic, ddl = 3,  $p < 0,01$ ). Pour une même densité et quel que soit le gîte, la longueur de l'aile est significativement plus importante pour les mâles (Figure 4-9). Pour une densité donnée et pour un même sexe, la longueur de l'aile des individus de MO est plus importante que celle des individus de PDG (Figure 4-9). L'ordonnée à l'origine pour les mâles de PDG n'est significativement pas différente de celle des femelles de MO, c'est-à-dire que leur taille est identique (ANCOVA, t-statistic,  $p = 0,889$ ).

Tableau 4-7 : Résultat de l'analyse de covariance.

facteur	degré de liberté	valeur de F	p-value
groupe (gîte/sexe)	3	197,867	< 0,001
densité larvaire	1	142,404	< 0,001
interaction densité:groupe	3	0,522	0,667
résidus	710		

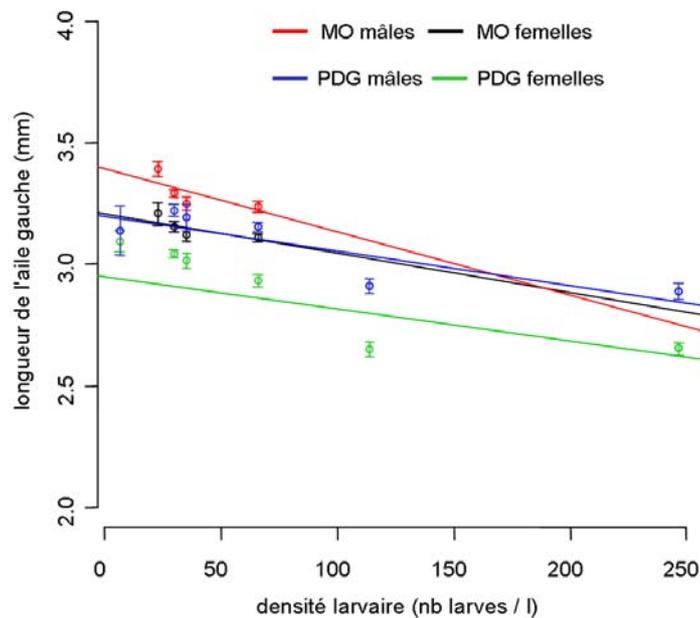


Figure 4-9 : Régression de la taille de l'aile (en mm) avec la densité larvaire (en nombre de larves par litre). Les régressions présentées sur le graphique ont été calculées pour chaque groupe séparément.

#### IV.3.2.3. Discussion

L'expérimentation en laboratoire a confirmé l'existence de différences de longueurs d'ailes entre les mâles et les femelles et de tailles entre les individus des deux gîtes. La différence de longueur d'aile est bien connue mais dans le cas d'*Ae. caspius*, opposé à celui observé chez un grand nombre d'espèces de culicidés (voir chapitre précédent). Cependant, en tenant compte de la corrélation entre la taille de l'aile et le poids de l'individu, les femelles d'*Ae. caspius* sont plus lourdes que les mâles, ce qui est en cohérence avec la plupart des espèces de culicidés.

Chez *Ae. aegypti*, la compétition induit un coût qui n'est pas exprimé de la même manière selon le sexe. En effet, chaque sexe investit dans le trait d'histoire de vie qui est le plus important pour sa fitness (Bedhomme *et al.*, 2003). Les mâles privilégient un temps de développement court

alors que les femelles investissent dans la taille et le poids (Agnew *et al.*, 2002). La différence de poids se retrouve chez *Ae. caspius*. De plus, les larves mâles se développent plus rapidement que les femelles. On peut ainsi supposer qu'*Ae. caspius* réagit de la même manière qu'*Ae. aegypti* en investissant dans les mêmes traits.

Une corrélation négative existe entre la taille des imagos et la densité larvaire. Chez *Ae. vexans*, la densité dépendance entraîne une diminution de la taille en raison d'une inhibition de la nutrition due à la compétition (Renshaw *et al.*, 1993). Ce phénomène de nutrition sous optimale pourrait expliquer la corrélation négative chez *Ae. caspius* (Sinègre, 1974). Chez *Wyeomyia smithii* (Coquillett), les résultats de la compétition sont plus probablement davantage dus à des différences d'assimilation ou d'utilisation des ressources qu'à des interférences entre larves ou d'une habileté différentielle à consommer la nourriture (Broberg et Bradshaw, 1995).

Une différence de longueur alaire entre les individus des deux gîtes a été démontrée. Les densités larvaires sont plus faibles à MO (voir chapitre III.3.), ce qui peut expliquer cette différence de taille entre les deux gîtes. L'étude en laboratoire montre qu'à densité égale, les individus de MO ont une taille plus importante. De plus, ces résultats ont été obtenus avec une première génération de laboratoire où les conditions de terrain ont été gommées. La densité dépendance n'agirait donc pas uniquement à l'état larvaire mais aussi au niveau de l'adulte. Est-ce que la femelle peut pondre des œufs "programmés" pour devenir des individus de grande taille ? Y a-t-il une part de déterminisme génétique pour la taille imaginale ? Est-ce la pression de démoustication subie par les populations de MO qui explique cette différence de taille ? Une étude sur plus d'une génération de laboratoire et à des densités égales permettrait d'apporter des éléments de réponses à ces questions.

En tenant compte de la corrélation de la longueur alaire avec le poids, les individus de MO sont plus gros que ceux de PDG. La corrélation entre le poids des femelles et leurs fécondités est bien connue (Armbruster et Hutchinson, 2002) les femelles de MO seraient ainsi plus fécondes. Cette supposition sera étayée dans le chapitre consacré à la mesure de la fécondité (chapitre V.2.).

### IV.3.3. Influence des gîtes sur le poids des adultes

Chez les culicidés, deux phénomènes régulent les populations : la taille et le poids des adultes qui dépendent de la densité larvaire et la survie de l'adulte qui est dépendante de sa taille (Hawley, 1985). Chez *Ae. caspius*, une corrélation négative entre la longueur de l'aile et la densité a été observée en laboratoire. De plus, la corrélation entre la longueur de l'aile et le poids des adultes à l'émergence est positive (voir chapitre IV.3.). Ainsi, on peut supposer que le poids imaginaire est lié à la densité larvaire. Pour vérifier cette hypothèse, des suivis d'émergence ont été réalisés sur le terrain.

#### IV.3.3.1. Matériels et méthodes

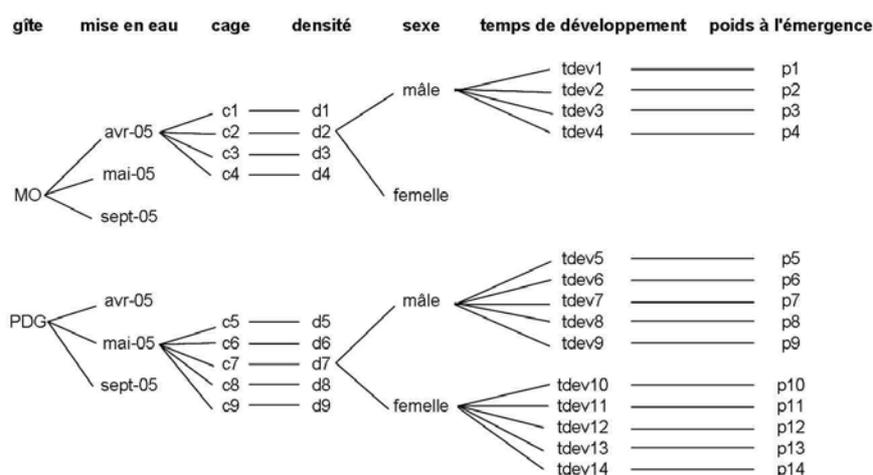
##### IV.3.3.1.1. Récolte des données

Dès l'apparition des premières nymphes, des cages d'émergence ont été placées sur chaque gîte (voir chapitre IV.2.). Les adultes émergés ont été récoltés toutes les 24 h et ramenés en laboratoire. Ils ont été identifiés, sexés et pesés individuellement avec une précision de  $\pm 1 \mu\text{g}$  sur une balance Mettler Toledo MX5 (Mettler-Toledo GmbH, Greifensee, Switzerland). Au cours d'analyses exploratoires, il a été déterminé qu'il suffit de peser 50 individus par sexe et par échantillon pour obtenir une estimation représentative de la moyenne et de l'écart type (données non montrées). Les pesées ont été effectuées sur les mises en eau d'avril, de mai et de septembre 2005. A cette donnée de poids ont été associés le temps de développement, le sexe, la cage, la densité initiale, la mise en eau et enfin le gîte (voir chapitre IV.2. pour le descriptif de l'estimation de ces variables).

##### IV.3.3.1.2. Analyse de données

Les données sont hiérarchisées (Figure 4-10). Deux variables dépendantes ont été étudiées : le poids à l'émergence et le temps de développement. Les variables explicatives sont le gîte, la mise en eau, la densité initiale et le sexe. La normalité des données de poids et de temps de développement a été testée pour chaque gîte, mise en eau, cage d'émergence et sexe en utilisant un test de Shapiro-Wilk. Sachant qu'elle est corrélée avec la mise en eau (voir chapitre IV.2.), seule la densité a été intégrée dans les analyses. L'influence des variables explicatives sur le poids et le temps de développement a été étudiée avec une MANOVA hiérarchisée se présentant sous la forme :

$$\{\text{poids, temps de développement}\} = f(\text{gîte/densité/sexe})$$



**Figure 4-10** : Exemple de représentation de la hiérarchie dans les données de suivi d'émergence sur le terrain.

La méthode utilisant la MANOVA hiérarchisée est décrite dans le chapitre III.3. Des ANOVA hiérarchisées ont été effectuées pour chacune des variables dépendantes. Des tests statistiques simples de corrélation et de comparaison de moyennes ont permis de vérifier le sens des différences constatées dans les résultats des ANOVA univariées. Le poids des individus pour une densité donnée a été comparé entre les deux gîtes : les densités larvaires initiales observées ne se chevauchant que très peu, il a été possible de comparer le poids entre les deux gîtes pour trois densités (Tableau 4-8). Pour tester la dépendance entre les deux variables à expliquer, une régression linéaire simple du poids en fonction du temps de développement a été calculée par gîte, mise en eau et cage d'émergence, cette dernière correspondant à une densité initiale. L'interprétation de ces coefficients a été facilitée en réalisant des graphiques en fonction de la densité.

**Tableau 4-8** : Moyenne et erreur standard du poids pour les densités larvaires similaires des deux gîtes MO et PDG. Les valeurs entre parenthèse correspondent au nombre d'individus pesés.

MO		PDG	
densité larvaire (nb larves par litre)	poids	densité larvaire (nb larves par litre)	poids
3	1214,64 ± 57,77 (11)	2	907,74 ± 27,15 (19)
9	909,5 ± 25,26 (48)	8,75	638,71 ± 12,29 (66)
25	946,51 ± 15,1 (257)	30	633,95 ± 8,07 (194)

#### IV.3.3.2. Résultats

##### IV.3.3.2.1. Analyse descriptive et résultats de la MANOVA hiérarchisée

Au total, 4467 individus ont été pesés pour les trois mises en eau dont 2313 mâles et 2154 femelles. Les moyennes et les erreurs standard du temps de développement et du poids sont de  $14,71 \pm 0,05$  jours et  $554,45 \pm 4,47$  µg, respectivement. Le détail par gîte et par sexe est présenté dans le tableau 4-9. La variable de poids suit la loi normale dans plus de 40% des tests d'ajustement à la normalité, par contre la variable temps de développement ne la suit que dans 2% des cas. Cependant, en raison du grand nombre d'individus mesurés et de la nécessité

d'utiliser des analyses de données puissantes, la MANOVA hiérarchisée a été calculée. Les résultats du test global de la MANOVA pour les quatre statistiques multivariées montrent un effet significatif du gîte, de la densité au sein d'un gîte et du sexe pour une densité au sein d'un gîte (Tableau 4-10). Ces trois variables ont des effets significatifs sur le poids et le temps de développement, comme l'indique l'analyse en ANOVA hiérarchisée (Tableau 4-11).

**Tableau 4-9** : Moyenne et erreur standard du temps de développement et du poids par gîte et par sexe. Les valeurs entre parenthèses correspondent au nombre d'individus.

	MO	PDG	MO & PDG
<i>temps de développement</i>			
mâles	13,03 ± 0,09 (515)	14,75 ± 0,08 (1798)	14,24 ± 0,07 (2313)
femelles	13,29 ± 0,09 (632)	15,68 ± 0,1 (1522)	15,15 ± 0,08 (2154)
mâles & femelles	13,15 ± 0,06 (1147)	15,25 ± 0,07 (3320)	14,71 ± 0,05 (4467)
<i>poids</i>			
mâles	804,73 ± 11,4 (515)	419,54 ± 3,99 (1798)	532,56 ± 5,53 (2313)
femelles	997,02 ± 13,52 (632)	453,92 ± 4,97 (1522)	574,84 ± 7,02 (2154)
mâles & femelles	891,07 ± 9,24 (1147)	438,16 ± 3,19 (3320)	554,45 ± 4,47 (4467)

**Tableau 4-10** : Résultats du test global de la MANOVA pour les quatre statistiques multivariées.

statistique multivariée	variable explicative	ddl <sup>1</sup>	valeur de la statistique multivariée	F approximé	pvalue
lambda de Wilk	gîte	1	0,49	2302,93	< 0,001
	gîte/densité	2	0,79	277,39	< 0,001
	gîte/densité/sexe	2	0,92	90,6	< 0,001
trace de Pillai-Bartlett	gîte	1	0,51	2302,93	< 0,001
	gîte/densité	2	0,21	260,72	< 0,001
	gîte/densité/sexe	2	0,08	90,16	< 0,001
racine de Roy	gîte	1	1,03	2302,93	< 0,001
	gîte/densité	2	0,26	585,47	< 0,001
	gîte/densité/sexe	2	0,06	137,36	< 0,001
trace de Hotelling-Lawley	gîte	1	1,03	2302,93	< 0,001
	gîte/densité	2	0,26	294,16	< 0,001
	gîte/densité/sexe	2	0,08	91,04	< 0,001

<sup>1</sup>ddl : degré de liberté

#### IV.3.3.2.2. Des effets significatifs

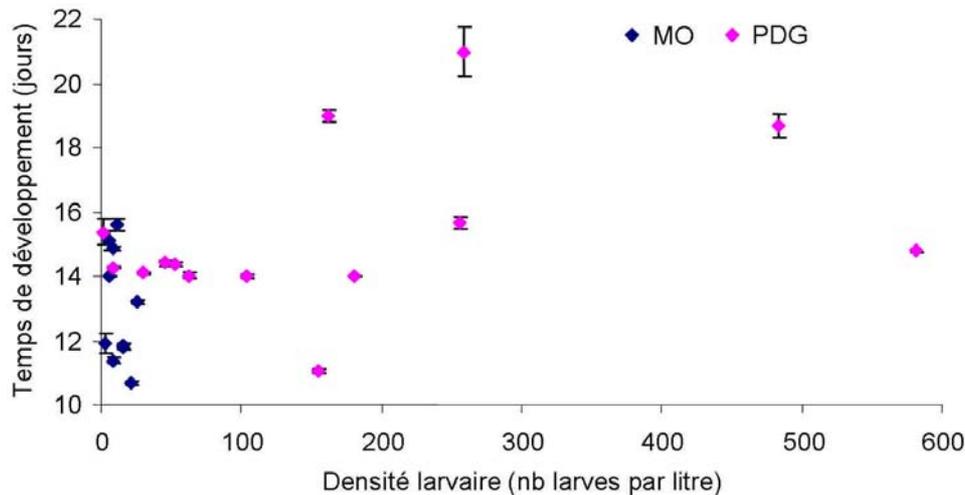
A densités similaires, les individus de MO sont significativement plus lourds que ceux de PDG (test de Mann-Whitney,  $p < 0,001$ , Tableau 4-8 et 4-9). Ces derniers ont un temps de développement significativement plus long (test de Mann-Whitney,  $p < 0,001$ ; Tableau 4-9). Au sein d'un gîte, il n'y a pas de corrélation entre la densité initiale et le temps de développement (pente = -0,092,  $r^2 = 0,141$ ,  $p = 0,286$  à MO; pente = 0,006,  $r^2 = 0,139$ ,  $p = 0,189$  à PDG; Figure 4-11). Cependant, tous gîtes confondus, plus la densité est élevée et plus le temps de développement est long (pente = 0,008,  $r^2 = 0,23$ ,  $p = 0,018$ ). Même si, graphiquement, il semble exister une corrélation négative entre la densité initiale et le poids à l'émergence pour les individus de MO (Figure 4-12a), elle n'est pas significative (pente = -6,381,  $r^2 = 0,038$ ,  $p = 0,589$ ).

A PDG, plus la densité est élevée et plus le poids est faible (pente = -0,796,  $r^2 = 0,634$ ,  $p < 0,001$ ; Figure 4-12b). En considérant chaque gîte séparément, pour une densité initiale, le temps de développement et le poids sont significativement inférieurs chez les mâles (tests des signes de Wilcoxon,  $p < 0,001$ ; Tableau 4-9).

**Tableau 4-11** : Résultats des ANOVA univariées pour le temps de développement et le poids.

variable explicative	ddl <sup>1</sup>	F	pvalue
<i>tdev=f(gîte/densité/sexe)</i>			
gîte	1	352,94	< 0,001
gîte/densité	2	149,65	< 0,001
gîte/densité/sexe	2	55,51	< 0,001
<i>poids=f(gîte/densité/sexe)</i>			
gîte	1	4403,96	< 0,001
gîte/densité	2	472,33	< 0,001
gîte/densité/sexe	2	122,24	< 0,001

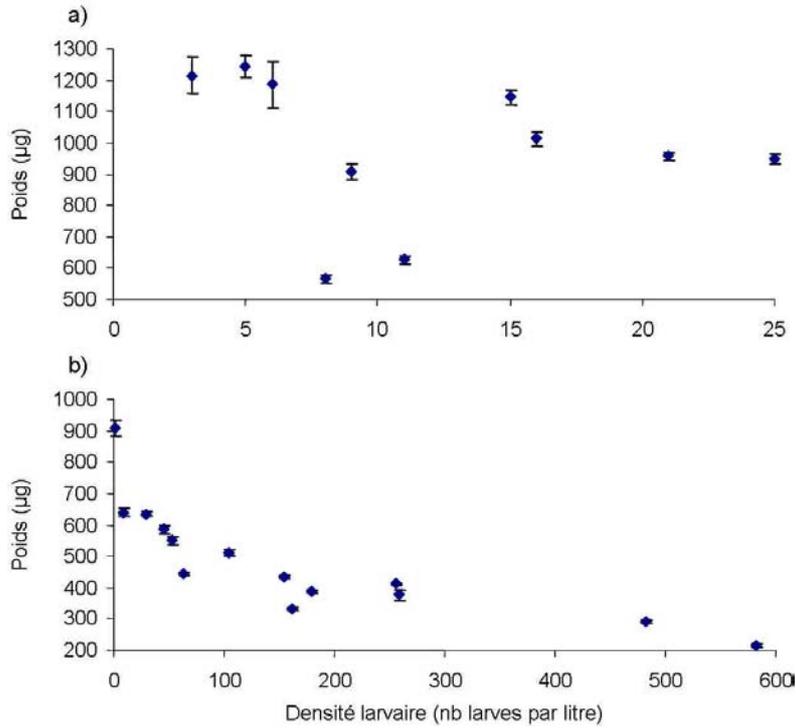
<sup>1</sup>ddl : degré de liberté



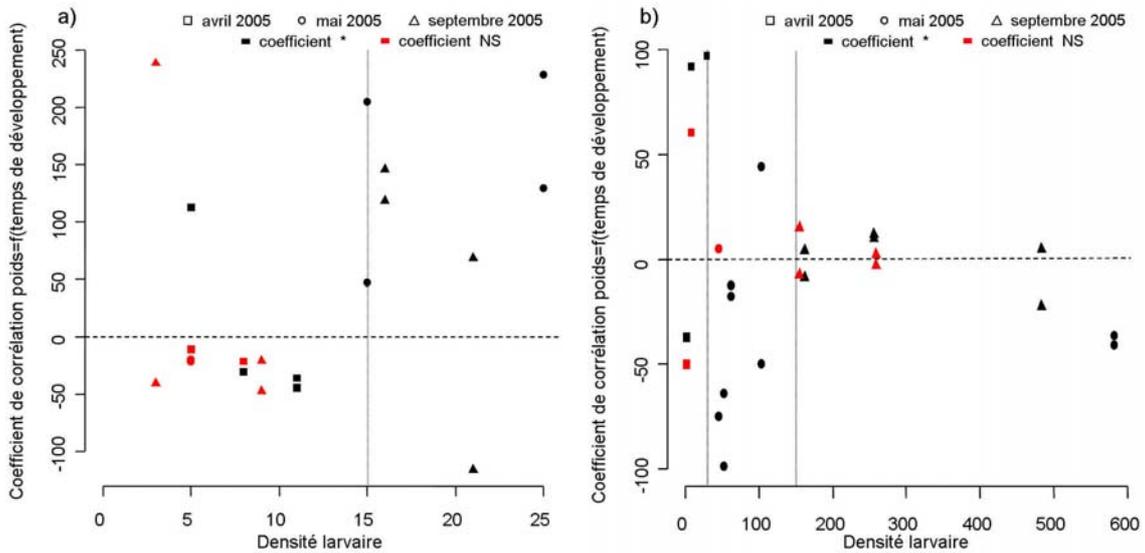
**Figure 4-11** : Moyenne et erreur standard du temps de développement en fonction de la densité larvaire pour le gîte de MO et de PDG.

#### IV.3.3.2.3. Une corrélation poids – temps de développement variable selon la densité

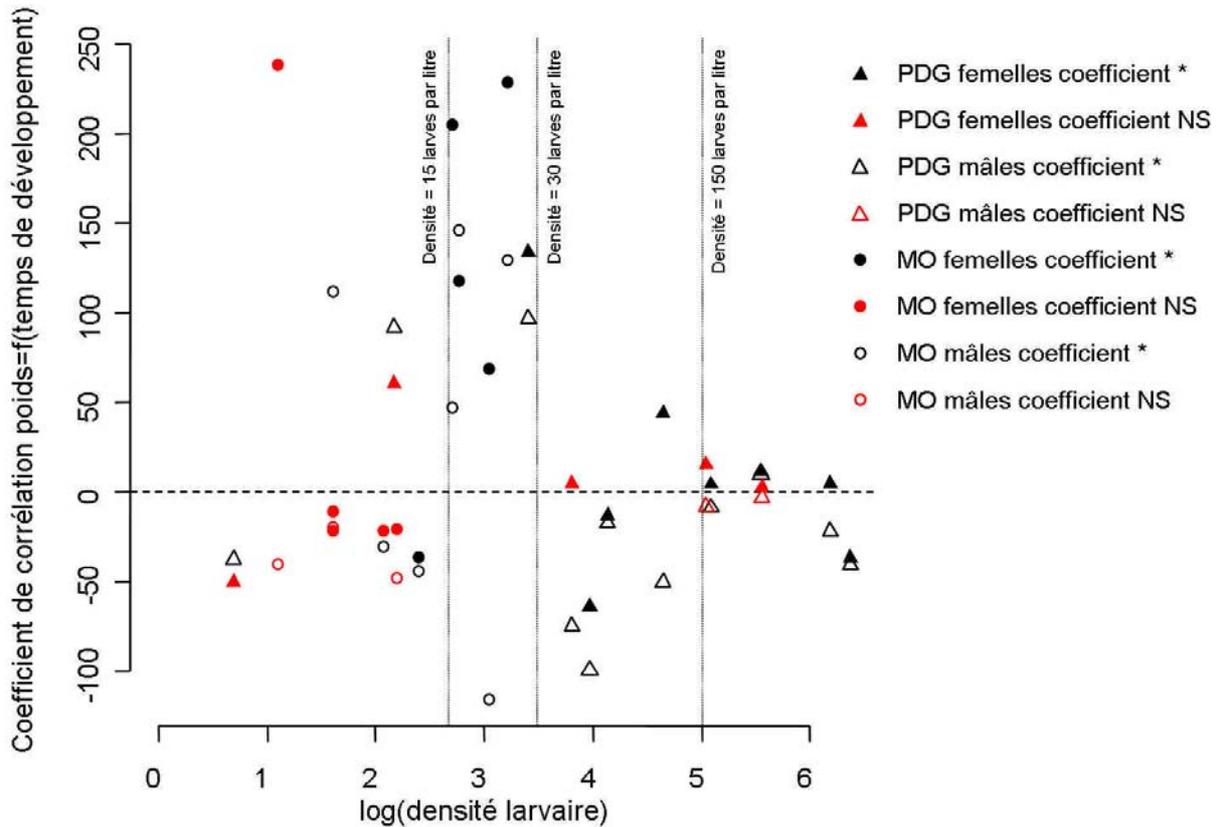
Pour le gîte de MO, l'analyse de la corrélation entre le temps de développement et le poids montre que les coefficients sont nuls lorsque les densités sont inférieures à 15 larves par litre et qu'ils sont positifs au-delà (Figure 4-13a). A PDG, lorsque les densités sont inférieures à 10 larves par litre, les coefficients sont nuls (Figure 4-13b). Entre 10 et 30 larves par litre, les coefficients sont positifs, c'est-à-dire que plus le temps de développement est long et plus le poids à l'émergence est important. Entre 30 et 150 larves par litre, les coefficients sont négatifs. Enfin, au-delà de 150 larves par litre, les coefficients sont nuls. Il faut noter que les coefficients des mâles sont significativement inférieurs à ceux des femelles (test des signes de Wilcoxon,  $p = 0,012$  ; Figure 4-14).



**Figure 4-12** : Moyenne et erreur standard du poids en fonction de la densité larvaire pour a) le gîte de MO et b) le gîte de PDG.



**Figure 4-13** : Variation selon la densité larvaire initiale, du coefficient de corrélation du poids en fonction du temps de développement pour a) le gîte de MO et b) le gîte de PDG. La ligne horizontale en traits interrompus représente le coefficient de corrélation égal à 0. Les lignes pointillées verticales représentent les limites de densité pour lesquelles il y a un changement de signe du coefficient de corrélation.



**Figure 4-14** : Variation selon le logarithme de la densité, du coefficient de corrélation du poids en fonction du temps de développement. La ligne horizontale en traits interrompus représente le coefficient de corrélation égal à 0. Les lignes pointillées verticales représentent les limites de densité pour lesquelles il y a un changement de signe du coefficient de corrélation.

#### IV.3.3.3. Discussion

##### IV.3.3.3.1. Temps de développement et compétition

Chez *Ae. taeniorhynchus*, des densités larvaires fortes et le manque de nourriture ont pour effet de prolonger la durée du développement (Nayar, 1967 ; Provost et Lum, 1967 ; Lum *et al.*, 1968). Le temps de développement à PDG, où la densité est la plus forte, est plus long qu'à MO. Lorsque les deux gîtes sont cumulés, une corrélation positive apparaît entre le temps de développement et la densité. Ainsi, chez *Ae. caspius*, des densités très élevées entraînent une augmentation de la compétition et une réduction de la quantité de nourriture disponible, prolongeant la durée de la phase aquatique le temps d'accumuler les ressources suffisantes pour assurer la nymphose dans de bonnes conditions.

##### IV.3.3.3.2. Une densité dépendance du poids à l'émergence

La corrélation entre le poids à l'émergence ou la longueur de l'aile et la densité larvaire est bien connue chez les espèces des genres *Culex* (Agnew *et al.*, 1999 ; Agnew *et al.*, 2000), *Anopheles* (Manoukis *et al.*, 2006) et *Aedes* (Willis et Nasci, 1994 ; Gama *et al.*, 2005) et ce, aussi bien en laboratoire que sur le terrain (Renshaw *et al.*, 1993). L'augmentation de la densité peut induire une augmentation de la compétition intraspécifique (Andreasen *et al.*, 1997) qui entraîne des

différences d'assimilation alimentaire (Renshaw *et al.*, 1993 ; Broberg et Bradshaw, 1995) ou une diminution de la quantité de nourriture disponible (Schneider *et al.*, 2004). Chez *Ae. caspius*, cette densité dépendance s'observe en laboratoire (voir chapitre IV.4.) mais aussi sur le terrain à PDG. Si cette corrélation n'est pas significative à MO, en raison d'un poids moyen pour deux densités (pour 8 et 11 larves par litre, voir Figure 4-12a) qui est très inférieur à celui obtenu aux autres densités, elle présente toutefois la même tendance.

#### IV.3.3.3.3. Compromis entre poids et temps de développement

Le temps de développement et le poids sont corrélés entre eux négativement ou positivement en fonction de la densité larvaire. Un tel compromis, chez *Anopheles gambiae* et chez *Ae. aegypti*, prédit qu'un moustique peut soit se développer rapidement et avoir un poids faible, soit se développer lentement et avoir un poids élevé (Bedhomme *et al.*, 2003 ; Lehmann *et al.*, 2006). Chez *Ae. caspius*, cela s'exprime de la façon suivante. Dans les cas de faibles densités (moins de 15 larves par litre), il n'y a pas de compétition et le poids et le temps de développement sont indépendants. Lorsque la densité est moyenne (entre 15 et 30 larves par litre), la phase aquatique se prolonge, la larve a plus de temps pour accumuler des ressources, favorisant ainsi le poids de l'adulte. En cas de forte densité (entre 30 et 150 larves par litre), la compétition s'accroît, la quantité de nourriture disponible diminue, la durée de la phase aquatique se prolonge mais cette fois dans des conditions pénalisantes ce qui traduit un poids à l'émergence plus faible. Enfin, dans les cas de densités extrêmes (plus de 150 larves par litre), la compétition est telle que même les individus qui ont un temps de développement court sont pénalisés et donc le poids à l'émergence est indépendant du temps passé à l'état larvaire.

#### IV.3.3.3.4. Une stratégie différente entre les deux sexes

Les mâles et les femelles ne font pas le même compromis entre temps de développement et poids à l'émergence. C'est le cas chez *Ae. aegypti* où le mâle privilégie un temps de développement court alors que la femelle optimise son poids à l'émergence (Bedhomme *et al.*, 2003), le poids étant important sur sa fécondité et donc sa fitness. Les mâles d'*Ae. caspius* se développent plus rapidement et ont un poids plus faible que les femelles. De plus, la pente de la régression entre ces deux traits est significativement plus faible chez les mâles. Ainsi, dans les cas où la corrélation est positive, lorsque le temps de développement s'allonge en raison de la compétition, le poids des femelles augmente plus que celui des mâles. Dans le cas où elle est négative, le poids des mâles diminue plus que celui des femelles lorsqu'ils sont soumis à compétition. La femelle semble donc être meilleure compétitrice car elle est moins pénalisée dans les cas de densité forte à extrême. La compétition exercée par celle-ci est plus intense probablement en raison de l'importance de son poids à l'émergence sur sa fitness. La différence de compromis pour le temps de développement et le poids à l'émergence semble donc être identique chez les deux espèces.

IV.3.3.3.5. La différence de poids est-elle due à une différence de densité ?

Les individus de PDG ont un poids à l'émergence plus faible que ceux de MO. Toutefois, on ne peut conclure directement des données collectées que cette différence soit le fait de la densité car celles observées au sein des deux gîtes ne se chevauchent que très peu. Cependant, plusieurs arguments prônent en faveur de cet effet densité dépendance. Il est bien connu chez les moustiques (Hawley, 1985) et il existe une corrélation négative en laboratoire (voir chapitre IV.4.) et sur le terrain entre la densité larvaire et le poids de l'adulte. Cependant, en laboratoire où il a été possible de comparer les deux populations à des densités égales, les adultes de PDG ont une longueur de l'aile et un poids inférieurs à ceux de MO (voir chapitre IV.3.), ce qui a été confirmé à densités équivalentes sur le terrain. Ainsi, il semble qu'il y ait d'autres phénomènes qui entrent en jeu pour expliquer la différence de poids observée entre les deux gîtes.

## IV.4. Synthèse sur l'émergence

### IV.4.1. L'adaptation aux milieux temporaires

Lors des mises en eau, les éclosions sont massives et les larves ont un taux de succès important (voir chapitre III.4.). De plus, les nymphes sont capables de survivre et d'émerger dans la boue après l'exondation du gîte. Toutes ces capacités permettent à *Ae. caspius* de maximiser le nombre de larves qui vont survivre et se développer jusqu'au stade adulte. Cela montre bien l'adaptation d'*Ae. caspius* aux milieux temporaires où les phénomènes de submersion et d'assec sont imprévisibles et de durées aléatoires.

### IV.4.2. Dominés versus dominantes

Lorsque la quantité de nourriture disponible est faible, le nombre de femelles qui émergent est supérieur à celui des mâles (voir chapitre IV.2.). D'autre part, à densité et durée de développement égales, le poids des mâles est plus faible que celui des femelles (voir chapitre IV.4. et IV.5.). Les femelles semblent donc meilleures compétitrices que les mâles. Comme chez *Ae. aegypti*, le compromis entre le poids et le temps de développement n'est pas le même pour les deux sexes (voir chapitre IV.5.). Les mâles semblent privilégier un temps de développement court au détriment du poids à l'émergence et les femelles un poids élevé au détriment de la durée du développement.

### IV.4.3. Distorsion de sex-ratio

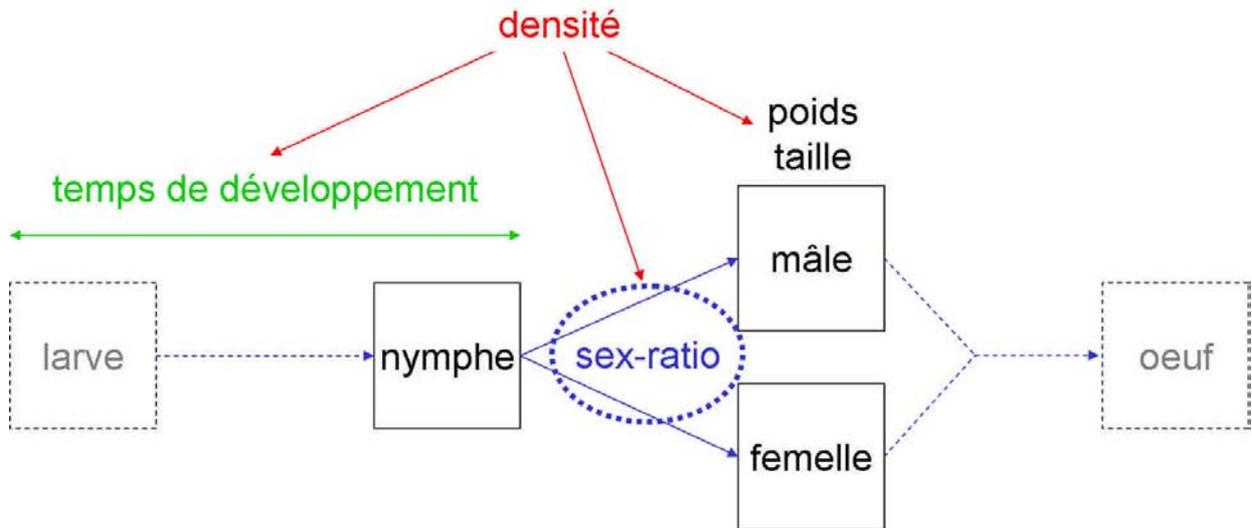
Une corrélation négative entre la sex-ratio à l'émergence et la densité a été observée en laboratoire et sur le terrain. Sachant qu'une femelle a besoin, semble-t-il, d'une quantité de nourriture plus faible que le mâle pour émerger, lorsque la densité est forte, la quantité de nourriture par larve est faible et donc la sex-ratio à l'émergence est déséquilibrée en faveur des femelles. Cependant, cette corrélation n'a pas été observée sur le gîte de MO. Cette différence par rapport à la sex-ratio observée à PDG peut s'expliquer par une différence de densité entre les deux gîtes qui induit des différences de compétition (voir chapitre IV.2.).

### IV.4.4. Emergence et densité dépendance

Une corrélation entre le poids à l'émergence et la densité a été observée en laboratoire et sur le terrain, celle-ci étant différente d'un gîte à l'autre. En laboratoire, la longueur de l'aile des individus de MO est significativement supérieure à celle des individus de PDG et il existe une corrélation positive entre la longueur de l'aile et le poids à l'émergence. Il a donc été prédit que le poids des individus de MO était supérieur au poids de ceux de PDG. Cette hypothèse a été vérifiée sur le terrain. Au regard de ces observations de terrain, il semble exister un compromis entre poids et temps de développement. L'hypothèse que la densité larvaire soit la cause de ces différences de traits et de compromis entre les deux populations a été émise, avec cependant la possibilité de l'existence d'une part de déterminisme génétique dans la taille et le poids des individus. Ces deux traits peuvent donc être considérés importants pour la démographie d'*Ae.*

*caspius*. En effet, la taille d'une femelle va déterminer sa fécondité et donc son rôle dans le maintien et le renouvellement des populations.

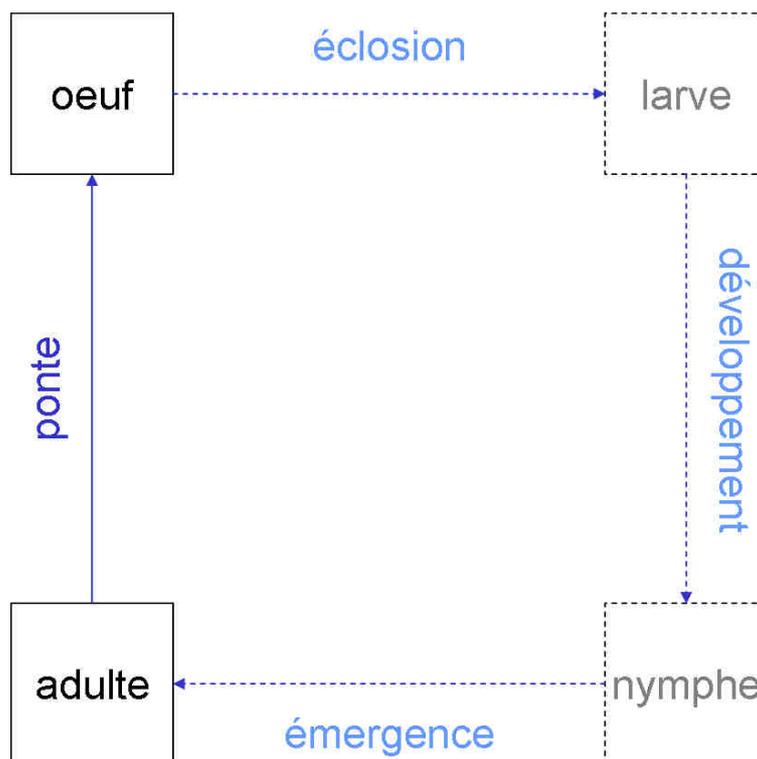
L'émergence est une phase critique pour la démographie d'*Ae. caspius* et la mesure de ses traits par utilisation de cages est simple. C'est pourquoi la sex-ratio et le poids des adultes sont des paramètres pertinents à intégrer dans le protocole adapté à l'échelle opérationnelle.



**Figure 4-15** : Schématisation de l'émergence. Les flèches en rouge représentent les facteurs qui influent sur les traits d'histoire de vie.

# Chapitre V

## La phase aérienne : l'adulte boucle la boucle



*Je ne crois aux statistiques que lorsque je les ai moi-même falsifiées*

Winston Churchill



Dans le chapitre précédent, il a été constaté que la densité jouait un rôle majeur sur l'émergence des adultes. Qu'en est-il de la phase imaginale ? Le cycle trophogonique, la fécondité ainsi que la longévité ont été étudiés. En dernier point, un essai de modélisation des fluctuations saisonnières des adultes a été effectué. Ces études ont pour objectif de décrire cette phase et d'établir les influences de la densité et du gîte sur ces traits.

### **V.1. Etude du cycle trophogonique d'*Ae. caspius***

Le cycle trophogonique d'une femelle de moustique se définit comme la succession d'événements comportementaux et physiologiques entre deux repas sanguins successifs. Le cycle trophogonique est divisé selon trois phases distinctes définies par Beklemishev (1940). La phase I correspond à une période de repos après l'émergence ou la ponte puis à la recherche de l'hôte et à la prise du repas de sang. La phase II concerne la digestion du sang et la formation des œufs (voir chapitre précédent) et la phase III comprend la recherche du gîte de ponte et l'oviposition. La durée du cycle trophogonique est donc estimée par l'intervalle de temps qui sépare deux repas sanguins successifs (Hervé *et al.*, 1985).

#### **V.1.1. Durée des différents stades de Christopher et effets des repas interrompus sur le déroulement du cycle**

Les durées des stades de Christophers et l'effet de l'interruption du repas sanguin sont estimés en laboratoire pour étudier le déroulement du cycle trophogonique d'*Ae. caspius*. Une première expérience est faite avec des femelles gorgées à réplétion et des femelles dont le repas de sang a été interrompu. Les femelles sont ensuite régulièrement disséquées. Une seconde expérience est réalisée avec des femelles interrompues, des femelles interrompues dont le repas est complété 24 h plus tard et des femelles à réplétion. Ce travail a été publié dans la revue *Parasite*.

## CHRISTOPHERS' STAGE DURATIONS AND EFFECT OF INTERRUPTED BLOOD MEAL IN THE MOSQUITO *Aedes caspius* (DIPTERA: CULICIDAE)

CARRON A.\*, ANGELARD C.\*, BOULLET A.\* & HERVÉ J.P.\*\*

### Summary:

Christophers' stages durations and effect of interrupted blood meal were investigated in laboratory to study the gonotrophic cycle of *Aedes caspius* (Pallas, 1771). A first experiment was done with replete females (full blood meal) and females with an interrupted blood meal. Females were then regularly dissected, the durations of Christophers' stages I, II, III, IV, V were up to 8, 8, 32, 8, 48 h, respectively. A second experiment was done with replete females, females with an interrupted blood meal and females with an interrupted blood meal completed 24 h later. Interrupted females matured  $21 \pm 5$  follicles, interrupted-completed females  $92 \pm 11$ , and replete females  $120 \pm 8$  follicles.

**KEY WORDS:** *Aedes caspius*, Christophers' stages, blood meal, gonotrophic cycle.

### Résumé : DURÉES DES STADES DE CHRISTOPHER ET EFFET DE L'INTERRUPTION DU REPAS SANGUIN CHEZ LE MOUSTIQUE *Aedes caspius* (DIPTERA : CULICIDAE)

Les durées des stades de Christopher et l'effet de l'interruption du repas sanguin sont estimés en laboratoire pour étudier le cycle trophogonique d'*Aedes caspius* (Pallas, 1771). Une première expérience est faite avec des femelles gorgées à réplétion et des femelles dont le repas de sang a été interrompu. Les femelles sont ensuite régulièrement disséquées. Les durées des stades de Christopher I, II, III, IV et V vont jusqu'à 8, 8, 32, 8 et 48 h, respectivement. Une seconde expérience est réalisée avec des femelles à réplétion, des femelles interrompues et des femelles interrompues dont le repas est complété 24 h plus tard. Les femelles interrompues ont développées  $21 \pm 5$  follicules, les femelles interrompues complétées  $92 \pm 11$  et les femelles à réplétion  $120 \pm 8$  follicules.

**MOTS CLÉS :** *Aedes caspius*, stades de Christopher, repas sanguin, cycle trophogonique.

## INTRODUCTION

For more than 50 years, entomologists have estimated the physiological age and the gonotrophic cycle duration of vector mosquitoes (Clements, 1992, 1999). For vectorial studies, entomologists were interested in estimating the physiological age and the hematophagous activity (Detinova, 1963). These data gave information on survival and on egg numbers laid by a mosquito during its life span (Service, 1993). More recently, it allowed developing demographic models (Southwood & Henderson, 2000).

Female fecundity depends on the number of gonotrophic cycles and their durations. Christophers' stages are a part of gonotrophic cycle, they correspond to the different stages of follicles maturation (Christophers, 1911). An abdominal distension above a minimum blood ingestion induces an inhibition of the host see-

king behaviour of *Aedes aegypti* (Klowden & Lea, 1978) and there is a correlation between fecundity and blood intake in quality as well as in quantity for *Aedes* and *Culex* species (Woke *et al.*, 1956; Shelton, 1972). Under this threshold, vitellogenesis is not induced (Woke *et al.*, 1956; Clements, 1992).

*Aedes caspius* (Pallas, 1771) is widely distributed in Europe (Gabinaud, 1975) and breeds in a variety of places (Rioux, 1958). This species is remarkable for its economical importance as it induces a huge nuisance (Porretta *et al.*, 2005). *Ae. caspius* can harbour filaria such as *Dirofilaria immitis* (Roubaud & Colas-Belcour, 1937) or can transmit arboviruses such as Tahyna virus (Hannoun *et al.*, 1966). It is one of the vectors of Rift Valley Fever in Egypt (Beier *et al.*, 1987). Akhter *et al.* (1982) successfully infected Pakistani *Ae. caspius* with West Nile virus in the laboratory and this virus was isolated from this species in Ukraine (Vinograd & Obukhova, 1975).

This study was aimed to deepen our knowledge of *Ae. caspius* gonotrophic cycle. For this species, there was a relationship between Christophers' stage durations and temperature (Sinègre, 1974), however the effect of an interrupted blood meal was not known. First of all, the durations of Christophers' stages and the effect of an interrupted blood meal on these durations were investigated. Then, the number of matured follicles was

\* EID Méditerranée, 165, avenue Paul Rimbaud, 34184 Montpellier Cedex 4, France.

\*\* IRD/INLASA, 911, avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France.

Correspondence: Alexandre Carron, 165, avenue Paul Rimbaud, 34184 Montpellier Cedex 4, France.

Tél.: + 33 (0)4 67 63 72 95 – Fax: + 33 (0)4 67 63 54 05.

E-mail: acarron@eid-med.org

compared between replete females (full blood meal), females with an interrupted blood meal and females with an interrupted blood meal completed 24 h later. For this, a method without quantification of blood meal size, except as replete or partial meals, was used.

## MATERIALS AND METHODS

### ADULT SAMPLING, REARING METHODS AND BLOOD MEALS

*Ae. caspius* females used in the experiments were collected in the Camargue (southern France; 4° 24' 03" E; 43° 30' 11" N) with a Mosquito-Magnet® trap (American Biophysics Corporation, Greenwich, USA). The trap was positioned in a field near a representative *Ae. caspius* breeding site and was left there until a sufficient number of females was collected (from one to four nights).

After each catch night, adults were brought back to the laboratory. Species were identified and all the *Ae. caspius* were put in a 40 × 40 × 40 cm cage. 100 females were killed and dissected to determine the parity rate using the Detinova method (Detinova, 1963). The other adults were reared on controlled environmental conditions at 28 ± 1.5° C (mean ± confidence interval), 50 ± 10 % relative humidity, 16:8 light:dark, and were fed with water diluted honey.

The water diluted honey was removed 24 h before the blood meal. The blood meals were taken on a guinea pig between 8:00 and 10:00 AM. One group of females was fed to repletion ("replete" females) and another had interrupted blood meals by taking off the guinea pig ("interrupted" females). The replete and interrupted females were taken the way they came to hand and isolated in different cages with a laying-box (a piece of cotton wool soaked in water) and were fed with water diluted honey.

### ESTIMATION OF CHRISTOPHERS' STAGES DURATIONS

In a first experiment, females were sampled from 9 to 11 June 2004. A blood meal was given on 14 June 2004 until 200 replete females and 200 interrupted females were isolated. From 14 to 19 June 2004, 10 females were dissected every 8 h (1:30 am, 9:30 am, and 5:30 pm), the last dissection was done 120 h after the blood meal. The presence of blood in the stomach and the Christophers' stage were noted. Time of first oviposition after a blood meal was noted.

### EGG DEVELOPMENT

In the first experiment, the number of matured follicles at stages IV and V was counted from stage V on, a paired-t-test (Zar, 1999) was used to compare replete females to interrupted females. In a second experiment,

other females were caught on 2 and 3 September 2004. A blood meal was given on 6 September 2004. Three cages, each containing 30 females, were used: the first with replete females, the second and the third with interrupted females. In the third cage, blood meal was completed until repletion on 7 September 2004; these females were named "interrupted-completed". On 9 September 2004, all females were freeze killed. Presence of blood in the stomach and Christophers' stage were noted. From stage V on, the number of matured follicles (stages IV and V) was counted. The normality of the number of matured follicles of the first and second experiments was tested using a Shapiro-Wilk test (Zar, 1999). The comparison of matured follicles number between the three groups of females was done with an ANOVA and the pairwise comparison if significant ANOVA was done with the Fisher's least significant differences (LSD; Zar, 1999). All statistical tests were done with SYSTAT® 9 (SPSS Inc., 1999).

## RESULTS

### CHRISTOPHERS' STAGE DURATIONS

Blood was found in all the dissected females for both experiments. Blood digestion lasted up to 48 h. For Christophers' stage I, II, III, IV, V the durations were up to 8, 8, 32, 8, 48 h, respectively (Table I). The duration from Christophers' stage I to the beginning of stage V was up to 56 h. The first oviposition occurred 104 h after the blood meal. There were no differences in the durations of Christophers' stages between replete females and interrupted females with matured follicles (Table I).

Time (h)	Interrupted		Replete	
	CS	N	CS	N
Blood meal	I	10	I	10
8	II	4	II	5
16	III	4	III	10
24	III	5	III	10
32	III	7	III	10
40	III	6	III	10
48	IV	5	IV	9
56	V	4	V	9
64	V	8	V	9
72	V	6	V	10
80	V	6	V	10
88	V	6	V	10
96	V	7	V	10
104	V	9	V	10
112	V	5	V	10
120	V	5	V	10

Table I. – First experiment: Christophers' stages according to time for replete females (full blood meal) and females with an interrupted blood meal. N is the female number that reached the Christophers' stage (CS) on the 10 dissected females.

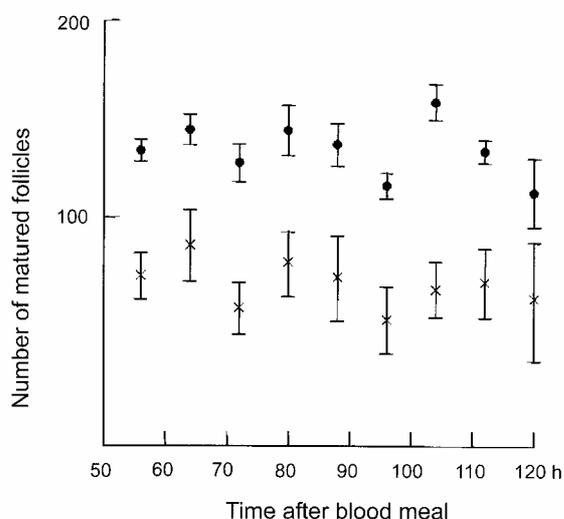


Fig. 1. – First experiment: means and standard errors of the matured follicle numbers according to time after the blood meal for replete (●) and interrupted (×) females. The number of matured follicles was counted only from stage V on (the first stage V was observed 56 h after the blood meal).

#### EGG DEVELOPMENT

The parity rate was of 7.5 % for the first experiment and 63.3 % for the second. The number of matured follicles was normally distributed for the first and the second experiments (Shapiro-Wilk test,  $p = 0.098$  and  $p = 0.058$ ). During the first experiment,  $33 \pm 8$  % of interrupted females had not developed mature follicles and remained at stage I. The matured follicle numbers were significantly higher in replete than in interrupted females with matured follicles (paired-t-test;  $n = 9$ ,  $t = -19.64$ ,  $df = 8$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. 1). In the second experiment, differences in Christophers' stages were noted between interrupted, interrupted-completed and replete females (Table II). There were significant differences in the matured follicle numbers between interrupted with matured follicles, interrupted-completed with matured follicles and replete females (ANOVA;  $F = 15.45$ ;  $df = 2, 64$ ;  $p < 0.001$ ) and the three pairwise comparison test were significant (Fisher's LSD test,  $p < 0.05$ ). It was higher in replete females (mean  $\pm$  standard error =  $120 \pm 8$  follicles), then came interrupted-completed

Christophers' stage	Interrupted	Interrupted-completed	Replete
I	46	0	0
II	4	0	0
III	0	0	0
IV	0	54	3
V	50	46	97

Table II. – Second experiment: percentage of females in each Christophers' stage 77 h after a blood meal.

females ( $92 \pm 11$  follicles) and then interrupted females ( $21 \pm 5$  follicles).

#### DISCUSSION

The aim of this study was, firstly, to estimate the durations of Christophers' stages and the effect of an interrupted blood meal on these durations. Secondly, the effect of completed a blood meal after 24 h on the number of matured follicles was investigated.

The dissections were done every 8 h, thus the true duration of Christophers' stage I, for example, was not 8 h but between 0 h (the blood meal) and 8 h (the first dissection after the blood meal). For Sinègre (1974) the duration from blood meal to oviposition was 96 h at 25° C and 60 h at 32° C. Our estimation of the duration from Christophers' stage I to the beginning of stage V is 56 h at 28° C and there was a delay of 48 h between the first Christophers' stages V and the first oviposition which occurred after 104 h. Dégallier (1979) noted that 84 h old eggs of *Culex portesi* reached their final structure but were not fully developed until the fifth day. This delay could explain our results, however the delay to the first oviposition in our study was greater than that of Sinègre (1974) and the observed relative stability in the number of matured follicles from 50 to 120 h (Fig. 1) may indicate that the delay of 48 h could also be due to egg retention.

The quantity of blood ingested was not controlled but all the dissected females had taken some blood and, in both experiments, some interrupted females did not mature follicles. Thus under a threshold (unknown in these experiments) the volume of blood may be not sufficient to induce vitellogenesis, as was noted for other species (Klowden & Lea, 1978; Clements, 1992). Clements (1992) suggested that above this threshold, there is a correlation between the quantity of blood intake and the number of eggs produced. The number of matured follicles for replete females was significantly higher than that in the interrupted females (Fig. 1). So a correlation may exist between blood intake and the number of eggs produced by *Ae. caspius*.

Mating status (Klowden & Chambers, 1991), parity (Guilvard, 1983) and adult body weight (Shelton, 1972; Briegel, 1990) affect fecundity. *Ae. caspius* spermathecae were not examined. The observed differences of number of matured follicles between replete and interrupted females in the first experiment and between replete, interrupted-completed and interrupted females in the second experiment could be explained by the mating, the parity status and/or the body weight. As for each experiment, all the females collected in the field were put in the same cage and as during blood feeding, replete or interrupted females were collected

randomly, therefore for each experiment, the percentage of mated females, the parity rate and the mean body weight should not have been significantly different between the female groups. Thus the biases of mating, parity status and body weight could be considered unimportant compared to blood meal size.

Lea *et al.* (1978) concluded that after an interrupted blood meal some follicles of *Ae. aegypti* are programmed to maturation and others to resorption. It is possible to dissect ovaries to observe dilatations which are the remnants of aborted follicles (Detinova, 1963). This method differentiates if the follicles are programmed to resorption or if vitellogenesis did not occur. In our second experiment, interrupted-completed females matured significantly less follicles than replete females. However, dilatations were not looked for when we have dissected ovaries and in parous females a resorbed follicle can not be differentiated from a previous oviposition, therefore it was not possible in this second experiment to know if follicles were resorbed or if vitellogenesis did occur.

The population growth rate is one of the fundamentals of demographic models and is calculated with the net reproductive rate per generation, itself estimated from the survival and the fecundity of individuals (Southwood & Henderson, 2000). The fecundity of a female depends on the number of gonotrophic cycle during her life span, and this number of gonotrophic cycle depends on the durations of Christophers' stages. Therefore, results obtained in this study could be considered to realize a demographic model of *Ae. caspius*. This would allow to deepen the demography of *Ae. caspius* populations on the Mediterranean littoral, and thus to better control their harmful effect.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We thank J. Cousserans, G. Duvallet, E. Guilvard, J.A. Rioux and G. Sinègre for discussions and for their help in revising the manuscript. We deeply appreciated advices of C. Lagneau and are grateful to O. Moussiégt for her help in translating the manuscript.

## REFERENCES

- AKHTER R., HAYES C.G., BAGAR S. & REISEN W.K. West Nile virus in Pakistan. III. Comparative vector capability of *Culex tritaeniorhynchus* and eight other species of mosquitoes. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1982, 76, 449-453.
- BEIER J.C., ZIMMERMAN J.H., KENAWY M.A., EL-SAID S. & ABBASSY M.M. Host-feeding patterns of the mosquito community (Diptera: Culicidae) in two Faiyum Governorate villages. *Egyptian Journal of Medical Entomology*, 1987, 24, 28-34.
- BRIEGEL H. Metabolic relationship between females body size, reserves, and fecundity of *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology*, 1990, 36, 165-172.
- CHRISTOPHERS S.R. The development of the egg follicle in anophelines. *Paludism*, 1911, 2, 73-88.
- CLEMENTS A. The biology of mosquitoes, Vol. 1. Development, nutrition and reproduction. Chapman & Hall, London, UK, 1992, 509 p.
- CLEMENTS A. The biology of mosquitoes, Vol. 2. Sensory reception and behaviour. CABI Publishing, Oxon, UK, 1999, 740 p.
- DÉGALLIER N. Le cycle gonotrophique de *Culex portesi* Sèvevet et Abonnenc en Guyane française. *Cahier ORSTOM, série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 1979, 17, 13-17.
- DETINOVA T. Méthode à appliquer pour classer par groupes d'âge les diptères présentant une importance médicale notamment certains vecteurs du paludisme. Monographies n° 47. Organisation Mondiale de la Santé, Genève, Suisse, 1963, 220 p.
- GABINAUD A. Écologie de deux *Aedes* halophiles du littoral méditerranéen français *Aedes (Ochlerotatus) caspius* (Pallas, 1771) *Aedes (Ochlerotatus) detritus* (Haliday, 1833) (Nematocera-Culicidae). Utilisation de la végétation comme indicateur biotique pour l'établissement d'une carte écologique. Application en dynamique des populations. Ph. D. dissertation, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 1975, 465 p.
- GUILVARD E. Le complexe *Aedes (Ochlerotatus) detritus* (Haliday, 1833) en Camargue. Contribution à l'étude éco-physiologique de l'autogenèse dans l'espèce A. Ph. D. dissertation, Université des sciences et techniques du Languedoc, Montpellier, 1983, 252 p.
- HANNOUN C., PANTHIER R. & CORNIUO B. Isolation of Tahyna virus in the south of France. *Acta Virologia*, 1966, 10, 362-364.
- KLOWDEN M. & CHAMBERS G. Male accessory gland substances activate egg development in nutritionally stressed *Aedes aegypti* mosquitoes. *Journal of Insect Physiology*, 1991, 37, 721-726.
- KLOWDEN M. & LEA A. Blood meal size as a factor affecting continued host-seeking by *Aedes aegypti* (L.). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1978, 27, 827-831.
- LEA A.O., BRIEGEL H. & LEA H.M. Arrest, resorption, or maturation of oocytes in *Aedes aegypti*: a dependence on the quantity of blood and the interval between blood meals. *Physiological Entomology*, 1978, 3, 309-316.
- PORRETTA D., BELLINI R. & URBANELLI S. Characterization of microsatellite markers in the mosquito *Ochlerotatus caspius* (Diptera: Culicidae). *Molecular Ecology Notes*, 2005, 5, 48-50.
- RIOUX J-A. Les culicidés du "Midi" méditerranéen. Éditions Paul Lechevalier, Paris, France, 1958, 303.
- ROUBAUD E. & COLAS-BELCOUR J. Nouvelles recherches sur l'évolution expérimentale de *Dirofilaria immitis* chez quelques culicidés indigènes. *Bulletin de la Société Pathologie Exotique*, 1937, 30, 480-484.

- SERVICE M. Mosquito ecology. Field sampling methods. Chapman and Hall, London, UK, 1993, 988 p.
- SHELTON R. The effects of blood source and quantity on production of eggs by *Culex salinarius* Coquillett (Diptera: Culicidae). *Mosquito News*, 1972, 32, 31-37.
- SINEGRE G. Contribution à l'étude physiologique d'*Aedes (Ochlerotatus) caspius* (Pallas, 1771) (Nematocera-Culicidae). Eclosion – Dormance – Développement – Fertilité. Ph. D. dissertation, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 1974, 285 p.
- SPSS Inc. SYSTAT® 9. SPSS Inc., Chicago, IL, 1999, 552 p.
- SOUTHWOOD T. & HENDERSON P. Ecological methods. Blackwell Science, Oxford, UK, 2000, 575 p.
- VINOGRAD I. & OBUKHOVA V. Isolation of arboviruses from birds in western Ukraine. *Sbornik Trudov Instituta Virusologii* (Moskva), 1975, 3, 84-87.
- WOKÉ P., ALLY M. & ROSENBERG C. The numbers of eggs developed related to the quantities of human blood ingested in *Aedes aegypti* (L.). *Annals of the Entomological Society of America*, 1956, 49, 435-441.
- ZAR J. Biostatistical analysis. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, 1999, 663 p.

Reçu le 8 janvier 2007  
Accepté le 23 avril 2007

### V.1.2. Durée des cycles trophogoniques et fécondité

La durée du cycle trophogonique ainsi que la fécondité sont des éléments essentiels pour la dynamique des populations des culicidés. L'objectif de ce chapitre est de déterminer la durée du cycle trophogonique ainsi que le nombre de cycles que peut effectuer une femelle d'*Ae. caspius* en laboratoire. La fécondité est aussi estimée et ces deux traits d'histoire de vie sont comparés entre les deux populations étudiées.

#### V.1.2.1. Matériels et méthodes

##### V.1.2.1.1. De l'œuf à l'adulte

La durée du cycle et la fécondité des femelles d'*Ae. caspius* ont été estimées en laboratoire dans un insectarium régulé à une température de  $28,4 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ , une humidité relative de  $52 \pm 0,7\%$  et à une photopériode de 16 h de jour. Des prélèvements d'œufs ont été réalisés sur les deux gîtes d'étude puis ont été ramenés en laboratoire. L'éclosion des œufs a été provoquée à l'aide de l'acide ascorbique (voir chapitre II). Les larves ainsi obtenues ont été maintenues dans des plateaux contenant 3 litres d'eau avec 2 g/l de NaCl dissous et nourries avec de la poudre de croquette pour chien. Après émergence, les mâles et les femelles ont été séparés dans des cages Roubaud de 500 x 500 x 500 mm et nourris au moyen de coton imbibé de miel dilué dans l'eau.

##### V.1.2.1.2. Accouplement forcé

*Aedes caspius* étant une espèce eurygame (Sinègre, 1974), il a été nécessaire de réaliser des accouplements forcés pour obtenir des femelles fécondées. La méthode employée est celle mise au point par Mc Daniel et Horsfall (1957). Les mâles doivent être âgés de 7 à 8 jours car c'est l'âge pour une population de laboratoire où le nombre de mâles sexuellement matures est à son maximum. Ils sont anesthésiés au  $\text{CO}_2$  puis décapités, privés de leurs pattes et enfin fixés par le thorax sur une aiguille montée. Les femelles âgées d'environ 48 h sont anesthésiées et maintenues à l'aide d'un tube capillaire branché sur une trompe à vide. L'extrémité ventrale de l'abdomen de la femelle est placée entre les forcicules (pièces génitales) du mâle, le réflexe d'intromission est immédiat et la fécondation de la femelle a lieu en 5 à 10 secondes. Les femelles ainsi accouplées sont regroupées dans une même cage.

##### V.1.2.1.3. Estimation de la durée du cycle trophogonique et de la fécondité

Le miel est retiré de la cage 24 h avant de proposer un repas sanguin sur homme. Les femelles ainsi gorgées à réplétion sont ensuite isolées dans des pondoirs individuels. Ce sont des gobelets en plastique dans lesquels est disposé du coton recouvert de papier à chromatographie Whatman (97 g/m<sup>2</sup>, 0,18 mm). Afin d'éviter la rétention de ponte, le coton et le papier filtre sont humidifiés deux fois par jour avec de l'eau issue des plateaux d'élevage larvaire (Adham, 1979). Chaque gobelet est fermé par un morceau de tulle et un coton imbibé de miel et d'eau est disposé dessus. Tous les jours après isolement dans les pondoirs, les femelles sont contrôlées. Les mortes sont disséquées pour vérifier la présence d'œufs résiduels dans l'abdomen et pour contrôler la fertilité

par observation des spermathèques. S'il y a eu ponte, le nombre d'œufs est compté et un repas de sang est proposé à la femelle tous les jours après la ponte entre 11 h et 14 h. Ainsi, il a été déterminé pour chaque femelle la réussite de son accouplement, le nombre de cycles réalisés, leurs durées et leurs fécondités respectives (en nombre d'œufs pondus).

#### V.1.2.1.4. Deux expériences sur deux générations

Une première expérimentation a été réalisée à partir d'œufs prélevés sur le terrain. Pour celle-ci, 80 femelles de chaque gîte ont été isolées en pondoires. Ces femelles provenaient d'élevages effectués à une densité de 166,67 larves par litre pour les deux gîtes. Au cours de cette première expérience, la durée des cycles et la fécondité au cours de chaque cycle a été estimée. Une seconde expérience a été réalisée à partir d'une première génération de laboratoire (notée génération F1) obtenue à partir des œufs pondus par les femelles de la première expérience (notée génération F0). L'éclosion de ces œufs a été provoquée (voir chapitre II) et les larves ont été élevées à une densité de 46,67 larves par litre pour les deux gîtes. Au cours de cette seconde expérience, 16 femelles de MO et 26 de PDG ont été isolées et la fécondité au cours du premier cycle a été estimée.

#### V.1.2.1.5. Analyse de données

Seules les femelles fécondées ont été prises en compte dans les analyses. La normalité des données de durée de cycle et de fécondité a été vérifiée à l'aide d'un test de Shapiro-Wilk. Deux ANOVA à deux facteurs (gîte et numéro de cycle trophogonique) suivies d'une comparaison deux à deux de Tukey ont été effectuées sur les résultats de la première expérience pour tester l'effet gîte et l'effet cycle sur la durée du cycle et sur la fécondité. La première ANOVA prend en compte tous les cycles alors que le premier cycle a été exclu dans la seconde. Une troisième ANOVA à deux facteurs (gîte et génération) suivie d'une comparaison deux à deux de Tukey a été effectuée sur les données de la seconde expérience pour voir s'il existe des différences de fécondité entre les gîtes et entre les deux générations F0 et F1.

### V.1.2.2. Résultats

#### V.1.2.2.1. Généralités

Au cours de la première expérimentation, le pourcentage de femelles ayant pondu au moins une fois est de 94 et 99% pour les gîtes de MO et de PDG, respectivement. Celui des femelles ayant au moins réalisé un cycle trophogonique est de 53 et 59%. Deux femelles de MO et une femelle de PDG ont réalisé 8 et 7 cycles, respectivement. Les accouplements forcés sont assez efficaces car 50 et 56% des femelles étaient fécondées respectivement pour MO et PDG. Peu de rétention de ponte a été observée : 7% des femelles ont fait de la rétention à MO et 25% à PDG. Le nombre d'œufs résiduels trouvés chez les femelles mortes n'est significativement pas différent de zéro (test t à un échantillon,  $p = 0,112$  et  $p = 0,256$  pour MO et PDG, respectivement). Les données de durée de cycle suivent la loi normale (test de Shapiro-Wilk,  $p = 0,062$  et  $p = 0,334$

pour MO et PDG), il en est de même pour les données de fécondité (test de Shapiro-Wilk,  $p = 0,348$  et  $p = 0,128$  pour MO et PDG).

V.1.2.2.2. Une durée de cycle trophogonique variable

La durée du cycle trophogonique varie au cours des cycles successifs (Figure 5-1). L'ANOVA à deux facteurs est significative pour l'effet gîte et l'effet cycle mais l'interaction entre ces deux facteurs n'est pas significative (Tableau 5-1a). En comparaison deux à deux, le premier cycle trophogonique est significativement plus long que les autres cycles qui ne sont pas différents entre eux (Tableau 5-1b) et il n'y a pas de différence constatée entre la durée du premier et celle du 7<sup>ième</sup> et du 8<sup>ième</sup> cycle, cela en raison du trop faible nombre de femelles ayant réalisées 7 ou 8 cycles. En supprimant le premier cycle de l'ANOVA 2, il n'y a plus d'effet gîte (Tableau 5-2), de plus, la durée du premier cycle des femelles de MO n'est pas significativement différente de celles de PDG (test t,  $p = 0,576$ ). Ainsi, l'effet gîte constaté dans la première ANOVA 2 est uniquement dû à la différence de durée entre les cycles.

**Tableau 5-1** : Résultats de la comparaison de la durée du cycle trophogonique entre les cycles et les gîtes.

a) ANOVA à deux facteurs, b) Comparaison multiple deux à deux de Tukey.

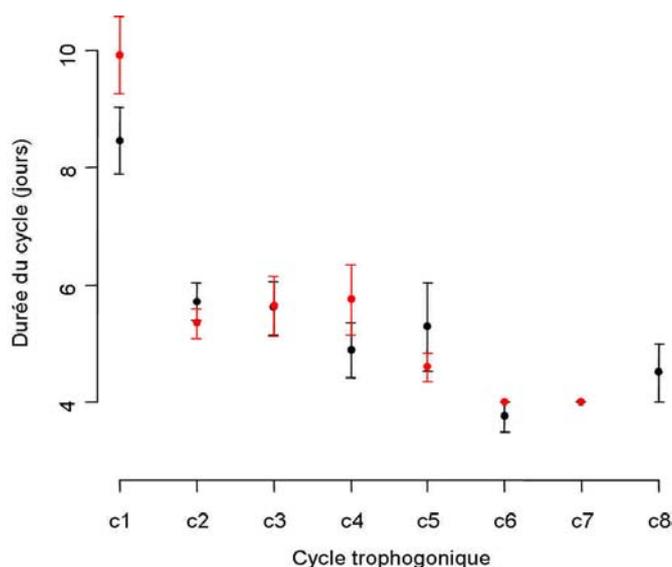
a)

variable explicative	ddl <sup>1</sup>	F	pvalue
gîte	1	4,895	0,028
cycle trophogonique	7	14,549	< 0,001
interaction	6	0,809	0,564

<sup>1</sup>ddl : degré de liberté

b)

	c1	c2	c3	c4	c5	c6	c7	c8
c1								
c2	< 0,001							
c3	< 0,001	0,999						
c4	< 0,001	0,999	0,999					
c5	< 0,001	0,999	0,998	0,999				
c6	0,004	0,965	0,934	0,987	0,998			
c7	0,065	0,994	0,987	0,997	0,999	0,999		
c8	0,441	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999	



**Figure 5-1** : Moyenne et erreur standard de la durée des cycles trophogoniques en fonction des cycles successifs pour les femelles du gîte de MO (en noir) et du gîte de PDG (en rouge).

**Tableau 5-2** : Résultats de l'ANOVA à deux facteurs de la durée du cycle trophogonique en fonction du gîte et du cycle sans les données du premier cycle trophogonique.

variable explicative	ddl <sup>1</sup>	F	pvalue
gîte	1	0,029	0,878
cycle trophogonique	6	1,219	0,299
interaction	5	0,416	0,837

#### V.1.2.2.3. Des fécondités décroissantes et stables entre générations

La fécondité diminue avec l'âge des femelles (Figure 5-2). En effet, la variable cycle est significative (Tableau 5-3a). En comparaison deux à deux, la fécondité décroît au cours des quatre premiers cycles puis reste constante et faible pour les cycles au-delà (Tableau 5-3b). La fécondité des femelles de MO est significativement supérieure à celle des femelles de PDG. La différence de fécondité entre les deux gîtes est telle que la fécondité des femelles de MO pour un cycle donné est égale à la fécondité de celles de PDG pour le cycle précédent (Figure 5-2). Cette différence de fécondité se maintient sur une première génération de laboratoire, c'est-à-dire qu'il n'y a pas de différences de fécondité entre les deux générations F0 et F1, par contre l'effet gîte est significatif (Tableau 5-4 et Figure 5-3).

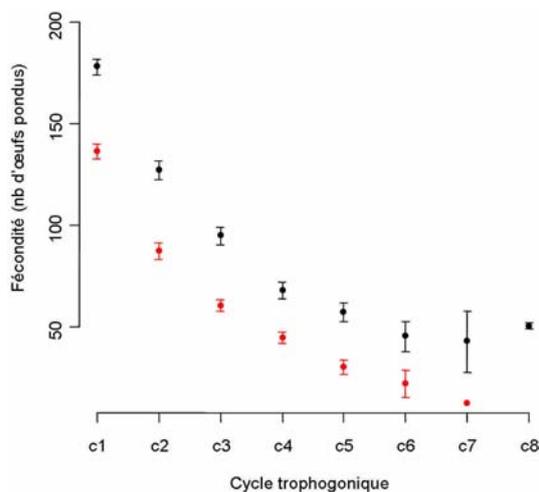
**Tableau 5-3** : Résultats de la comparaison de la fécondité entre les cycles et les gîtes. a) ANOVA à deux facteurs, b) Comparaison multiple deux à deux de Tukey.

a)

variable explicative	ddl <sup>1</sup>	F	pvalue
gîte	1	99,97	< 0,001
cycle trophogonique	7	144,32	< 0,001
interaction	6	0,975	0,442

b)

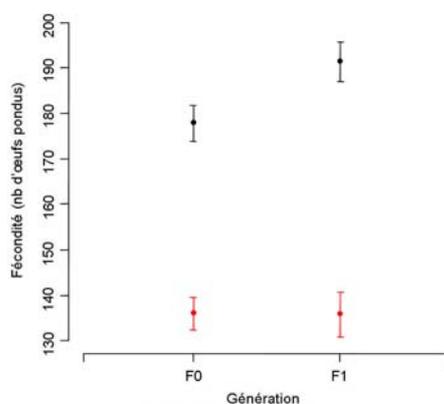
	c1	c2	c3	c4	c5	c6	c7	c8
c1								
c2	< 0,001							
c3	< 0,001	< 0,001						
c4	< 0,001	< 0,001	0,002					
c5	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,617				
c6	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,179	0,967			
c7	< 0,001	< 0,001	0,004	0,399	0,953	0,999		
c8	< 0,001	0,01	0,444	0,979	0,999	0,999	0,999	



**Figure 5-2** : Moyenne et erreur standard de la fécondité en fonction des cycles trophogoniques successifs pour les femelles du gîte de MO (en noir) et celle du gîte de PDG (en rouge).

**Tableau 5-4** : Résultats de l'ANOVA à deux facteurs pour la comparaison de la fécondité entre les générations et les gîtes.

variable explicative	ddl <sup>1</sup>	F	pvalue
gîte	1	99,906	< 0,001
génération	1	1,154	0,284
interaction	1	1,618	0,205



**Figure 5-3** : Moyenne et erreur standard de la fécondité du premier cycle trophogonique en fonction de la génération pour les femelles du gîte de MO (en noir) et celles du gîte de PDG (en rouge). Voir le texte pour le descriptif des générations.

V.1.2.3. Discussion

V.1.2.3.1. Rappel des résultats

L'élevage en laboratoire a été possible malgré l'eurygamie et la rétention de ponte, qui ont été contournées en réalisant des accouplements forcés et en humidifiant les pondoires avec de l'eau "larvaire". Les accouplements forcés sont efficaces à plus de 50 % et l'eau "larvaire" induit une absence de rétention de ponte. La durée du cycle trophogonique varie avec l'âge de la femelle et il n'y a pas de différence entre les deux populations. La moyenne et l'erreur standard de la durée du premier cycle trophogonique est de  $9,22 \pm 0,44$  jours et celle des cycles suivants est de  $5,36 \pm 0,01$  jours. *Ae. caspius* est une espèce qui a un premier cycle long et les suivants de durée moyenne (Tableau 5-5). Il y a une diminution de la fécondité avec l'âge et celle-ci diffère entre les deux populations, différence qui se conserve chez la première génération de laboratoire. La moyenne et l'erreur standard de la fécondité des femelles de MO et de PDG au cours du premier cycle est de  $178 \pm 4$  et  $136 \pm 4$  œufs pondus, respectivement. *Aedes caspius* fait ainsi partie des espèces à fécondité élevée (Tableau 5-6).

**Tableau 5-5** : Durée du premier cycle trophogonique pour plusieurs espèces des genres *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Haemagogus* et *Ochlerotatus*.

espèce	durée (jours)	type d'estimation	provenance de la souche	auteurs
<i>Ae. aegypti</i>	3,5	non précisé	Thaïlande	voir Pajot (1976) p 285
<i>Ae. aegypti</i>	4	non précisé	Tanzanie	voir Pajot (1976) p 285
<i>Ae. aegypti</i>	4,5	terrain	Martinique	Etienne, 2006
<i>Ae. africanus</i>	5-6	terrain	Centrafrique	Germain <i>et al.</i> , 1977
<i>Ae. simpsoni</i>	9	terrain	Centrafrique	Pajot, 1976
<i>Ae. triseriatus</i>	14	terrain	Ohio	Haramis et Foster, 1990
<i>Ae. vittatus</i>	4,5	terrain	Centrafrique	Dégallier <i>et al.</i> , 1983
<i>Ae. vexans</i>	21-42	laboratoire	République Tchèque	Hajkova, 1966
<i>Ae. caspius</i>	6-7	laboratoire	Egypte	Belmonte, 1982
<i>Ae. detritus</i>	8	laboratoire	Tunisie	Belmonte, 1982
<i>An. farauti</i>	2,5	terrain	Nouvelle Guinée	Charlwood <i>et al.</i> , 1985
<i>An. gambiae</i>	2-5	terrain	Kenya	Afrane <i>et al.</i> , 2005
<i>An. stephensi mysorensis</i>	3,5	terrain	Iran	Quraishi <i>et al.</i> , 1966
<i>An. albimanus</i>	3	laboratoire	Colombie	Rua <i>et al.</i> , 2005
<i>An. bellator</i>	3	laboratoire	Indes	Chadee, 1999
<i>An. minimus flavirostris</i>	3,5	laboratoire	Phillippines	Catangui, 1971
<i>Cx. portesi</i>	8	terrain	Guyane	Dégallier, 1979
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	2-3	terrain	Mexique	Elizondo-Quiroga <i>et al.</i> , 2006
<i>Cx. pipiens</i>	5,5	laboratoire	Maroc	Faraj <i>et al.</i> , 2006
<i>Haemagogus janthinomys</i>	10	laboratoire	Brésil	Hervé <i>et al.</i> , 1985
<i>Oc. albifasciatus</i>	9	terrain	Argentine	Visintin <i>et al.</i> , 2004

V.1.2.3.2. Variation de la durée du cycle trophogonique

Les femelles sont capables de faire jusqu'à 8 cycles trophogoniques en laboratoire. Cette manipulation de laboratoire néglige les phases 1 et 3 de Beklemishev car un repas de sang est proposé immédiatement après la ponte et la femelle n'a pas à chercher un gîte de ponte. Cela a pu augmenter le nombre de cycles effectués. De plus, la longévité moyenne des femelles en laboratoire est de  $14,74 \pm 2,81$  jours (voir chapitre V.3.). Ainsi, le nombre de cycles effectués par

une femelle sur le terrain ne dépasse sans doute pas 2 ou 3. Le premier cycle est plus long que les suivants. C'est le cas aussi pour d'autres espèces du genre *Anopheles* (Quraishi *et al.*, 1966 ; Chadee *et al.*, 1998 ; Afrane *et al.*, 2005) et *Aedes* (Etienne, 2006). La maturation ovarienne induit d'importantes modifications morphologiques et physiologiques, ainsi après la réalisation d'un premier cycle, la mise en place de ces changements s'effectue probablement plus facilement, expliquant cette diminution de la durée du cycle avec l'âge de la femelle.

#### V.1.2.3.3. Fécondité dépendante de l'âge

Le nombre d'œufs pondus décroît au fur et à mesure des cycles. Chez *An. bellator*, il y a une réduction d'un tiers de la fécondité entre le premier cycle et le second (Chadee, 1999). Par contre, la fécondité ne varie pas chez *An. homunculus* (Chadee *et al.*, 1998). Chez *Oc. albifasciatus*, il y a un pic de fécondité au cours du second cycle puis une diminution pour les cycles suivants (Visintin *et al.*, 2004). Chez *Ae. simpsoni*, le nombre moyen de follicules par ovaire est plus élevé chez les nullipares que chez les pares et chez *Ae. aegypti*, il y a une réduction de 15% de la fécondité entre le premier et le second cycle trophogonique (Pajot, 1976). Selon ce dernier auteur, le déclin de la fécondité, parallèle au vieillissement, est consécutif de la diminution du nombre d'ovarioles et de l'augmentation du nombre d'œufs anormaux. C'est probablement le cas pour *Ae. caspius* mais avec, cependant, une fécondité qui reste élevée (entre 40 et 60 œufs pondus au cours des cycles 4 à 8 chez les femelles de MO). Une seconde raison pouvant expliquer le déclin de la fécondité avec l'âge est celle proposée par Briegel (2003). Cet auteur a démontré qu'en vieillissant, les femelles d'*Ae. aegypti* retiennent plus les lipides dans les corps gras plutôt que de les transférer dans les oocytes, devenant ainsi des "fat old ladies".

#### V.1.2.3.4. Fécondité dépendante de la taille

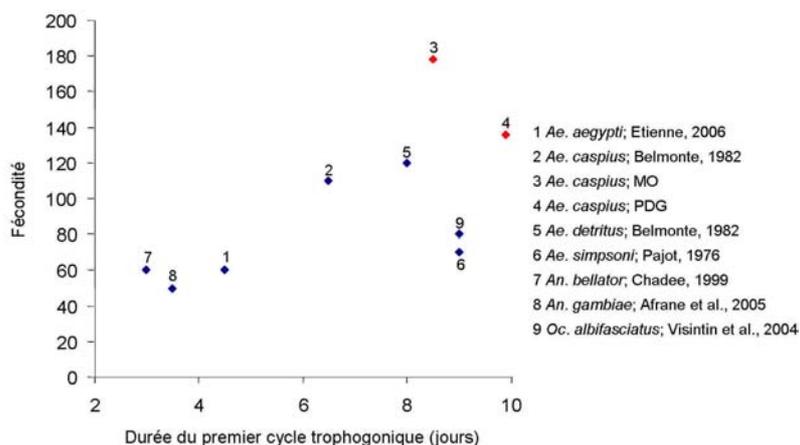
La fécondité varie en fonction de la taille et du poids (Clements, 1992 ; Service, 1993). Cette corrélation s'observe chez beaucoup d'espèces des genres *Anopheles* (Takken *et al.*, 1998 ; Roitberg et Gordon, 2005), *Culex* (Shelton, 1972) et *Aedes* (Briegel, 1990 ; Blackmore et Lord, 2000 ; Briegel *et al.*, 2001). Comme on l'a vu (chapitre IV.4. et IV.5.), le poids et la taille sont eux-mêmes influencés par les conditions de vie larvaire (Briegel, 1990), en particulier par la densité. Ainsi, la différence de fécondité observée entre les femelles de MO et de PDG peut être due à une différence de taille et de poids, toutefois ces deux traits n'ont pas été mesurés. Cependant, les deux populations ont été élevées à densité identique et dans les mêmes conditions ambiantes. La différence de fécondité entre les deux populations se confirme également chez la génération F1. Il serait nécessaire de vérifier l'existence de la corrélation poids – fécondité chez cette espèce et d'étudier la densité dépendance de la fécondité. Il existe une différence de fécondité entre femelles accouplées et non accouplées (Klowden et Chambers, 1991 ; Klowden et Russell, 2004), mais dans l'étude menée ici, seules les femelles dont l'accouplement a réussi ont été prises en compte.

**Tableau 5-6** : Fécondité au cours du premier cycle trophogonique pour plusieurs espèces du genre *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* et *Ochlerotatus*. Les estimations de terrain ont été réalisées dans des pondoirs placés *in situ*. Les données de fécondité ont été estimées soit par le nombre d'œufs pondus<sup>a</sup>, soit par le nombre d'œufs arrivés à maturation<sup>b</sup> soit par le nombre de follicules<sup>c</sup>. Les provenances de la souche entre guillemets ne sont pas précisées par les auteurs, ainsi c'est le nom de la souche qui est indiqué dans ce tableau.

espèce	fécondité	type d'estimation	provenance de la souche	auteurs
<i>Ae. rusticus</i>	90 <sup>a</sup>	terrain	Angleterre	Andreasen <i>et al.</i> , 1997
<i>Ae. aegypti</i>	60 <sup>a</sup>	terrain	Martinique	Etienne, 2006
<i>Ae. aegypti</i>	70 <sup>b</sup>	laboratoire	Grèce	Klowden et Chambers, 1992
<i>Ae. aegypti</i>	90 <sup>b</sup>	laboratoire	non précisé	Klowden et Chambers, 1991
<i>Ae. aegypti</i>	90 <sup>b</sup>	laboratoire	USA	Briegel, 1990
<i>Ae. aegypti</i>	90 <sup>b</sup>	laboratoire	non précisé	Woke <i>et al.</i> , 1956
<i>Ae. albopictus</i>	60 <sup>a</sup>	laboratoire	Nouvelle Orléans	Blackmore et Lord, 2000
<i>Ae. albopictus</i>	70 <sup>b</sup>	laboratoire	Los Angeles	Klowden et Chambers, 1992
<i>Ae. caspius</i>	110 <sup>a</sup>	laboratoire	Egypte	Belmonte, 1982
<i>Ae. detritus</i>	120 <sup>a</sup>	laboratoire	Tunisie	Belmonte, 1982
<i>Ae. simpsoni</i>	70 <sup>c</sup>	laboratoire	Centrafrique	Pajot, 1976
<i>Ae. vexans</i>	90 <sup>b</sup>	laboratoire	Californie, Canada, Suisse, Allemagne	Briegel <i>et al.</i> , 2001
<i>An. gambiae</i>	40-60 <sup>a</sup>	terrain	Kenya	Afrane <i>et al.</i> , 2005
<i>An. albimanus</i>	50-100 <sup>b</sup>	laboratoire	"San Diego del Norte"	Briegel et Hörler, 1993
<i>An. amictus hilli</i>	120 <sup>a</sup>	laboratoire	Australie	Russell, 1979
<i>An. annulipes</i>	110 <sup>a</sup>	laboratoire	Australie	Russell, 1979
<i>An. bellator</i>	60 <sup>a</sup>	laboratoire	Indes	Chadee, 1999
<i>An. gambiae</i>	50-80 <sup>b</sup>	laboratoire	"16c55"	Briegel et Hörler, 1993
<i>An. gambiae</i>	70 <sup>a</sup>	laboratoire	"Ifakara"	Roitberg et Gordon, 2005
<i>An. gambiae</i>	50 <sup>b</sup>	laboratoire	"Ifakara"	Menge <i>et al.</i> , 2005
<i>An. gambiae</i>	60 <sup>b</sup>	laboratoire	Tanzanie	Takken <i>et al.</i> , 1998
<i>An. stephensi</i>	70-80 <sup>b</sup>	laboratoire	Indes	Briegel et Hörler, 1993
<i>Cx. pipiens</i>	100-200 <sup>a</sup>	terrain	non précisé	Vinogradova, 2000
<i>Cx. salinarius</i>	100 <sup>b</sup>	laboratoire	Louisiane	Shelton, 1972
<i>Oc. albifasciatus</i>	80 <sup>a</sup>	terrain	Argentine	Visintin <i>et al.</i> , 2004
<i>Oc. japonicus</i>	115 <sup>a</sup>	terrain	New Jersey	Oliver et Howard, 2005

#### V.1.2.4. Conclusions

Il semble qu'il existe une relation entre durée du cycle trophogonique et fécondité : plus le cycle trophogonique est long et plus la fécondité est élevée (Figure 5-4). D'autre part, plus le cycle trophogonique est long et plus la longévité est importante (J-P. Hervé, communication personnelle). Une fécondité élevée signifie la maturation d'un grand nombre d'œufs et il est probable que plus le nombre d'œufs à développer est important, plus cela prend du temps. Seules les espèces à longévité importante peuvent privilégier une fécondité forte car cela impose une durée de cycle longue. Les espèces à longévité courte privilégient au contraire un cycle court au détriment de la fécondité pour être en mesure de réaliser plusieurs cycles.



**Figure 5-4** : Variation de la fécondité en fonction de la durée du cycle trophogonique pour des espèces du genre *Aedes*, *Anopheles* et *Ochlerotatus*. Les données estimées dans ce chapitre sont présentées en rouge.

*Aedes caspius* présente une fécondité et une durée de cycle trophogonique relativement importantes par rapport à d'autres espèces de culicidés (Tableaux 5-5 et 5-6), d'où la supposition d'une longévité importante. Or, d'après une étude de la longévité en laboratoire (voir chapitre suivant) cette espèce présente une longévité moyenne et ne réalise probablement que deux ou trois cycles en conditions naturelles. Il semble donc qu'elle applique une stratégie d'espèces à longévité longue pour le premier cycle trophogonique puis une stratégie d'espèces à longévité courte pour les cycles suivants.

Il existe des différences de fécondité entre les deux populations étudiées qui se conservent en F1. Chez une espèce de Psychodidae, *Lutzomyia shannoni* et chez *Drosophila melanogaster*, il existe une héritabilité de la fécondité (Cardenas *et al.*, 1999). Peut-être existe-t-elle chez *Ae. caspius* ? Pour vérifier cette hypothèse, une première méthode consisterait à mesurer la fécondité des deux populations sur plusieurs générations en laboratoire afin de vérifier si les différences se maintiennent. Une seconde méthode serait de tester la corrélation entre la fécondité de femelles mères avec la fécondité de leurs filles ; s'il y a héritabilité, la corrélation doit être positive (Cardenas *et al.*, 1999).

Ces travaux ont fait l'objet d'une présentation d'un poster au 15<sup>ième</sup> colloque de la Society of Vector Ecology à Serres en Grèce du 10 au 14 avril 2006 (Annexe V-1).

## V.2. Longévité et taux de survie

### V.2.1. Longévité en conditions de laboratoire

La longévité des adultes d'*Ae. caspius* a été étudiée en laboratoire pour les deux populations et à différentes densités. La longévité des femelles est supérieure à celle des mâles. Il n'y a pas de différence de longévité entre les individus des deux populations et aucun effet densité dépendance n'a été détecté. Les courbes de survie ont été établies et elles sont de type IV pour les mâles et de type III pour les femelles. Ce chapitre a fait l'objet d'une publication soumise dans la revue *Medical and Veterinary Entomology*.

## Survivorship characteristics of the mosquito *Aedes caspius* adults from southern France under laboratory conditions.

Alexandre Carron<sup>1</sup>, Laurence Bichaud<sup>1</sup>, Nelly Platz<sup>1</sup>, Dominique J. Bicout<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> EID Méditerranée, 165 avenue Paul Rimbaud, 34184 Montpellier Cedex 4, France.

<sup>2</sup> Unité Biomathématiques et Epidémiologie, EPSP, TIMC – Ecole National Vétérinaire de Lyon. 1, avenue Bourgelat, F- 69280 Marcy l'Etoile, France.

**Abstract.** The life span of *Aedes caspius* (Pallas) (Diptera: Culicidae) adults was investigated in the laboratory. Two populations were compared; one from Mourgues, where larvicides have been used continuously for ~ 40 years, and the other from Pont de Gau, where there has been no consistent mosquito control. The aims of the study were to ascertain the basic life history profiles of adults and to determine whether continuous larviciding affects inherent adult survivorship. Life tables were constructed to calculate the following life expectancy parameters: mean lifetime ( $\tau_{ad}$ ), maximum lifetime ( $\tau_{max}$ ) and daily survival rate ( $P_{ad}$ ). All three parameters were higher for females than for males (paired *t*-test,  $P \leq 0.001$ ); male mean lifetime, maximum lifetime and daily survival rate were  $4.95 \pm 0.94$  days,  $20.5 \pm 6.66$  days and  $P = 0.79 \pm 0.05$ , respectively, and female values were  $14.74 \pm 3.68$  days,  $49.69 \pm 16.55$  days and  $P = 0.93 \pm 0.02$ , respectively. No differences were found between the two populations, and no correlations were found between initial adult densities and their respective survival rates. The survivorship curves for *Ae. caspius* were of type IV for males and of type III for females.

**Keywords:** *Aedes caspius*, life span, life table, survivorship curve.

### Introduction

*Aedes caspius* (Pallas) is widely distributed in Europe (Gabinaud, 1975) and occurs in a variety of habitats (Rioux, 1958). Seasonally high abundances of this species cause it to be an economically important pest (Becker *et al.*, 2003) mainly along the Mediterranean coast (Schaffner *et al.*, 2001). Moreover, Akhter *et al.* (1982) successfully infected *Ae. caspius* from Pakistan with West Nile virus in the laboratory, and this virus has been isolated from this mosquito species in the Ukraine (Vinograd & Obukhova, 1975). During the last ten years, equine West Nile epizootics were recorded around the Mediterranean basin and *Ae. caspius* could be suspected of transmitting this virus along the Mediterranean coast (Balenghien *et al.* 2006). The EID Méditerranée initiated a programme of research to monitor the population dynamic of *Aedes caspius* along the French Mediterranean coast. Due to growing concerns that West Nile virus transmission in this area could increase in the near future, some results of this programme could be used to estimate the vector potential of this species.

One of the most important factors affecting the vectorial capacity of a mosquito is how long adult females live after their first bloodmeal (Becker *et al.*, 2003; Service, 1993). In spite of more

than 40 years of larviciding to control *Aedes caspius* with a significant decrease in nuisance, high larval densities persist in treated areas, with no evidence of insecticide resistance in the population. Therefore, this study was undertaken to investigate whether or not an increase in survivorship of adults could be compensating for larval mortality due to larvicides. If adult survivorship has indeed increased, then the potential vectorial capacity of females in this population could also be higher than in areas where no larvicides have been used.

Life table analysis based on data collected under field-simulated insectary conditions produces results that most accurately reflect the maximum expression of a species' genetic potential (Maharaj, 2003). In addition, these data may also be used to study inherent differences in the survivorship of populations evolving under different ecological conditions. Therefore, laboratory-based life tables were constructed and compared for two populations; one with and one without a history of larval control with larvicides. The relevance to potential changes in vectorial capacity of this species to transmit West Nile virus are discussed.

### Materials and methods

The two populations studied came from sites in southern France. The first came from Mourgues (MO; 4°15'52"E; 43°30'45"N), an area where mosquito toes have been controlled with larvicides for ~ 40 years, and the second came from Pont de Gau (PDG; 4°23'34"E; 43°30'04"N) where larvicides have not been used. The two sites are ~ 50 km apart.

Soil samples were collected from each site to obtain eggs for rearing to the adult stage in the laboratory. To increase the likelihood that the soil samples contained eggs of the right species, samples were collected near vegetation known to be associated with egg biotopes specific for *Ae. caspius* (Gabinaud, 1975). Ascorbic acid was used to stimulate egg hatching (Sinègre, 1974) and the larvae were reared to the adult stage in plastic trays (33 x 22 x 6 cm) containing 3 L of water with 2g/L of NaCl. Since *Ae. caspius* larvae need at least 16 mg of dry dog food powder to complete their development (unpublished data), a surplus of 5 g were added to each tray to avoid larval starvation and larval competition. After emergence, the adults (males and females together) of each cohort were placed in a cage (40x40x40 cm) and maintained in the laboratory at 28.4 ± 0.3 °C, 52 ± 0.7 % RH and a photoperiod of LD 16:8 h. The adults were offered water-diluted honey. The number of dead individuals was counted every day.

Three cohorts were followed for each of the two populations, starting with three larval densities, to produce three groups of initial adult numbers (Table 1). Two of the larval densities were similar to the mean larval density along the French Mediterranean coast (~ 30 larvae/L) and the third was twice this field density. Mean lifetimes ( $\tau_{ad}$ ), maximum lifetimes ( $\tau_{max}$ ) and daily survival rates ( $P_{ad}$ ) were calculated for each sex and for each cohort.

The mean lifetime was calculated from the equation (1):

$$\tau_{ad} = \Delta \frac{\sum_{x=1}^w N(x)}{N_{total}} \quad (1)$$

where  $N(x)$  is the number of adults at day  $x$ ,  $w$  is the last day of the survey,  $\Delta$  is the time unit in days, and  $N_{total}$  is the initial abundance. Assuming a constant survival, the daily survival rate was calculated from the relation (2):

$$p_{ad} = 1 - \frac{\Delta}{\tau_{ad}} \quad (2)$$

The life table construction used was described by Southwood & Henderson (2000). This method estimates the expectation of life ( $e_x$ ) remaining for individuals at age  $x$  as given by the equation (3):

$$e_x = \frac{T_x}{l_x} \Delta \quad (3)$$

where  $l_x$  is the number of individuals surviving at the beginning of the age class  $x$ , and  $T_x$  the total number of individuals per age unit beyond the age  $x$  as given by the equation (4):

$$T_x = L_x + L_{x+1} + \dots + L_w \quad (4)$$

with  $L_x$  the number of individuals alive between age  $x$  and  $x+1$  which is calculated using the equation (5):

$$L_x = \frac{l_x + l_{x+1}}{2} \quad (5)$$

The calculated  $\tau_{ad}$ ,  $\tau_{max}$  and  $P_{ad}$  values for male and female mosquitoes from both sites were pooled and found to have a normal distribution by the Shapiro-Wilk test (Zar, 1999). A paired  $t$ -test by larval density was used to compare males and females for  $\tau_{ad}$ ,  $\tau_{max}$  and  $P_{ad}$ . There were only 3 values for each population, therefore no reliable statistics could be calculated to compare the two populations. The factor 'site' was removed and the correlation between initial adult numbers and each of the parameters,  $\tau_{ad}$ ,  $\tau_{max}$  and  $P_{ad}$ , was tested using the Pearson correlation coefficient and the corrected Bonferroni probability, pooling the results for all six cages from the two populations. All statistical tests were done with SYSTAT® 9 (SPSS Inc., Chicago).

## Results

The 3 parameters,  $\tau_{ad}$ ,  $\tau_{max}$  and  $P_{ad}$ , were normally distributed (Shapiro-Wilk test,  $P = 0.104$ ,  $0.227$  and  $0.13$ , respectively) and the means and 95% confidence intervals were  $9.84 \pm 3.60$  days,  $35.08 \pm 12.11$  days and  $0.86 \pm 0.05$ , respectively (Table 1). There were significant differences between males and females (paired  $t$ -test,  $P < 0.001$ ,  $P = 0.001$  and  $P < 0.001$ , respectively), with female values consistently greater than male values. The mean  $\tau_{ad}$  for males and females were  $4.95 \pm 0.94$  and  $14.74 \pm 3.68$  days, respectively. The mean  $\tau_{max}$  for males and females were  $20.5 \pm 6.66$  and  $49.69 \pm 16.55$  days, respectively. The mean  $P_{ad}$  for males and females were  $0.79 \pm 0.05$  and  $0.93 \pm 0.02$ , respectively. There were no differences for any of the parameters between the two breeding sites (respective means for the two sites in Table 1 are not significantly different, when 95% CI are taken into account), and therefore the results for the sites were put

together to test the correlations between  $\tau_{ad}$ ,  $\tau_{max}$  and  $P_{ad}$  and initial adult abundances, and there were not significant (Table 2).

**Table 1:** Life history traits of *Aedes caspius* adults from two areas in southern France; Mourgues (MO), where larvicides are used, and Pont de Gau (PDG), which is untreated.  $N_{total}$ , number of adults on day 1. Means with 95% CI.

Breeding site origin of eggs	Larval abundance	Larval density (larvae/L)	$N_{total}$	Duration of adult life $\tau_{ad}$ (days)	Maximum age $\tau_{max}$ (days)	Daily survival rate of adults $P_{ad}$
<b>Females</b>						
MO	90	30.0	19	14.47	43	0.93
	106	35.3	20	10.05	31	0.90
	200	66.7	78	20.04	54	0.95
mean				14.85 ± 5.66	42.6 ± 13.0	0.93 ± 0.03
PDG	106	35.3	19	15.58	47	0.94
	90	30.0	31	16.39	45	0.94
	197	65.7	69	11.91	78	0.92
mean				14.63 ± 2.70	56.7 ± 20.9	0.93 ± 0.01
<b>Males</b>						
MO	106	35.3	30	4.83	18	0.79
	90	30.0	36	5.47	21	0.82
	200	66.7	83	6.02	24	0.83
mean				5.44 ± 0.67	21.0 ± 3.4	0.82 ± 0.02
PDG	106	35.3	21	4.91	15	0.80
	90	30.0	38	5.11	14	0.80
	197	65.7	65	3.35	31	0.70
mean				4.46 ± 1.09	20.0 ± 10.8	0.77 ± 0.06

Male mortality was highest for young adults and female mortality was rather constant (Fig 1). The life expectancy curve was bell-shaped for both sexes (Fig 2). The life expectancy,  $e_x$ , first increased up to day 6 for males and day 11 for females, and decreased thereafter to zero.

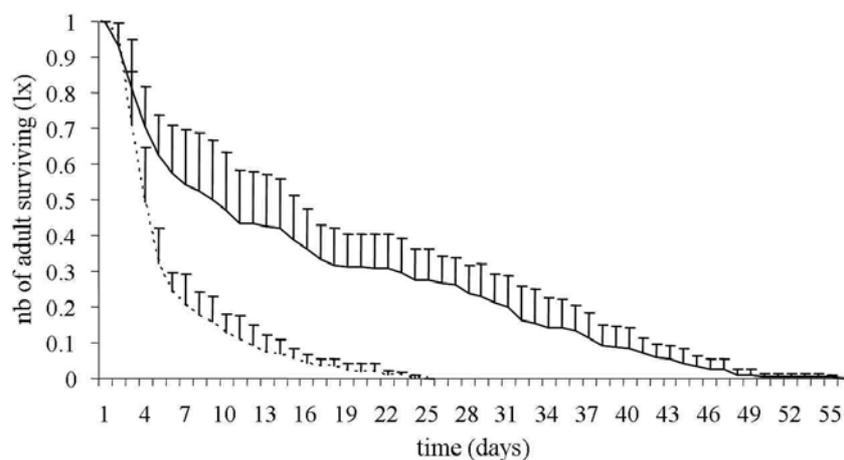
**Table 2:** Pearson correlation coefficients for comparisons between  $\tau_{ad}$ ,  $\tau_{max}$  and  $P_{ad}$  and initial adult abundance ( $N_{total}$ ), with Bonferroni-corrected  $P$ -values.

	Male		Female	
	Pearson coefficient	$P$ -value	Pearson coefficient	$P$ -value
$\tau_{ad}$	0.056	0.916	0.393	0.440
$\tau_{max}$	0.74	0.092	0.75	0.086
$P_{ad}$	-0.116	0.827	0.302	0.561

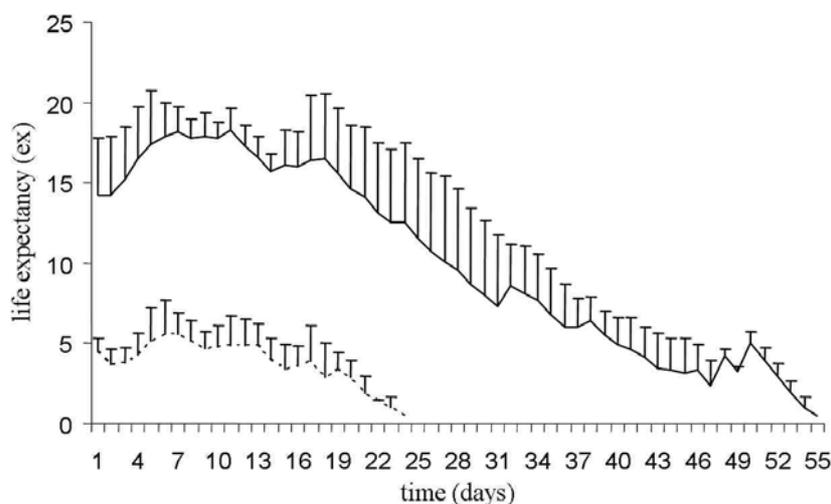
## Discussion

No evidence was found to suggest that *Ae. caspius* adults from the area with mosquito control, Mourgues, have higher survival rates than those from an area with no control measures, Pont de Gau. No correlation was found for *Ae. caspius* between  $\tau_{ad}$ ,  $\tau_{max}$  and  $P_{ad}$  and the initial adult abundance. However, density dependence of mortality, and thus of longevity, is well known in mosquitoes (Service, 1993, Southwood & Henderson, 2000). Three reasons could explain the lack of density dependence in our study. First, the initial abundances may have been too small to

detect this density dependence effect. Second, it may be that the larval densities used in the present study were not different enough to cause density dependent mortality in adults. Third, although intraspecific larval competition for food is an important factor in population regulation (Service, 1993), in the present study, larvae were reared with sufficient food to avoid starvation and competition, and this might explain the lack of density dependent effects on adult mortality.



**Figure 1.** Age specific survivorship curves for *Aedes caspius* males (dashed line) and females (solid straight line), based on the mean proportion of adults (+ SE) surviving  $x$  days ( $l_x/N_{total}$ ), with  $n = 6$  cages each of males and females.



**Figure 2.** Comparison of the life expectancy,  $e_x$  (days) *Aedes caspius* males (dashed line) and females (solid straight line), based on the means (+SE) for  $n = 6$  cages each of males and females

Both daily survival rate ( $P_{ad}$ ) and life expectancy ( $e_x$ ) provide a quantitative description of survival processes. The  $P_{ad}$  was calculated assuming a constant survival rate (although it may change with age) and  $e_x$  was calculated as a function of age assuming a non-constant survival rate. Therefore,  $P_{ad}$  and  $e_x$  might be related so that studying one of them provides an estimation of the other. However, they are complementary to one another: a global description of survival

processes is given by  $P_{ad}$  and a more accurate estimate of the survival processes for the study of one cohort is given by  $e_x$ .

Slobodkin (1962) recognized four basic types of survivorship curves. In Type I, mortality acts more heavily on older individuals; in Type II a constant number of individuals die per unit of time; in Type III the mortality rate is constant and in Type IV mortality acts more heavily on the young stages. The mortality rate in males was highest for young adults (i.e., Type IV) and the mortality rate in females was rather constant (i.e., Type III).

According to Southwood and Henderson (2000), when the survivorship curve is of Type I, life expectancy ( $e_x$ ) decreases with age; it is constant for Type II and it increases for Types III and IV. For *Ae. caspius*,  $e_x$  increased and then decreased suggesting survivorship of Types III or IV. It is possible to differentiate between the characteristics of two life periods for Types III and IV: during the first period the older the individual the higher the likelihood of survival (increasing  $e_x$ ) and during the second period the older the individual the lower the likelihood of survival (decreasing  $e_x$ ).

Estimates of the life span of a potential vector is of primary importance, because vectorial capacity depends crucially on how long a female lives after having taken the first, potentially infective, bloodmeal. Pathogen transmission is only possible if a female survives at least as long as the pathogen's extrinsic incubation period (EIP) after having become infected. The EIP for West Nile virus in *Aedes albopictus* (Skuse) and in *Culex tarsalis* (Coq.) at 26°C was estimated to be ~ 10 days (Sardelis *et al.*, 2002; Reisen *et al.*, 2006). The mean longevity of *Ae. caspius* females in the present study was 14.7 days and the probability of surviving for at least 10 days was 0.479 ( $P_{ad,female}^{10}$ ). Assuming that the EIP for *Ae. caspius* is also ~ 10 days, that it would take some time for a female to obtain the first bloodmeal due to the emergence-mating delay, and since the likelihood of feeding on birds is low for this species (9 engorged *Ae. caspius* in a bird-baited trap out of 39,356 engorged females catch during field horse-, bird- and human-baited collections; Balenghien *et al.*, 2006), it would appear that *Ae. caspius* is likely to be a poor candidate vector for transmission of West Nile virus along the Mediterranean coast.

### Acknowledgements

We thank T. Balenghien and F. Schaffner for scientific collaboration, discussion and revision of the manuscript, G. Duvallet, JP. Hervé, J-A. Rioux and J. Cousserans for their help in revising the manuscript. We deeply appreciate the advice of C. Lagneau and are grateful to O. Moussiegt for her help in translating the manuscript.

### References

- Akhter, R., Hayes, C.G., Bagar, S. & Reisen, W.K. (1982) West Nile virus in Pakistan. III. Comparative vector capability of *Culex tritaeniorhynchus* and eight other species of mosquitoes. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **76**, 449-453.

- Balenghien, T., Fouque, F., Sabatier, P. & Bicout, D. (2006) Horse-, bird-, and human-seeking behavior and seasonal abundance of mosquitoes in a West Nile virus focus of southern France. *Journal of Medical Entomology*, **43**, 936-946.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Dahl, C., Lane, J. & Kaiser, A. (2003) *Mosquitoes and their control*. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York.
- Gabinaud, A. (1975) *Ecologie de deux Aedes halophiles du littoral méditerranéen français Aedes (Ochlerotatus) caspius (Pallas, 1771) Aedes (Ochlerotatus) detritus (Haliday, 1833) (Nematocera - Culicidae). Utilisation de la végétation comme indicateur biotique pour l'établissement d'une carte écologique. Application en dynamique des populations*. PhD thesis, Académie de Montpellier, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier.
- Maharaj, R. (2003) Life table characteristics of *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) under simulated seasonal conditions. *Journal of Medical Entomology*, **40**, 737-742.
- Reisen, W., Fang, Y. & Martinez, V. (2006) Effects of temperature on the transmission of West Nile virus by *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, **43**, 309-317.
- Rioux, J-A. (1958) *Les culicides du "midi" méditerranéen*. Encyclopédie Entomologique, Editions Paul Lechevalier, Paris.
- Sardelis, M., Turell, M., O'Guinn, M., Andre, R. & Roberts, D. (2002) Vector competence of three north American strains of *Aedes albopictus* for West Nile virus. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **18**, 284-289.
- Schaffner, F., Angel, G., Geoffroy, B., Hervy, J.P., Rhaiem, A. & Brunhes, J. (2001) The mosquitoes of Europe. Identification and training program. *IRD Editions*, Montpellier, France (CR-Rom).
- Service, M.W. (1993) *Mosquito ecology. Field sampling methods*. Chapman and Hall, London.
- Sinègre, G. (1974). *Contribution à l'étude physiologique d'Aedes (Ochlerotatus) caspius (Pallas, 1771) (Nematocera - Culicidae). Ecllosion - Dormance - Développement - Fertilité*. Académie de Montpellier, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier.
- Slobodkin, L.B. (1962) *Growth and Regulation of Animal Populations*. Holt, Rinehart & Winston, New York.
- Southwood, T. & Henderson, P. (2000) *Ecological methods*. Blackwell Science, Oxford.
- Vinograd, I., & Obukhova, V. 1975. [Isolation of arboviruses from birds in western Ukraine] (in Russian). *Sbornik Trudov Instutita Virusologii (Moskva)*, **3**, 84-87.
- Zar, J. (1999) *Biostatistical analysis*. P. Hall, Upper Saddle River, New Jersey.

### V.2.2. Variation du taux de parité et estimation de la survie sur le terrain

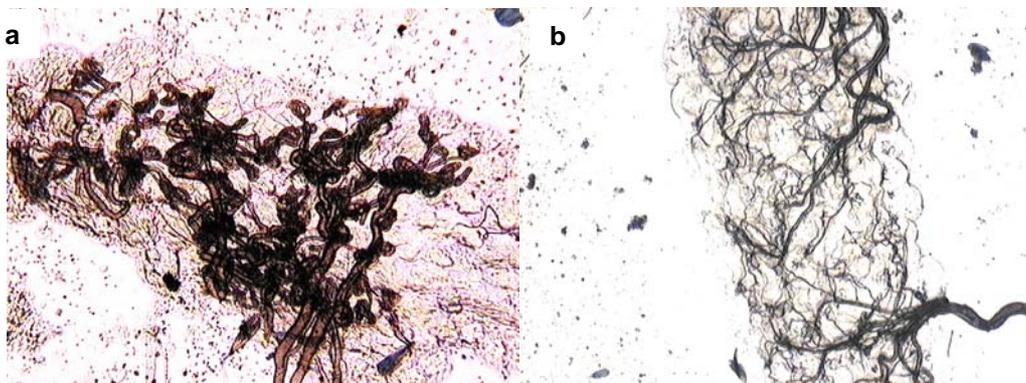
Déterminer le taux de parité d'une population de moustique est un élément utile et nécessaire lorsqu'il s'agit de mesurer leur capacité de transmission d'une maladie endémique virale ou parasitaire. Cela permet d'estimer la probabilité qu'une femelle soit infectante : en effet, il faut qu'elle pique un hôte porteur d'un virus ou d'un parasite pour s'infecter et accomplisse un premier cycle trophogonique pour être infectante à son tour (Hoeck *et al.*, 2003). Ce taux de parité peut aussi être utile pour une approche démographique car le taux de survie journalier, et donc la longévité, sont estimés à partir de ces données de parité (Davidson, 1954). La parité est une mesure de la structure des populations qui est déterminée en partie par le régime de survie particulier auquel la population est soumise. Un taux de parité élevé signifie que la population a une longévité importante (Gottfried *et al.*, 2002). Un taux de parité saisonnier de 30% signifie que 30% des moustiques nouvellement émergés survivent jusqu'au stade pare (Carey, 1990). La longévité et la durée du cycle trophogonique d'*Ae. caspius* ont été déterminées en laboratoire (voir chapitres V.2. et V.3.) où les conditions peuvent être considérées par postulat comme idéales. L'objectif de ce chapitre est d'essayer d'obtenir des estimations plus réalistes de ces deux traits d'histoire de vie à partir de captures d'adultes et d'estimations du taux de parité sur le terrain.

#### V.2.2.1. Matériels et méthodes

Les captures d'adultes ont été réalisées à l'aide de pièges à diffusion lente de CO<sub>2</sub> (fabriqué à l'EID Méditerranée, fonctionnant par sublimation de carboglace), sur chaque gîte, chaque semaine de début avril jusqu'à la fin octobre pour les deux années 2004 et 2005. Les pièges ont été positionnés en milieu d'après-midi sous un couvert végétal arboré à environ 1,5 m de hauteur et ont été relevés le lendemain en début de matinée. La journée de capture dans la semaine a été définie en fonction des conditions météorologiques lorsque le vent était le plus faible possible et en l'absence de précipitations. Des relevés horaires de la température de l'air et de l'humidité relative ont été effectués au cours de l'année 2005 sur chaque gîte à l'aide d'un enregistreur de température Testo<sup>®</sup> Logger 175 H2. Ce suivi a permis d'établir les valeurs minimales, maximales et moyennes de la température et de l'humidité relative pendant la durée de chaque capture.

Après chaque séance de captures, les prélèvements sont ramenés au laboratoire, congelés et dénombrés espèce par espèce. La parité de 100 femelles d'*Ae. caspius* ou de la totalité des femelles en cas d'effectifs moindres a été estimée selon la méthode de Detinova (Detinova, 1963). Pour ce faire, les ovaires sont récupérés dans une goutte d'eau du réseau après dissection de la femelle sous loupe binoculaire. Ils sont ensuite laissés à l'air libre jusqu'à déshydratation complète, ce qui permet aux trachéoles ovariennes de se remplir d'air et d'être nettement visibles sous microscope optique à un grossissement de 100 fois. La méthode de Detinova se base sur la forme des trachéoles ovariennes : une femelle nullipare présente des trachéoles en pelotes tandis que celles d'une femelle pare sont dilatées (Figure 5-5). Cette méthode est aisée et permet de réaliser l'estimation de la parité de 100 femelles en moins d'une heure. Le taux de parité (nombre

de femelles pares divisé par le nombre total de femelles disséquées) est ainsi estimé avec une fréquence hebdomadaire sur chaque gîte.



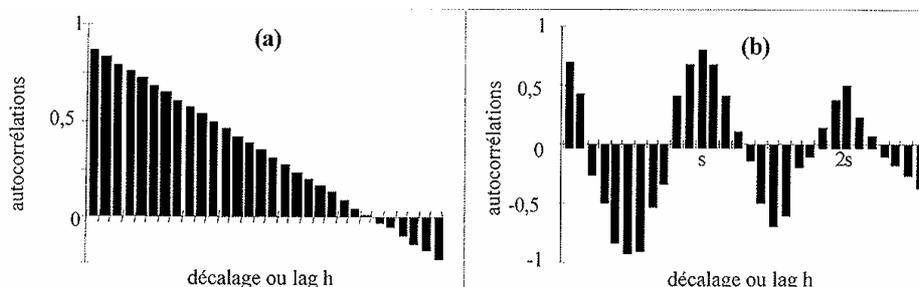
**Figure 5-5** : Photos de trachéoles d'ovaires nullipare (a) et pare (b) chez *Ae. caspius*. Lorsque la femelle émerge, les trachéoles sont enroulées en pelotes denses. Au cours de la première oogenèse, l'ovaire se dilate et les pelotes se déroulent. Après la ponte, les ovaires se rétractent mais les pelotes ne se reforment pas. Grossissement x100.

La normalité des données de taux de parité pour chaque gîte et chaque année de capture a été vérifiée à l'aide d'un test de Shapiro-Wilk. La régression linéaire de la parité en fonction des valeurs minimales, maximales et moyennes de la température et de l'humidité relative a été effectuée. Le nombre de femelles capturées et la parité ayant été estimés chaque semaine sur chaque gîte, les données ont été analysées en utilisant les séries temporelles. Il est tout à fait possible de concevoir que le nombre de femelles capturées à une date donnée soit corrélé à celui obtenu une semaine ou deux avant, voire toute autre semaine précédente. Il en est de même pour le taux de parité. Ainsi l'autocorrélation dans chacune de ces deux séries a été testée sur les données brutes et sur la moyenne mobile des données brutes (Malgras, 1996 ; Crawley, 2002), pour chaque année, chaque gîte et pour des décalages variables (notés lag). L'utilisation de la moyenne mobile permet de faire apparaître plus facilement les motifs de saisonnalité, de tendance ou de stationnarité dans une série temporelle. La moyenne mobile (*MM*) utilisée ici était une moyenne mobile à 3 points :

$$y_{MM} = \frac{y_{i-1} + y_i + y_{i+1}}{3}$$

L'objectif de ces analyses des autocorrélations dans chacune des deux séries temporelles est de détecter s'il existe une corrélation pour un décalage donné, ou une saisonnalité ou encore une tendance dans ces séries. Lors de l'analyse des autocorrélogrammes, une tendance se détecte par une succession d'autocorrélations décroissant lentement avec le décalage *h*. De même, une décroissance lente de la fonction d'autocorrélation pour des décalages multiples de la saisonnalité *s* indique une cyclicité dans la série temporelle (Figure 5-6). Par la suite, l'autocorrélation croisée (*ACC*) de ces deux séries a été effectuée afin de voir s'il existe une corrélation du taux de parité avec le nombre de femelles capturées pour un décalage variable.

Cela permet de tester, par exemple, si le taux de parité observé aujourd'hui est dépendant du nombre d'adultes capturés la semaine précédente. Les ACC qui ressortent significatives permettent de mettre en évidence une relation positive ou négative entre les deux séries temporelles.



**Figure 5-6** : Exemple d'autocorrélogramme présentant une stationnarité (a) ou une saisonnalité (b). D'après Malgras, 1996 p. 27.

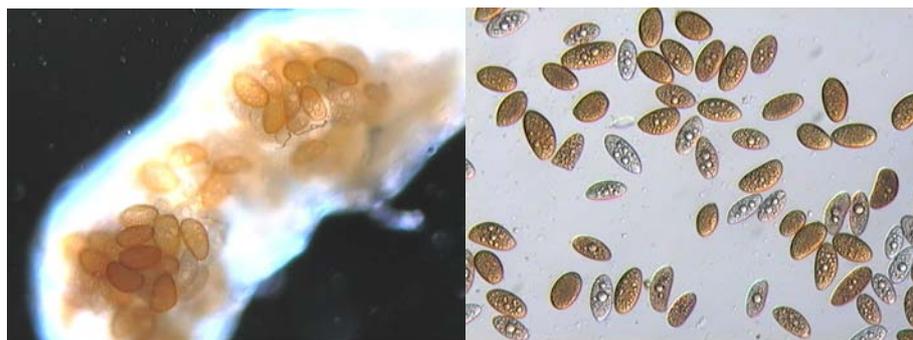
### V.2.2.2. Résultats

#### V.2.2.2.1. Analyse descriptive et influence des facteurs.

Au total, sur les deux années de captures, 53 pièges ont été placés sur le gîte de MO et 49 pièges sur le gîte de PDG. Un total de 39271 femelles d'*Ae. caspius* a été capturé, réparti à 25% à MO et 75% à PDG. Sur les 7901 femelles disséquées, environ 99% des femelles étaient au stade I de Christopher, moins de 2% des femelles présentaient des traces de sang dans leur estomac et des œufs résiduels et moins de 0,5% des femelles étaient gravides ou portaient des microorganismes non identifiés (Figure 5-7). Une description plus détaillée des résultats des dissections est présentée dans le tableau 5-7.

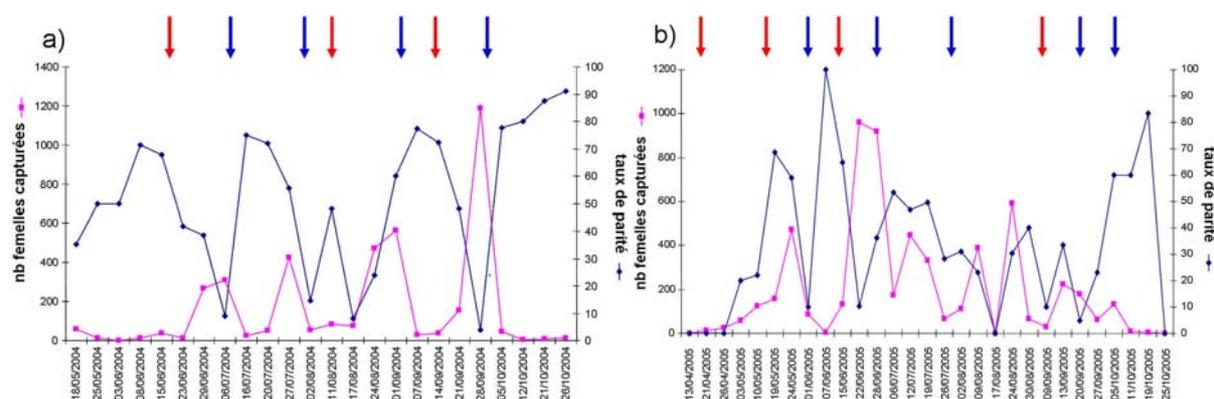
**Tableau 5-7** : Synthèse des résultats des captures et estimations des taux de parité effectuées sur les gîtes de MO et de PDG pour les deux années 2004 et 2005.

	MO			PDG			MO-PDG
	2004	2005	2004-2005	2004	2005	2004-2005	2004-2005
total de femelles disséquées	1260	1889	3149	1625	3127	4752	7901
% stade I	97,86	98,89	98,48	98,71	99,17	99,01	98,80
% stade II	1,67	0,95	1,24	0,68	0,48	0,55	0,82
% stade III	0,40	0,11	0,22	0,49	0,10	0,23	0,23
% stade IV	0	0	0	0	0,13	0,08	0,05
% stade V	0	0,05	0,03	0,12	0,13	0,13	0,09
% de trace de sang	0,87	0,48	0,64	1,17	2,81	2,25	1,61
% de présence d'œufs résiduels	1,75	1,22	1,43	2,58	1,69	2,00	1,77
% de femelles gravides	0	0,16	0,10	0,18	0,22	0,21	0,16
% de présence de micro-organismes non identifiés	0,08	0,05	0,06	0,12	0,06	0,08	0,08

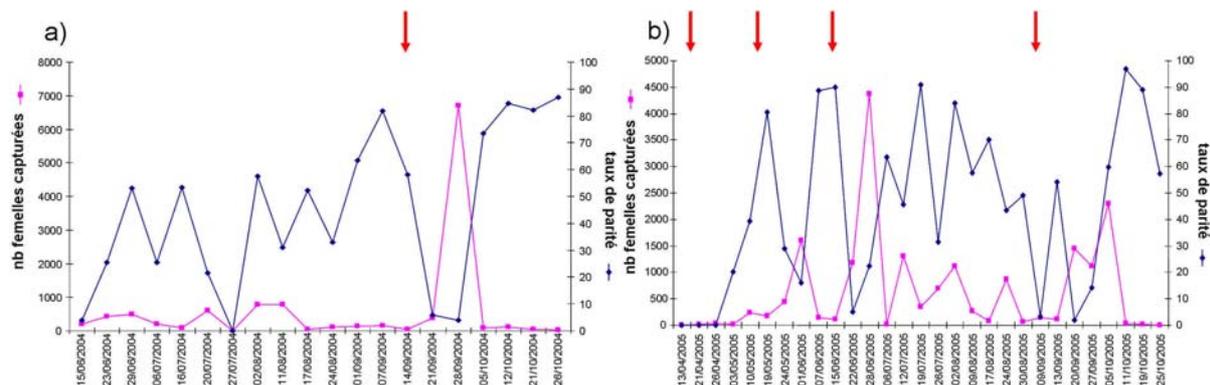


**Figure 5-7** : Photos des microorganismes non identifiés trouvés dans les ovaires de certaines femelles d'*Ae. caspius* capturées sur le terrain. Photo de gauche grossissement x 100, photo de droite grossissement x 400.

Le nombre de femelles capturées ainsi que la parité varient au cours du temps (Figures 5-8 et 5-9). Une à deux semaines après une mise en eau, le nombre de femelles capturées augmente et le taux de parité chute drastiquement, cela en raison d'un apport important de femelles nouvellement émergées et donc nullipares. Lorsqu'il n'y a pas de mise en eau, le nombre de femelles capturées diminue et le taux de parité augmente en raison d'un vieillissement de la population. Lors des traitements anti-adultes sur le gîte de MO, le taux de parité augmente fortement car les individus capturés après les traitements proviennent de zones voisines et donc ont probablement déjà effectué un cycle trophogonique. Ainsi, la dynamique des femelles d'*Ae. caspius* est principalement due aux mises en eau mais à MO, elle s'explique aussi par les traitements anti-adultes. Les moyennes et les erreurs standards du taux de parité pour les deux années 2004 et 2005 sont respectivement de  $52,4 \pm 5,3$  et  $37,2 \pm 5\%$  à MO et de  $47,2 \pm 6,3$  et  $44,9 \pm 6\%$  à PDG.



**Figure 5-8** : Variations temporelles du nombre et du taux de parité des femelles d'*Ae. caspius* capturées sur le gîte de MO pour les années a) 2004 et b) 2005. Les flèches rouges représentent les mises en eau qui ont eu lieu dans la zone. Seule la dernière mise en eau en 2004 a donné lieu à une éclosion de larves au sein du gîte de MO. La mise en eau de juin 2005 n'a pas induit d'éclosion sur le gîte. Les flèches bleues représentent les traitements anti-adultes effectués sur la zone.

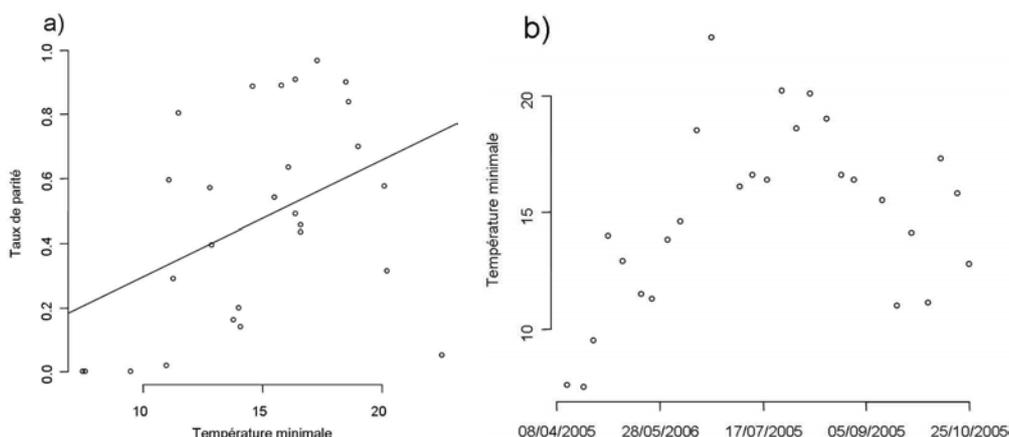


**Figure 5-9 :** Variations temporelles du nombre et du taux de parité des femelles d'*Ae. caspius* capturées sur le gîte de PDG pour les années a) 2004 et b) 2005. Les flèches rouges représentent les mises en eau qui ont eu lieu dans la zone. Contrairement au gîte de MO, chaque mise en eau sur le gîte de PDG a induit une éclosion de larves.

Les données de parité suivent la loi normale (test de Shapiro-Wilk, pour MO 2004 et 2005 et PDG 2004 et 2005,  $p = 0,131, 0,381, 0,149$  et  $0,375$ , respectivement). Les données de parité ne sont pas corrélées avec la température ou l'humidité (Tableau 5-8), à l'exception de l'année 2005 à PDG où la régression de la parité avec la température minimale est significativement positive (Figure 5-10a). Cette régression positive s'explique par la variation saisonnière de la température. En effet, la température minimale est maximale pendant les mois de juillet et août (Figure 5-10b) et pendant ces deux mois, il n'y a pas eu de mise en eau dans la zone en proximité du gîte de PDG. Il n'y a donc pas eu pendant cette période de nouvelles émergences et donc d'apport de femelles nullipares, d'où l'augmentation du taux de parité en fonction de cette température minimale.

**Tableau 5-8 :** Résultats des régressions linéaires du taux de parité en fonction de la température et de l'humidité relative. La température et l'humidité au moment des captures ont été enregistrées seulement pour l'année 2005, ainsi les régressions n'ont pu être calculées que pour cette année.

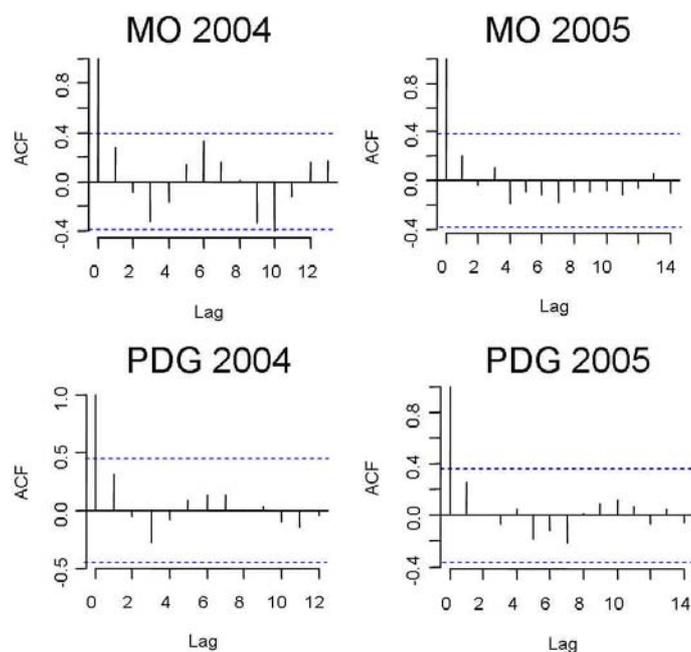
gîte	variable explicative	pente	r <sup>2</sup>	p-value
MO	température minimale	0,01	0,019	0,512 <sup>ns</sup>
	température maximale	-0,006	0,009	0,650 <sup>ns</sup>
	température moyenne	0,003	0,001	0,878 <sup>ns</sup>
	humidité minimale	0,001	0,01	0,638 <sup>ns</sup>
	humidité maximale	-0,003	0,031	0,414 <sup>ns</sup>
	humidité moyenne	< 0,001	0,001	0,881 <sup>ns</sup>
PDG	<b>température minimale</b>	<b>0,036</b>	<b>0,182</b>	<b>0,026*</b>
	température maximale	-0,006	0,005	0,740 <sup>ns</sup>
	température moyenne	0,029	0,072	0,175 <sup>ns</sup>
	humidité minimale	0,004	0,068	0,188 <sup>ns</sup>
	humidité maximale	-0,007	0,054	0,245 <sup>ns</sup>
	humidité moyenne	< 0,001	0,002	0,825 <sup>ns</sup>



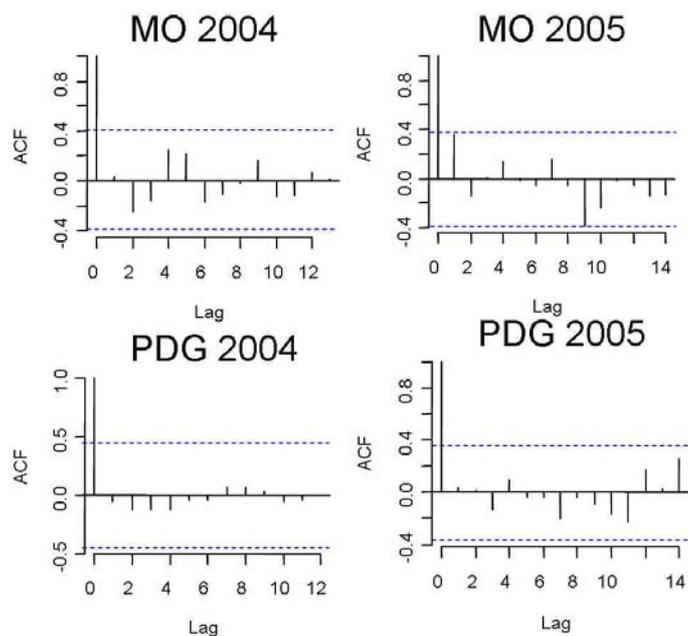
**Figure 5-10** : a) Régression du taux de parité en fonction de la température minimale pendant la durée des captures sur le gîte de PDG pour l'année 2005. b) Variation temporelle de la température minimale sur le gîte de PDG pour l'année 2005.

#### V.2.2.2.2. Des autocorrélations significatives

L'analyse de l'autocorrélogramme de la parité pour chaque gîte et chaque année de capture ne montre ni de saisonnalité ni de tendance (Figure 5-11). Seul l'autocorrélogramme de MO 2004 présente une saisonnalité mais non significative. De même, le nombre de femelles capturées ne présente pas de fluctuations cycliques ni de tendance à l'augmentation ou à la diminution (Figure 5-12). Les autocorrélogrammes croisés pour chaque gîte et chaque année entre le nombre de femelles capturées et le taux de parité sont représentés dans la figure 5-13 et ceux calculés à partir des moyennes mobiles dans la figure 5-14.



**Figure 5-11** : Autocorrélogrammes du taux de parité pour chaque gîte et chaque année de suivi. Les lignes pointillées bleues représentent la limite de significativité des autocorrélations entre les taux de parité décalés du lag correspondant.



**Figure 5-12** : Autocorrélogrammes du nombre de femelles capturées pour chaque gîte et chaque année. Les lignes pointillées bleues représentent la limite de significativité des autocorrélations entre les nombres de femelles décalés du lag correspondant.

Pour l'année 2004 à MO, il existe une ACC significative entre les deux séries temporelles pour un décalage de 0 sur les données brutes et pour un décalage de 2 et de 3 sur la moyenne mobile. La pente entre la parité et l'abondance est négative pour le décalage de 0 : plus le nombre de femelles capturées est élevé pour une semaine donnée et plus le taux de parité est faible pour cette même semaine. Les pentes des moyennes mobiles pour les décalages 2 et 3 sont positives. Cela signifie que si l'abondance est élevée, le taux de parité sera lui aussi élevé mais deux ou trois semaines plus tard. Pour l'année 2005, toujours sur le gîte de MO, l'ACC des données brutes est significative pour les décalages 2 et 5 et ces deux lag sont aussi significatifs sur l'ACC de la moyenne mobile. Les pentes pour ces deux décalages sont positives.

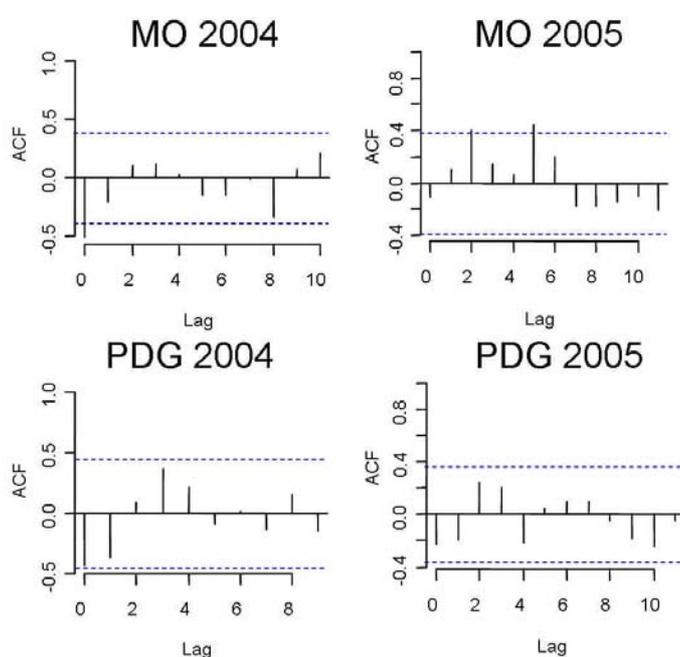
Les ACC pour PDG pendant l'année 2004 ne sont pas significatives sur les données brutes mais sont significatives pour les décalages de 2 et 3 sur les moyennes mobiles. La pente de la parité en fonction du nombre de femelles capturées est positive pour ces deux décalages. De même pour l'année 2005 à PDG, les ACC ne sont pas significatives sur les données brutes mais le sont sur les moyennes mobiles pour les décalages de 2 et de 3 et les pentes sont positives.

### V.2.2.3. Discussion

#### V.2.2.3.1. Rappel des résultats

Les résultats montrent une importante variation temporelle de la parité et un effet des mises en eau sur la parité d'*Ae. caspius* : deux à trois semaines après la mise en eau, la parité se déséquilibre fortement en faveur des femelles nullipares. Sur le gîte de MO, la parité semble aussi influencée par les traitements anti-adultes, qui ont pour effet d'augmenter le taux de parité de la population. Aucun effet de la température ou de l'humidité relative n'a été détecté.

Le taux de parité mesuré chez *Ae. caspius* peut être très important, proche des 50% en moyenne sur les deux années et les deux gîtes et pouvant aller jusqu'à plus de 90% de femelles pares. Chez *Ae. albopictus*, un fort taux de parité indique un fort taux de survie journalier (Gottfried *et al.*, 2002) et il est possible de supposer qu'une femelle avec un fort taux de survie a une forte longévité. En s'appuyant sur ces hypothèses, *Ae. caspius* devrait être considéré comme une espèce à longévité importante, cependant, la longévité moyenne estimée en laboratoire est d'environ deux semaines (voir chapitre V-3). Il existe une autocorrélation croisée entre le taux de parité et le nombre de femelles capturées. Pour MO en 2004, plus l'abondance des femelles est forte pour une semaine donnée et plus le taux de parité est faible pour cette même semaine. Pour les deux gîtes et les deux années de captures, lorsque l'abondance est forte pour une semaine donnée, le taux de parité est élevé deux à trois semaines après.

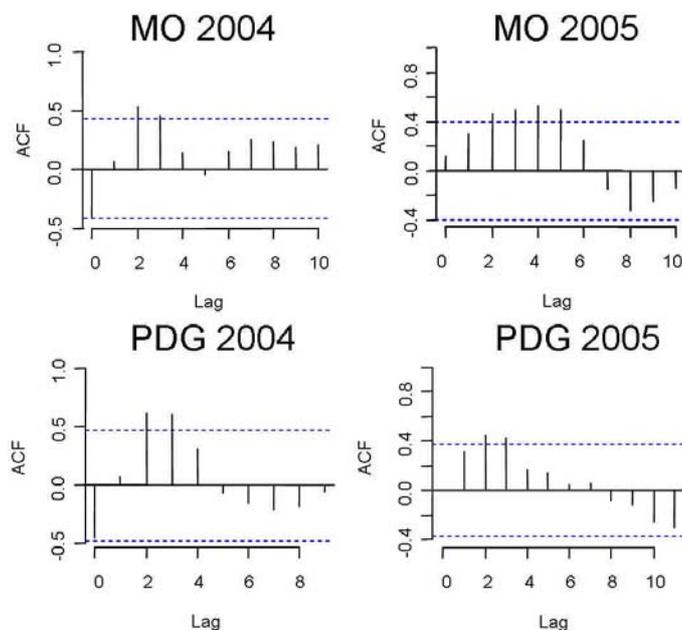


**Figure 5-13** : Autocorrélogramme de la fonction d'autocorrélation croisée entre le taux de parité et le nombre de femelles capturées pour chaque gîte et chaque année. Les lignes pointillées bleues représentent la limite de significativité de l'autocorrélation croisée.

#### V.2.2.3.2. Critique de la méthode d'estimation de la parité

Parmi les méthodes pour estimer la parité d'une femelle, les plus employées sont l'utilisation de la forme des trachéoles ovariennes, appelée technique de Detinova, et la numération des dilatations présentes sur le pédicelle de l'ovariole, appelée méthode de Polovodova (Detinova, 1963), ces dilatations étant la trace d'anciennes maturations d'oeufs. La technique de Detinova permet de faire la distinction entre femelles pares et nullipares. La méthode de Polovodova est plus précise car elle permet d'estimer la multiparité même si les femelles ont dépassé le stade II de Christopher (Mondet, 1993). Cependant, elle nécessite de compter les dilatations des pédicelles de la totalité des ovarioles et ne peut pas être utilisée sur toutes les espèces (Pajot, 1976 ; Fox et Brust, 1994) car parfois une seule dilatation est observable même si la femelle a réalisée

plusieurs cycles trophogoniques (Giglioli, 1965). La méthode de Polovodova a été appliquée à *Ae. caspius* (Ben Salah, 1984), l'auteur n'a toutefois identifié que des femelles primipares sur environ 200 femelles disséquées capturées et le développement d'une dilatation par cycle trophogonique n'a pas été vérifié. Nous avons donc décidé de recourir à la méthode de Detinova; moins précise, elle garantit néanmoins un résultat fiable tout en offrant un très bon rendement (plus de 100 femelles examinées en une heure).



**Figure 5-14** : Autocorrélogramme de l'autocorrélation croisée des moyennes mobiles du taux de parité et du nombre de femelles capturées pour chaque gîte et chaque année. Les lignes pointillées bleues représentent la limite de significativité de l'autocorrélation croisée.

#### V.2.2.3.3. L'effet prépondérant de la mise en eau

La mise en eau est le facteur qui détermine en priorité le taux de parité d'une population d'*Ae. caspius*. Les traitements anti-adultes semblent aussi influencer ce taux de parité, par contre, la température et l'humidité relative n'ont pas d'effet. En supposant que des femelles d'âges différents peuvent avoir des comportements différents, une femelle pare ayant déjà effectué une ponte peut probablement prendre plus de risques qu'une femelle nullipare. Or, il a été observé en insectarium qu'une forte température et une faible humidité relative entraînent une mortalité importante des femelles. En toute hypothèse, on peut s'attendre à ce que sur le terrain une femelle pare soit plus agressive qu'une nullipare lorsque la température est forte et l'humidité faible. Les effets de ces facteurs météorologiques ont peut être été masqués par la prépondérance des mises en eau sur la dynamique du taux de parité.

#### V.2.2.3.4. La durée du cycle trophogonique sur le terrain

Le taux de parité est corrélé négativement au nombre de femelles capturées à MO en 2004. C'est-à-dire que lorsque l'abondance est forte, le taux de parité est faible. Les abondances élevées correspondent à de nouvelles émergences et donc à un apport de femelles nullipares, d'où le faible taux de parité. Cette corrélation négative se retrouve chez *Ae. fuscifer* en Afrique

(Mondet, 1996). Que ce soit à MO ou à PDG, il existe une autocorrélation croisée entre le taux de parité et l'abondance des femelles capturées avec un décalage de 2 et 3 semaines. Chez *Ae. triseriatus*, la durée du cycle en laboratoire était de 2 à 5 jours alors que, sur le terrain, elle a été estimée à 14 jours (Haramis et Foster, 1990). Cette importante différence est aisément explicable car en laboratoire les phases de recherche de l'hôte et du gîte de ponte sont négligées. Il a été obtenu, pour *Ae. caspius*, une durée du cycle trophogonique en laboratoire de 7 jours pour le premier cycle et 4 jours pour les suivants (voir chapitre V.2.). On peut donc supposer que *Ae. caspius* effectue au moins un premier cycle trophogonique en 2 à 3 semaines.

#### V.2.2.3.5. L'estimation du taux de survie journalier

La plupart des méthodes d'estimation du taux de survie journalier d'une population à partir du taux de parité nécessitent une estimation de la durée du cycle trophogonique. L'une d'elles utilise les autocorrélations croisées entre le nombre total de femelles capturées et le nombre de femelles pares (Birley et Rajagopalan, 1981 ; Birley *et al.*, 1984 ; Charlwood *et al.*, 1985) et estime à la fois la durée du cycle et le taux de survie. Elle suppose que les femelles pares et nullipares sont échantillonnées en proportion de leurs densités relatives dans la population étudiée, que le taux de survie est indépendant de l'âge et que les taux de parité sont estimés quotidiennement. C'est principalement en raison du dernier pré-requis que cette méthode n'a pas pu être employée sur les captures d'*Ae. caspius*.

La méthode la plus connue pour estimer le taux de survie recourt à l'équation de Davidson qui définit le taux de survie comme étant la racine  $c^{\text{ième}}$  du taux de parité,  $c$  étant la durée du cycle trophogonique (Davidson, 1954). Trois conditions doivent être remplies pour appliquer cette équation : la population d'adultes doit être stable (autant d'émergence que de mortalité) et donc le taux de parité doit l'être aussi, l'échantillonnage doit être non biaisé et une estimation valide de la durée du cycle doit être obtenue sur le terrain. Sachant que le nombre de femelles d'*Ae. caspius* et le taux de parité ne sont pas constants dans le temps, cette équation n'a pas été utilisée. Plus récemment, des modélisations ont permis de développer une équation à partir de la formule de Davidson pour les espèces à cohortes non chevauchantes ayant des émergences massives dépendant de la mise en eau du gîte de ponte (Ndiaye *et al.*, 2006). Un essai d'application de cette méthode aux données collectées sur *Ae. caspius* a été effectué mais il n'a pas été possible d'estimer le taux de survie journalier en raison de la faible fréquence de capture (Ndiaye P.I. et Bicout D., communication personnelle). En effet, pour que cette dernière méthode soit applicable, il est nécessaire de réaliser des estimations journalières du taux de parité.

#### V.2.2.4. Conclusion

A partir des suivis réalisés, la durée du cycle trophogonique et le taux de survie journalier n'ont malheureusement pas pu être estimés. Les méthodes existantes nécessitent un suivi quotidien des femelles et de leurs parités. A défaut, on peut supposer, à partir des données de 2004 et 2005, que le cycle trophogonique est largement supérieur à celui estimé en laboratoire.

Une autocorrélation croisée entre les deux variables mesurées a été déterminée pour un décalage de deux à trois semaines. De plus, la longévité moyenne obtenue en laboratoire est

d'environ deux semaines (voir chapitre V.3.) et la durée de perception de la nuisance constatée par les agents opérationnels de l'EID Méditerranée est d'une à deux semaines. Ces trois données sont cohérentes et donc la longévité moyenne des populations de MO et PDG peut supposé être de deux à trois semaines.

### **V.3. Fluctuations de la densité en fonction des pluies : mise au point d'un modèle prédictif**

Des captures d'adultes ont été réalisées sur le terrain toutes les semaines. Ces captures ont permis de tester un modèle de dynamique des populations prédisant les densités d'adultes à partir des données de précipitations. Ce modèle permet l'estimation d'un taux de disparition comprenant à la fois le taux de migration et de mortalité des populations femelles. Ce taux de disparition est dépendant de la température et est variable selon la date de mise en eau. Ces travaux ont fait l'objet d'un manuscrit en vue d'une publication.

## Mosquito densities predicted by rainfalls: population dynamics model for *Aedes caspius* (Pallas, 1771)

Thomas Balenghien<sup>1</sup>, Alexandre Carron<sup>2</sup>, Gilbert Sinègre<sup>2</sup> and Dominique J. Bicout<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Équipe Environnement et prédiction de la santé des populations, laboratoire TIMC-IMAG, UMR 5525, CNRS/École nationale vétérinaire de Lyon, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Étoile, France

<sup>2</sup> Entente interdépartementale pour la démoustication du littoral méditerranéen (EID Méditerranée), 165 avenue Paul Rimbaud, 34184 Montpellier Cedex 4, France

### Introduction

Mosquitoes are an important public concern because of their nuisance and their ability to transmit pathogens. Life history traits of mosquitoes depend strongly on environmental factors. Meteorological parameters, like temperature or relative humidity, affect the time of larval development, the adult life span, the adult behavior, etc. (Clements 1999). Moreover, because mosquito larvae are aquatic, water dynamics determines obviously the time of the breeding site suitability. This relation is critical for floodwater mosquitoes. Indeed, the flooding of their breeding sites leads the egg hatching and then rhythms the mosquito abundances (Becker *et al.* 2003). Establishing the relation between environmental inputs (rainfall, temperature, etc.) and mosquito response in terms of density is essential to predict mosquito abundances in the aim to focus nuisance or vector-borne disease control programs (Shaman *et al.* 2002 ; Bicout et Sabatier 2004 ; Shone *et al.* 2006). This is also the first step to establish vectorial capacity models and further risk map.

The Camargue, the Rhone River delta, is the main wet area of southern France, covering 150,000 hectares of various ecosystems. Thus, this area hosts numerous mosquito breeding sites. Among those, marshes offer large breeding sites for *Aedes caspius*, the most abundant floodwater species of the Camargue, which is active from March to November (Rioux *et al.* 1968). In this region, marshes are flooded occasionally by anthropogenic irrigations and mainly by rainfalls, which thus determine its population dynamics. At the beginning of the season, spring rainfalls allow the egg hatching and the wave emergences of adults. Due to the Mediterranean climate, rainfalls are rare during the summer and eggs are accumulating. At the end of the season, the abundant autumn rainfalls flood large surfaces and lead massive and synchronous emergences. Due to its great dispersal capability and its high aggressiveness against humans, *Ae. caspius* is the main nuisance species in the Camargue (Rioux *et al.* 1968). For instance, in September 2005, the nuisance was such as huge that schools were closed and football matches canceled in and around the Camargue, where a one-night trapping collected about 250,000 mosquitoes with a single CO<sub>2</sub> trap (*EID Méditerranée*, unpublished data).

*Aedes caspius* is probably the main Tahyna virus vector in the Camargue, according to virus isolation from field-collected mosquitoes and experimental infections (Hannoun *et al.* 1966 ;

Moreau *et al.* 1976). This virus is a *Bunyavirus*, belonging to the California group, causing febrile illness with potential meningitis in humans (Lundström 1999). In the Camargue region, serological prevalence reached 99% in horses and rabbits and from 50 to 80% in humans in the 1960s (Rodhain et Hannoun 1980). Moreover, *Ae. caspius* populations appeared to be highly competent for the virus of the Rift Valley fever (RVF) in Egypt (Turell *et al.* 1996) and thus, *Ae. caspius* may be a potential RVF vector in the Camargue. The RVF virus is a *Phlebovirus*, causing abortions and mortality in domestic sheep and severe clinical disease with fatalities in man, with potential major epidemics in the Mediterranean basin, like in Egypt in 1977 and 1978 (Meegan 1979).

The aim of this paper was to propose a model linking environmental data (rainfall, temperature) and *Ae. caspius* densities. We used a mechanistic modelling, i.e. deterministic equations, to describe population dynamics of *Ae. caspius*. Then, laboratory development data of larvae and pupae were used to determine model parameters and especially the relation between the time of immature development and the temperature. Finally, a two-year CO<sub>2</sub> trapping survey gave field data of adult abundance, which were compared to the simulated data to test the model accuracy.

## Material and methods

### Model

Floodwater mosquitoes, like some *Aedes* species, lay eggs in the moistly soil at the base of particular vegetation (Rioux *et al.* 1968). Eggs can resist desiccation until the flooding of the breeding site, which allows the hatching (Becker *et al.* 2003). Four larva stages and the pupa are succeeding during the time of aquatic immature development, which clearly depends on the temperature (Clements 1999). After this time, adults emerge and then disappear because of both mortality and dispersion. Mosquito abundance reflects the successive waves of emergences due to different floods of the breeding sites.

We assumed that the variation of  $M(t)$ , the total number of *Aedes* females from one emergence, could be described, at any time  $t$ , by:

$$\frac{dM(t)}{dt} = -\alpha M(t) + f(t) \quad (1)$$

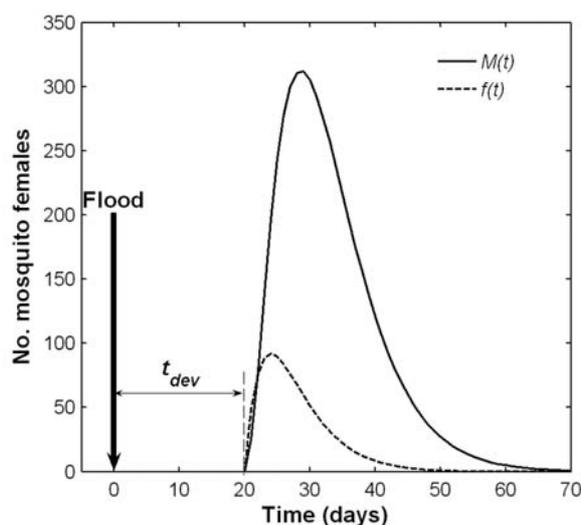
where  $\alpha$  was the depletion rate, i.e. the combination of the mortality rate  $\alpha_m$  and the dispersion rate  $\alpha_d$ , with  $\alpha = \alpha_m + \alpha_d$ , and  $f(t)$  the emergence function, which was defined as:

$$f(t) = \frac{M_0 t}{\tau^2} e^{-t/\tau}, \text{ with } \begin{cases} f[t < t_{dev}] = 0 \\ \int_0^{\infty} f(t) dt = M_0 \\ t_d = \frac{\int_0^{\infty} t f(t) dt}{M_0} \end{cases} \quad (2)$$

where  $M_0$  was the total number of emerged females and  $t_d$  was the mean duration of the emergence of all females, with by definition  $\tau = t_d / 2$ . The explicit solution of the equation (1) was:

$$M(t) = M_0 \begin{cases} \frac{[(\alpha\tau - 1)t / (\tau - 1)] e^{-t/\tau} - e^{-\alpha t}}{(\alpha\tau - 1)^2} & \text{if } \alpha\tau \neq 1 \\ \frac{(\alpha t) e^{-\alpha t}}{2} & \text{if } \alpha\tau = 1 \end{cases} \quad (3)$$

If  $t_0$  was the day of the breeding site flooding, the first female would emerge at the day  $t = t_0 + t_{dev}$ , where  $t_{dev}$  was the duration between the egg hatching and the beginning of the female emergence. Figure 1 gave an illustration of the profiles of  $M(t)$  and  $f(t)$  after the flooding of the breeding site.



**Figure 1.** Illustration of the profiles of  $f(t)$  and  $M(t)$  following the flood of a *Aedes caspius* breeding site, with  $M_0 = 1000$ ,  $t_{dev} = 20$  days,  $\tau = 4$  days, and  $\alpha = 0.2/\text{day}$ .

This model was adapted to describe population dynamics of floodwater mosquitoes, like *Ae. caspius*, *Aedes vexans* or *Aedes detritus* in the Camargue. Here we applied this model to *Ae. caspius* population dynamics and we tried to reproduce the observed abundances with flooding events (rainfall or irrigation) as model inputs.

### Laboratory data

We determined the parameters  $t_{dev}$  and  $\tau$  and their dependence on the temperature from previous laboratory data (Sinègre 1974). Batches of 100 newly emerged larvae of *Ae. caspius* from the Camargue were reared until the adult stage at 10 different temperatures from 4.5 to 33°C. Larvae were bred in plastic pans (20 × 30 × 7 cm) with 1 L of water continually ventilated, and were fed with 1 mg/larva/day of pet food. After the appearance of the first pupa, the emerged males and females were counted every 12 hours. From these data,  $t_{dev}$  was assessed for each temperature and  $\tau$  was estimated by fitting the observed data with the function  $f(t)$  defined in the equation (2). We used the algorithm *lsqcurvefit* from the optimisation toolbox of *Matlab* Version 7, which is based on the error minimization in sense of the least square differences. The accuracy of

the fit was assessed calculating the correlation coefficient of Pearson between the observed and the simulated data (Zar 1999).

### Field data

We chose two study sites in the western Camargue, one named *Mourgues* (MO; 4°15'52"E; 43°30'45"N), and the other one named *Pont de Gau* (PDG; 4°23'34"E; 43°30'04"N). In each site, one-night CO<sub>2</sub> trapping was carried out weekly from 18 May to 26 October 2004 and from 13 April to 25 October 2005 to determine the field abundances of *Ae. caspius* females. Traps were installed ≈1.5 m above the ground, between 15 h and 9 h the following day. Collected adults were brought to the laboratory and killed by frozen. Individuals were identified as species and counted. During the two years, the dates of flood events were listed. Flood events were comprised of rainfall of more than 15 mm or anthropogenic irrigations of the study areas reported by the EID *Méditerranée*. Rainfalls were recorded daily by the MeteoFrance station at the Saintes-Maries-de-la-Mer (at 7 km from the PDG site and at 14 km from the MO site).

For each flood event, the emergence date  $t$  was calculated as described above, i.e.  $t = t_0 + t_{dev}$ , where  $t_0$  was the flooding date. The value of  $t_{dev}$  was estimated from the temperature dependence equation based on laboratory data and from the mean temperatures recorded by the MeteoFrance station (exactly the mean of daily temperatures during  $t_{dev}$  days after the flood event). *Aedes caspius* abundances were simulated from the equation (3) and the algorithm *lsqcurvefit* was used in the aim to determine, for each emergence, the  $M_0$ ,  $\alpha$  and  $\tau$  which best fitted the observed data. During the optimization process, the variation boundaries of the fitted parameters were fixed as [0; 15,000] for  $M_0$ , [0.01; 0.5] day<sup>-1</sup> for  $\alpha$ , and [0; 10] days for  $\tau$ . The accuracy of the model was assessed as described above. Correlation between estimated values of  $M_0$  or  $\alpha$  and environmental parameters was assessed calculating the correlation coefficient of Pearson (Zar 1999).

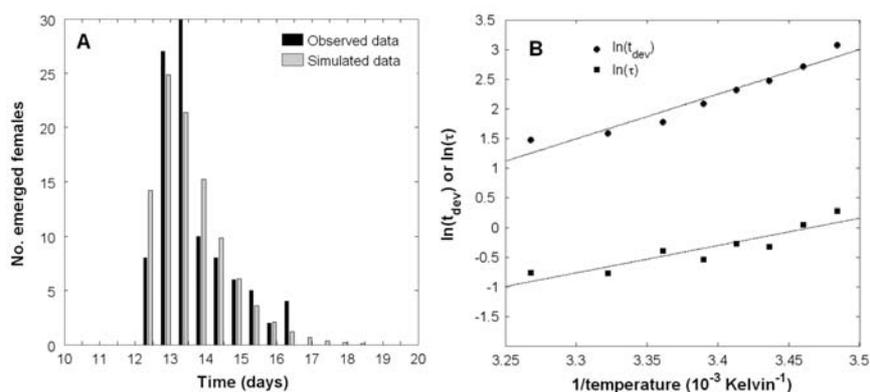
## Results

### Laboratory data

The emergence function defined in the equation (2) was well adapted to reproduce the experimental data for each temperature (Figure 2A); the tests of Pearson correlation coefficients between the observed and the simulated data gave  $r^2 = 0.82$  for 14°C, 0.67 for 16°C, 0.87 for 18°C, 0.64 for 20°C, 0.78 for 22°C, 0.76 for 24.5°C, 0.59 for 28°C and 0.58 for 30°C, with for all  $df = 11$  and  $p < 0.01$ . The duration of the aquatic development  $t_{dev}$  and the emergence parameter  $\tau$  both depended on the temperature, with the following relation:

$$\begin{cases} \ln(t_{dev}) = 7549 \times \frac{1}{T} - 23.4; r^2 = 0.94, ddl = 6, p < 0.01 \\ \ln(\tau) = 4618 \times \frac{1}{T} - 16.0; r^2 = 0.83, ddl = 6, p < 0.01 \end{cases} \quad (4)$$

where  $T$  was the rearing temperature in Kelvin degrees (Figure 2B).

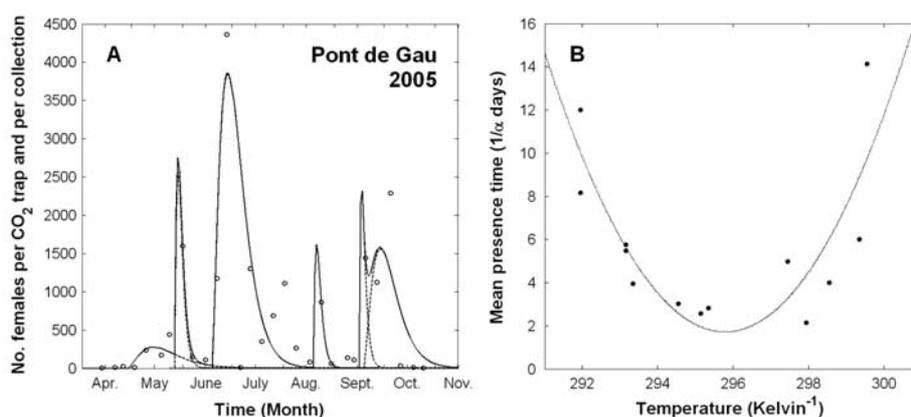


**Figure 2.** Accuracy of the emergence function and dependence of the aquatic development parameters  $t_{dev}$  and  $\tau$  on temperature. Figure A. Cumulative number of emerged females every 12 hours at 18°C; observed data (black) and simulated data (gray) based on equation (2) with  $t_{dev} = 11.9$  days and  $\tau = 0.725$  days. Figure B. Relation between aquatic development parameters  $t_{dev}$  and  $\tau$  and the inverse of the temperature (Kelvin), with experimental data (symbols) and linear regression (lines).

### Field data

During the two years of survey, we considered 5 flood events in 2004 and 7 in 2005 in the MO site, and 2 flood events in 2004 and 7 in 2005 in the PDG site; 20 of 22 events were due to rainfall (Table 1).

Time events and mean temperature allowed us to calculate the duration of the aquatic development  $t_{dev}$  using the equation (4) and thus to assess the emergence date. The parameters  $M_0$ ,  $\alpha$ , and  $\tau$  were estimated for each emergence (Table 1), and the simulated mosquito dynamics was plotted (Figure 3A).



**Figure 3.** Example of model outputs and dependence of the mean presence time ( $1/\alpha$ ) on temperature. Figure A. Number of *Ae. caspius* females collected per CO<sub>2</sub> trap and per collection at the Pont de Gau site in 2005; experimental data (symbols), and simulated data (abundance per emergence: dashed line and total abundance: solid line). Figure B. Relation between the mean presence time ( $1/\alpha$  days) and the temperature (in Kelvin degrees), with experimental data (symbols) and quadratic regression (line).

During the CO<sub>2</sub> trap collections, some increase of mosquito caught could not be associated with a flood event and thus with an emergence, like between the end of July and the beginning of August 2005 at the PDG site (Figure 3A). These abundance peaks could be considered an *Ae. caspius* immigration from adjacent areas, and were not used in the optimization process. The model simulations were able to reproduce the observed *Ae. caspius* densities. The tests of the Pearson correlation coefficients gave, at the MO site,  $r^2 = 0.95$  ( $ddl = 19$ ) in 2004 and  $r^2 = 0.83$  ( $ddl = 21$ ) in 2005 and, at the PDG site,  $r^2 = 0.95$  ( $ddl = 4$ ) in 2004 and  $r^2 = 0.87$  ( $ddl = 19$ ) in 2005, with for all  $p < 0.01$ .

The values of  $M_0$  were not correlated with the rainfall level. The tests of the Pearson correlation coefficients gave, at the MO site,  $r^2 = 0.31$  ( $ddl = 3$ ,  $p = 0.33$ ), and at the PDG site,  $r^2 = 0.01$  ( $ddl = 5$ ,  $p = 0.80$ ). The depletion rates  $\alpha$  were correlated with the mean temperatures (recorded by the MeteoFrance station) with a quadratic relation (Figure 3B):

$$\frac{1}{\alpha} = 0.60 \times T^2 - 335 \times T + 49500; r^2 = 0.69, ddl = 11, p < 0.01 \quad (5)$$

where  $T$  was the mean of the daily temperatures during  $1/\alpha$  days after the emergence in Kelvin degrees. For some emergence, the optimization algorithm retained a  $\alpha$  value which was very close to the upper boundary of the variation range, i.e. 0.5 per day, which corresponded to a mean presence time of 2 days in the emergence site (Table 1). These values could be considered optimisation artefacts (see discussion) and were not used to assess the above correlation.

## Discussion

The emergence function described in this paper is very adapted to reproduce laboratory data in *Ae. caspius* and allows us to quantify the dependence of the aquatic development duration on temperature. Moreover, our approach appears useful to reproduce seasonal abundances of *Ae. caspius* in the field with only meteorological data (rainfall and temperature) as model inputs. With this model, the depletion rate  $\alpha$  is assessed from a simple and widely used entomological technique: a weekly CO<sub>2</sub> adult trapping.

Rigorously, the simulated abundances  $M(t)$  represent all mosquito females which have emerged from a given breeding site, whereas the CO<sub>2</sub> trap collects only the host-seeking part of this population. If we consider that the female proportion attracted by the trap in the entire mosquito population is constant through the time (i.e. constant duration of the gonotrophic cycle, and constant attractiveness of the trap), field abundance data are proportional to the "real"  $M(t)$  with a proportional coefficient included into  $M_0$ . Table 1 shows limitations of the optimization algorithm in some particular situations. When flood events are relatively time closed, like in April and May 2005 at the MO site, the algorithm predicts only one abundance peak with  $M_0 = 855$ , the two others are  $M_0 = 4$  and 0. Moreover, when *Ae. caspius* abundances exhibit very quick changes, like in September 2005 at the PDG site (Figure 3), the optimization algorithm gives high values of parameters  $M_0 > 8,000$  and  $\alpha \approx 0.5$  per day. This latter value is closed to the upper boundary of variation range and it is equivalent to a mean presence time of 2 days, i.e. each newly emerged female meanly stays only 2 days at this site. If the upper boundary of  $\alpha$  is increased (until 1 per

day which, by definition, is the highest value), the optimization retains always the boundary value. Thus, these values are clearly optimization artefacts. In these two situations (time closed flood events and quick changes in abundance), an increase of the trapping frequency may avoid these optimization artefacts.

**Table 1.** Dates of the flood events, temperatures and calculated duration of aquatic development and emergence dates, and parameters  $M_0$ ,  $\alpha$ , and  $\tau$  estimated by the optimization algorithm for each emergence at both sites (Mourgues and Pont de Gau) in 2004 and 2005.

Study site	Date of the flood event	T <sup>b</sup>	Calculated parameters <sup>c</sup>		Estimated parameters <sup>d</sup>		
			$t_{dev}$ (days)	Emergence	$M_0$	$\alpha$ (day <sup>-1</sup> )	$\tau$ (days)
Mourgues	29 Apr. 04	15.1	16.3	15 Mai 04	234	0.083	0.40
	18 June 04 <sup>a</sup>	22.8	8.2	26 June 04	1264	0.250	3.89
	11 Aug. 04 <sup>a</sup>	25.6	6.5	17 Aug. 04	1984	0.201	4.89
	11 Sept. 04	21.2	9.5	20 Sept. 04	481	0.500	1.71
	19 Sept. 04	20.8	9.8	22 Sept. 04	9030	0.500	1.26
Pont de Gau	15 Apr. 05	16.3	14.6	29 Apr. 05	855	0.098	10.0
	13 May 05	19.0	11.5	24 May 05	4	0.499	0
	17 May 05	20.7	9.9	26 May 05	0	0.500	10.0
	13 June 05	26.2	6.2	19 June 05	1615	0.071	1.23
	10 Aug. 05	22.7	8.3	18 Aug. 05	2804	0.387	1.04
	06 Sept. 05	19.9	10.6	16 Sept. 05	1260	0.500	0.67
	08 Sept. 05	19.6	10.9	18 Sept. 05	317	0.174	5.67
	11 Sept. 04	21.2	9.5	20 Sept. 04	5794	0.330	3.10
19 Sept. 04	20.8	9.8	22 Sept. 04	15000	0.253	1.49	
Pont de Gau	15 Apr. 05	16.3	14.6	29 Apr. 05	1014	0.123	8.11
	13 May 05	19.0	11.5	24 May 05	2538	0.354	0.02
	17 May 05	20.7	9.9	26 May 05	8454	0.499	1.20
	13 June 05	26.2	6.2	19 June 05	12416	0.167	4.77
	10 Aug. 05	22.7	8.3	18 Aug. 05	4979	0.464	1.09
	06 Sept. 05	19.9	10.6	16 Sept. 05	7860	0.500	0.77
	08 Sept. 05	19.6	10.9	18 Sept. 05	5767	0.182	5.40

<sup>a</sup> These 2 flood events were due to anthropogenic irrigation; the others were due to more than 15 mm rainfall.

<sup>b</sup> Mean of the daily temperatures during the number of days necessary for the emergence in Celsius degrees.

<sup>c</sup> See text for the calculation method.

<sup>d</sup> Parameters' values were underlined in grey if the estimated value of  $\alpha$  was the upper boundary of variation range for the parameter fitting (see discussion).

To obtain a predictive model, i.e. to predict abundances only with meteorological data as model inputs, we need to compute the *a priori* values of the parameters  $\tau$ ,  $M_0$  and  $\alpha$ . The dependence of  $\tau$  on temperature was established from experimental data. The values varied between  $\tau = 1.33$  days at 14°C and  $\tau = 0.47$  days at 33°C. Most of the  $\tau$  values estimated from field data were higher than expected, for instance  $\tau = 4.77$  days at the PDG site in June 2005, whereas the mean temperature was 26°C (table 1). Different explanations may be envisaged. Firstly, freshly emerged females may need to mate before seeking hosts, when the CO<sub>2</sub> trap collects only host-seeking females. Thus, the  $\tau$  estimated from field data takes into account the

mate duration and is higher than the  $\tau$  calculated from laboratory data. Secondly, the flooding of large breeding sites such as marshes may be progressive, and the disseminated eggs may do not hatch at the same time. Moreover, the aquatic development duration depends on others factors than temperature such as density or food availability, which may be not homogenous in the whole breeding site. That may explain the observed increase of  $\tau$  estimated from field data. Finally, the CO<sub>2</sub> trap attracts mosquitoes from an area which may cover more than one breeding site. The observed abundance peak may be the result of emergences in several breeding sites with different flood histories or the result of a migration of mosquitoes from different breeding sites with the same flood history but located at different distances from the trap. This effect of “multi-breeding sites” obviously increases the  $\tau$  value estimated from field compared to laboratory. Being the relative simplicity of the formulation of population dynamics, the modelling of a system of multiple breeding sites may be envisaged without increasing the calculation time. Nevertheless, the limitation of such as approach is the estimation of dispersal parameters, such as speed and range, which are necessary to assess the time between the emergence at one breeding site and the arrival under the trap attractiveness. The observation of flood events in a large area around the CO<sub>2</sub> trap may help to determine the influence of the effect of “multi-breeding sites” on  $\tau$  values.

The total number of emerged females  $M_0$  is obviously correlated with the number of eggs hatched by the flood event. Very simply, one can suppose that the number of hatched eggs is linked with the flooded surface of the breeding site and thus with the rainfall level. Nevertheless, the values of  $M_0$  estimated in this study are not correlated with the level of rainfalls at both sites; that suggests a more complex relation between rainfalls and flooded surface. Indeed, the flooded surface depends on rainfall level, but also on the breeding site, i.e. its topography, its soil composition, its flood history (presence/absence of water, dry/wet soil). Moreover, the eggs of *Ae. caspius* are not homogeneously distributed in the breeding site and their number varies through the season (Rioux *et al.* 1968 ; Gabinaud 1975). Previous authors developed a mechanistic model including physical parameters of the breeding site, to link firstly the rainfalls with the flooded surface and then with the number of hatched eggs (Porphyre *et al.* 2005). This such as approach could be necessary to obtain predictive values of  $M_0$  in our context.

The longevity of mosquito is a key component of the ability of a mosquito species to transmit pathogens. The estimation of the longevity in the field is very difficult to obtain. Main techniques are methods derived from the parous rate (Davidson 1954 ; Detinova 1963) and mark-release-recapture techniques (Service 1993). Survival rate can be estimated from the parous rate only with a population showing a relative stable age distribution (Service 1993). According to the explosive population dynamics of *Ae. caspius* (waves of abundance peaks), this method can not be applied on *Ae. caspius* populations. Mark-recapture methods are time-consumer, because they need the release of a great number of marked adults, due to the relative low recapture rate (Service 1993). Our approach permits to assess the depletion rate from CO<sub>2</sub> trapping survey, which is considerably easier to implement than mark-recapture methods. Nevertheless, like with mark-recapture methods, we are not able to distinguish in the depletion rate the part due to

mortality from the part due to dispersion, which can not be neglected with species such as *Ae. caspius* able to disperse through 20 kilometres (Juminer *et al.* 1964). We found that depletion rate was correlated with the temperature following a quadratic relation. In laboratory, previous authors studied the longevity of *Ae. caspius* populations from Egypt under different conditions of temperature, relative humidity, and diet (Abdel-Malek et Adham 1978). These values of longevity were compatible with longevity data of *Ae. caspius* populations from the Camargue assessed for a given temperature and relative humidity (Carron *et al.* submitted). Abdel-Malek and Adham (1978) showed that the longevity was linearly correlated with the temperature for a given relative humidity. Assuming that the depletion rate = mortality rate + dispersion rate as defined above and that the mortality rate of *Ae. caspius* is linearly correlated to the temperature, thus the dispersion rate is correlated to the temperature following a quadratic relation. Dispersion seems thus maximal for a range of medium temperatures and minimal in low (decrease of activity) and high (risk of desiccation) temperatures (Figure 3).

The mosquito population dynamics is obviously drifted by environmental parameters. Predict mosquito abundances would be helpful to focus nuisance or vector-borne disease control programs. The relation between meteorological parameters and mosquito densities could be established by a statistical (Bicout et Sabatier 2004 ; Shone *et al.* 2006) or by a mechanistic approach (Shaman *et al.* 2002). The demarche developed here needs further developments to be able to compute the *a priori* parameter values and finally to predict *Ae. caspius* abundance, in the final aim to obtain vectorial capacity models and risk maps. As a successful first step, the observed seasonal abundances of *Ae. caspius* were correctly reproduced using meteorological data (temperature and rainfall) as model inputs.

### Acknowledgments

TB received a grant from the ACCIES project (*Analyse du Changement Climatique et de ses Impacts sur l'Eau et la Santé*) and from the *Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage* (ONC 2002/07/6171). Authors thank Gérard Duvallet (UM3), Christophe Lagneau (EID Méditerranée) and Jean-Pierre Hervé (IRD) for their critical reading.

### References

- Abdel-Malek A.A. et Adham F.K. (1978) Effect of diet, temperature, relative humidity, sex association on the longevity of *Aedes caspius* adults. *Acta Entomol Bohemoslov* 75: 357-61.
- Becker N., Petric D., Zgomba M., Boasse C., Dahl C., Lane J. et Kaiser A. (2003) Mosquitoes and their control. New York, Kluwer Academic / Plenum Publishers. 498 p.
- Bicout D.J. et Sabatier P. (2004) Mapping Rift Valley fever vectors and prevalence using rainfall variations. *Vector Borne Zoonotic Dis* 4 (1): 33-42.
- Carron A., Bichaud L., Platz N. et Bicout D.J. (submitted) Life span of *Ochlerotatus caspius* adults in laboratory conditions. *J Med Entomol*.
- Clements A.N. (1999) The biology of mosquitoes. Volume 2. Sensory reception and behaviour. London, Chapman & Hall. 740 p.

- Davidson G. (1954) Estimation of the Survival-Rate of Anopheline Mosquitoes in Nature. *Nature* 174 (4434): 792-3.
- Detinova T.S. (1963) Méthodes à appliquer pour classer par groupes d'âge les diptères présentant une importance médicale. Genève, OMS. 220 p.
- Gabinaud A. (1975) Ecologie de deux *Aedes* halophiles du littoral méditerranéen français : *Aedes (Ochlerotatus) caspius* (Pallas, 1771) *Aedes (Ochlerotatus) detritus* (Haliday, 1833) (Nematocera-Culicidae). Doctorat de science, Perpignan, Université des Sciences et Techniques du Languedoc: 451 p.
- Hannoun C., Panthier R. et Corniou B. (1966) Isolation of Tahyna virus in the south of France. *Acta Virol* 10: 362-4.
- Juminer B., Kchouk M., Rioux J.A. et Ben Osman F. (1964) A propos des Culicides vulnérants de la banlieue littorale de Tunis. *Arch Inst Pasteur Tunis* 41: 23-32.
- Lundström J.O. (1999) Mosquito-Borne Viruses in Western Europe: A Review. *J Vector Ecol* 24 (1): 1-39.
- Meegan J.M. (1979) The Rift Valley fever epizootic in Egypt 1977-78. 1. Description of the epizootic and virological studies. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 73 (6): 618-23.
- Moreau J.P., Bihan-Faou P. et Sinègre G. (1976) Essais de transmission transovarienne du virus Tahyna chez "*Aedes (O.) caspius*" (Pallas, 1771). *Med Trop (Mars)* 36 (5): 441-2.
- Porphyre T., Bicout D.J. et Sabatier P. (2005) Modelling the abundance of mosquito vectors versus flooding dynamics. *Ecol Modell* 183: 173-81.
- Rioux J.A., Croset H., Corre J.J., Simoneau P. et Gras G. (1968) Phyto-ecological basis of mosquito control: cartography of larval biotopes. *Mosq News* 28 (4): 572-82.
- Rodhain F. et Hannoun C. (1980) Present Status of Arboviruses in France. In: Arboviruses in the Mediterranean Countries. *Zbl Bakt Suppl.* 9: 111-6.
- Service W. (1993) Estimation of mortalities of immature stages and adults. In: *Mosquito ecology: field sampling methods*. Service W. London, Chapman & Hall: 752-889.
- Shaman J., Stieglitz M., Stark C., Le Blancq S. et Cane M. (2002) Using a dynamic hydrology model to predict mosquito abundances in flood and swamp water. *Emerg Infect Dis* 8 (1): 6-13.
- Shone S.M., Curriero F.C., Lesser C.R. et Glass G.E. (2006) Characterizing population dynamics of *Aedes sollicitans* (Diptera: Culicidae) using meteorological data. *J Med Entomol* 43 (2): 393-402.
- Sinègre G. (1974) Contribution à l'étude physiologique d'*Aedes (Ochlerotatus) caspius* (Pallas, 1771) (Nematocera - Culicidae) : éclosion - dormance - développement - fertilité. Thèse de Doctorat en Sciences Naturelles, Montpellier, Université des Sciences et Techniques du Languedoc: 285 p.
- Turell M.J., Presley S.M., Gad A.M., Cope S.E., Dohm D.J., Morrill J.C. et Arthur R.R. (1996) Vector competence of Egyptian mosquitoes for Rift Valley Fever virus. *Am J Trop Med Hyg* 54 (2): 136-9.
- Zar J.H. (1999) Biostatistical analysis. Upper Saddle River, New Jersey, Prentice Hall. 929 p.

## V.4. Synthèse sur les adultes

### V.4.1. Principaux résultats

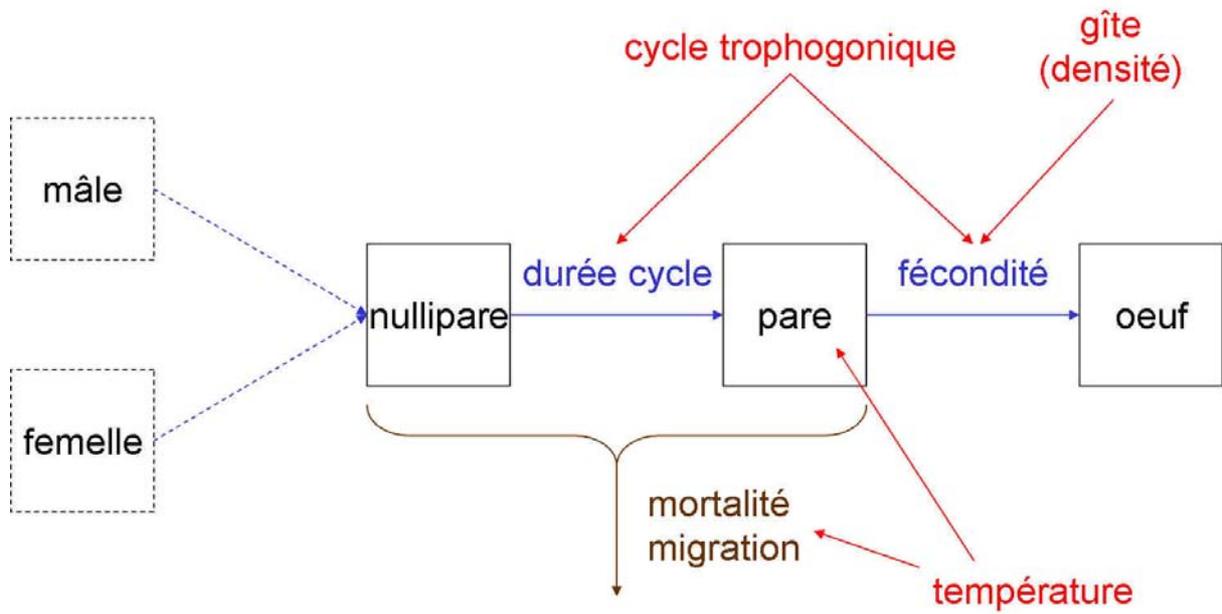
La durée des stades de Christophers a été estimée en laboratoire. L'hypothèse a été émise qu'il existait chez *Ae. caspius* un seuil de quantité de sang minimum en-deçà duquel la maturation des follicules ovariens n'a pas lieu. Au-dessus de ce seuil, il existe une corrélation positive entre la quantité de sang ingéré et le nombre de follicules au stade V de Christophers (voir chapitre V.1.). La durée du premier cycle trophogonique a été estimée à environ 9 jours et la durée des cycles suivants à environ 5 jours. Aucune différence de durée de cycle trophogonique n'a été constatée entre les deux populations. La fécondité varie en fonction de l'âge de la femelle et il existe une différence entre les deux gîtes qui se maintient sur une première génération de laboratoire (voir chapitre V.1). La longévité des mâles et des femelles est différente et a été estimée à environ deux semaines pour ces dernières. Il n'y a pas de différence pour ce trait entre les deux gîtes en laboratoire (voir chapitre V.2). Des captures hebdomadaires sur les deux gîtes d'étude ont permis de supposer que les populations de femelles adultes vivent en moyenne deux à trois semaines (voir chapitre V.2). La dynamique des adultes a pu être modélisée et, grâce à ce modèle, le taux de disparition, couplant mortalité et migration, peut être estimé (voir chapitre V.3).

### V.4.2. Des longévités similaires en laboratoire et sur le terrain

La durée de vie des mâles est significativement plus courte en laboratoire que celle des femelles et cette conclusion reste applicable aux deux gîtes. Les femelles ont une longévité moyenne estimée de  $14,74 \pm 2,81$  jours en laboratoire. Sur le terrain, cette longévité n'a pas pu être calculée à partir des suivis hebdomadaires du taux de parité, mais ils ont néanmoins permis de montrer que l'âge des femelles collectées à proximité des deux gîtes ne dépasse pas deux à trois semaines en moyenne. Les deux estimations de longévité en laboratoire et sur le terrain sont donc similaires. La longévité des femelles est corroborée par ailleurs par la durée de la nuisance ressentie après une émergence massive d'*Ae. caspius*.

### V.4.3. L'hypothèse de fécondité densité dépendante

Les femelles issues des deux gîtes d'étude présentent une fécondité différente, liée, en toute hypothèse, à leurs poids respectifs (voir chapitre V.1). Cela n'a toutefois pu être vérifié. Par contre, il semble exister une corrélation positive entre quantité de sang ingéré et nombre d'œufs développés (voir chapitre V.1). Une relation entre la quantité de sang ingéré par une femelle et son poids est également envisageable. Cela constitue autant d'arguments en faveur de l'hypothèse d'une corrélation positive entre le poids et la fécondité. Sachant que le poids d'un individu à l'émergence dépend de la densité (voir chapitres IV.3), la fécondité peut être considérée comme densité dépendante, ce qui expliquerait la différence entre les femelles de MO et de PDG. Des traits étudiés sur la phase imaginale, seule la fécondité semble pertinente à estimer à l'échelle opérationnelle.



**Figure 5-15** : Schématisation de la phase aérienne du cycle de vie. Les flèches en rouge représentent les facteurs qui influent sur les traits d'histoire de vie.



# Synthèse, conclusions et perspectives

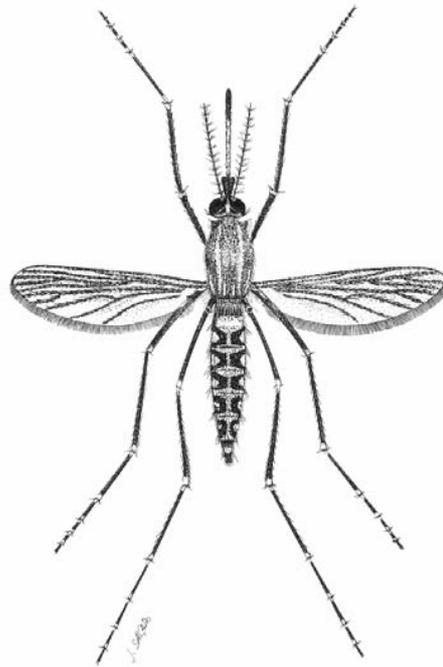


Fig. 3 A - Imago femelle d'*Aedes caspius*.

*Celui qui a quelque disposition naturelle à attacher plus d'importance à quelques difficultés non résolues qu'à l'explication d'un certain nombre de faits rejettera certainement ma théorie.*

Charles Darwin

L'origine des espèces, 1859



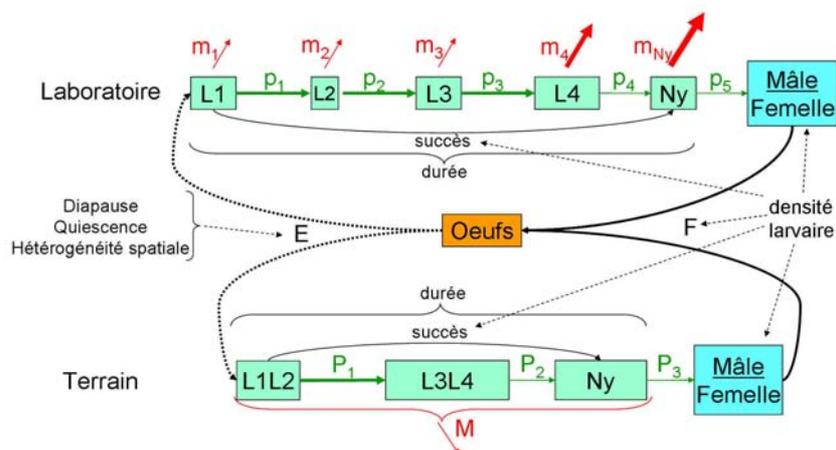
## Synthèse générale

### Rappel de la problématique

Depuis près de cinquante années, l'EID Méditerranée mène la lutte contre les populations d'*Ae. caspius* en recourant à une stratégie essentiellement antilarvaire. Néanmoins, des densités larvaires fortes sont toujours observées. Aucun phénomène de résistance n'ayant été mis en évidence, il reste l'hypothèse d'une adaptation des mécanismes démographiques pour compenser les effets des traitements, ce qu'a tenté d'expliquer la présente étude.

### Rappel des résultats

Que ce soit en laboratoire ou sur le terrain, la probabilité de passage au stade suivant, le temps de développement et la mortalité sont dépendants du stade (Figure 6-1). Le succès des larves, c'est-à-dire la probabilité de survie du premier stade larvaire à la nymphe, dépend de la densité larvaire. Le poids, la taille et la sex-ratio en dépendent également. La corrélation entre la sex-ratio et la densité est différente entre les deux populations étudiées : positive pour le gîte de MO, elle est négative pour PDG. Lorsque la densité augmente, la taille et le poids des adultes diminuent. La longévité des femelles, estimée en laboratoire comme sur le terrain, est de deux semaines environ. La durée du cycle trophogonique est plus longue pour le premier cycle que pour les suivants quelle que soit l'origine des femelles. La fécondité diminue avec l'âge et elle est plus importante si la densité larvaire est faible (gîte de MO).



**Figure 6-1** : Synthèse du cycle de vie d'*Ae. caspius* en laboratoire et sur le terrain. Cette synthèse a été établie à partir de l'ensemble des résultats obtenus sur les populations de MO et de PDG. La longueur des rectangles verts schématise la durée du temps de développement larvaire (variable en fonction du stade). La longueur et l'épaisseur des flèches  $p_i$  et  $m_i$  schématisent, respectivement, la variabilité de la probabilité de passer dans le stade suivant et de la mortalité en fonction des stades larvaires.

### Critiques générales

Le phénomène de quiescence des œufs peut être une hypothèse simple expliquant les densités larvaires fortes malgré des décennies de démoustication. En effet, tous les œufs pondus par une même femelle n'éclosent pas systématiquement lors de la même mise en eau (voir chapitre II).

Ainsi, le nombre d'œufs peut être tout aussi important que par le passé. Cependant, en partant du scénario de deux mises en eau annuelle (vernale et automnale) pendant 50 ans, cela donne 100 éclosions qui ont subi autant de traitements, susceptibles de réduire le stock d'œufs suite à la diminution drastique du nombre de larves et donc du nombre d'oviposition. Ainsi, ce phénomène de quiescence, même s'il peut intervenir pour le maintien des effectifs, ne peut être le seul facteur expliquant les densités larvaires fortes encore observées aujourd'hui.

Un grand nombre de traits d'histoire de vie sont affectés par les conditions environnementales (Carey, 2001). Par exemple, la diapause des œufs d'*Ae. caspius* est déclenchée par la photopériode et la température influe sur la durée de développement et du cycle trophogonique. Si les effets de ces facteurs physiques n'ont été que peu abordés dans ce mémoire, les estimations des différents traits ont néanmoins été réalisées dans des conditions similaires pour les deux populations, autorisant les comparaisons.

La différence de fécondité en laboratoire entre les femelles des deux gîtes s'est maintenue sur une première génération, d'où l'hypothèse d'une part d'héritabilité. Pour éviter un raisonnement panglossien (voir Gould et Lewontin, 1979) et prétendre que ce trait est adaptatif, les investigations doivent être poursuivies sur plusieurs générations. Le maintien d'une telle différence peut n'être dû qu'à des biais de manipulations ou à un facteur non pris en compte.

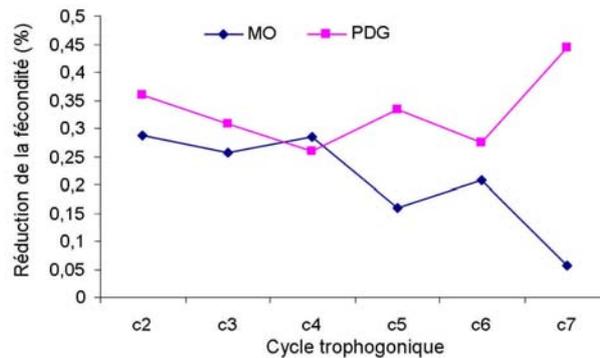
En dernière critique, il faut envisager l'aspect des migrations imaginaires car, bon voilier, l'espèce est réputée capable de migrer au-delà de 20 km (Juminer *et al.*, 1964). Les deux gîtes étudiés sont distants d'environ 50 km à vol d'oiseau et le gîte de MO est situé à proximité de la zone non démoustiquée. Ainsi, l'absence de différence observée sur certains traits pourrait être due à un brassage des populations de MO avec des individus "naïfs". Cependant, les connaissances sur les déterminismes et les distances de migration sont fragmentaires voire inexistantes. Il faudrait donc étudier les migrations tant phénotypiques que génétiques. La publication récente de séquences microsatellites d'*Ae. caspius* permet d'envisager sous un jour nouveau cette problématique (Porretta *et al.*, 2005).

### **Un effet densité dépendance prépondérant**

En situation de surpopulation, les individus sont soumis à une forte compétition qui induit des famines ou des diminutions de l'efficacité de la reproduction. Ce concept simple de densité dépendance est fondamental dans la biologie des populations (Krebs et Davies, 1997). Il s'observe aussi chez les moustiques (Service, 1993 ; Southwood et Henderson, 2000), en agissant en particulier sur leur taille et leur survie à l'état adulte (Hawley, 1985). Dans notre cas, cette dépendance semble aussi prépondérante pour le devenir des populations en influant sur le succès des larves, la sex-ratio et sur la taille et le poids des adultes, mais aussi sur leur fécondité. En toute hypothèse, la démoustication induirait, par son action sur les densités larvaires, une augmentation pondérale des imagos survivants et, conséquemment, un accroissement de leur fécondité.

### Le coût de la reproduction

L'existence de compromis entre différents traits a été largement démontrée par ailleurs. Un des plus étudiés est celui du coût de la reproduction : l'augmentation de l'investissement dans la reproduction pour un âge donné entraîne une diminution de la reproduction future et une augmentation de la mortalité (Reznick, 1985 ; Carey, 2001). Aucune différence de longévité n'a été détectée entre les deux gîtes (voir chapitre V.3), au contraire de la fécondité (voir chapitre V.2). En calculant la réduction de fécondité entre deux cycles trophogoniques successifs, elle est significativement plus importante dans le cas du gîte de PDG (test des signes de Wilcoxon,  $p = 0,046$ ; Figure 6-2). Sachant qu'il n'y a pas de différence de longévité entre les gîtes et que la fécondité diminue en l'absence de démoustication, on peut supposer que cette dernière réduit le coût de reproduction en agissant sur les densités et donc sur la taille des adultes survivants.



**Figure 6-2** : Diminution de la fécondité entre les cycles successifs pour les femelles de MO et de PDG. Les données ont été obtenues à partir des estimations de la fécondité en laboratoire (voir chapitre V.2).

### Taux d'accroissement des populations

La dynamique des populations et les changements évolutifs sont liés par les processus biologiques fondamentaux de la naissance et de la mortalité (Pelletier *et al.*, 2007). La croissance d'une population, qui synthétise ces deux processus, est un élément clé pour avoir une vue d'ensemble des changements évolutifs qu'a pu subir une population. Par une approche de comparaison des taux d'accroissements entre les deux populations d'*Ae. caspius* étudiées, il est possible d'étayer l'hypothèse d'un effet densité dépendance de la démoustication.

La croissance d'une population donne le nombre de fois qu'une population se multiplie par génération, ce nombre étant nommé taux net de reproduction, noté  $R0$  :

$$R0 = \sum_{x=0}^{\infty} l_x m_x$$

où  $l_x$  est le taux de survie des femelles au début de la classe d'âge  $x$  et  $m_x$  est le nombre de femelles nées des femelles de la classe d'âge  $x$ . Une valeur de  $R0$  supérieure à 1 signifie que la population augmente, une valeur inférieure à 1 signifie que la population diminue et la population est stationnaire pour une valeur égale à 1 (Southwood et Henderson, 2000). La croissance d'une population peut s'exprimer sous la forme de l'équation suivante :

$$\frac{dN}{dt} = rN$$

où  $r$  est le taux de croissance d'une population et  $N$  le nombre d'individus à un temps  $t$  donné. Sous des conditions d'environnement non limité et de distribution d'âge stable, ce paramètre est constant. Lorsqu'il est négatif, la population diminue, lorsqu'il est positif, elle augmente et lorsqu'il est nul la population est stable dans le temps. La valeur maximale que prend ce paramètre pour une espèce donnée sous des conditions biotiques et abiotiques données est appelé le taux de croissance intrinsèque ou encore le paramètre Malthusien et est noté  $r_m$ . Lorsque la distribution d'âge est stable et lorsqu'une population est encore en croissance dans un environnement aux ressources non limitées, ce paramètre malthusien peut être calculé par l'expression :

$$\sum e^{-r_m x} l_x m_x = 1$$

Lorsque ces conditions ne sont pas respectées,  $r_m$  peut être estimé en calculant la capacité de croissance  $r_c$  :

$$r_c = \frac{\ln R_0}{T_c}$$

où  $T_c$  est le temps de génération d'une cohorte, c'est-à-dire l'âge moyen des femelles dans une cohorte à la naissance de leurs femelles filles (Southwood et Henderson, 2000),

$$T_c = \frac{\sum_{x=0}^{\infty} x l_x m_x}{R_0}$$

Pour réaliser ces calculs de  $R_0$ ,  $T_c$  et  $r_c$  pour les populations d'*Ae. caspius*, il est nécessaire de calculer  $l_x$  et  $m_x$  pour  $x$  étant le cycle trophogonique. Le taux de survie des femelles jusqu'au cycle trophogonique  $x$  est calculé à partir des estimations de fécondité en laboratoire (voir chapitre V.1). Soit  $E_x$  le nombre d'œufs pondus par une femelle au cours du cycle trophogonique  $x$ , soit  $a$  le taux de survie de ces  $E_x$  œufs jusqu'au stade adulte et soit  $SR_x$  la sex-ratio à l'émergence des  $E_x$  œufs. Sachant que :

$$\begin{cases} SR_x = \frac{Ma_x}{Fe_x} \\ Ma_x + Fe_x = E_x \end{cases}$$

où  $Ma_x$  et  $Fe_x$  est le nombre de mâles et de femelles dans la ponte  $E_x$ , le nombre de femelles pondus dans la ponte de  $E_x$  œufs est donc

$$Fe_x = \frac{E_x}{SR_x + 1}$$

Sur ces  $Fe_x$  femelles pondues, seul le pourcentage  $a$  survivent jusqu'à l'âge adulte, d'où :

$$m_x = \frac{a.E_x}{SR_x + 1}$$

Pour le calcul de  $m_x$ ,  $a$  est estimé comme la moyenne des succès  $S$  des deux gîtes (voir chapitre III.1), égale à 0,032. La sex-ratio à l'émergence  $SR$  est dépendante de la densité larvaire selon l'équation (voir chapitre IV.2):

$$SR = 3,055 - 0,447 \cdot \ln(\text{densité})$$

On peut donc calculer la sex-ratio à l'émergence  $SR_x$  pour les  $E_x$  œufs pondus par une femelle au cycle trophogonique  $x$  en considérant que la densité soit égale à  $E_x$ . Le nombre d'œufs  $E_x$  utilisé pour les calculs de la croissance des populations est celui estimé en laboratoire (voir chapitre V.1).

Le taux net de reproduction  $R0$  pour le gîte de MO et de PDG est de 5,31 et 3,59, respectivement (Tableau 6-1). Les populations des deux gîtes sont en croissance et le gîte de MO présente un taux de reproduction supérieur à celui du gîte de PDG. Le temps de génération est supérieur pour le gîte de MO ( $T_c = 1,84$  et  $1,59$  pour les gîtes de MO et PDG, respectivement). Les populations issues des deux gîtes présentent une capacité de croissance positive et celle-ci est supérieure pour le gîte de MO ( $r_c = 0,91$  pour MO et  $0,81$  pour PDG).

**Tableau 6-1** : Synthèse des calculs de  $l_x$ , taux de survie des femelles au début de cycle trophogonique  $x$ , et  $m_x$ , nombre de femelles nées des femelles ayant pondu au cours du cycle trophogonique  $x$ . Ces deux valeurs sont calculées à partir de la fécondité  $E_x$  et de la sex-ratio à l'émergence  $SR_x$  (voir le texte pour le détail des calculs).

	cycle trophogonique	nb femelles ayant pondu	$E_x$	$l_x$	$SR_x$	$m_x$
<b>MO</b>						
	1	75	177,8	0,938	0,74	3,272
	2	41	126,9	0,513	0,89	2,150
	3	30	94,5	0,375	1,02	1,497
	4	28	67,6	0,350	1,17	0,996
	5	16	56,8	0,200	1,25	0,808
	6	7	45	0,088	1,35	0,612
	7	4	42,5	0,050	1,38	0,572
	8	2	50,5	0,025	1,30	0,702
<b>PDG</b>						
	1	78	136,0	0,975	0,86	2,342
	2	46	87,1	0,575	1,06	1,354
	3	31	60,3	0,388	1,22	0,868
	4	19	44,6	0,238	1,36	0,605
	5	8	29,8	0,100	1,54	0,375
	6	5	21,6	0,063	1,68	0,258
	7	1	12	0,013	1,94	0,130

### La compensation de la démoustication

La dynamique d'une population dépend de la manière dont elle augmente lorsque les effectifs sont faibles et dont elle diminue lorsqu'ils sont importants. Plus spécifiquement, la dynamique dépend de la relation entre la taille de la population ( $N$ ) et son taux de croissance par tête (*pgr* "per capita growth rate"; Sibly *et al.*, 2005). La croissance d'une population peut être décrite par l'équation différentielle, vue plus haut, connue sous le nom de modèle de croissance exponentielle :

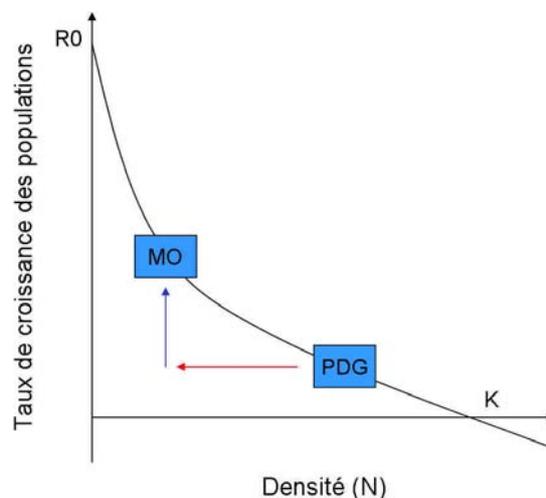
$$\frac{dN}{dt} = rN$$

Ce modèle est obtenu en partant de deux postulats (Turchin, 2003). Le premier établit que le nombre d'organismes d'une population peut changer seulement à cause des naissances, des mortalités, des émigrations et immigrations. Le second établit que tous les processus qui affectent les variations de populations sont le résultat de ce qu'il se passe sur les individus. Un modèle plus réaliste a été développé par le mathématicien belge Verhulst (1838 dans Turchin, 2003). Connue sous le nom de croissance logistique, ce modèle suggère que les populations ne peuvent dépasser une certaine taille en raison d'une capacité limitée de l'environnement à accueillir des individus (capacité noté  $K$  connue aussi sous le nom d'équilibre, "population's carrying capacity"; Sibly *et al.*, 2005) :

$$\frac{dN}{dt} = R_0 N \left(1 - \frac{N}{K}\right)$$

Ce modèle, sans doute le plus connu en écologie, suppose que le taux de croissance d'une population  $pgr$  diminue linéairement avec la taille de la population qui augmente (Reynolds et Freckleton, 2005). Sibly *et al.* (2005) ont démontré sur 674 espèces, que la forme de la relation entre  $pgr$  et la taille de la population  $N$  est en règle générale concave, c'est-à-dire que la densité dépendance s'exprime plus fortement sur les faibles effectifs puis cet effet est moins important lorsque la taille de la population approche l'équilibre.

En l'état actuel des connaissances, il n'est pas possible de calculer l'équilibre  $K$  pour les populations d'*Ae. caspius*. Cependant, les différences de taux net de reproduction  $R_0$  et de capacité de croissance  $r_c$  entre les deux gîtes apportent des éléments qui étayent l'hypothèse d'un effet indirect de la démoustication par augmentation du taux de croissance conséquemment à une diminution des densités larvaires (Figure 6-3).



**Figure 6-3** : Hypothèse de la compensation de la démoustication. Les diminutions de densités larvaires (flèche rouge) induites par la démoustication entraînent une augmentation de la taille et de la fécondité des individus qui entraînent à leur tour une augmentation du taux de croissance des populations (flèche bleue). La courbe présentée est théorique et concave en raison de la dominance de la concavité de cette relation chez la plupart des espèces étudiées (Sibly *et al.*, 2005).

## Conclusions et perspectives

### Pertinence des traits

L'hypothèse d'un effet indirect de la démoustication sur la croissance des populations d'*Ae. caspius* par une diminution de la densité a été émise sur la base des résultats obtenus en laboratoire et sur le terrain. Seules des mesures sur le terrain à l'échelle de la zone d'action de l'EID Méditerranée permettraient de vérifier une telle hypothèse.

Au terme de l'étude de la phase aquatique, il semble que la densité joue un rôle majeur sur les traits d'histoire vie des larves. Deux arguments plaident en défaveur de la prise en compte de ces derniers dans une étude à grande échelle. Tout d'abord, considérer l'observation de ces traits serait très lourd à gérer en terme de main d'oeuvre et de temps, alors même que le succès et la durée de vie larvaire ne constituent pas des traits "moteurs" de la démographie. En second lieu, bien que les traits de la phase aquatique définissent le nombre d'adultes qui émergent et la rapidité de cette émergence, ils ne peuvent concourir à distinguer la part des individus qui vont réellement participer au renouvellement des populations. Finalement, le seul trait larvaire qui demeure raisonnable d'étudier à l'échelle opérationnelle est celui de la densité larvaire, *sensu stricto*.

Les études réalisées sur la phase d'émergence ont démontré l'importance de la sex-ratio et de la structure de poids à l'émergence, sensibles à la densité des larves. La sex-ratio permet de dénombrer les femelles qui participent à la démographie, mais aussi de prendre en compte le rôle non négligeable que les mâles peuvent y jouer. Le poids des individus agit sur la fécondité. Ces deux traits, sex-ratio et poids à l'émergence, sont donc incontournables pour aborder une étude à l'échelle opérationnelle et leurs estimations sur le terrain présentent l'avantage de ne nécessiter que peu de moyens et de temps. Il suffit de placer quelques cages sur un gîte dès le début de la nymphose pour prélever quotidiennement les émergents.

Concernant la phase imaginale, seule la fécondité des femelles présente de l'importance. Ce trait subit l'influence de la densité tout en étant un des rouages essentiels de la démographie de l'espèce. Les autres traits étudiés ne sont pas assez sensibles pour détecter des changements dans la démographie d'une population. Atout supplémentaire, la fécondité se mesure aisément en laboratoire en utilisant des larves récoltées sur le terrain.

### "Et maintenant, que vais-je faire ?" (Gilbert Bécaud)

Vérifier l'hypothèse de l'effet indirect de la démoustication à une échelle significative reviendrait donc à ne retenir que quatre traits d'histoire de vie : la densité larvaire, la sex-ratio, la structure de poids à l'émergence et la fécondité. Le protocole d'une telle étude, délibérément simplifié, pourrait ainsi s'articuler en deux parties :

D'une part, l'étude de l'émergence : des cages sont placées sur des gîtes en zones démoustiquée et non démoustiquée à raison d'une seule cage par gîte. Toutefois, en zone démoustiquée, afin d'estimer l'effet de la réduction de la densité sur la sex-ratio et la structure de poids à l'émergence, une cage témoin est positionnée avant le traitement et une autre après le

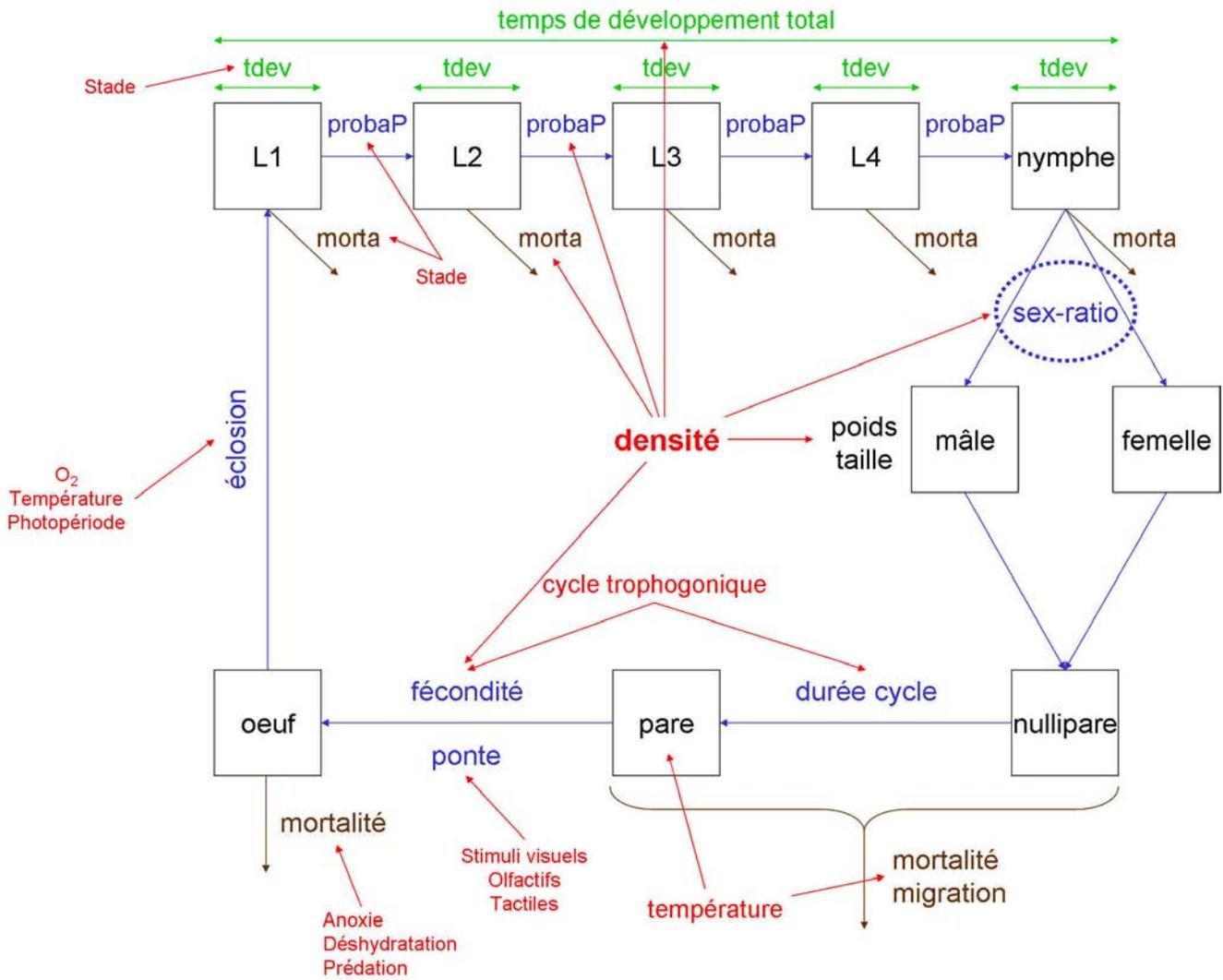
traitement. La densité larvaire  $y$  est estimée par coup de plateau (voir chapitres IV.2 et IV.3). Les adultes sont collectés quotidiennement, sexés et pesés.

D'autre part, l'estimation de la fécondité : réalisée par échantillonnages larvaires sur les gîtes où le suivi d'émergence aura lieu, à raison d'un unique prélèvement par gîte mais de manière à obtenir au moins une centaine de femelles en laboratoire. Ces larves, prélevées avant les traitements, sont élevées en laboratoire à leurs densités d'origine. La fécondité est estimée sur le premier cycle trophogonique selon le protocole utilisée dans le chapitre V.1.

Plusieurs gîtes seront suivis dans les deux zones jusqu'à l'obtention d'un nombre de réplicats suffisants (au minimum 10). Cette approche permet d'obtenir des données suffisamment détaillées tout en allégeant le protocole par un étalement des mesures dans le temps. Les données ainsi obtenues permettront de comparer les traits estimés entre les deux zones, de vérifier l'effet de la réduction de la densité sur ces traits et de calculer le taux net de reproduction  $R_0$  et la capacité de croissance  $r_c$  en chacun des gîtes étudiés et pour chacune des deux zones.

### Un dernier mot

L'ensemble de ces travaux a permis d'établir une hypothèse réfutable d'explication de l'observation de densités larvaires fortes en zone démoustiquée malgré près de cinquante années d'intervention antilarvaire et d'étayer la proposition d'un protocole adapté à l'échelle opérationnelle destiné à la tester. La démarche proposée s'inscrit donc bien dans l'approche hypothético-déductive appliquée dans la science moderne. François Jacob dans son ouvrage "Le jeu des possibles" (1981) explique que "Le début de la science moderne date du moment où aux questions générales se sont substituées des questions limitées ; où au lieu de demander : "Comment l'univers a-t-il été créé ? De quoi est faite la matière ? Quelle est l'essence de la vie ?", on a commencé à se demander : "Comment tombe une pierre ? Comment l'eau coule-t-elle dans un tube ? Quel est le cours du sang dans le corps ?". Ce changement a eu un résultat surprenant. Alors que les questions générales ne recevaient que des réponses limitées, les questions limitées se trouvèrent conduire à des réponses de plus en plus générales." Ainsi, bien que réduite à l'impact de la démoustication sur la démographie des populations d'*Ae. caspius*, la question pourra peut-être amener à des réponses plus générales sur la survie, la conservation des espèces et plus globalement sur les mécanismes qui sous-tendent l'évolution des populations.



**Figure 6-4 :** Schématisation du cycle de vie d'*Ae. caspius*. Les flèches rouges représentent les facteurs qui influent sur les traits d'histoire de vie.



# Références bibliographiques

*Les historiens expliquent souvent que pour prédire le futur, il faut connaître le passé.*

Jean-Antoine Rioux

Changements climatiques, maladies infectieuses et allergiques, 2003



## Références bibliographiques

### A

- Abdel-Rahman A. et Adham F.** (1983) The effect of photoperiod on diapause induction in *Aedes caspius* Pallas (Diptera: Culicidae). *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* **13** (2) : 343-347.
- Addison D.S., Ritchie S.A., Webber L.A. et Van Essen F.** (1992) Eggshells as an index of Aedine mosquito production 2: relationship of *Aedes taeniorhynchus* eggshell density to larval production. *Journal of the American Mosquito Control Association* **8** (1) : 38-43.
- Adham F.** (1979) Studies on laboratory oviposition behaviour of *Aedes caspius* (Diptera, Culicidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca* **76** : 99-103.
- Afrane Y., Lawson B., Githeko A. et Yan G.** (2005) Effects of microclimatic changes caused by land use and land cover on duration of gonotrophic cycles of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) in western Kenya highlands. *Journal of Medical Entomology* **42** (6) : 974-980.
- Agnew P., Bedhomme S., Haussy C. et Michalakis Y.** (1999) Age and size at maturity of the mosquito *Culex pipiens* infected by the microsporidian parasite *Vavraia culicis*. *Proceedings of the Royal Society of London B* **266** : 947-952.
- Agnew P., Haussy C. et Michalakis Y.** (2000) Effects of density and larval competition on selected life history traits of *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **37** (5) : 732-735.
- Agnew P., Hide M., Sidobre C. et Michalakis Y.** (2002) A minimalist approach to the effects of density-dependent competition on insect life-history traits. *Ecological Entomology* **27** : 396-402.
- Agnew P., Berticat C., Bedhomme S., Sidobre C. et Michalakis Y.** (2004) Parasitism increases and decreases the costs of insecticide resistance in mosquitoes. *Evolution* **58** (3) : 579-586.
- Aigbodion F. et Okaka C.** (2001) Influence of larval diet and population density on pre-adult developmental rate of laboratory populations of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Tropical Freshwater Biology* **10** : 1-8.
- Akhmetbekova R., Dubitskii A. et Childibaev D.** (1982) [The role of aquatic arthropods in reducing the abundance of mass species of blood-sucking flies in the arid zone of Kazakhstan] (En russe). *Parazitologiya* **16** (3) : 246-248.
- Akhter R., Hayes C., Baqar S. et Reisen W.** (1982) West Nile virus in Pakistan. III. Comparative vector capability of *Culex tritaeniorhynchus* and eight other species of mosquitoes. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **76** (4) : 449-453.
- Alikhanov S.** (1973a) [Effect of the microsporidian *Thelohania opacita* Kudo, 1922 on the growth and development of larvae of the mosquito *Aedes caspius caspius* Pall. from natural populations] (En russe). *Parazitologiya* **7** (5) : 389-391.

- Alikhanov S.** (1973b) [Modification du sex-ratio chez le moustique *Aedes caspius caspius* Pall. à la suite d'une infection des populations naturelles par la microsporidie *Thelohania opacita* Kudo, 1922] (En russe). *Parazitologiya* **7** (2) : 175-179.
- Alikhanov S.** (1979) [The effect of microsporidies on the fecundity of mosquitoes of *Aedes caspius caspius* (Culicidae)] (En russe). *Parazitologiya* **13** (3) : 263-264.
- Al-Khalili Y., Katbeh-Bader A. et Amr Z.** (2000) Distribution and ecology of mosquito larvae in Jordan (Diptera: Culicidae). *Studia Dipterologica* **7** (1) : 179-188.
- Anderson J.** (2005) Histopathology of intersexuality in mosquitoes. *Journal of Experimental Zoology* **165** : 475-495.
- Anderson J. et Horsfall W.** (1963) Thermal stress and anomalous development of mosquitoes (Diptera: Culicidae) I. Effect of constant temperature on dimorphism of adults of *Aedes stimulans*. *The Journal of Experimental Zoology* **154** (1) : 67-107.
- Andersson I. et Jaenson T.** (1987) Nectar feeding by mosquitoes in Sweden, with special reference to *Culex pipiens* and *Cx torrentium*. *Medical and Veterinary Entomology* **1** : 59-64.
- Andreasen M., Silver J. et Renshaw M.** (1997) Emergence pattern, size variation and reproductive biology of *Aedes rusticus* (Diptera: Culicidae) in England. *The Entomologist* **116** (3) : 153-162.
- Armbruster P. et Hutchinson R.** (2002) Pupal mass and wing length as indicators of fecundity in *Aedes albopictus* and *Aedes geniculatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **39** (4) : 699-704.
- Arnqvist G., Edvardsson M., Friberg U. et Nilsson T.** (2000) Sexual conflict promotes speciation in insects. *PNAS* **97** (19) : 10460-10464.

## B

- Badano E. et Regidor H.** (2002) Habitat selection for oviposition in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) through physical stimuli. *Ecologia Austral* **12** (2) : 129-134.
- Balenghien T.** (2006) De l'identification des vecteurs du virus *West Nile* a la modélisation du risque d'infection dans le sud de la France. *Thèse de doctorat*, Grenoble, Université des sciences des technologies et de la santé : 223 p.
- Balenghien T., Fouque F., Sabatier P. et Bicout D.J.** (2006) Horse-, bird-, and human-seeking behavior and seasonal abundance of mosquitoes in a West Nile virus focus of southern France. *Journal of Medical Entomology* **43** (5) : 936-946.
- Becker N.** (1989) Life strategies of mosquitoes as an adaptation to their habitats. *Bulletin of the Society of Vector Ecology* **14** (1) : 6-25.
- Becker N., Petric D., Zgomba M., Boase C., Dahl C., Lane J. et Kaiser A.** (2003) *Mosquitoes and their control*. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York : 498 p.

- Bedhomme S., Agnew P., Sidobre C. et Michalakis Y.** (2003) Sex-specific reaction norms to intraspecific larval competition in the mosquito *Aedes aegypti*. *Journal of Evolutionary Biology* **16** : 721-730.
- Bedhomme S., Agnew P., Sidobre C. et Michalakis Y.** (2004) Virulence reaction norms across a food gradient. *Proceedings of the Royal Society of London B* **271** : 739-744.
- Beklemishev W.** (1940) [Le cycle trophogonique, principe de base de la biologie d'Anophèles]. *Vop. Fiziol. Ekol. Malar.* **1** : 3.
- Bellini R., Veronesi R. et Rizzoli M.** (1994) Efficacy of various fish species (*Carassius auratus* (L.), *Cyprinus carpio* (L.), *Gambusia affinis* (Baird and Girard)) in the control of rice field mosquitoes in northern Italy. *Bulletin of the Society of Vector Ecology* **19** (2) : 87-99.
- Bergerard J.** (1972) Environmental and physiological control of sex determination and differentiation. *Annual Review of Entomology* **17** : 57-74.
- Birley M., Braverman Y. et Frish K.** (1984) Survival and blood-feeding rate of some *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) in Israel. *Environmental Entomology* **13** : 424-429.
- Birley M. et Rajagopalan P.** (1981) Estimation of the survival and biting rates of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **18** (3) : 181-186.
- Blackmore M. et Lord C.** (2000) The relationship between size and fecundity in *Aedes albopictus*. *Journal of Vector Ecology* **25** (2) : 212-217.
- Borkent A. et Grimaldi D.** (2004) The earliest fossil mosquito (Diptera: Culicidae), in mid-cretaceous burmese amber. *Annals of the Entomological Society of America* **97** (5) : 882-888.
- Box G. et Cox D.** (1964) An analysis of transformations. *Journal of the Royal Statistical Society* **B26** : 211-252.
- Bray J. et Maxwell S.** (1985) *Multivariate analysis of variance*. SAGE Publications, London : 80 p.
- Briegel H.** (1990) Metabolic relationship between females body size, reserves, and fecundity of *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology* **36** (3) : 165-172.
- Briegel H.** (2003) Physiological bases of mosquito ecology. *Journal of vector ecology* **28** (1) : 1-11.
- Briegel H. et Hörler E.** (1993) Multiple blood meals as a reproductive strategy in *Anopheles* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **30** (6) : 975-985.
- Briegel H., Waltert A. et Kuhn R.** (2001) Reproductive physiology of *Aedes (Aedimorphus) vexans* (Diptera: Culicidae) in relation to flight potential. *Journal of Medical Entomology* **38** (4) : 557-565.
- Broberg L. et Bradshaw W.** (1995) Density-dependent development in *Wyeomyia smithii* (Diptera: Culicidae): intraspecific competition is not the result of interference. *Annals of the Entomological Society of America* **88** (4) : 465-470.
- Buchatskii L. et Raikova A.** (1978) [A study of larvae of the mosquito *Aedes caspius caspius* infected with iridescent virus] (En russe). *Voprosy Virusol.* **3** : 366-369.

C

- Caceres F. et Ruiz S.** (2004) Distribucion de las puestas de *Ochlerotatus caspius* (Pallas) y *O. detritus* (Haliday) (Diptera: Culicidae) en ecosistemas de inundacion mareal en Huelva. *Bol. San. Veg. Plagas* **30** : 663-669.
- Cancrini G., Magi M., Gabrielli S., Arispici M. et Tolari F.** (2006) Natural vectors of dirofilariasis in rural and urban areas of the Tuscan region, central Italy. *Journal of Medical Entomology* **43** (3) : 574-579.
- Cao H., Zhang Y. et Qu F.** (1993) The mosquitoes and their geographical distribution in southern Xinjiang (Diptera: Culicidae). *Endemic Diseases Bulletin* **8** (2) : 48-53.
- Cardenas E., Ferro C., Corredor D., Martinez O. et Munstermann L.** (1999) Reproductive biology of *Lutzomyia shannoni* (Dyar) (Diptera: Psychodidae) under experimental conditions. *Journal of Vector Ecology* **24** (2) : 158-170.
- Carey J.R.** (2001) Insect Biodemography. *Annual Review of Entomology* **46** : 79-110.
- Carron A., Duchet C., Gaven B. et Lagneau C.** (2003) An easy field method for estimating the abundance of culicid larval instars. *Journal of the American Mosquito Control Association* **19** (4) : 353-360.
- Casanova C. et Do Prado A.** (2002) Key-factor analysis of immature stages of *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae) populations in southeastern Brazil. *Bulletin of Entomological Research* **92** : 271-277.
- Caswell H.** (2001) *Matrix population models. Construction, analysis, and interpretation*. Sinauer, Sunderland, USA : 722 p.
- Catangui F.** (1971) Studies on the gonotrophic cycle of *Anopheles minimus flavirostris* and the application of physiological age grading technique on the same species. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine Publication Health* **2** (3) : 384-392.
- Cézilly F.** (2006) *Le paradoxe de l'hippocampe. Une histoire naturelle de la monogamie*. Buchet / Chastel, Paris, France : 328 p.
- Chadee D.** (1999) Laboratory studies of diel oviposition, fecundity, survival, and gonotrophic cycles of *Anopheles bellator* Dyar and Knab in Trinidad, West Indies. *Journal of Vector Ecology* **24** (1) : 83-90.
- Chadee D., Beier J. et Mohammed R.** (1998) Laboratory studies of diel oviposition, fecundity, survival, and gonotrophic cycles in *Anopheles homunculus*. *Journal of the American Mosquito Control Association* **14** (2) : 153-158.
- Charlwood J., Birley M., Dagoro H., Paru R. et Holmes P.** (1985) Assessing survival rates of *Anopheles farauti* (Diptera: Culicidae) from Papua New Guinea. *Journal of Animal Ecology* **54** : 1003-1016.
- Chesnais J.** (2002) *La démographie*. Presses Universitaires de France, Paris : 127 p.
- Choisy M., Guégan J. et Rohani P.** (2006) Dynamics of infectious diseases and pulse vaccination: teasing apart the embedded resonance effects. *Physica D* **223** : 26-35.

**Cianchi R., Urbanelli S., Sabatini A., Coluzzi M., Tordi M. et Bullini L.** (1980) Due entità riproduttivamente isolate sotto il nome di *Aedes caspius* (Diptera, Culicidae). *Atti XII Congr. naz. ital. Entomol.* **2** : 269-272.

**Clements A.** (1992) *The biology of mosquitoes. Volume 1 Development, nutrition and reproduction.* Chapman & Hall, London : 509 p.

**Clements A.** (1999) *The biology of mosquitoes. Volume 2 Sensory reception and behaviour.* CABI Publishing, New York : 740 p.

**Crans W.** (2004) A classification system for mosquito life cycles: life cycle types for mosquitoes of north eastern United States. *Journal of Vector Ecology* **29** (1) : 1-10.

**Crawley M.** (2002) *Statistical computing. An introduction to data analysis using S-plus.* Wiley J. & Sons, Chichester, England : 761 p.

**Cuvier G.** (1812) *Recherches sur les ossements fossiles de quadrupèdes. Discours préliminaire.* Edition 1992, Flammarion, Paris : 189 p.

## D

**Dabrowska-Prot E.** (1979) Mosquitoes - The components of aquatic and terrestrial ecosystems. *Polish Ecological Study* **5** (1) : 5-88.

**Danks H. et Corbet P.** (1973) Sex ratios at emergence of two species of high-artic *Aedes* (Diptera: Culicidae). *Canadian Entomologist* **105** : 647-651.

**Darwin C.** (1859) *L'origine des espèces.* Edition 1992, Flammarion, Paris : 604 p.

**David P. et Samadi S.** (2000) *La théorie de l'évolution. Une logique pour la biologie.* Flammarion, Paris : 312 p.

**Davidson G.** (1954) Estimation of the survival-rate of anopheline mosquitoes in nature. *Nature* **174** : 792-793.

**Dawkins R.** (1976) *Le gène égoïste.* Edition 1996, Odile Jacob, Paris : 459 p.

**Debussche M., Grandjanny M., Debussche G., Mus M., Torres N. et Fraga Arguimbau P.** (1997) Ecologia de una especie endemica en medio insular: *Cyclamen balearicum* Willk. en las Islas Baleares. *Anales Jard. Bot. Madrid* **55** (1) : 31-48.

**Dégallier N.** (1979) Le cycle gonotrophique de *Culex portesi* Sénevet et Abonnenc en Guyane française. *Cahier O.R.S.T.O.M., série Entomologie médicale et Parasitologie* **17** (1) : 13-17.

**Dégallier N., Diemer J. et Hervé J.** (1983) Bioécologie d'*Aedes (Aedimorphus) vittatus* (Bigot) en République centrafricaine. Le cycle trophogonique. *Cahier O.R.S.T.O.M., série Entomologie médicale et Parasitologie* **21** (2) : 91-96.

**Delgado N.** (1998) Parametros demograficos de las fases inmaduras de *Anopheles aquasalis* Curry 1932 (Diptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio. *Boletin de Entomologia Venezolana* **13** (1) : 27-43.

**Detinova T.** (1963) *Méthode à appliquer pour classer par groupes d'âge les diptères présentant une importance médicale notamment certains vecteurs du paludisme*. Organisation Mondiale de la Santé, Genève : 220 p.

**Dubitskii A.** (1978) [*Biological control of bloodsucking flies in the USSR*] (En russe). Alma Ata, Nauka : 267 p.

**Duhrkopf R.E. et Benny H.** (1990) Differences in the larval alarm reaction in populations of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association* **6** (3) : 411-414.

**Duron O. et Weill M.** (2006) *Wolbachia* infection influences the development of *Culex pipiens* embryo in incompatible crosses. *Heredity* **96** : 493-500.

## E

**Edwards F.** (1920) Mosquito notes. *Bulletin of Entomological Research* **10** : 129-137.

**EID** (1980) Rapport d'activité. EID Méditerranée, Montpellier : 27-28.

**Elizondo-Quiroga A., Flores-Suarez A., Elizondo-Quiroga D., Ponce-Garcia G., Blivich B., Contreras-Cordero J., Gonzalez-Rojas J., Mercado-Hernandez R., Beaty B. et Fernandez-Salas I.** (2006) Gonotrophic cycle and survivorship of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) using sticky ovitraps in Monterrey, northeastern Mexico. *Journal of the American Mosquito Control Association* **22** (1) : 10-14.

**Encyclopedia Universalis** (1999) *Dictionnaire de l'écologie*. Albin Michel, Paris.

**Etienne M.** (2006) Etude de la bioécologie d'*Aedes aegypti* à la Martinique en relation avec l'épidémiologie de la dengue. *Thèse de doctorat*, Montpellier, Montpellier I : 313 p.

## F

**Faraj C., Elkohli M. et Lyagoubi M.** (2006) Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* **99** (2) : 119-121.

**Fisher R.** (1930) *The genetical theory of Natural Selection*. University Press, Oxford.

**Fox A. et Brust R.** (1994) How do dilatations form in mosquito ovarioles? *Parasitology Today* **10** (1) : 19-23.

**Franquet E., Metge G., Vigo G., Lagneau C. et Courtesol C.** (2002) Distribution spatiale des pontes d'*Aedes (Ochlerotatus) caspius* (Pallas) (Diptera : Culicidae) dans un marais temporaire de littoral méditerranéen français. *Annales de Limnologie* **38** (2) : 163-170.

**Frese M., Weeber M., Weber F., Speth V. et Haller O.** (1997) Mx1 sensitivity: Bakten virus is an orthomyxovirus closely related to Dhori virus. *Journal of General Virology* **78** (10) : 2453-2458.

**Fyodorova M., Savage H., Lopatina J., Bulgakova T., Ivanitsky A., Platonova O. et Platonov A.** (2006) Evaluation of potential West Nile virus vector in Volgograd region, Russia, 2003 (Diptera: Culicidae): species composition, bloodmeal host utilization, and virus infection rates of mosquitoes. *Journal of Medical Entomology* **43** (3) : 552-563.

G

- Gabinaud A.** (1975) Ecologie de deux *Aedes* halophiles du littoral méditerranéen français *Aedes* (*Ochlerotatus*) *caspius* (Pallas, 1771) *Aedes* (*Ochlerotatus*) *detritus* (Haliday, 1833) (Nematocera - Culicidae). Utilisation de la végétation comme indicateur biotique pour l'établissement d'une carte écologique. Application en dynamique des populations. *Thèse de doctorat*, Montpellier, Université des Sciences et Techniques du Languedoc : 465 p.
- Gabinaud A., Croset H., Cousserans J. et Rioux J.-A.** (1975) Ecologie de deux *Aedes* halophiles, *Aedes* (*O.*) *caspius* (Pallas, 1771) et *Aedes* (*O.*) *detritus* (Haliday, 1833) dans le midi de la France. I. Structure chorionique et critères d'identification des deux espèces au stade oeuf. *Annales de Parasitologie* **50** (1) : 123-130.
- Gad A., Hammad R. et Farid H.** (1996) Uptake and development of *Wuchereria bancrofti* in *Culex pipiens* L. and *Aedes caspius* Pallas. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* **26** (2) : 305-314.
- Gama R., Alves K.d.C., Martins R., Eiras A. et Resende M.** (2005) [effect of larval density on adult size of *Aedes aegypti* reared under laboratory conditions.]. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **38** (1) : 64-66.
- Garcia R., Des Rochers B et Tozer W.** (1982) Distribution and abundance of *Aedes* spp. in flooded fields at Gray Lodge Wildlife refuge. *MCR* : 98-99.
- Germain M., Hervé J. et Geoffroy B.** (1977) Variation du taux de survie des femelles d'*Aedes africanus* (Theobald) dans une galerie forestière du sud de l'Empire Centrafricain. *Cahier O.R.S.T.O.M., série Entomologie médicale et Parasitologie*. **15** (4) : 291-299.
- Giglioli M.** (1965) The problem of age determination in *Anopheles melas* Theo. 1903, by Polovodova's method. *Cahiers ORSTOM Entomologie Médicale* (3-4) : 157-177.
- Gillett J.** (1971) *Mosquitos*. Weidenfeld and Nicolson, London : 274 p.
- Godfray H. et Werren J.** (1996) Recent developments in sex ratio studies. *TREE* **71** (2) : 59-63.
- Gottfried K., Gerhardt R., Nasci R., Crabtree M., Karabatsos N., Burkhalter K., Davis B., Panella N. et Paulson D.** (2002) Temporal abundance, parity, survival rates, and arbovirus isolation of field-collected container inhabiting mosquitoes in eastern Tennessee. *Journal of the American Mosquito Control Association* **18** (3) : 164-172.
- Gould S. et Lewontin R.** (1979) The spandrels of San Marco and the panglossian paradigm: a critique of the adaptationist programme. **B** **205** : 581-598.
- Gozhenko V. et Titova L.** (1981) [Contribution to the study of the food of larvae of blood-sucking mosquitoes (Culicidae)] (En russe). *Parazitologiya* **15** (3) : 265-269.
- Gozhenko V. et Titova L.** (1982) [The influence of ecological factors on the sex ratio in certain species of mosquitoes] (en Russe). *Ekologiya* **5** : 85-88.

**Graham D., Holmes J. et Black W.** (2004) IV. Identification of quantitative trait loci affecting sex determination in the eastern treehole mosquito (*Ochlerotatus triseriatus*). *Journal of Heredity* **95** (1) : 35-45.

**Greeff J. et Taylor P.** (1997) Effects of inbreeding depression on relatedness and optimal sex ratios. *Evolutionary Ecology* **11** : 245-247.

**Gros O., Saillard C., Helias C., Le Goff F., Marjolet M., Bové J. et Chastel C.** (1996) Serological and molecular characterization of *Mesoplasma seoffertii* strains isolated from hematophagous dipterans in France. *International Journal of Systematic Bacteriology* **46** (1) : 112-115.

**Guilvard E.** (1983) Le complexe *Aedes (Ochlerotatus) detritus* (Haliday, 1833) en Camargue. Contribution à l'étude écophysiologique de l'autogenèse dans l'espèce *A.* *Thèse de doctorat*, Montpellier, Université des sciences et techniques du Languedoc : 252 p.

## H

**Hajkova Z.** (1966) A study on gonotrophic cycles of the mosquito *Aedes vexans* Meig. in South Moravia. *Folia Parasitologica* **13** : 361-370.

**Handaq N. et Boumezzough A.** (1999) *Aedes caspius* dans le sud-ouest marocain : impact de l'aridité sur la dynamique des populations préimaginales (Diptera, Culicidae). *Bulletin de la Société entomologique de France* **104** (2) : 183-191.

**Haramis L. et Foster W.** (1990) Gonotrophic cycle duration, population age structure, and onset of sugar feeding and insemination of *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **27** (4) : 421-428.

**Hawley W.** (1985) The effect of larval density on adult longevity of a mosquito, *Aedes sierrensis*: epidemiological consequences. *Journal of Animal Ecology* **54** : 955-964.

**Hervé J., Sa Filho G., Travassos Da Rosa A. et Dégallier N.** (1985) Bio-écologie d'*Haemagogus (Haemagogus) janthinomys* Dyar au Brésil. Etablissement du cycle gonotrophique en laboratoire et estimation du taux de survie. *Cahier O.R.S.T.O.M., série Entomologie médicale et Parasitologie* **23** (3) : 203-208.

**Hickey W.** (1970) Factors influencing the distortion of sex ratio in *Aedes aegypti*. *Journal of Medical Entomology* **7** (6) : 727-735.

**Hocking B.** (1953) Notes on the activities of *Aedes* larvae. *Mosquito News* **13** (2) : 77-81.

**Hoek P., Ramberg F., Merrill S., Moll C. et Hagedorn H.** (2003) Population and parity levels of *Aedes aegypti* collected in Tucson. *Journal of Vector Ecology* **28** (1) : 65-73.

**Horsfall W. et Anderson J.** (1961) Suppression of male characteristics of mosquitoes by thermal means. *Science* **133** (3467) : 1830.

I

**Isaeva N.** (1977) [*Aedes caspius* Pall. (Culicidae) as a new host of *Culicimermis schakhovii* (Nematoda, Mermithidae)] (En russe). *Vest. Zool.* **6** : 88-89.

J

**Jacob F.** (1970) *La logique du vivant. Une histoire de l'hérédité*. Gallimard, Paris : 354 p.

**JME-Editors** (2005) Journal policy on names of Aedine mosquito genera and subgenera. *Journal of Medical Entomology* **42** (5) : 511.

**Jonzén N. et Lundberg P.** (1999) Temporally structured density-dependence and population management. *Annales Zoologici Fennici* **36** : 39-44.

**Joubert L., Oudar J., Mouchet J. et Hannoun C.** (1967) Transmission de la myxomatose par les moustiques en Camargue. Rôle prééminent de *Aedes caspius* et des Anopheles du groupe *maculipennis*. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire* **40** : 315-322.

**Juminer B., Kchouk M., Rioux J-A et Ben Osman F.** (1964) A propos des culicidés vulnérants de la banlieue littorale de Tunis. *Extrait des archives de l'Institut Pasteur de Tunis* **41** : 23-32.

K

**Kelly A., Hatcher M. et Dunn A.** (2004) Intersexuality in the amphipod *Gammarus duebeni* results from incomplete feminisation by the vertically transmitted parasitic sex ratio distorter *Nosema granulosis*. *Evolutionary Ecology* **18** (2) : 121-132.

**Kiflawi M., Blaustein L. et Mangel M.** (2003) Predation-dependent oviposition habitat selection by the mosquito *Culiseta longiareolata*: a test of competing hypotheses. *Ecology Letters* **6** (1) : 34-40.

**Kilochitskii P.** (1997) Two new microsporidian genera: *Aedispora* gen. n. (Culicosporida, Culicosporidae) and *Krishtalia* gen. n. (Culicosporida, Golbergiidae) of blood sucking mosquitoes from the Ukraine. *Vestnik Zoologii* **31** (5/6) : 15-23.

**Klowden M. et Chambers G.** (1991) Male accessory gland substances activate egg development in nutritionally stressed *Aedes aegypti* mosquitoes. *Journal of Insect Physiology* **37** (10) : 721-726.

**Klowden M. et Chambers G.** (1992) Reproductive and metabolic differences between *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **29** (3) : 467-471.

**Klowden M. et Russell R.** (2004) Mating affects egg maturation in *Anopheles gambiae* Giles (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology* **29** (1) : 135-139.

**Koenraadt C., Paaijmans K., Githeko A., Knols B. et Takken W.** (2003) Egg hatching, larval movement and larval survival of the malaria vector *Anopheles gambiae* in desiccating habitats. *Malaria Journal* **2** : 9.

**Kokko H. et Lindström J.** (1998) Seasonal density dependence, timing of mortality, and sustainable harvesting. *Ecological Modelling* **110** : 293-304.

**Krebs J. et Davies N.** (1997) *Behavioural ecology. An Evolutionary Approach*. Blackwell Science, Paris : 456 p.

**Kuhn T.** (1970) *La structure des révolutions scientifiques*. Edition 1983, Flammarion, Paris : 284 p.

## L

**Lambert M., Pasteur N., Rioux J-A, Delalbre-Belmonte A. et Balard Y.** (1990) *Aedes caspius* (Pallas, 1771) et *A. dorsalis* (Meigen, 1830) (Diptera : Culicidae). Analyse morphologique et génétique de deux populations sympatriques. Preuves de l'isolement reproductif. *Annales de la Société entomologique de France* **26** (3) : 381-398.

**Lang W.** (1920) *A handbook of British mosquitoes*. Londres : 125 p.

**Leblois R.** (2004) Estimation de paramètres démographiques à partir de données génétiques en populations subdivisées. *Thèse de doctorat*, Montpellier, Faculté des sciences : 181 p.

**Lehmann T., Dalton R., Kim E., Dahl E., Diabate A., Dabire R. et Dujardin J.** (2006) Genetic contribution to variation in larval development time, adult size, and longevity of starved adults of *Anopheles gambiae*. *Infection, Genetics and Evolution* **6** (5) : 410-416.

**Leturque H. et Rousset F.** (2003) Joint evolution of sex ratio and dispersal: conditions for higher dispersal rates from good habitats. *Evolutionary Ecology* **17** : 67-84.

**Lima J., Valle D. et Peixoto A.** (2004) Adaptation of a south American malaria vector to laboratory colonization suggest faster-male evolution for mating ability. *BMC Evolutionary Biology* **4** (12) :

**Lipton P.** (2005) Testing hypotheses: prediction and prejudice. *Science* **307** : 219-221.

**Lum P., Nayar J. et Provost M.** (1968) The pupation rhythm in *Aedes taeniorhynchus*. III. Factors in developmental synchrony. *Annals of the Entomological Society of America* **61** (4) : 889-899.

## M

**Malgras J.** (1996) Applications, à des données de la biologie des populations et de l'écologie, de méthodes d'analyse des séries temporelles. *Thèse de doctorat*, Lyon I, Université Claude-Bernard : 242 p.

**Manly B.** (1990) *Stage-structured populations. Sampling, analysis and simulation*. Chapman and Hall, London : 187 p.

**Manoukis N., Touré M., Sissoko I., Doumbia S., Traoré S., Diuk-Wasser M. et Taylor C.** (2006) Is vector body size the key to reduced Malaria transmission in the irrigated region of Niono, Mali? *Journal of Medical Entomology* **43** (5) : 820-827.

**Marjolet M.** (1977) Les culicidés des zones humides de Loire-Atlantique. Aspects écologiques et nuisances. *Thèse de doctorat*, Nantes, Université de Nantes : 180 p.

**Matile L.** (2000) *Les diptères d'Europe occidentale. Tome I. Introduction, techniques d'étude et morphologie. Nématocères, brachycères orthorrhaphes et aschizes*. Boubée, Paris : 439 p.

- Mauffette Y. et Jobin L.** (1985) Effects of density on the proportion of male and female pupae in Gyposy-moth populations. *Canadian Entomologist* **117** : 535-539.
- McDaniel I. et Horsfall W.** (1957) Induced copulation of Aedine mosquitoes. *Science* **125** : 745.
- Medlock J., Snow K. et Leach S.** (2006) Possible ecology and epidemiology of medically important mosquito-borne arboviruses in Great Britain. *Epidemiol. Infect.* : 1-17.
- Menge D., Guda T., Zhong D., Pai A., Zhou G., Beier J., Gouagna L. et Yan G.** (2005) Fitness consequences of *Anopheles gambiae* population hybridization. *Malaria Journal* **4** (44) : 1-7.
- Metge G. et Hassaine K.** (1998) Study of the environmental factors associated with oviposition by *Aedes caspius* et *Aedes detritus* along a transect in Algeria. *Journal of the American Mosquito Control Association* **14** (3) : 283-288.
- Mogi M.** (1984) Distribution and overcrowding effects in mosquito larvae (Diptera: Culicidae) inhabiting taro axils in the Ryukyus, Japan. *Journal of Medical Entomology* **21** (1) : 63-68.
- Mondet B.** (1993) Application de la méthode de Polovodova à la détermination de l'âge physiologique des *Aedes* (Diptera: Culicidae) vecteurs de fièvre jaune. *Annales de la Société Entomologique de France* **29** (1) : 61-76.
- Mondet B.** (1996) Epidémiologie des arboviroses : utilisation et intérêt de la détermination de l'âge physiologique des femelles de moustiques vecteurs. *Bulletin de la Société des Pathologies Exotiques* **89** : 155-160.
- Monod J.** (1970) *Le hasard et la nécessité. Essai sur la philosophie naturelle de la biologie moderne.* Editions du Seuil, Paris : 244 p.
- Moussiegt O.** (1988) *Aedes (Ochlerotatus) caspius (Pallas, 1771). Bibliographie.* EID Méditerranée, Montpellier : 55 p.
- Muse W., Kehinde T., Oloidi O., Sosan M. et Obuotor E.** (2002) Effect of some pulverized plant extracts on oviposition hatching and development of larvae of *Aedes aegypti* (L.). *Environment and Ecology* **20** (4) : 810-817.

## N

- Nayar J.** (1967) The pupation rhythm in *Aedes taeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). II. Ontogenic timing, rate of development, and endogenous diurnal rhythm of pupation. *Annals of the Entomological Society of America* **60** (5) : 946-971.
- Ndiaye P., Bicout D., Mondet B. et Sabatier P.** (2006) Rainfall triggered dynamics of *Aedes* mosquito aggressiveness. *Journal of Theoretical Biology* **243** (2) : 222-229.
- Nekrasova L.** (2004) Experimental study on the effects of population density of bloodsucking mosquito (*Aedes communis* Deg.) larvae on their biological characteristics. *Russian Journal of ecology* **35** (3) : 194-199.
- Nielsen E. et Nielsen H.** (1958) Observation on mosquitoes in Iraq. *Ent. Meddelelser* **28** : 282-321.

O

**Oliver J. et Howard J.** (2005) Fecundity of naturally blood-fed *Ochlerotatus japonicus*. *Journal of Medical Entomology* **42** (3) : 254-259.

P

**Packer M. et Corbet P.** (1989) Seasonal emergence, host-seeking activity, age composition and reproductive biology of the mosquito *Aedes punctor*. *Ecological Entomology* **14** : 433-442.

**Pajot F.** (1976) Aspects physiologiques impliqués dans l'étude écologique des femelles d'*Aedes (Stegomyia) simpsoni* (Theobald, 1905) (Diptera, Culicidae) : âge physiologique, cycle gonotrophique, fécondité, longévité. *Cahier O.R.S.T.O.M., série Entomologie médicale et Parasitologie* **14** (4) : 271-291.

**Pallas P.** (1967) *Reise durch verschiedene provinzen des Russischen Reichs*. Akademische Druck-u Verlagsanstalt, Graz (Réédition).

**Pelletier F., Clutton-Brock T., Pemberton J., Tuljapurkar S. et Coulson T.** (2007) The evolutionary demography of ecological change: linking trait variation and population growth. *Science* **315** : 1571-1574.

**Pontius J., Boyer J. et Deaton M.** (1989) Estimation of stage transition time: application to entomological studies. *Annals of the Entomological Society of America* **82** (2) : 135-148.

**Porretta D., Bellini R. et Urbanelli S.** (2005) Characterization of microsatellite markers in the mosquito *Ochlerotatus caspius* (Diptera: Culicidae). *Molecular Ecology Notes* **5** : 48-50.

**Provost M. et Lum P.** (1967) The pupation rhythm in *Aedes taeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). I. Introduction. *Annals of the Entomological Society of America* **60** (1) : 138-149.

Q

**Quraishi M., Faghih M. et Esghi N.** (1966) Flight range, lengths of gonotrophic cycles, and longevity of 32-labeled *Anopheles stephensi mysorensis*. *Journal of Economic Entomology* **59** (1) : 50-55.

R

**R Development Core Team.** (2005) *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>

**Rajkumar S. et Jebanesan A.** (2004) Ovicidal activity of *Solanum trilobatum* L. (Solanaceae) leaf extract against *Culex quinquefasciatus* Say and *Culex tritaeniorhynchus* Giles (Diptera: Culicidae). *International Journal of Tropical Insect Science* **24** (4) : 340-342.

**Reisen W., Milby M. et Bock M.** (1984) The effects of immature stress on selected events in the life history of *Culex tarsalis*. *Mosquito News* **44** (3) : 385-395.

**Rejmankova E., Higashi R., Grieco J., Achee N. et Roberts D.** (2005) Volatile substances from larval habitats mediate species-specific oviposition in *Anopheles* mosquitoes. *Journal of Medical Entomology* **42** (2) : 95-103.

- Reinert J.** (2000) New classification for the composite genus *Aedes* (Diptera: Culicidae: Aedini), elevation of subgenus *Ochlerotatus* to generic rank, reclassification of the other subgenera, and notes on certain subgenera and species. *Journal of the American Mosquito Control Association* **16** (3) : 175-188.
- Reinert J. et Harbach R.** (2005) Generic changes affecting European aedine mosquitoes (Diptera: Culicidae: Aedini) with a checklist of species. *Env. Mosq. Bull.* **19** : 1-4.
- Reinert J., Harbach R. et Kitching I.** (2004) Phylogeny and classification of Aedini (Diptera: Culicidae), based on morphological characters of all life stages. *Zoological Journal of the Linnean Society* **142** : 289-368.
- Reisen W., Aslam Y. et Siddiqui T.** (1977) Observations on the swarming and mating of some Pakistan mosquitoes in nature. *Annals of the Entomological Society of America* **70** (6) : 988-995.
- Renshaw M., Service M. et Birley M.** (1993) Density-dependent regulation of *Aedes cantans* (Diptera: Culicidae) in natural and artificial populations. *Ecological Entomology* **18** : 223-233.
- Reynolds J. et Freckleton R.** (2005) Population dynamics: growing to extremes. *Science* **309** : 567-568.
- Reznick D.** (1985) Costs of reproduction: an evaluation of the empirical evidence. *Oikos* **44** : 257-267.
- Rioux J-A.** (1958) *Les culicides du "midi" méditerranéen*. Editions Paul Lechevalier, Paris : 303 p.
- Rioux J-A., Croset H., Corre J., Simonneau P. et Gras G.** (1968) Phyto-ecological basis of mosquito control: cartography of larval biotopes. *Mosquito News* **28** (4) : 572-582.
- Ritchie S.A. et Jennings C.D.** (1994) Dispersion and sampling of *Aedes vigilax* eggshells in southeast Queensland, Australia. *Journal of the American Mosquito Control Association* **10** (2) : 181-185.
- Roberts D.** (2001) Egg hatching of mosquitoes *Aedes caspius* and *Ae. vittatus* stimulated by water vibrations. *Medical and Veterinary Entomology* **15** (2) : 215.
- Robert L. et Olson J.** (1989) Effects of sublethal dosages of insecticides on *Culex quinquefasciatus*. *Journal of the American Mosquito Control Association* **5** (2) : 239-246.
- Roberts D.R. et Scanlon J.E.** (1979) Field studies on the population biology of immature stages of six woodland mosquito species in the Houston, Texas area. *Mosquito News* **39** (1) : 26-34.
- Roitberg B. et Gordon I.** (2005) Does the *Anopheles* blood meal - fecundity curve, curve? *Journal of Vector Ecology* **30** (1) : 83-86.
- Roubaud E. et Colas-Belcour J.** (1937) Nouvelles recherches sur l'évolution expérimentale de *Dirofilaria immitis* chez quelques culicides indigènes. *Bulletin de la Société des Pathologies Exotiques* **30** : 480-484.
- Rua G., Quinones M., Velez I., Zuluaga J., Rojas W., Poveda G. et Ruiz D.** (2005) Laboratory estimation of the effects of increasing temperatures on the duration of gonotrophic cycle of *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **100** (5) : 515-520.

**Russell R.** (1979) A study of the influence of some environmental factors on the development of *Anopheles annulipes* Walker and *Anopheles amictus hilli* Woodhill and Lee (Diptera: Culicidae). *General and Applied Entomology* **11** : 42-45.

## S

**Saleh M., Kelada N. et Abdeen M.** (1990) The delayed effects of *Bacillus thuringiensis* H-14 on the reproductive potential and subsequent larval development of the mosquito *Culex pipiens* L. *Journal of Applied Entomology* **109** (5) : 520-523.

**Salit A., Zakaria M., Balba M. et Zaghloul T.** (1994) The mosquito fauna in Kuwait. *Journal of the University of Kuwait, Science* **21** (1) : 77-85.

**Sautet J.** (1944) A propos d'une épidémie de paludisme en Camargue. *Mars méd.* **2** : 53-64.

**Schäfer M. et Lundström J.** (2006) Different responses of two floodwater mosquito species, *Aedes vexans* and *Ochlerotatus sticticus* (Diptera: Culicidae), to larval habitat drying. *Journal of Vector Ecology* **31** (1) : 123-128.

**Schaffner F., Angel G., Geoffroy B., Hervy J., Rhaïem A. et Brunhes J.** (2001) The mosquitoes of Europe. Identification and training program. *IRD Editions, Montpellier, France (CD-Rom)* :

**Schneider J., Morrison A., Astete H., Scott T. et Wilson M.** (2004) Adult size and distribution of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) associated with larval habitats in Iquitos, Peru. *Journal of Medical Entomology* **41** (4) : 634-642.

**Séguy E.** (1923) *Histoire naturelle des moustiques de France. Etude systématique et biologique des moustiques de l'Europe centrale et septentrionale et de leurs parasites.* Lechevalier, Paris : 225 p.

**Service M.W.** (1968) The ecology of the immature stages of *Aedes detritus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Applied Ecology* **5** : 613-630.

**Service M.W.** (1972) Techniques used in studying the population dynamics of *Aedes cantans* (Meigen) (Diptera: Culicidae). *Wiadomosci parazytologiczne* **18** (4) : 783-787.

**Service M.** (1986) The biology of *Aedes caspius* (Pallas) and *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) in Dubai. *Insect Science and its Application* **7** (1) : 11-18.

**Service M.W.** (1993) *Mosquito ecology. Field sampling methods.* Chapman and Hall, London : 988 p.

**Shelton R.** (1972) The effects of blood source and quantity on production of eggs by *Culex salinarius* Coquillett (Diptera: Culicidae). *Mosquito News* **32** (1) : 31-37.

**Shililu J., Grueber W., Mbogo C., Githure J., Riddiford L. et Beier J.** (2004) Development and survival of *Anopheles gambiae* eggs in drying soil: influence of the rate of drying, egg age, and soil type. *Journal of the American Mosquito Control Association* **20** (3) : 243-247.

**Sibly R., Barker D., Denham M., Hone J. et Pagel M.** (2005) On the regulation of populations of mammals, birds, fish, and insects. *Science* **309** : 607-610.

**Siegel S. et Castellan N.** (1988) *Nonparametric statistics for the behavioral sciences.* Singapore : 399 p.

- Sinègre G.** (1974) Contribution à l'étude physiologique d'*Aedes (Ochlerotatus) caspius* (Pallas, 1771) (Nematocera - Culicidae). Eclosion - Dormance - Développement - Fertilité. *Thèse de doctorat*, Montpellier, Université des Sciences et Techniques du Languedoc : 285 p.
- Sinègre G., Rioux J-A. et Salgado J.** (1979) *Fascicule de détermination des principales espèces de moustiques du littoral méditerranéen français*. Document EID, Montpellier : 18 p.
- Sinègre G.** (1981) 3. Induction photopériodique de la diapause embryonnaire chez un culicide commun dans le sud de la France : *Aedes (O.) caspius* (Pallas, 1771). *Bulletin de la Société d'Ecophysiologie* **6** (1-2) : 113-117.
- Snow K.** (1987) Seasonal emergence patterns and sex ratios of *Aedes punctator* and *Aedes cantans* (Diptera: Culicidae) in southern England. *Entomologist's Gazette* **38** : 253-262.
- Southwood T. et Henderson P.** (2000) *Ecological methods*. Blackwell Science, Oxford : 575 p.
- Suguna S. et Curtis C.** (1974) Sex ratio distorter strains in *Aedes aegypti*. *J. Com. Dis.* **6** (2) : 102-105.
- Sweeny T. et Barr A.** (1978) Sex ratio distortion caused by meiotic drive in a mosquito, *Culex pipiens* L. *Genetics* **88** : 427-446.
- T**
- Takamura K.** (1996) Changes in sex ratio of chironomid imagines from rice field waters. *Archiv fuer Hydrobiologie* **135** (3) : 413-421.
- Takken W., Klowden M. et Chambers G.** (1998) Effect of body size on host seeking and blood meal utilization in *Anopheles gambiae* sensu stricto (Diptera: Culicidae): the disadvantage of being small. *Journal of Medical Entomology* **35** (5) : 639-645.
- Tamarina N. et Aleksandrova K.** (1977) [Particularité biologiques et élevage au laboratoire du moustique *Aedes caspius caspius* (Culicidae)] (en Russe). *Parazitologija* **11** (2) : 184-186.
- Tampieri M., Cancrini G., Frangipane di Regalbono A., Galuppi R. et Pietrobelli M.** (1997) *Coelomomyces psorophorae* var. *psorophorae* (Phycomycetes : Blastocladales) in *Aedes caspius* (Diptera : Culicidae) in north eastern Italy. *Parasite* **4** (4) : 383-385.
- Thiery I., Hamon S., Gaven B. et De Barjac H.** (1992) Host range of *Clostridium bifermentans* serovar. *malaysia*, a mosquitocidal anaerobic bacterium. *Journal of the American Mosquito Control Association* **8** (3) : 272-277.
- Tour S., Rioux J-A. et Croset H.** (1971) Systématique et écologie des microsporidies (Microsporidia - Nosematidae) parasites de larves de Culicidae (Diptera, Culicidae). Enquête sur les espèces du Midi méditerranéen. *Stempellia tuzetae* n.sp. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* **46** (3) : 205-223.
- Turchin P.** (2003) *Complex population dynamics. A theoretical / empirical synthesis*. Princeton University Press, Princeton, NJ : 450 p.

**Turell M., Presley S., Gad A., Cope S., Dohm D., Morrill J. et Arthur R.** (1996) Vector competence of Egyptian mosquitoes for Rift Valley fever virus. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **54** (2) : 136-139.

## V

**Van Den Heuvel M.** (1963) The effect of rearing temperature on the wing length thorax length, leg length and ovariole number of the adult mosquito, *Aedes aegypti* (L.). *Transactions of the Royal Entomological Society of London* **115** (7) : 197-216.

**Vasuki V.** (1993) Sublethal effects of hexaflumuron, an IGR on developmental duration and sex-ratio of three vector mosquitoes. *Tropical Biomedicine* **10** : 9-14.

**Vigo G.** (1974) Contribution à l'étude des substrats des aires culicidogènes du littoral Languedoc-Roussillon. *Thèse de doctorat*, Montpellier, Université des Sciences et Techniques du Languedoc : 325 p.

**Vinograd I. et Obukhova V.** (1975) [Isolation of arboviruses from birds in western Ukraine] (en Russe). *Sbornik Trudov Institutita Virusologii (Moskva)* **3** : 84-87.

**Vinogradova E.** (2000) *Culex pipiens pipiens mosquitoes: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control*. Pensoft, Sofia, Bulgaria : 250 p.

**Visintin A., Almiron W. et Luduena Almeida F.** (2004) Fecundity of *Ochlerotatus albifasciatus* from Cordoba, Argentina. *Journal of the American Mosquito Control Association* **20** (4) : 357-364.

## W

**Weill M., Berthomieu A., Berticat C., Lutfalla G., Nègre V., Pasteur N., Philips A., Leonetti J., Fort P. et Raymond M.** (2004) Insecticide resistance: a silent base prediction. *Current Biology* **14** (14) : 2.

**Wesenberg-Lund C.** (1920-1921) *Contribution to the biology of the Danish Culicidae*. Kgl. Danske Vid. Selsk. Skr. Nat. Mat. Afd., : 210 p.

**Willis F. et Nasci R.** (1994) *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) population density and structure in southwest Louisiana. *Journal of Medical Entomology* **31** (4) : 594-599.

**Woke P., Ally M. et Rosenberg C.** (1956) The numbers of eggs developed related to the quantities of human blood ingested in *Aedes aegypti* (L.). *Annals of the Entomological Society of America* **49** : 435-441.

## Y

**Yu H.** (1999) Notes on blood-sucking diptera in Quinghai oil field. 1. Pestiferous mosquito. *Acto Parasitologica et Medica Entomologica Sinica* **6** (3) : 184.

## Z

**Zar J.** (1999) *Biostatistical analysis*. Upper Saddle River, New Jersey : 663 p.

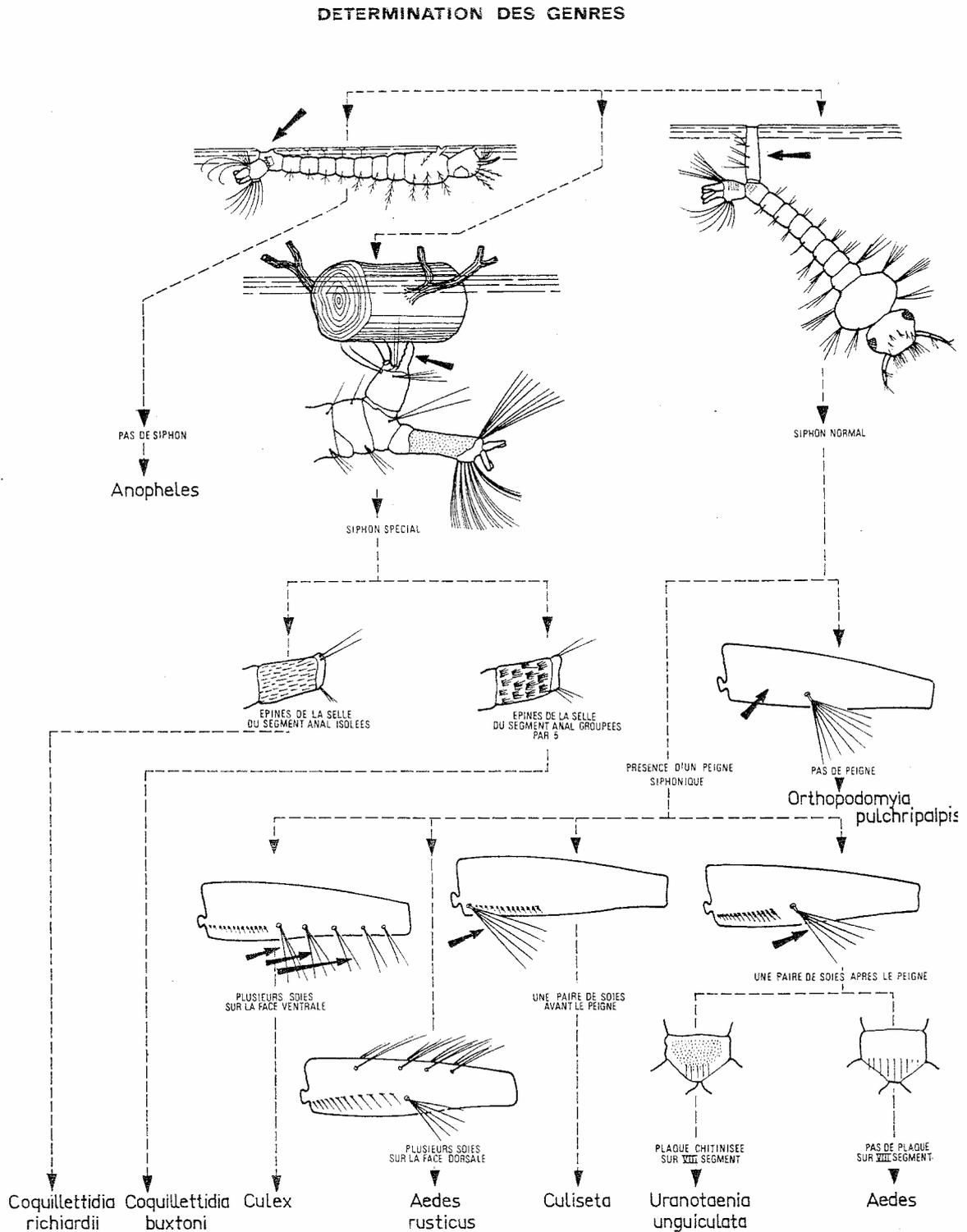
# Annexes

*Live as if you were to die tomorrow. Learn as if you were to live forever.*

Mahatma Gandhi

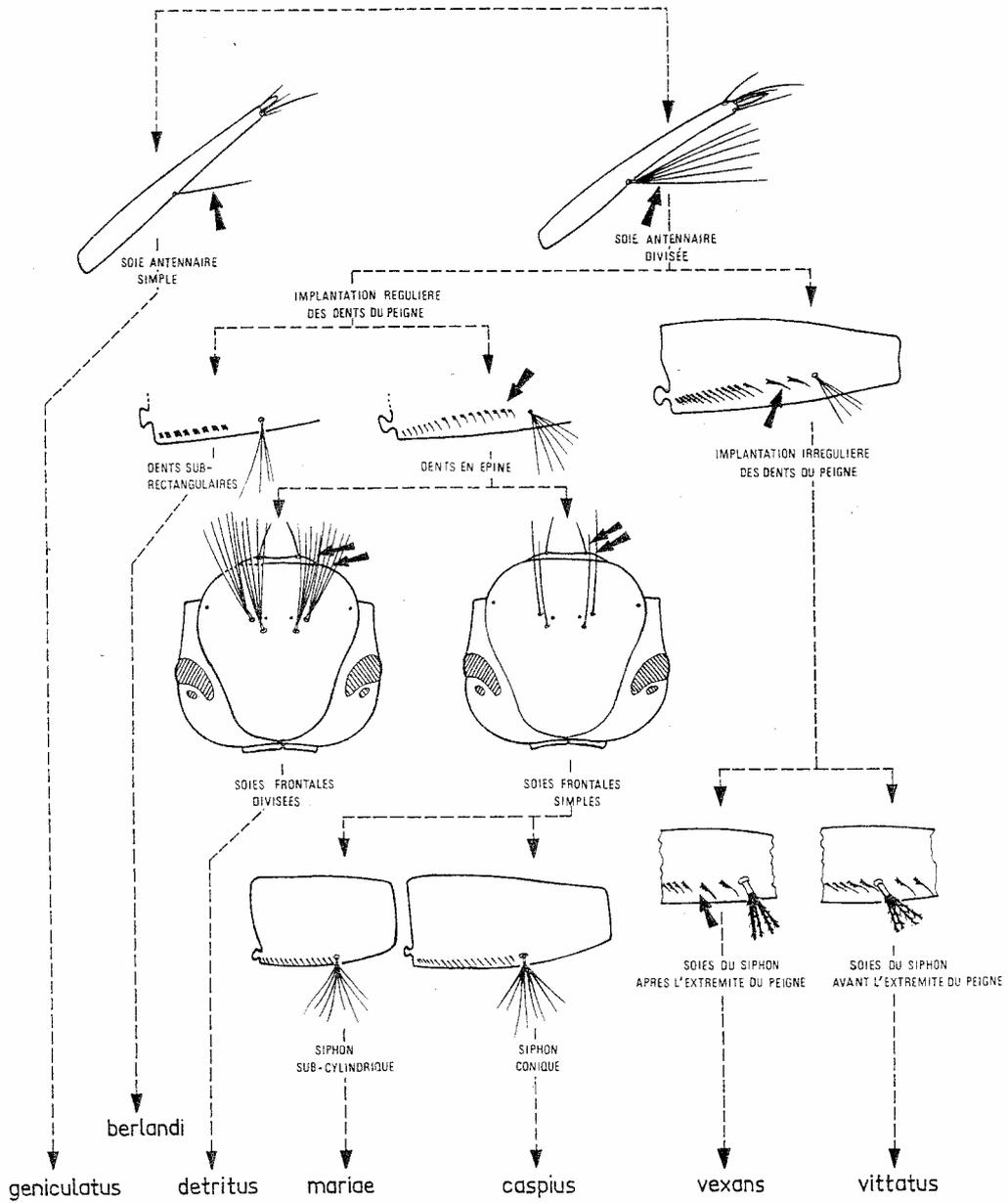


**Annexe I-1 : Clé de détermination des larves des principales espèces de moustiques du littoral méditerranéen français. D'après Sinègre (1979).**

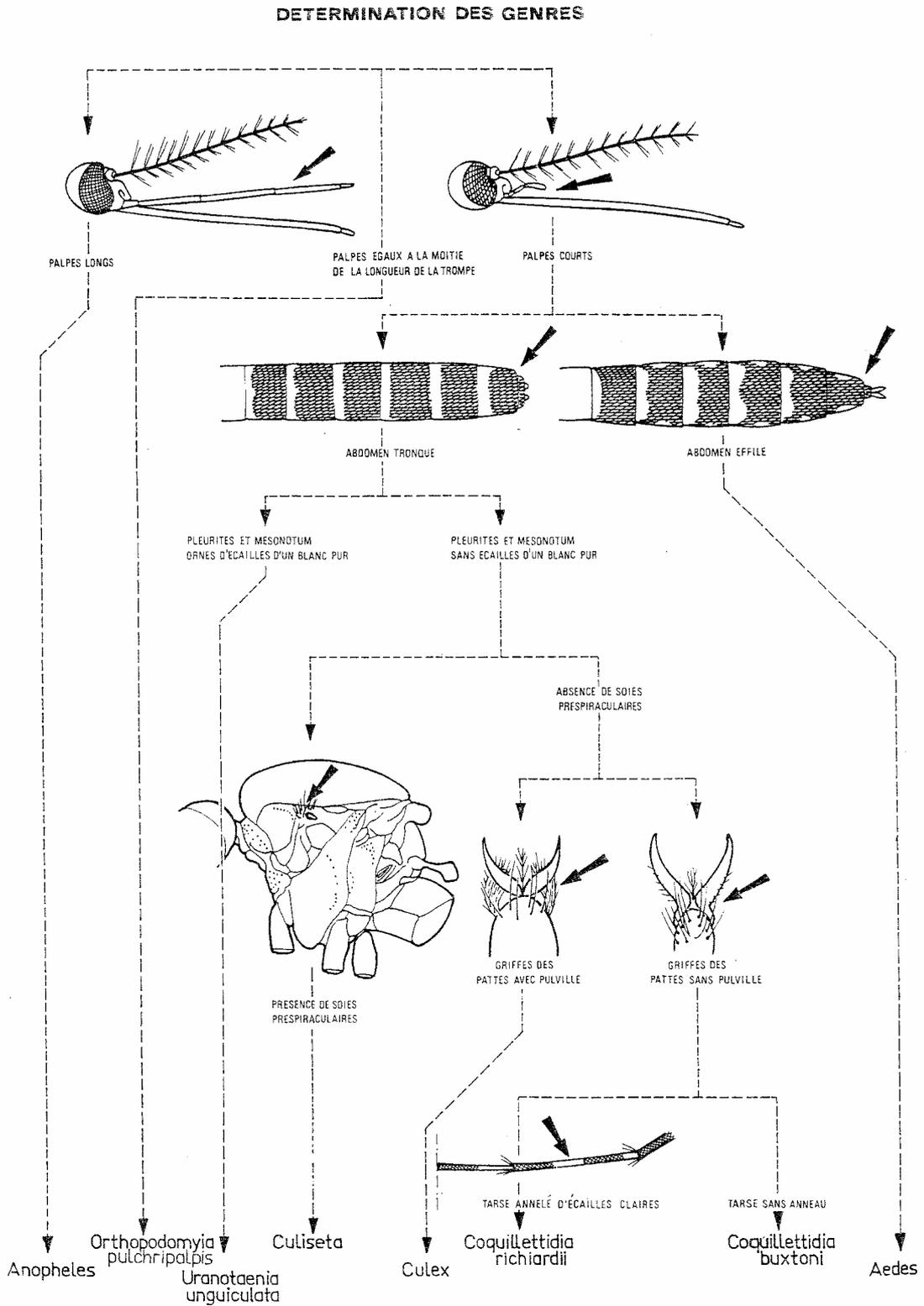


tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

GENRE AEDES . DETERMINATION DES ESPECES

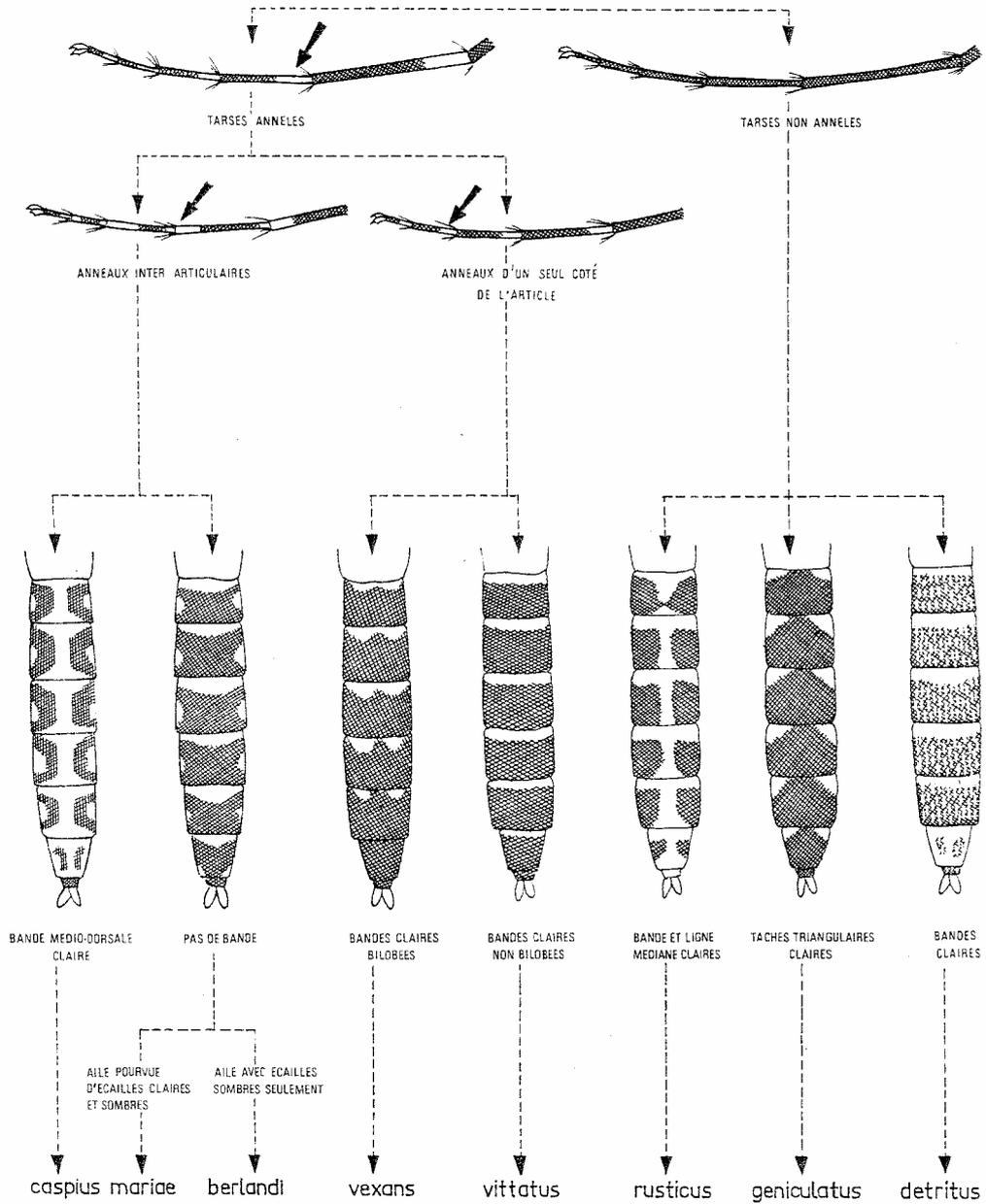


**Annexe I-2 : Clé de détermination des adultes des principales espèces de moustiques du littoral méditerranéen français. D'après Sinègre (1979).**



tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

GENRE AEDES. DETERMINATION DES ESPECES



**Annexe I-3** : Détail des espèces présentes dans chaque groupement végétal pour les gîtes de MO et PDG. La surface totale (en ha), le pourcentage par rapport à la surface totale ainsi que le code de couleur de chaque groupement sont présentés en complément. Le code de couleur est utilisé pour la numérisation des cartes.

### Gîte de Mourgues

**Groupement à *Elytrigia acuta* (= *Agropyrum acutum*);** surface : 2,31 ha (42,6 %); couleur :   
(Rouge 153, Vert 255, Bleu 153)

*Elytrigia acuta* (D.C.) Tzvelev, *Elytrigia atherica* (Link) Carreras Martinez *Dittrichia viscosa* (L.) W.Greuter, *Dorycnium herbaceum* Vill. subsp. *gracile* (Jordan) Nyman, *Althaea officinalis* L., *Lagurus ovatus* L., *Parapholis filiformis* (Roth) C.E.Hubbard, *Limonium narbonense* Miller, *Plantago coronopus* L., *Juncus acutus* L.

Strate arbustive à *Phillyrea angustifolia* L., *Pistacia lentiscus* L.

**Groupement à *Parapholis filiformis* et *Sarcocornia perennis* (= *Lepturus filiformis*. et *Salicornia radicans*);** surface : 0,68 ha (12,6 %); couleur :  (Rouge 255, Vert 255, Bleu 144)

*Parapholis filiformis* (Roth) C.E.Hubbard, *Halimione portulacoides* (L.) Aellen, *Sarcocornia perennis* (Miller) A.J.Scott, *Suaeda maritima* (L.) Dumort., *Juncus bufonius* L., *Polypogon monspeliensis* (L.) Desf.

**Groupement à *Juncus maritimus* et *Inula crithmoides* L.;** surface : 0,85 ha (15,7 %); couleur :  (Rouge 255, Vert 160, Bleu 160)

*Juncus maritimus* Lam., *Inula crithmoides* L., *Limonium narbonense* Miller, *Sarcocornia fruticosa* (L.) A.J.Scott, *Atriplex prostrata* Boucher, *Puccinellia festuciformis* (Host) Parl.

**Groupement à *Sarcocornia fruticosa* (= *Salicornia fruticosa*);** surface : 1,04 ha (19,2 %); couleur :  (Rouge 255, Vert 32, Bleu 32)

*Sarcocornia fruticosa* (L.) A.J.Scott, *Juncus maritimus* Lam., *Suaeda maritima* (L.) Dumort., *Limonium narbonense* Miller, *Juncus subulatus* Forsskål, *Salicornia europaea* L., *Polypogon monspeliensis* (L.) Desf., *Aeluropus littoralis* (Gouan) Parl.

**Groupement à *Salicornia europaea* (= *S. herbacea*);** surface : 0,43 ha (7,9 %); couleur :   
(Rouge 255, Vert 96, Bleu 176)

*Salicornia europaea* L., *Suaeda maritima* (L.) Dumort., Steudel, *Sarcocornia fruticosa* (L.) A.J.Scott, *Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla, *Spergularia* sp. (voir en fleur), Cyanophycées.

**Sol nu à couverture de Cyanophycées;** surface : 0,11 ha (2 %); couleur :  (Rouge 255, Vert 255, Bleu 255)

Cyanophycées, *Salsola soda* L., *Salicornia europaea* L.

**Gîte de Pont de Gau**

**Groupement à *Elytrigia acuta* (= *Agropyrum acutum*);** surface : 1,71 ha (35,2 %); couleur :   
(Rouge 153, Vert 255, Bleu 153)

*Elytrigia acuta* (D.C.) Tzvelev, *Elytrigia atherica* (Link) Carreras Martinez *Dittrichia viscosa* (L.) W.Greuter, *Juncus maritimus* Lam., *Sonchus maritimus* L., *Dorycnium herbaceum* Vill. subsp. *gracile* (Jordan) Nyman, *Brachypodium retusum* (Pers.) P.Beauv., *Althaea officinalis* L.  
Strate arbustive à *Phillyrea angustifolia* L., *Pistacia lentiscus* L., *Juniperus phoenicea* L.

**Groupement à *Juncus maritimus* et *Sarcocornia fruticosa*;** surface : 1,08 ha (22,2 %);  
couleur :  (Rouge 255, Vert 160, Bleu 160)

*Juncus maritimus* Lam., *Atriplex prostrata* DC. subsp. *triangularis* (Willd.) Rauschert, *Limonium narbonense* Miller, *Phragmites australis* (Cav.) Steudel, *Sarcocornia fruticosa* (L.) A.J.Scott.

**Groupement à *Sarcocornia fruticosa* (= *Salicornia fruticosa*);** surface : 0,59 ha (12,1 %);  
couleur :  (Rouge 255, Vert 32, Bleu 32)

*Sarcocornia fruticosa* (L.) A.J.Scott, *Juncus maritimus* Lam., *Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla.

**Groupement à *Juncus subulatus*;** surface : 0,07 ha (1,5 %); couleur :  (Rouge 255, Vert 128, Bleu 0)

*Juncus subulatus* Forsskål, *Salicornia europaea* L., *Suaeda maritima* (L.) Dumort., *Sarcocornia fruticosa* (L.) A.J.Scott, *Aeluropus littoralis* (Gouan) Parl.

**Groupement à *Salicornia europaea* (= *S. herbacea*);** surface : 0,39 ha (8 %); couleur :   
(Rouge 255, Vert 96, Bleu 176)

*Salicornia europaea* L., *Suaeda maritima* (L.) Dumort., *Salsola soda* L., *Phragmites australis* (Cav.) Steudel, *Sarcocornia fruticosa* (L.) A.J.Scott, Cyanophycées.

**Groupement à *Bolboschoenus maritimus* (= *Scirpus maritimus*);** surface : 0,01 ha (0,2 %);  
couleur :  (Rouge 170, Vert 80, Bleu 255)

*Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla, *Salicornia europaea* L., Cyanophycées.

**Groupement à *Phragmites australis* (= *P. communis*);** surface : 0,42 ha (8,7 %); couleur :   
(Rouge 0, Vert 180, Bleu 230)

*Phragmites australis* (Cav.), *Juncus maritimus* Lam., *Atriplex prostrata* DC. subsp. *triangularis* (Willd.), *Salicornia europaea* L., *Salsola soda* L., *Juncus subulatus* Forsskål, *Juncus gerardi* Loisel., *Carex extensa* Good.

**Sol nu à couverture de Cyanophycées;** surface : 0,59 ha (12,1 %); couleur :  (Rouge 255, Vert 255, Bleu 255)

Cyanophycées, *Salsola soda* L., *Salicornia europaea* L.



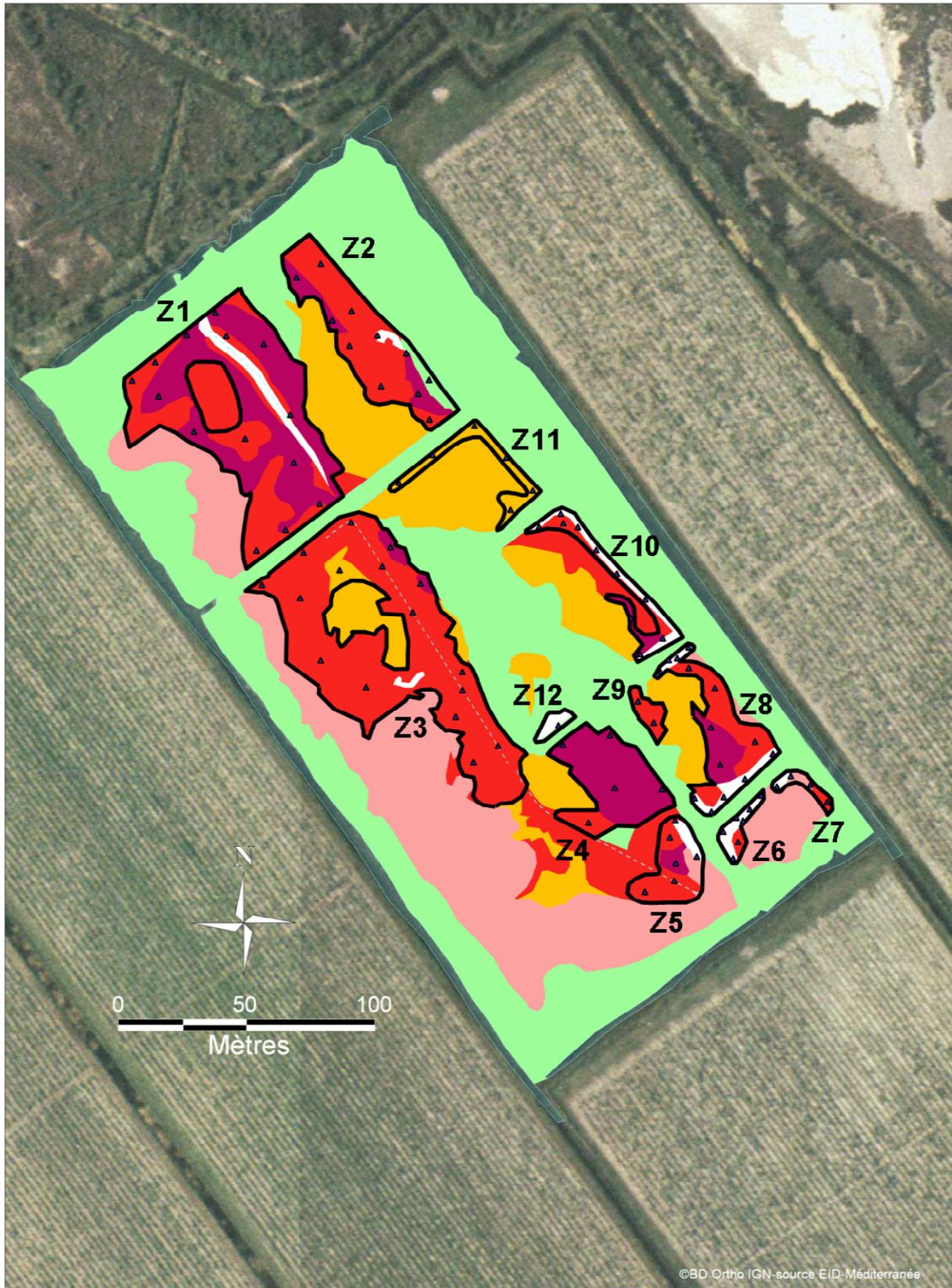
**Annexe III-2** : Nombre de points d'échantillonnage par zone pour chaque gîte et chaque mise en eau.

<b>MO 13/09/2004</b>	
zone	nb points
Z1	14
Z2	11
Z3	16
Z4	5
Z5	6
Z6	7
Z7	4
Z8	14
Z9	2
Z10	10
Z11	6
Z12	1
<b>PDG 13/09/2004</b>	
zone	nb points
Z1	10
Z2	3
Z3	49
Z4	38
<b>MO 18/04/2005</b>	
zone	nb points
Z1	20
Z2	7
Z3	3
Z4	3
Z5	3
Z6	3
Z7	3
Z8	3
Z9	3
Z10	4
Z11	3
Z12	3
Z13	3
Z14	4
Z15	5
Z16	7
Z17	5
<b>PDG 18/04/2005</b>	
zone	nb points
Z1	2
Z2	3
Z3	16
Z4	3
Z5	13
Z6	4

<b>MO 14/05/2005</b>	
zone	nb points
Z1	12
Z2	10
Z3	7
Z4	14
Z5	5
Z6	5
Z7	5
Z8	11
Z9	3
Z10	9
Z11	8
Z12	12
<b>PDG 14/05/2005</b>	
zone	nb points
Z1	7
Z2	3
Z3	25
Z4	3
Z5	3
Z6	31
<b>PDG 13/06/2005</b>	
zone	nb points
Z1	3
Z2	3
Z3	19
Z4	3
Z5	20
Z6	3
<b>MO 06/09/2005</b>	
zone	nb points
Z1	14
Z2	33
Z3	10
Z4	15
Z5	14
Z6	14
Z7	17
<b>PDG 06/09/2005</b>	
zone	nb points
Z1	92

**Annexe III-3** : Contour de mise en eau et points d'échantillonnages larvaires (triangles).

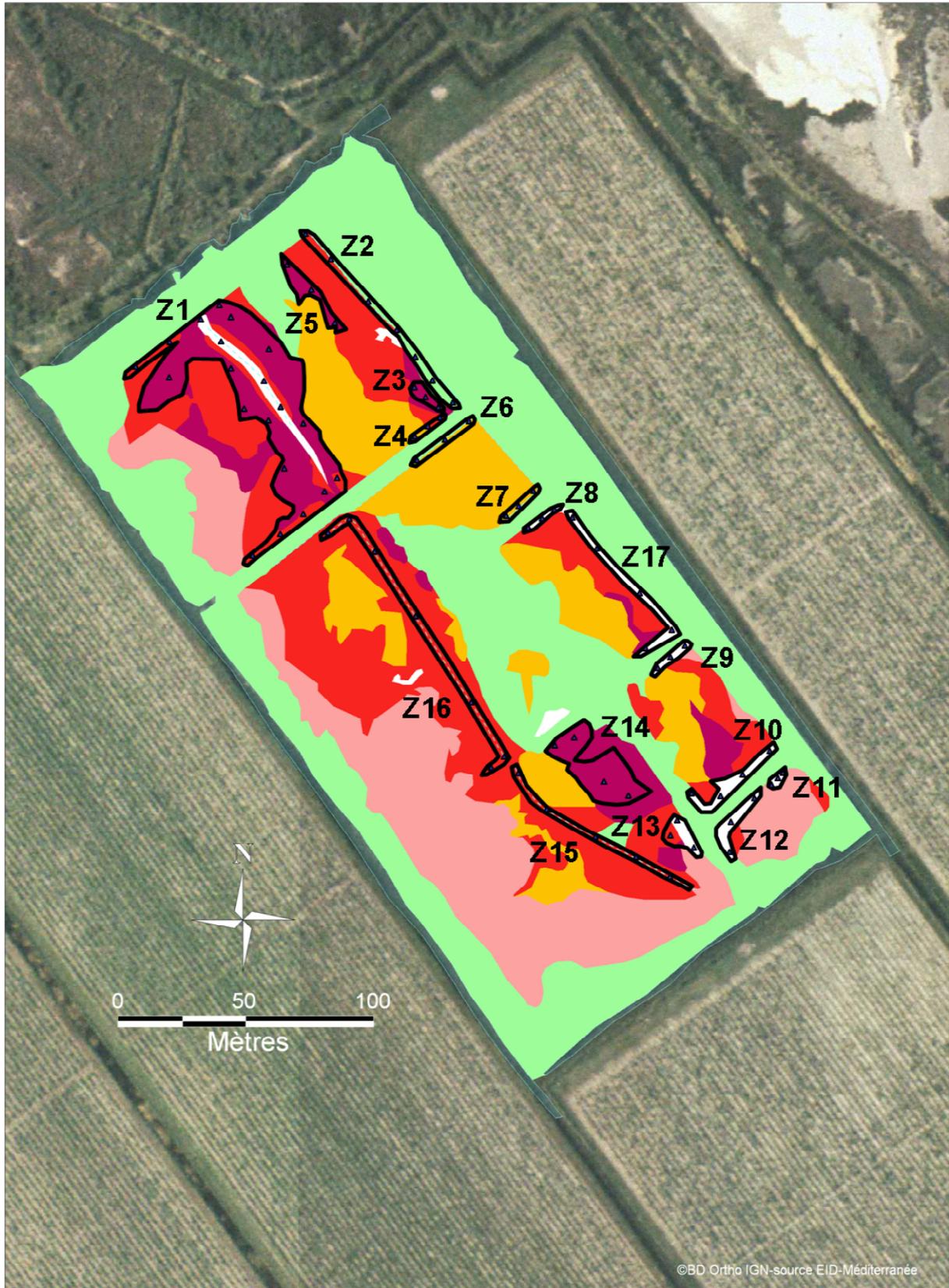
MO septembre 2004



©BD Ortho IGN-source EID-Méditerranée

tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

MO avril 2005



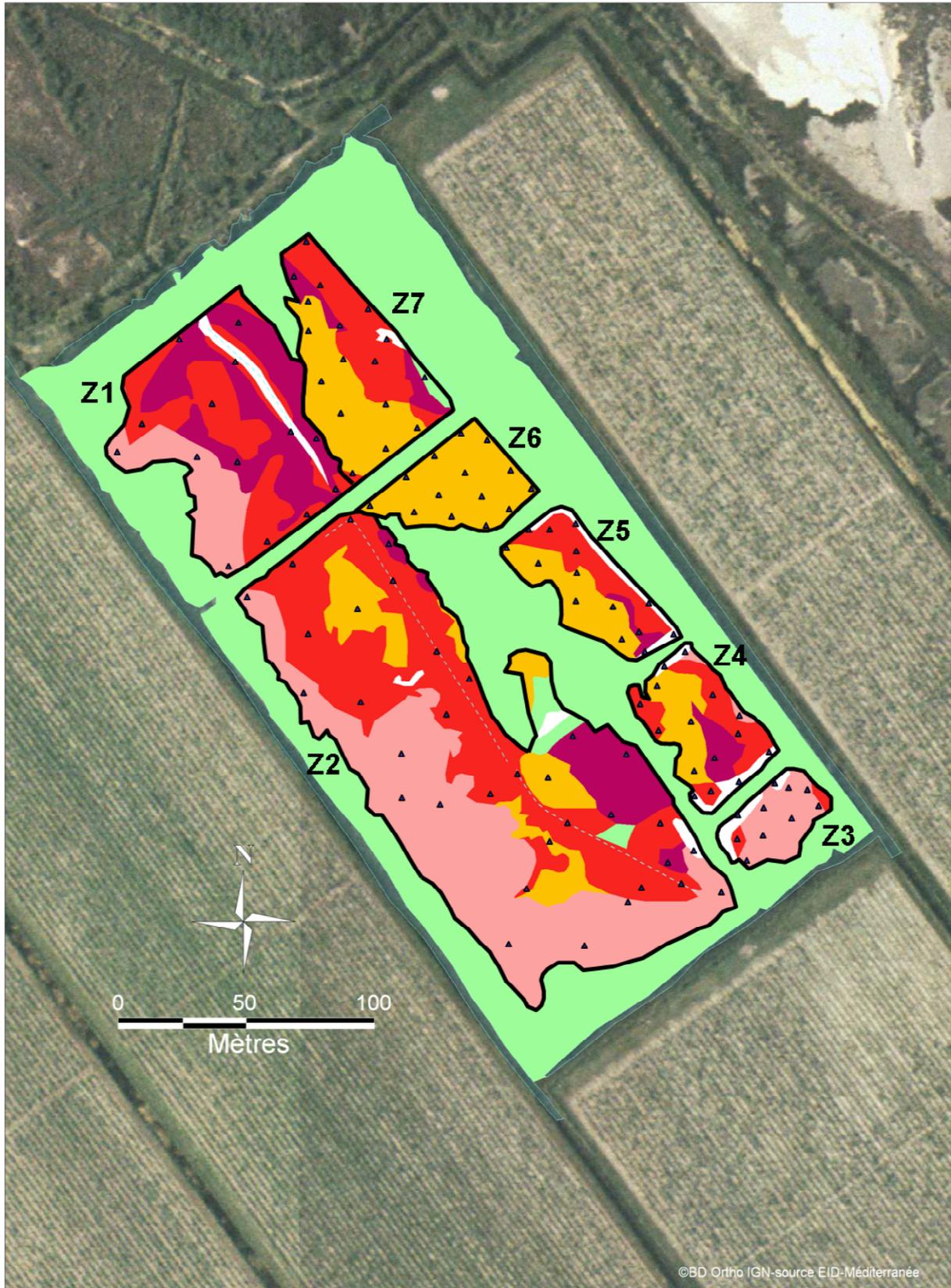
©BD Ortho IGN-source EID-Méditerranée

MO mai 2005



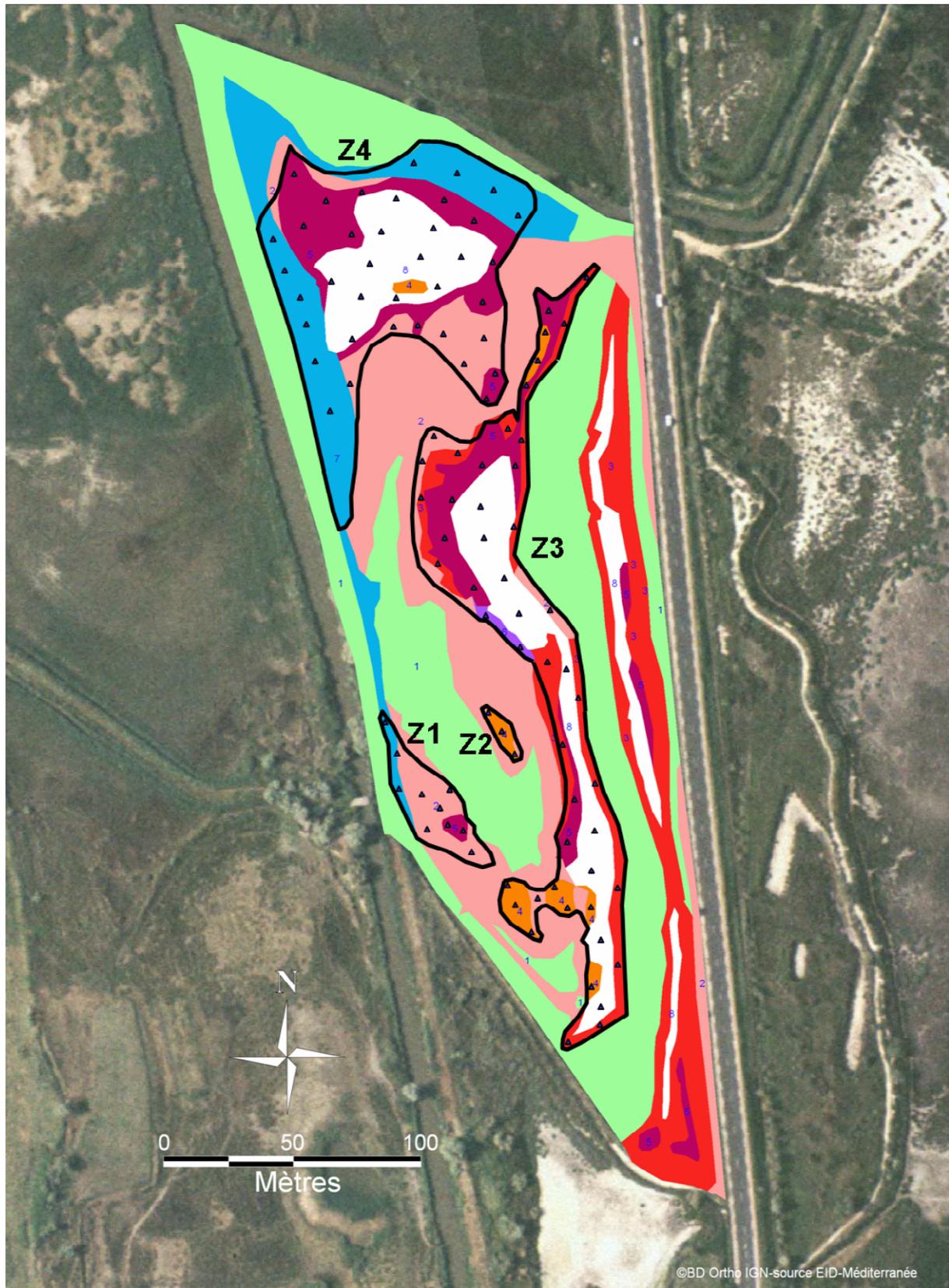
tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

MO septembre 2005



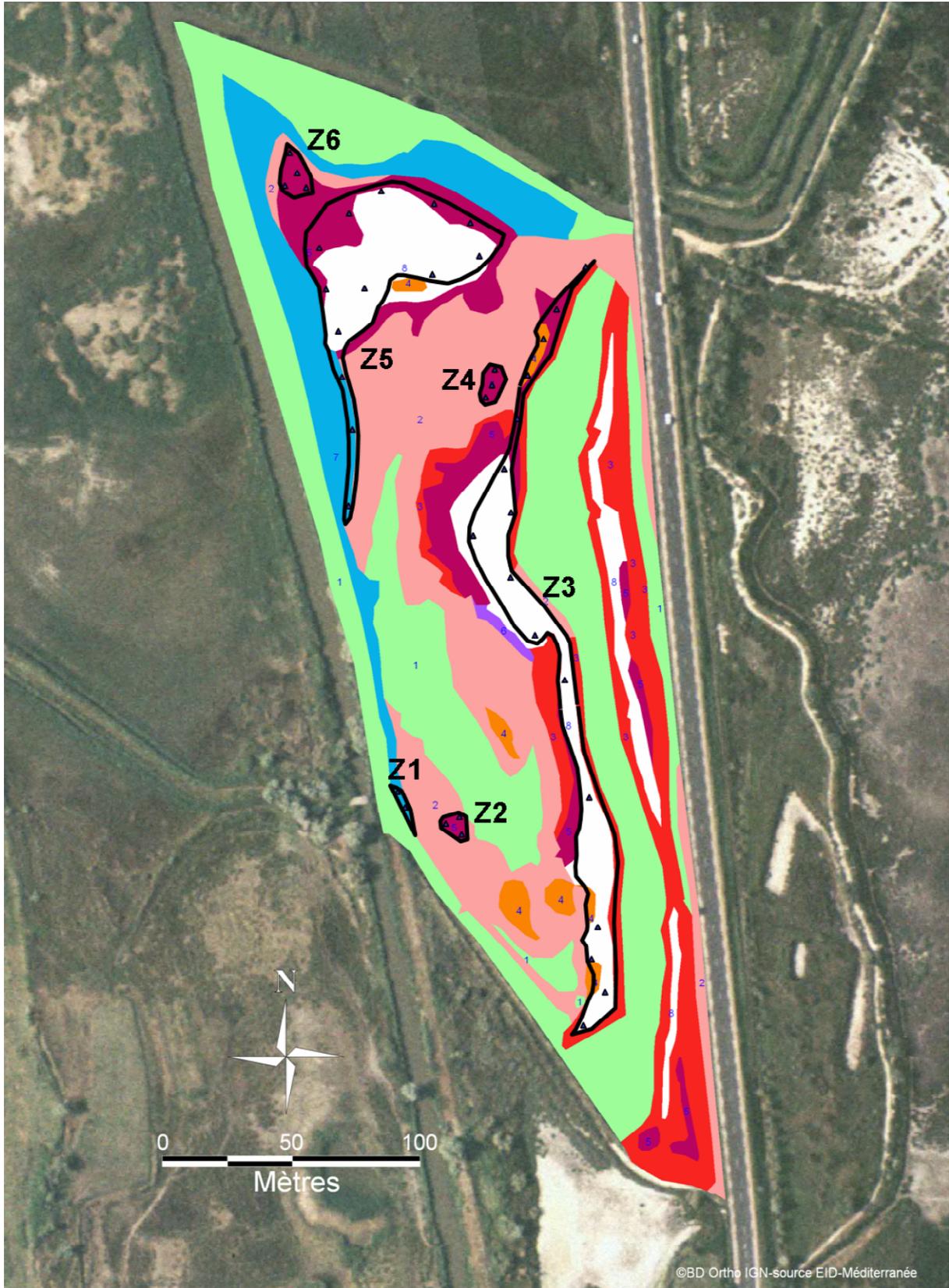
tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

PDG sept 2004



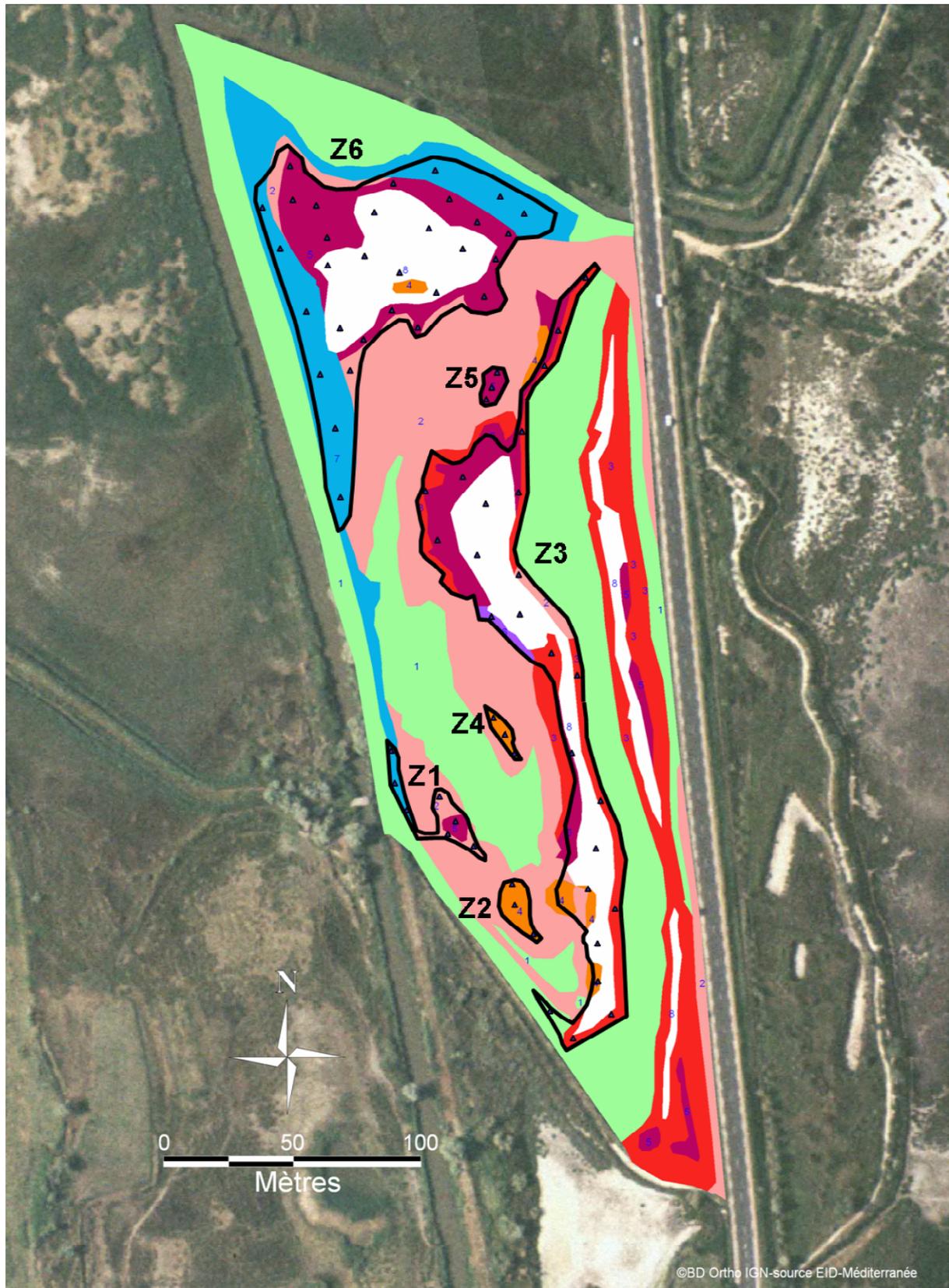
tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

PDG avril 2005



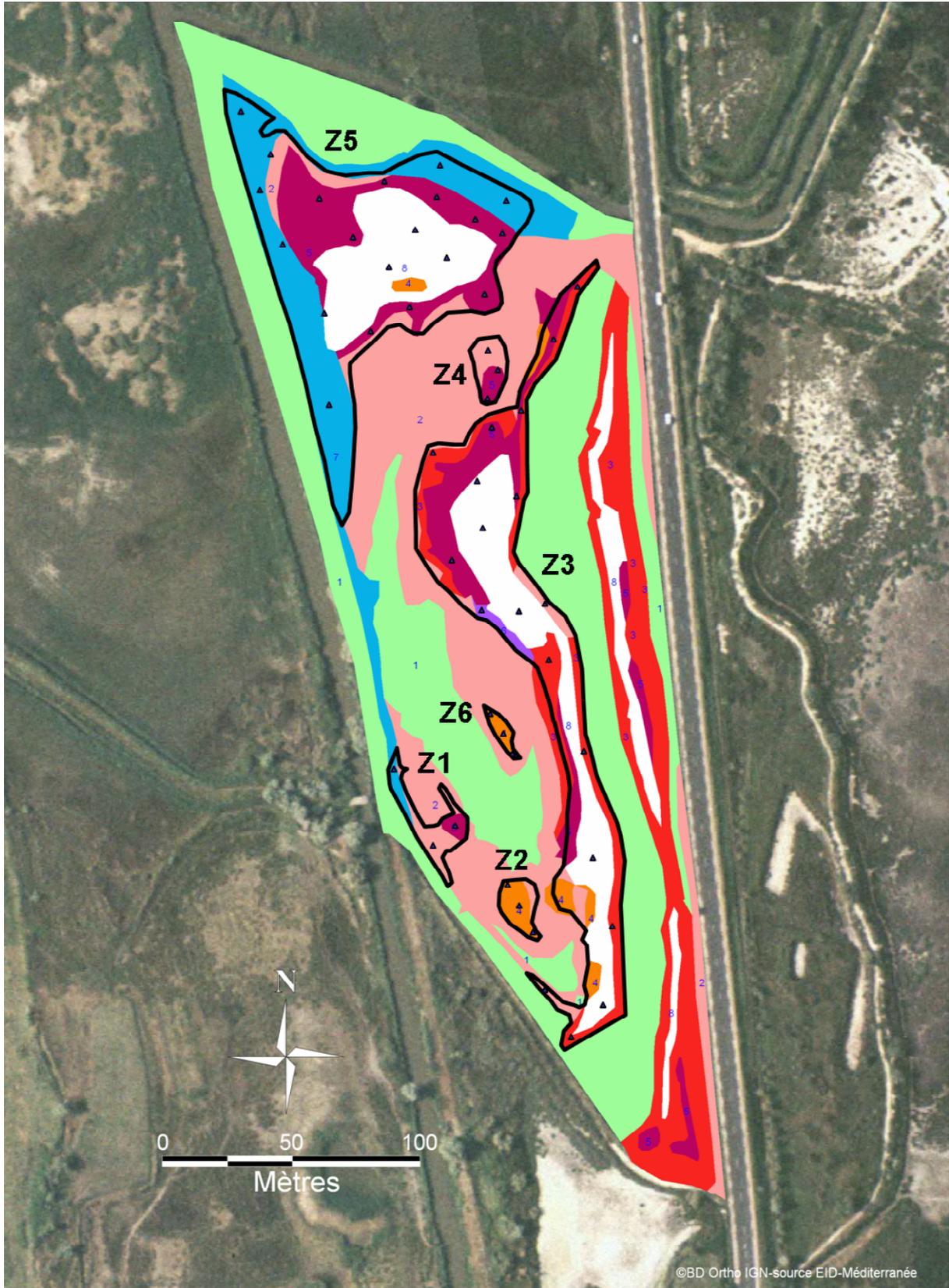
tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

PDG mai 2005



tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

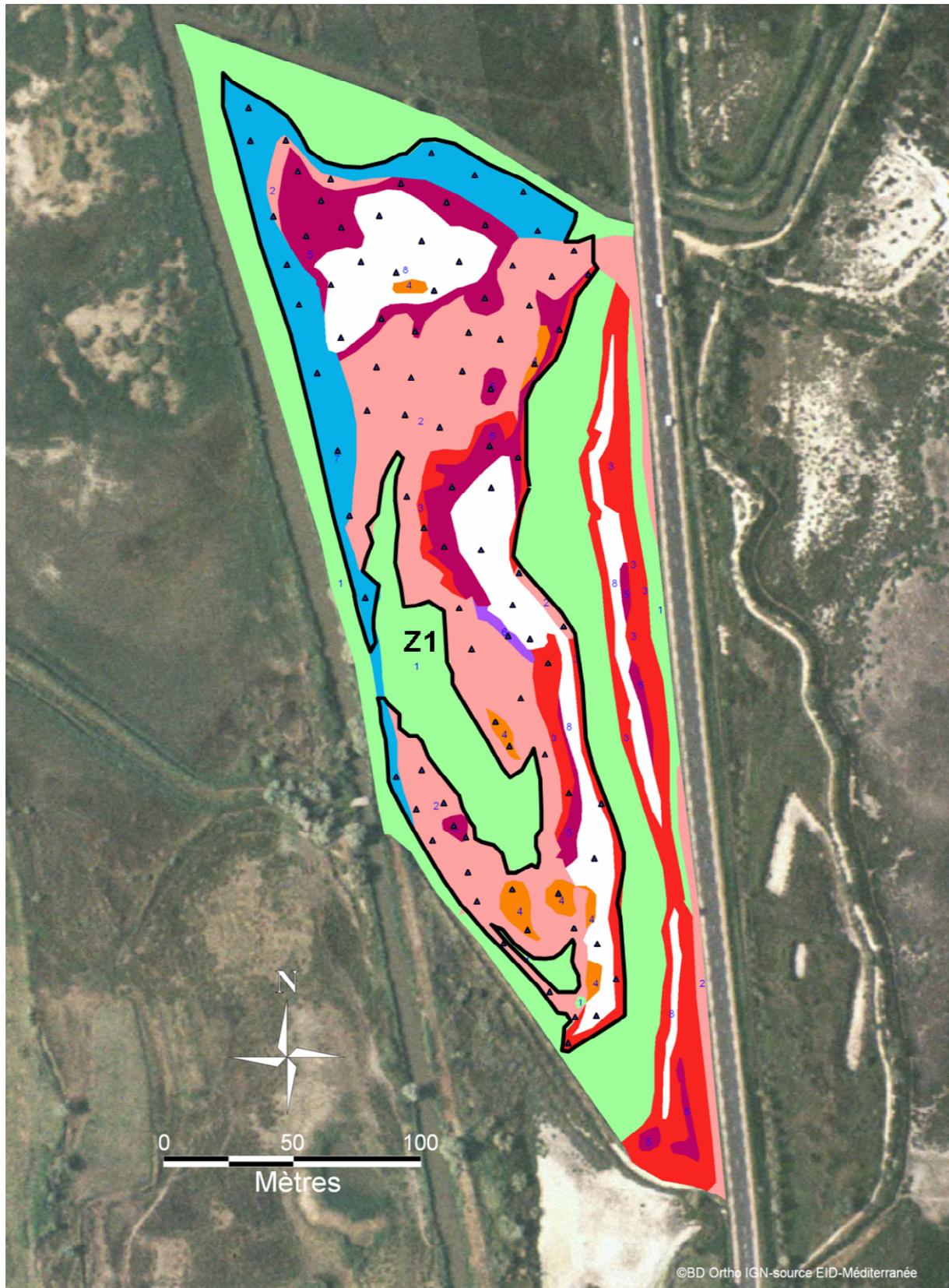
PDG juin 2005



©BD Ortho IGN-source EID-Méditerranée

tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

PDG septembre 2005



tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

**Annexe III-4** : Description méthodologique de la technique non paramétrique de Pontius et al. (1989) pour le calcul du temps de développement larvaire.

Pontius et al (1989) ont proposé une approche non paramétrique simple pour estimer le temps moyen nécessaire pour qu'un individu atteigne un stade donné. Cette méthode s'applique pour des données collectées régulièrement du début du développement d'une cohorte jusqu'à ce que tous les individus aient atteint le dernier stade. Le temps moyen pour atteindre le stade  $j$  est :

$$\mu_j = \int_0^{\infty} x g_j(x) dx = \int_0^{\infty} G_j(x) dx$$

Où  $g_j(x)$  est la fonction de densité du temps pour entrer dans le stade  $j$  et  $G_j(x)$  est la probabilité que le temps d'entrée dans le stade  $j$  soit après  $x$  (ie l'intégrale de  $g_j(x)$  de  $x$  à l'infini). L'intégrale ci-dessus pour  $G_j(x)$  peut être approximée en utilisant la règle trapézoïdale qui donne :

$$\mu_j \approx \frac{1}{2} \sum_{i=0}^{n-1} \{G_j(t_i) + G_j(t_{i+1})\} \{t_{i+1} - t_i\}$$

Soit les temps d'échantillonnage  $t_1, t_2, \dots, t_n$ , où tous les individus sont dans le stade 1 au temps  $t_0 = 0$  (qui est avant  $t_1$ ) et où tous les individus ont atteint le stade  $q$  au temps  $t_n$ . Soit  $p_{ij}$  la proportion des individus dans l'échantillon au temps  $t_i$  qui ne sont pas encore au stade  $j$ , avec  $p_{i1} = 0$  pour tous  $i$ . Alors  $p_{ij}$  est une estimation de  $G_j(t_i)$  et donc une estimation de  $\mu_j$  est donnée par :

$$m_j = \frac{1}{2} \sum_{i=0}^{n-1} (p_{ij} + p_{i+1j})(t_{i+1} - t_i)$$

où nous avons utilisé  $p_{0j} = 0$  et  $p_{nj} = 0$  pour obtenir la deuxième égalité.

$$m_j = \frac{1}{2} t_1 + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^{n-1} p_{ij} (t_{i+1} - t_{i-1})$$

Ainsi, le temps de développement du stade  $j$  peut être estimé par :

$$a_j = m_{j+1} - m_j$$

C'est une méthode simple, rapide et efficace qui permet d'obtenir des estimations de temps de développement comparables à des estimations plus complexes utilisant le maximum de vraisemblance [Manly, 1990 #495].

Annexe IV-1 :

**Survival of *Ochlerotatus caspius* (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae) pupae in mud: an adaptation to temporary breeding sites**



CARRON A., LAGNEAU C.

EID Méditerranée, 165 avenue Paul Rimbaud, 34164 Montpellier cedex 4, France. Phone : +33 (0)4 67 63 67 63, Fax : +33 (0)4 67 63 54 05, email: acarron@eid-med.org

**Introduction**



The ability of larvae and pupae to survive in mud is well known (Gillett, 1971). *Ochlerotatus caspius* breeds in temporary flooded wetlands. From time to time these sites dry in less than 5 days. Although some scientists observed that *Oc. caspius* pupae emerged from mud (Aranda C., Becker N., Talbalaghi A., personal communications), to our knowledge no study quantified this phenomenon.

**Materials and methods**

1) The survival of *Oc. caspius* pupae was studied in two breeding sites Pont de Gau (PDG) and Mourgues (MO) in southern France (spring 2005).



2) As soon as the first pupa appears emergence traps (50x50x50 cm) are pushed into the breeding sites. Emerging adults were counted every day.



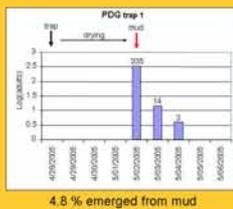
3) During the survey part of the sites dried, therefore some pupae were trapped in mud in some emergence traps.

Flooding date	Breeding site	Number of dried emergence trap
4/18/2005	PDG	4
4/18/2005	MO	1
5/14/2005	PDG	3

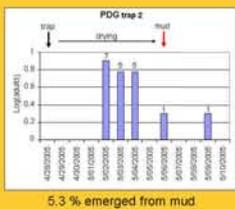
**Results**

Adult abundance at emergence according to time for dried emergence traps.

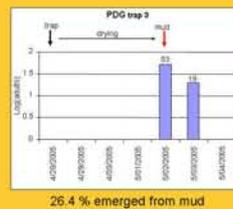
4/18/2005:



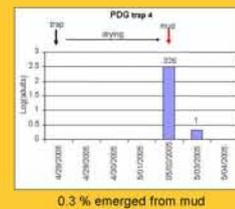
4.8 % emerged from mud



5.3 % emerged from mud

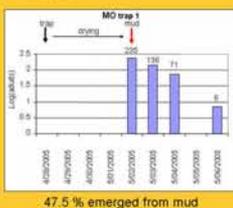


26.4 % emerged from mud



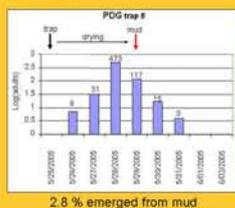
0.3 % emerged from mud

4/18/2005:

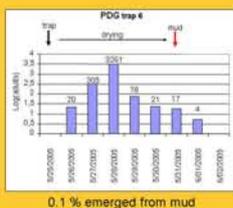


47.5 % emerged from mud

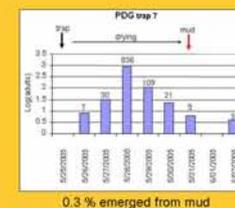
5/14/2005:



2.8 % emerged from mud



0.1 % emerged from mud



0.3 % emerged from mud

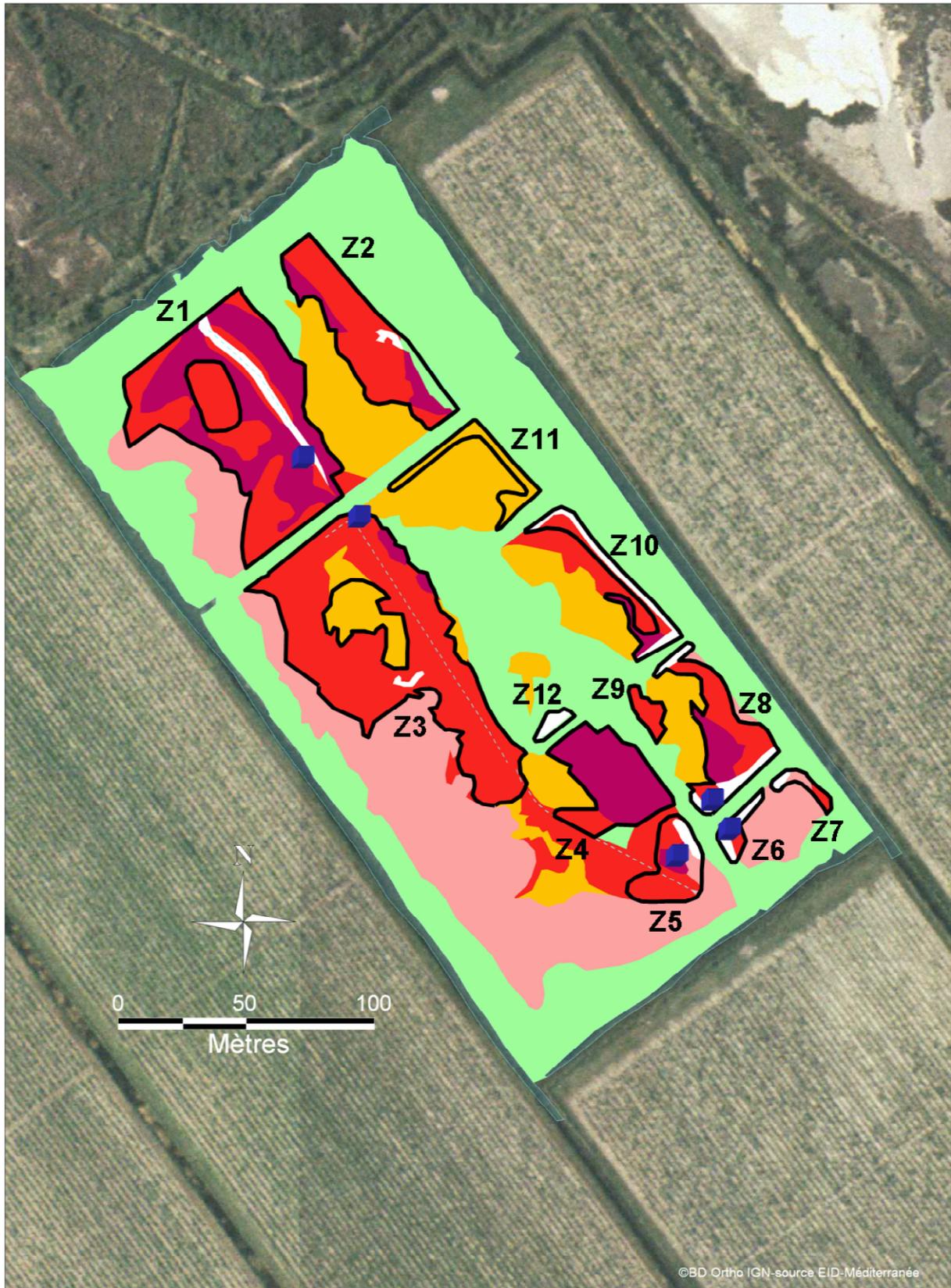
**Conclusion**

After dessication, *Oc. caspius* is able to emerge from mud during 3 days at PDG and 4 days at MO. The percentage of emerging adults ranges from 0.1 to 26.4 % at PDG and is 47.5 % at MO.

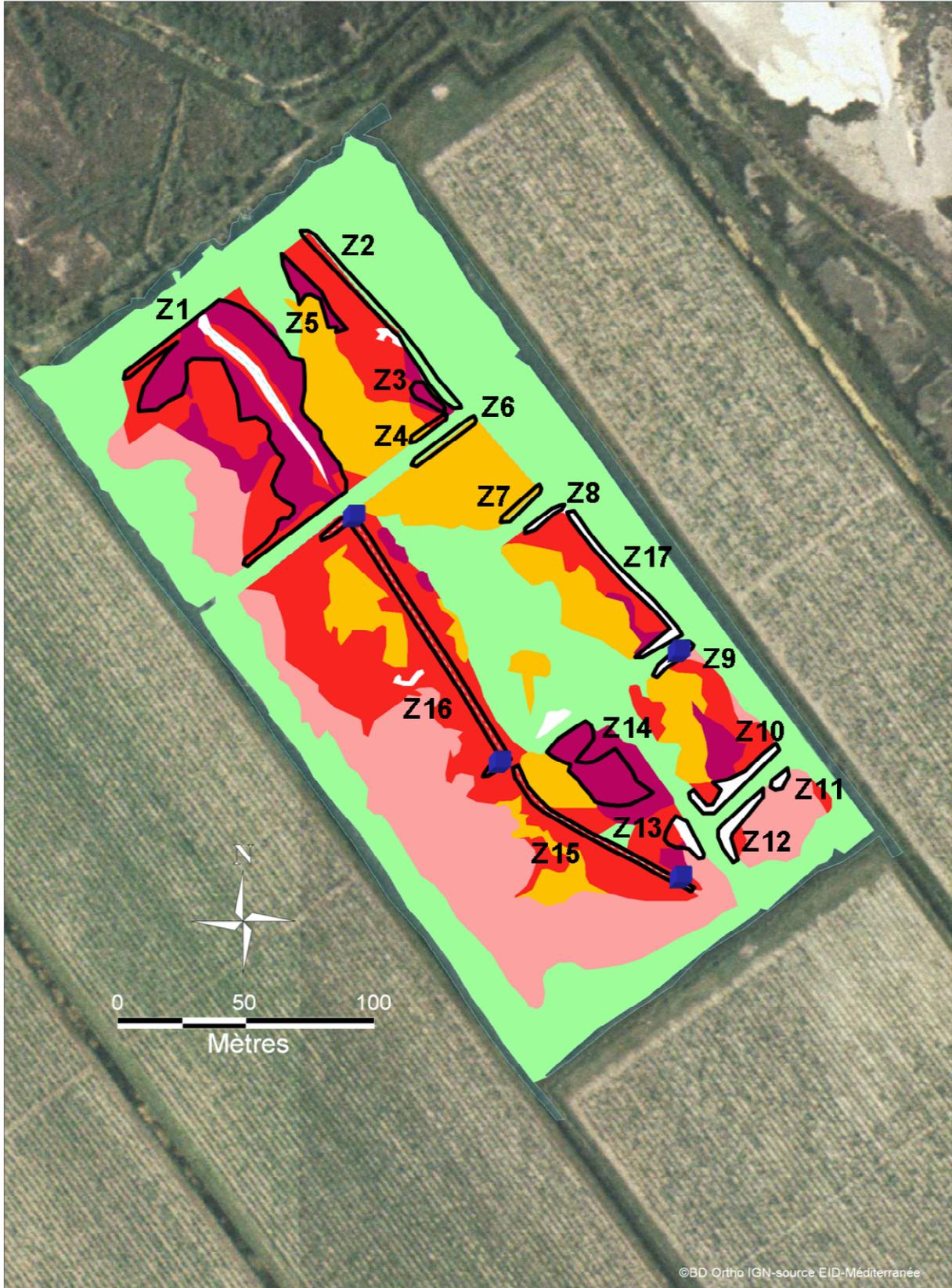
Gillett J. D. 1971. Mosquitoes. London, Weidenfeld and Nicolson: 274 p.

**Annexe IV-2** : Contours de mises en eau et emplacement des cages d'émergence (cube bleu).

MO septembre 2004



MO avril 2005



tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

MO mai 2005



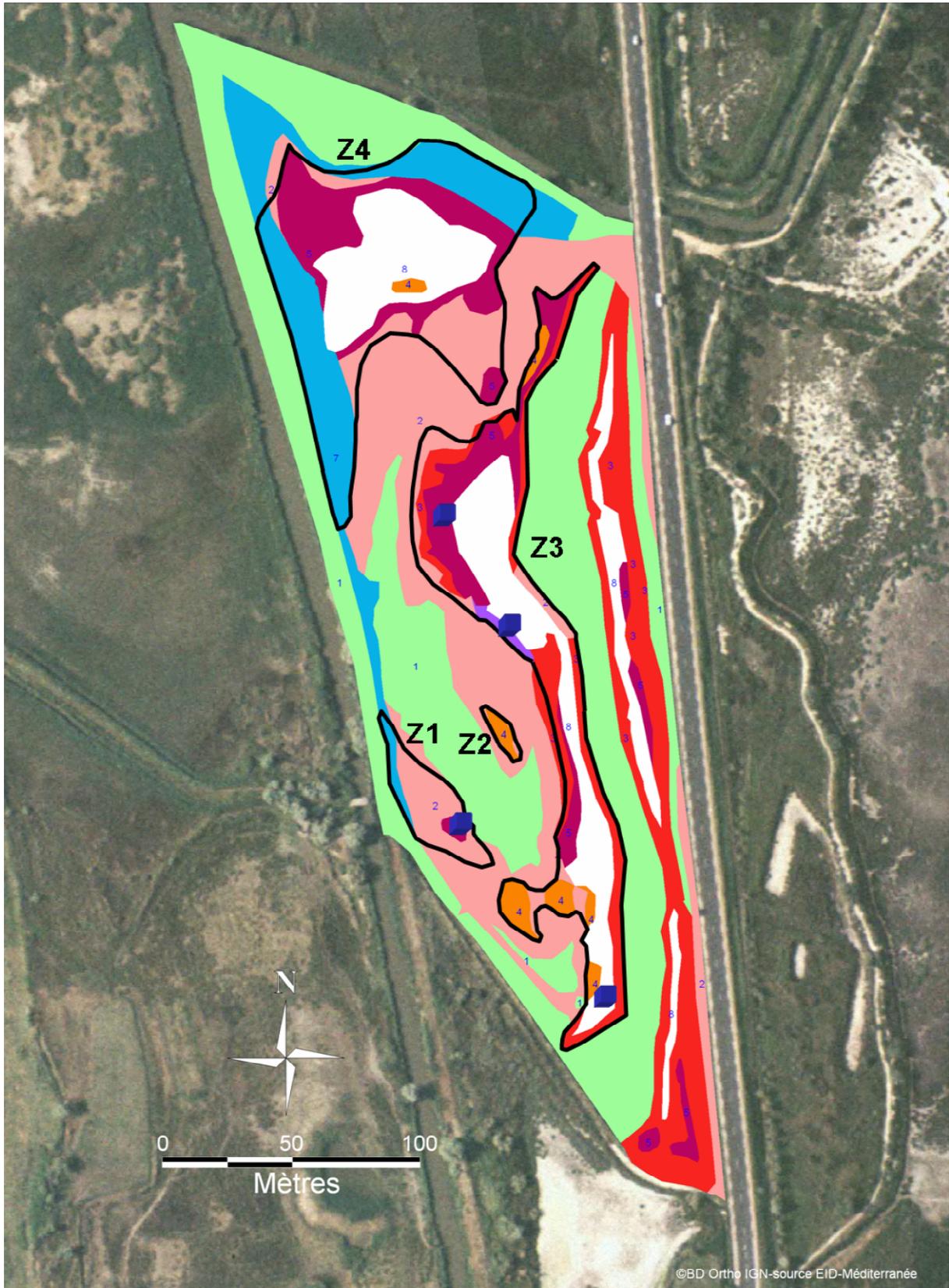
tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

MO septembre 2005



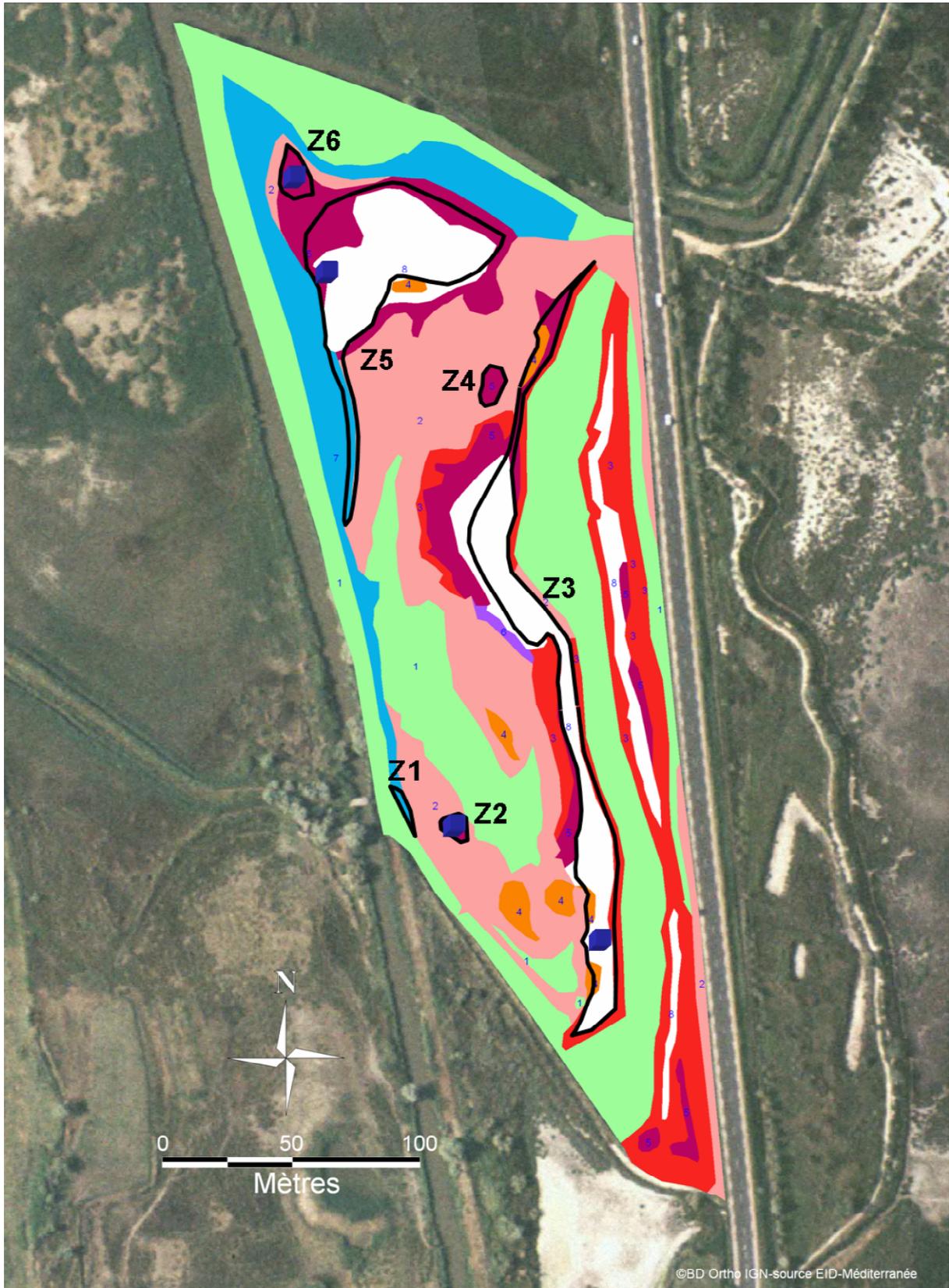
tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

PDG septembre 2004



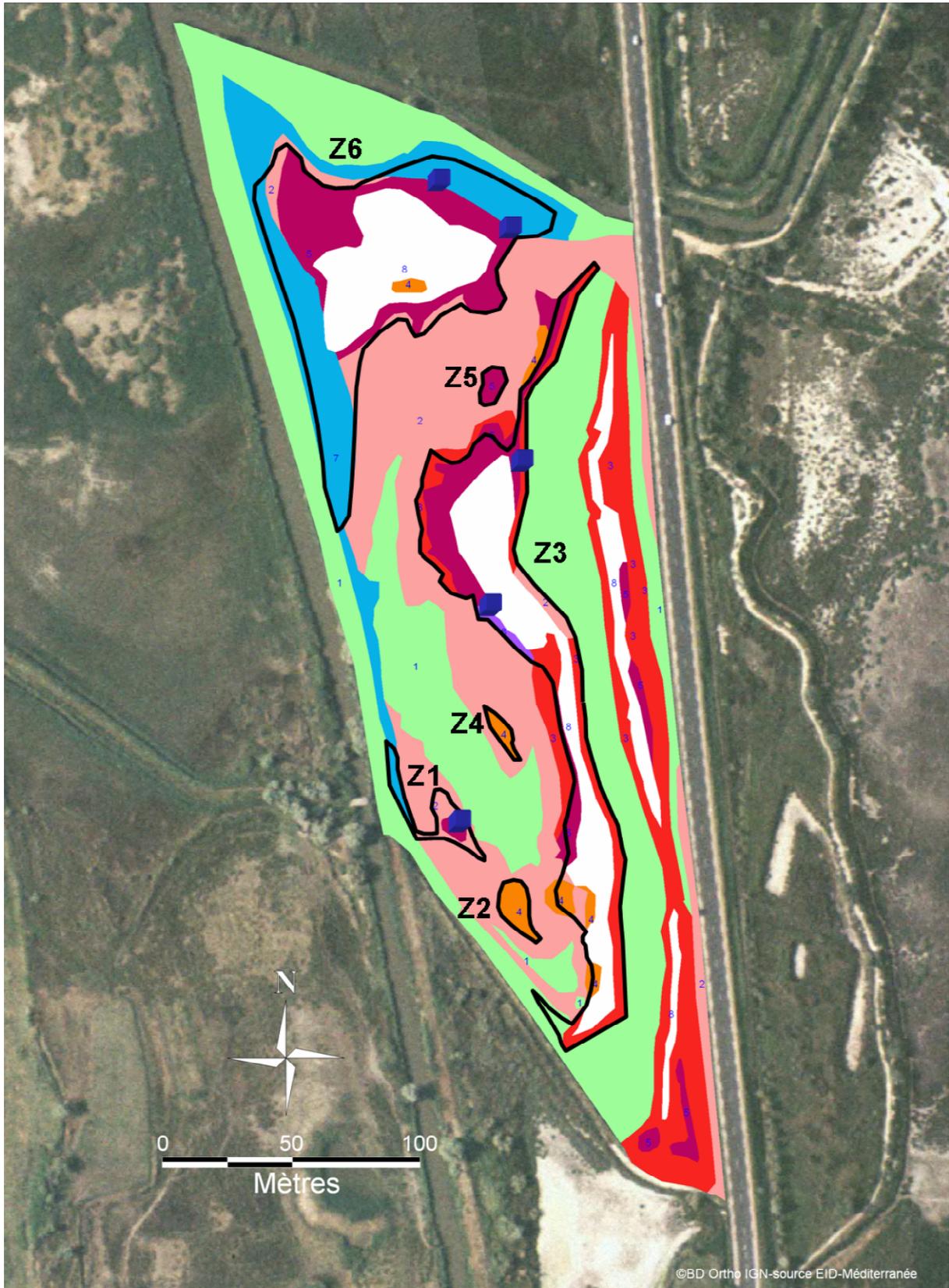
tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

PDG avril 2005



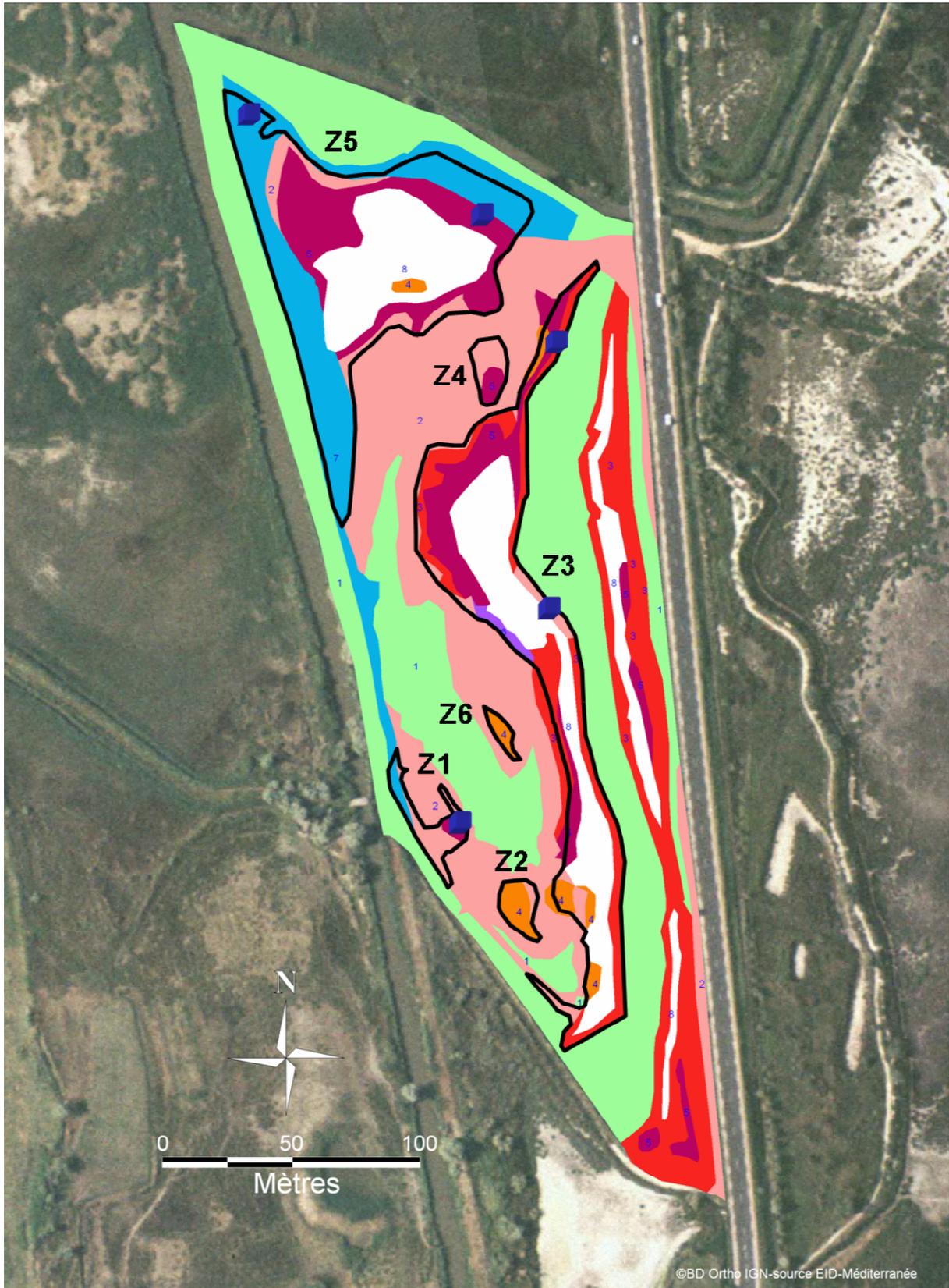
tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

PDG mai 2005



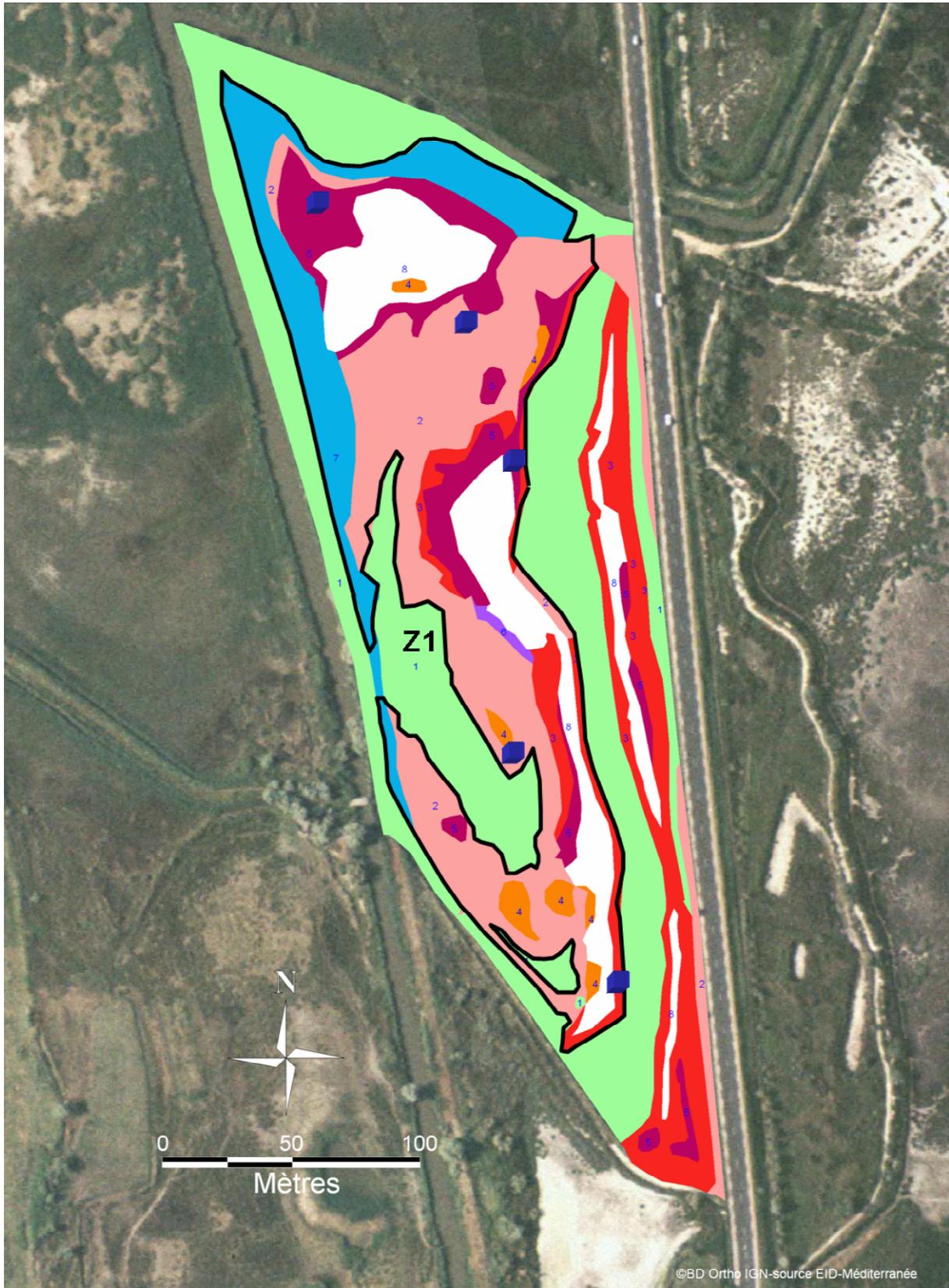
tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

PDG juin 2005



tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

PDG septembre 2005



tel-00202734, version 1 - 8 Jan 2008

Annexe V-1 :

**Gonotrophic cycles of *Ochlerotatus caspius* (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae): number of cycles and their duration, and variations in fecundity**

CARRON A., PLATZ N., BICHAUD L., LAGNEAU C.

EID MÉDITERRANÉE  
EID Méditerranée, 165 avenue Paul Rimbaud, 34184 Montpellier cedex 4, France. Phone : +33 (0)4 67 63 67 63, Fax : +33 (0)4 67 63 54 05, e-mail: acarron@eid-med.org

**Introduction**



*Oc. caspius* female (photo: EID B. Mathieu)



*Oc. caspius* is widely distributed in Europe (source: Schaffner, 2001)



*Oc. caspius* is very aggressive and induces a huge nuisance



up to 500 g of females (approximately 200,000) in one night with a CO2 trap (09/23/2005)

Although the species is well known, its fecundity and gonotrophic cycle remain quite unknown.

**Materials and methods**

1) The two breeding sites:  
The first, Pont de Gau (PDG), is located in Camargue (Rhône delta) out of the treated area, the second, Mourgues (MO), is near the Camargue in the treated area of EID Méditerranée.







PDG breeding site



MO breeding site

2) Larval sampling: Spring 2005.

3) Larval rearing: Larvae were reared at  $28 \pm 1.5$  °C, with  $50 \pm 10$  % RH and 16:8 light:dark.

4) Copulation: Induced copulation due to eurygamy.

5) Isolation: Females were isolated in a nest-box (79 for MO, 80 for PDG). They were fed on water diluted honey.

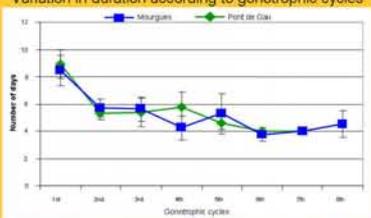
6) Blood meal: On human.

7) Egg laying: After oviposition another blood meal is proposed.

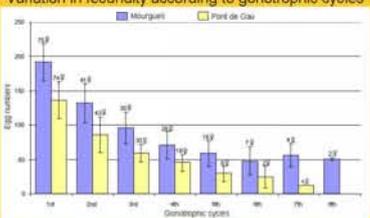
The duration between two successive blood meals and the fecundity were estimated for each gonotrophic cycle.

**Results**

Variation in duration according to gonotrophic cycles



Variation in fecundity according to gonotrophic cycles



The differences are significant between the gonotrophic cycles (Kruskal-Wallis test,  $p < 0.05$ ):  
1st > 2nd = 3rd = 4th = 5th

There are no significant differences between the two breeding sites (Friedman test,  $p > 0.05$ ).

The differences are significant between the gonotrophic cycles (ANOVA,  $p < 0.05$ ):  
MO : 1st > 2nd > 3rd > 4th = 5th = 6th = 7th  
PDG : 1st > 2nd > 3rd > 4th > 5th = 6th

MO fecundity is significantly higher than that of PDG (t test,  $p < 0.05$ ).

**Conclusion**

Important physiological and morphological modifications induced a first gonotrophic cycle longer than the others.

The differences in fecundity between the populations of the two breeding sites could be explained by differences in abiotic or biotic conditions or by differences in larvicide pressure (one breeding site treated, the other untreated).

Schaffner F., Angel G., Geoffroy B., Henry J.-P., Rhaïem A. & Brunhes J. – The Mosquitoes of Europe / Les moustiques d'Europe. Programme d'identification et d'enseignement (CD-Rom), Montpellier, France, IRD Editions & EID Méditerranée, décembre 2001





## RÉSUMÉ

### Traits d'histoire de vie et démographie du moustique *Aedes caspius* (Pallas, 1771) (Diptera : Culicidae) : impact des traitements larvicides.

*Aedes caspius* est un moustique très largement distribué en Europe qui se reproduit dans une grande variété de milieux. Il génère une forte nuisance, parfois plus de 300 piqûres en 15 minutes, qui peut avoir des conséquences économiques importantes. Depuis près de 50 ans, ces populations de moustiques sont contrôlées le long de la côte méditerranéenne française avec des insecticides chimiques et biologiques entraînant une diminution significative de la nuisance. Cependant, les densités larvaires restent très élevées en dépit de l'absence de résistance aux insecticides. Ainsi cette espèce a pu développer des mécanismes démographiques pour compenser les effets des traitements.

La démographie d'*Aedes caspius* est décrite et son évolution sous pression insecticide est estimée. Les cycles de vie de deux populations, respectivement de la zone traitée et non traitée, sont comparés. Pour cela, des traits d'histoire de vie, tels que la mortalité, la durée de développement et la fécondité, ont été mesurés en laboratoire et sur le terrain. La durée de développement des différents stades larvaires, leur mortalité mais aussi la probabilité de passage d'un stade au suivant sont dépendantes du stade larvaire. La durée de développement, la sex-ratio et la fécondité sont densité dépendantes. Les traitements insecticides induisent une diminution d'abondance qui entraîne une augmentation de la fécondité et un changement de la sex-ratio en faveur des mâles. Ces mécanismes densité dépendants peuvent expliquer les fortes densités larvaires encore observées aujourd'hui.

**DISCIPLINE (CNU) :** Biologie des populations et écologie

#### MOTS-CLÉS :

- |                            |                   |
|----------------------------|-------------------|
| 1- Démographie             | 5- Démoustication |
| 2- Trait d'histoire de vie | 6- Impact         |
| 3- Moustique               | 7- Biologie       |
| 4- <i>Aedes caspius</i>    | 8- Écologie       |

Département de Biologie / Université Paul Valéry-Montpellier III. UMR 5175 CEFE (Centre d'Ecologie fonctionnelle et évolutive). Equipe : Ecologie des arthropodes dans les agro-écosystèmes méditerranéens. Route de Mende 34199 Montpellier Cedex 5 - France

### Life history traits and demography of the mosquito *Aedes caspius* (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae): impact of larvicide treatments.

*Aedes caspius* is widely distributed in Europe and breeds in a variety of places. This species has an economical importance due to a huge nuisance, sometimes more than 300 bites per 15 min. For more than 40 years mosquito populations have been controlled along the French Mediterranean coast with larvicide treatments using chemical and biological insecticides. Despite a significant decrease of nuisance since the beginning of treatments, high larval densities of *Ae. caspius* are still frequently observed. These high larval densities are not due to resistance as the sensitivity to insecticides has not changed. Therefore this species may have developed demographic mechanisms to compensate the effect of larvicide treatments.

The demography of *Ae. caspius* is described and its evolution under the pressure of control treatments is estimated. The life cycles of two populations, one treated and the other untreated, are compared. Life history traits, such as mortality, stage durations and fecundity, were measured under laboratory and field conditions. Probabilities of passage from one stage to the next, stage durations and mortality are stage-dependent. Sex-ratio, fecundity and stage durations are density-dependent. Larvicide treatments induce a decrease in abundance which induces an increase in fecundity, and a change of sex-ratio in favour of males. These density dependence mechanisms may explain the high larval densities still observed.

#### KEY-WORDS:

- |                         |                     |
|-------------------------|---------------------|
| 1-Demography            | 5- Mosquito Control |
| 2-Life history trait    | 6- Impact           |
| 3-Mosquito              | 7- Biology          |
| 4- <i>Aedes caspius</i> | 8- Ecology          |