Une méthode de lutte génétique contre *Anopheles gambiae* Giles, 1902

par G. DAVIDSON

*Ross Institute of Tropical Hygiene, London School of Hygiene and Tropical Medicine,
London, Angleterre*

Résumé

Avec *Anopheles funestus* (qui doit lui-même être un complexe d'espèces), les membres des espèces du complexe d'*A. gambiae* constituent les principaux vecteurs du paludisme en Afrique tropicale. On s'accorde généralement à l'heure actuelle sur le fait que les méthodes connues et essayées d'éradication du paludisme ne pourront pas s'appliquer dans un proche futur à cette vaste partie du monde où le type principal de paludisme est le paludisme stable et où les ressources financières, le personnel entraîné et l'infrastructure sanitaire de base dans les campagnes sont insuffisants. En outre, la résistance à la dieldrin et à l'H.C.H. est déjà très répandue dans deux des espèces du complexe d'*A. gambiae* et on commence aussi à y voir survenir une résistance au D.D.T. Si l'on souhaite donc accomplir quelques progrès substantiels pour éradiquer le paludisme de l'Afrique, il ne fait pas de doute que de nouvelles techniques de lutte contre les vecteurs sont nécessaires. L'une d'entre elles peut être représentée par le lâcher de mâles stériles.

Nous savons à présent que le complexe d'*A. gambiae* est constitué de cinq espèces jumelles. Deux d'entre elles sont des formes d'eau saumâtre : *A. melas* en Afrique occidentale et *A. merus* en Afrique orientale. Les trois autres sont des formes d'eau douce qui n'ont pas encore reçu de noms définitifs et que l'on nomme espèces A, B et C. L'espèce C n'est connue jusqu'à présent que du sud-est de l'Afrique, de Zanzibar et de l'Ethiopie et, autant qu'on le sache, ce n'est pas un vecteur du paludisme. Les espèces A et B sont courantes dans toute l'Afrique tropicale et constituent, dans le complexe, les principaux vecteurs du paludisme. Si l'on croise entre elles n'importe lesquelles de ces cinq

espèces, on obtient une génération F_1 viable dans laquelle les mâles se montrent stériles (à des degrés différents suivant les espèces parentales en cause dans le croisement) tandis que les femelles ont une fertilité presque normale. Certains de ces croisements, en particulier ceux mettant en cause les mâles des espèces A et B et les femelles d'*A. melas* et d'*A. merus*, produisent une génération F_1 où le taux des sexes est très perturbé puisqu'elle est presque exclusivement composée de mâles stériles.

Ces hybrides mâles stériles ont été utilisés dans de nombreuses expériences de laboratoire. Les premières consistaient à ajouter des adultes mâles stériles en proportions variées dans de petites cages contenant des mâles et des femelles normaux. D'autres s'adressaient à des larves du premier stade provenant de croisements connus pour produire principalement des mâles stériles et un très petit nombre de femelles ou même pas du tout, que l'on ajoutait en proportions variées dans des récipients contenant des larves du premier stade d'une seule espèce. Les larves étaient élevées ensemble jusqu'au stade adulte et les adultes étaient conservés ensemble dans des cages. On les maintenait ainsi pendant quelques jours, dans les deux catégories d'expériences, les femelles étaient nourries de sang et isolées par la suite chacune dans un tube contenant de l'eau. On conservait les pontes pour voir si elles allaient éclore.

Les résultats montraient de façon concluante que les mâles hybrides stériles étaient très compétitifs avec les mâles normaux et que même lorsqu'ils étaient en proportions peu élevées (même en des proportions moindres que la moitié), ils réduisaient de façon significative le nombre des pontes viables obtenues par des femelles avec lesquelles ils avaient été élevés.

Mais il restait à savoir si de tels mâles stériles introduits dans des populations naturelles seraient également compétitifs et à étudier cette possibilité par une petite expérience de terrain qui fut effectuée en Haute-Volta à la fin de 1968. Là, deux colonies de laboratoire établies depuis longtemps, l'une de l'espèce B et l'autre de l'espèce *A. melas*, furent croisées en masse en choisissant les mâles de la première espèce et les femelles de la dernière. Ce croisement produisit une génération F_1 presque entièrement composée de mâles stériles. On ne poussait en fait l'élevage de la génération F_1 que jusqu'au stade nymphal et les nymphes étaient déposées dans des collections d'eau naturelles et artificielles, dans de petits villages isolés et autour de ceux-ci près de Bobo-Dioulasso, qui contenaient une population pure de l'espèce A. On commença les lâchers au début de la saison sèche dans une population en voie de déclin. Quelque 300.000 nymphes furent lâchées pendant une période de deux mois, mais il est douteux que les nombres aient été adéquats au cours du premier mois. Durant la majeure partie de cette période de deux mois, 75 %

des mâles capturés dans les cases et dans les lieux de repos extérieurs furent identifiés par dissection comme étant des hybrides mâles stériles relâchés. La majorité des femelles capturées dans les cases du village après les lâchers de nymphes continuèrent cependant à déposer des œufs fertiles, la proportion d'œufs demeurant stériles n'étant que très légèrement supérieure à celle du village témoin.

Un certain nombre de facteurs doivent avoir contribué à ce manque significatif d'accouplements entre les mâles stériles introduits et les femelles naturelles. Il peut s'agir d'une modification hostile du climat au moment du maximum des lâchers de nymphes, des conditions relativement artificielles dans lesquelles les mâles stériles furent élevés jusqu'au stade nymphal et peut-être aussi d'une période trop courte des lâchers. On pense cependant généralement que le comportement d'accouplement des mâles stériles, bien que ceux-ci soient très compétitifs dans les conditions confinées d'une petite cage de laboratoire où n'existent que des populations spécifiques conditionnées à la vie dans de telles cages, n'est pas le même dans les conditions naturelles en raison du comportement naturel d'accouplement des populations sauvages. De plus, l'utilisation d'un croisement entre deux espèces pour lutter contre une troisième peut être responsable de l'apparition d'une nouvelle barrière empêchant l'accouplement entre deux mâles stériles et femelles naturelles.

Summary

Along with *Anopheles funestus* (which may itself be a complex of species), member species of the *A. gambiae* complex constitute the main vectors of malaria in tropical Africa. It is generally acknowledged at the present time that the known and tried methods of malaria eradication could not be applied in the foreseeable future to such a vast area of the world where malaria of the most stable type is prevalent and where financial resources, trained personnel and basic rural health services are inadequate. In addition resistance to dieldrin and H.C.H. is already widespread in two species of the *A. gambiae* complex and D.D.T. resistance is starting to appear in them. Thus if any active progress is to be made at all in the eradication of malaria from Africa, new techniques of vector control will undoubtedly be needed. Such a technique may be the release of sterile males.

As we know it to-day, the *A. gambiae* complex consists of 5 sibling species. Two of these are salt-water forms, *A. melas* in West Africa and *A. merus* in East Africa. The other 3 are fresh-water forms not yet definitively named and called species

A, B and C. Species C has so far only been recorded from South-east Africa, Zanzibar and Ethiopia and, as far as is known, is not a malaria vector. Species A and B are widespread over the whole area of tropical Africa and form the principal malaria vectors in the complex. Crossing any two of these 5 species produces a viable F_1 generation in which the male shows sterility (of varying degree depending on the parent species involved in the cross) and the female near-normal fertility. Certain of the crosses, in particular those involving species A and B males and *A. melas* and *A. merus* females, produce an F_1 generation with a sex-ratio grossly distorted and almost entirely composed of sterile males.

Numerous laboratory experiments have been made with these sterile hybrid males. The early ones involved the addition of adult sterile males in varying proportions to small cages containing normal males and normal females. Later ones involved the addition in varying proportions of first stage larvae from those crosses known to produce mainly sterile males and very few, if any, females, to rearing bowls containing first stage larvae of a single species. The larvae were reared together to the adult stage and then these were kept together in cages. In both kinds of experiment the adults were left together for some days, the females fed on blood and subsequently tubed singly over water. Ovipositions were then kept to see if they hatched.

The results showed conclusively that the hybrid sterile males were highly competitive with the normal males and that when in quite low proportion (even less than equal proportions), significantly reduced the number of viable ovipositions subsequently obtained from females caged with them.

The question remained, however, whether such sterile males introduced into natural populations would be equally competitive and to study this a small field trial was carried out at the end of 1968 in Upper Volta. Here two long-established laboratory colonies, one of species B and one of *A. melas*, were set up and mass-crossings between the male of the former and the female of the latter carried out. This cross produced an F_1 generation almost entirely composed of sterile males. The F_1 generation was in fact only reared to the pupal stage and the pupae were released into water collections, both natural and artificial, in and around a small isolated village near Bobo-Dioulasso, which contained an apparently pure population of species A. Releases were started at the beginning of the dry season into a declining population. Altogether some 300,000 pupae were released over a period of 2 months, though it is doubtful whether in the first month the numbers were adequate. During most of this 2-month period, some 75 % of the males caught in houses and outside resting places were identified by dissection as the released sterile

hybrid males. However, most of the females caught in houses in the village after pupal releases were made, continued to lay fertile eggs, the proportion laying sterile eggs being only slightly higher than in a control village.

A number of factors could have contributed to this lack of significant matings between introduced sterile males and natural females, such as an adverse climatic change at the time of peak pupal release, the relatively artificial conditions in which the sterile males were reared up to the pupal stage and possibly inadequate releases over too short a period of time. However, it is generally concluded that the mating behaviour of the sterile males though highly competitive in the small confines of a laboratory cage against single species populations conditioned to life in such cages, is not so under natural conditions allowing a natural mating behaviour of wild populations. Additionally the use of a cross between two species to control a third, may have been a further barrier to sterile male and natural female mating.

Introduction

Peu de progrès ont été faits jusqu'ici pour lutter contre le paludisme en Afrique tropicale. Les difficultés les plus apparentes sont l'organisation matérielle et le financement, auxquels il faut ajouter les problèmes techniques. Les anophèles vecteurs à fort pouvoir de transmission sont dans cette classe les individus appartenant au complexe de l'espèce *Anopheles gambiae* et *A. funestus* (qui peut être aussi un complexe d'espèces); ces complexes d'espèces maintiennent un taux élevé et stable d'endémicité.

L'arrêt de la transmission par ces vecteurs nécessite l'obtention d'un taux de mortalité élevé; ce taux n'est pas toujours obtenu par les insecticides communément utilisés en pulvérisations intra-domiciliaires, même en l'absence de résistance spécifique à ces insecticides. La nature irritante du D.D.T. et les tendances exophiliques de quelques-uns des vecteurs diminuent le taux de mortalité. Le grand pouvoir de résistance aux insecticides du groupe dieldrin-H.C.H. est un fait commun aux deux complexes d'espèces *A. gambiae* et *A. funestus* en Afrique occidentale, il est maintenant également connu chez les espèces *A. gambiae* du Soudan, du Kenya et de Madagascar. La résistance au D.D.T. est connue également dans deux espèces du complexe *A. gambiae* de l'Afrique occidentale (Coz *et al.*, 1968). Toutes ces raisons expliquent que d'autres mesures de contrôle soient nécessaires pour hâter le progrès, et un tel contrôle peut être obtenu par la méthode de lâcher de mâles stériles.

Le résultat d'investigations faites en laboratoire sur le mode de transmission héréditaire de la résistance à la dieldrine chez *A. gambiae* s.l. fut de montrer qu'il y avait plus d'une espèce incluse dans le croisement entre une population résistante et une population sensible, et que la stérilité des mâles à la génération F_1 était évidente (Davidson, 1956).

Des croisements ultérieurs ont mis en évidence un complexe de cinq espèces jumelles (Davidson *et al.*, 1967). Deux de ces espèces ont des larves vivant dans l'eau salée : *A. melas* en Afrique occidentale et *A. merus* en Afrique orientale. Ces deux espèces ont une certaine importance en tant que vecteurs. Les trois autres sont des espèces d'eau douce non encore dénommées et provisoirement appelées A, B, C. Les espèces A et B sont réparties sur toute l'étendue de l'Afrique tropicale et fournissent les principaux vecteurs du paludisme. L'espèce C a été jusqu'ici reconnue uniquement dans le Mozambique, le Swaziland, la Rhodésie, la Zambie, Zanzibar et l'Ethiopie, et, pour autant qu'on le sache, ce n'est pas un vecteur du paludisme.

Les croisements entre deux des cinq espèces du complexe *A. gambiae* produisent une génération F_1 apparaissant saine et vigoureuse ; cependant, les mâles montrent une stérilité de degrés variés, dépendant de l'espèce des parents en cause dans le croisement, alors que les femelles sont presque aussi fertiles que celles de l'espèce normale. Ces croisements, et particulièrement ceux qui comprennent les mâles des espèces A et B et les femelles *A. melas* et *A. merus*, produisent en F_1 une génération dont le taux des sexes est bouleversé et presque entièrement composée de mâles stériles.

Expériences de laboratoire

De nombreuses expériences de laboratoire ont été faites pour tester la compétitivité sexuelle des mâles hybrides stériles (Davidson, 1964-1969 *a* et *b*, Davidson *et al.*, 1967). Les premiers consistaient à ajouter des mâles adultes stériles en proportions variables dans des petites cages contenant des mâles et des femelles normaux.

Le mélange des deux catégories d'adultes était maintenu durant quelques jours ; les femelles se nourrissaient de sang, puis on les isolait dans des tubes contenant de l'eau ; la ponte était gardée afin de vérifier l'éclosion. Les mâles stériles étaient produits habituellement par des croisements entre les espèces A et B, entre les mâles d'espèce A et les femelles d'*A. melas*, et entre les mâles d'espèce B et les femelles d'*A. melas*, ainsi qu'avec des mâles d'espèce B et des femelles d'*A. merus*. On testait à la fois les populations d'espèce A et les populations d'espèce B.

Le tableau I résume tous les résultats de ces adjonctions d'adultes. Une comparaison des pontes prévisibles et des pontes réellement obtenues par des croisements avec des mâles stériles montre de la part de ceux-ci une meilleure capacité à la copulation.

Des expériences ultérieures réalisées en laboratoire utilisaient ces générations F_1 des croisements produisant une prédominance de mâles dans leur progéniture. Les larves de premier stade d'un tel croisement étaient ajoutées en proportions variables aux bacs d'élevage contenant des larves de l'espèce A ou B au premier stade. Ces larves mélangées étaient alors élevées ensemble jusqu'au stade adulte ; les adultes étaient laissés ensemble dans des cages pendant quelques jours comme dans les expériences précédentes.

Le nombre de pontes fertiles et stériles fut déterminé. Le tableau II résume tous les résultats de cette série d'expériences. Le croisement se faisait entre des mâles des espèces A et B et des femelles d'*A. melas*, et entre des mâles de l'espèce B et des

Tableau I. — L'effet sur la fécondité des femelles de l'adjonction de mâles stériles adultes dans des cages contenant des mâles et des femelles normaux.

Proportions réelles des mâles		Pontes		
Stériles	Normaux	Total	Eclosion %	Eclosion théorique %
0	1	308	89	
1/4	1	132	70	71
1/2	1	133	52	59
1	1	339	34	45
2	1	362	23	29
3	1	179	17	22
4	1	133	17	18

Tableau II. — L'effet sur la fécondité des femelles de l'adjonction de larves hybrides du premier stade (connues pour produire principalement des mâles stériles) à des récipients contenant des larves normales du premier stade et de l'élevage jusqu'au stade adulte.

Proportions théoriques des mâles		Pontes		
Stériles	Normaux	Total	Eclosion %	Eclosion théorique %
0	1	592	85	
1	1	432	48	43
2	1	928	39	28
4	1	206	26	17

femelles d'*A. merus*. Les résultats montrent encore des changements significatifs dans le pourcentage des pontes fertiles dû à la présence des mâles stériles, bien que ces variations ne soient pas aussi importantes que dans les expériences réalisées avec les adultes. La dissection des mâles effectuée à la fin des expériences révéla que la proportion de mâles stériles par rapport aux mâles normaux était inférieure, dans certains cas, à ce qu'on avait prévu ; ceci fut rapporté à la présence sporadique de femelles

hybrides de la génération F_1 en proportion notable. Dans ces expériences où très peu de femelles hybrides pouvaient être détectées, le taux réel des mâles stériles par rapport aux mâles normaux dépassait souvent ce qui était prévu. Ceci prouvait une augmentation des hybrides survivants ; un élevage délibérément effectué dans des conditions défavorables, suivi de dissection des mâles, montrait que cette augmentation des survivants était visible à la fois chez les larves et les adultes hybrides.

Enfin, Bryan (1968) montra qu'en laboratoire une femelle vierge accouplée avec un mâle stérile hybride continuait à pondre des œufs stériles, même après avoir été accouplée une seconde fois avec un mâle normal. Il semble probable que ce phénomène soit dû à un transfert d'un inhibiteur de la copulation, inhibiteur provenant de la glande accessoire du mâle, lors de la première copulation (Craig, 1967).

Ainsi, tous les résultats de laboratoire indiquaient un potentiel différent dans l'utilisation des mâles stériles issus de croisements entre espèces proches parentes du complexe *A. gambiae* pour contrôler les populations naturelles de ce complexe ; en supposant que l'activité copulatrice des mâles hybrides, si bien démontrée en cage, s'effectuerait avec autant de succès dans les populations naturelles. Il n'y avait qu'une seule façon de prouver ceci, c'était de mettre en route une expérience à petite échelle sur le terrain.

Expérience sur le terrain

Le village de Pala, près de la ville de Bobo-Dioulasso, dans la Haute-Volta, fut choisi comme lieu d'expérience en raison de sa petite superficie (une population de cinq cents personnes vivant dans quelque trois cents cases). Ce village était, de plus, relativement isolé et proche du laboratoire et de l'insectarium de la station d'entomologie du Centre Muraz (Office de la Recherche scientifique et technique d'Outre-Mer). L'isolement était de la plus haute importance, car quelques migrations de femelles fertilisées provenant de l'extérieur de l'aire étudiée auraient masqué l'effet dû à la copulation des mâles stériles. Une étude du village et de son environnement montra que virtuellement tous les gîtes larvaires étaient dans le voisinage immédiat des habitations et des champs de culture adjacents, mais à une distance de deux kilomètres à l'Est et à l'Ouest, deux rivières permanentes coulaient, pouvant servir de gîtes larvaires supplémentaires. Pour mettre en évidence le fait que les moustiques pouvaient atteindre le village, des moustiques élevés dans l'insectarium à Bobo-Dioulasso, marqués par un pigment fluorescent à la lumière du jour, furent lâchés depuis les rivières et à des lieux situés de plus en plus près du village. Un des 8.500 individus mâles et femelles lâchés fut recapturé dans le village de Pala. C'était une femelle encore bien marquée : sa dissection prouva qu'elle avait pondu deux fois avant la capture. Cette femelle fut attrapée 11 jours après le dernier lâchage et 20 jours après le premier. Pour plus de sûreté, les deux rivières étaient traitées à l'insecticide Abate.

Près de Pala se trouvaient deux autres villages semblablement isolés, Borogoudou et Koro, qui servaient de témoins.

Le but original de ces expériences sur le terrain fut l'ensemencement des quelques gîtes subsistant à Pala au début de la saison sèche avec des œufs (sur le point d'éclore) issus de croisements connus pour donner une descendance composée en majeure partie de mâles stériles. On espérait que les larves issues de ces œufs se développeraient en même temps que les larves indigènes et que la sortie des adultes se produirait au même lieu et en même temps que celle des populations naturelles.

Théoriquement, le croisement devrait être fait entre le mâle de la population naturelle (espèce A) et la femelle d'*A. melas* (celle-ci provenant des eaux saumâtres de l'Afrique occidentale). Les expériences de ce croisement effectuées à Londres avaient cependant toujours eu comme résultat la production d'une grande proportion de femelles dans la génération F_1 . Le croisement ayant donné le plus de résultats satisfaisants, dans le laboratoire de Londres, avait été effectué entre une population de l'espèce B originaire de Kano (Nigeria) en 1958 et une population d'*A. melas* provenant de Harbel (Nigeria) en 1962. Le résultat de ce croisement donnait moins de femelles dans la génération F_1 , et les mâles montraient un fort pouvoir compétitif avec des mâles normaux. Il fut donc décidé de transférer ces deux souches à Bobo-Dioulasso pour une production à grande échelle des mâles stériles. Bien que conscient du fait qu'un croisement entre deux espèces était destiné à un essai de contrôle d'une troisième espèce, on pensa que le fait était possible grâce à la vigueur des hybrides, qui pourraient ainsi surmonter les barrières naturelles de l'hétérofécondation.

L'application scientifique de cette méthode de dispersion des larves dépendait de la connaissance de la dimension de la population naturelle aquatique. Cuellar (1969 a) avait calculé que pour éradiquer une population de 10.000 mâles et femelles éclosant chaque jour il était nécessaire d'introduire dans les gîtes larvaires quelque 2.000.000 d'œufs hybrides par jour pendant neuf semaines. Ces calculs se basaient sur la supposition que les mâles stériles avaient autant de chances de copuler qu'un mâle normal, et que les femelles naturelles n'avaient pas de chances de survivre plus de neuf semaines. Ce nombre d'œufs hybrides nécessaires représentait une quantité double des pontes naturelles et permettait d'espérer une non-éclosion de 50 % des œufs de F_1 (ceci compte tenu de la distorsion du taux des sexes, seuls les œufs donnant naissance à des mâles éclosant). Les calculs tenaient également compte de la mortalité se produisant entre le stade de l'œuf et la sortie des adultes dans les conditions naturelles qui pouvait être excessivement haute (plus de 98 % dans les populations indigènes); ainsi, une addition continue de grandes quantités de matériel hybride compenserait une mortalité continuellement élevée dans les stades aquatiques.

La localisation idéale de quelques gîtes larvaires permettant un échantillonnage facile par la méthode traditionnelle en écologie de lâcher-recapture d'individus marqués afin d'estimer la taille d'une population, n'existait cependant pas encore. Les dernières pluies avaient eu pour résultat une multiplication des gîtes larvaires, et ceci dans des endroits impossibles à échantillonner (les bords et les eaux mortes des rivières, par exemple). Pour toutes ces raisons et parce qu'il semblait douteux que l'insectarium soit capable de produire assez d'œufs hybrides, on décida d'élever la génération F_1 jusqu'au stade nymphal dans le laboratoire (avec seulement une mortalité modérée), et

de lâcher les nymphes dans le village et autour de celui-ci. Cuellar (1969 *b*) avait calculé que 300.000 mâles stériles lâchés quotidiennement étaient suffisants pour éradiquer une population maintenue par 10.000 éclosions journalières de mâles et de femelles, à condition que le lâcher s'étende sur une période de treize semaines.

Il n'y a eu aucune difficulté dans l'acclimatation de la souche B à Bobo-Dioulasso, mais *A. melas* présentait au départ quelques difficultés. Cette souche fut en définitive élevée dans l'eau distillée avec adjonction de sel marin afin d'obtenir une équivalence d'un mélange de 20 % d'eau de mer. La capacité journalière de l'insectarium était de 3.000 *A. melas* et 2.600 individus adultes de l'espèce B. Ceci permettait de croiser 1.200 mâles de Kano avec 1.200 femelles d'*A. melas* par jour, le reste des individus étant utilisé pour maintenir les stocks des deux souches. Les femelles étaient nourries sur des lapins immobilisés, et la production d'œufs par jour en moyenne était de 6.000 pour *A. melas*, 4.000 pour l'espèce B et 40.000 pour les hybrides.

L'élevage des larves hybrides ne présentait aucun problème, et durant les deux mois qui correspondaient à la période de lâcher la production de pupes hybrides était en moyenne de 6.000 par jour avec une pointe de 12.000.

Les nymphes hybrides étaient recueillies à la main et comptées par une méthode indirecte (système de l'entonnoir) (Davidson *et al.*, 1969). On transportait les nymphes par lots de 500 à 1.000 sur les lieux de lâcher ; le transport se faisait dans des boîtes de Petri en plastique ; les nymphes se trouvaient enveloppées dans de la gaze et reposaient sur un lit de coton hydrophile humide. Le lâcher était fait par simple immersion de la gaze dans l'eau. Quelques-unes des nymphes étaient lâchées dans des récipients pleins d'eau ; le contenu de ceux-ci était compté chaque jour afin de déterminer avec exactitude la précision de la mesure indirecte faite avec « l'entonnoir », le pourcentage d'éclosion et le taux des sexes. Il était nécessaire de compter les adultes morts, les nymphes mortes, les dépouilles nymphales, et de déterminer le sexe des nymphes d'après la morphologie des terminalia. Le total des dépouilles nymphales qui furent déterminées au point de vue du sexe était de 21.676, dont 7 % étaient des femelles ; le total des individus comptés à la main était de 56.651, chiffre qui était en accord avec l'estimation de 54.450 trouvée par la méthode indirecte de l'entonnoir. Une moyenne de 90 % des nymphes donnait des adultes qui s'échappaient des récipients.

La figure 1 montre les points de lâcher des nymphes dans le village de Pala et autour de celui-ci. Durant le premier mois, la plupart des lâchers étaient faits dans les gîtes larvaires naturels montrant des densités élevées avec une forte proportion de stades aquatiques avancés, c'est-à-dire les points L et M. La masse des dépouilles nymphales dans ces gîtes indiquait de bonnes éclosions. Cependant, vers la fin de novembre, les principaux gîtes larvaires étaient à sec ; la température nocturne s'abaissa brusquement à 12°. Les lâchers furent alors faits dans des récipients artificiels ; ceux-ci et leur contenu furent soit immergés dans le réseau des cours d'eau qui entouraient le village, soit laissés dans les cases vides du village ; le lâcher fut également fait dans les quelques points d'eau permanents qui montraient une faible activité de ponte à quelque distance du village (points R, S, T). Il est évident que pour un tel lâcher la mortalité fut élevée. On fit alors le lâcher à partir de récipients en verre, posés sur de

VILLAGE ET ENVIRONS DE PALA

FIG. 1

la paille dans des cages, à l'abri des prédateurs et des fourmis, au point J. Après les lâchers, on capturait à la main des femelles et des mâles qui se reposaient durant le jour dans les cases et les abris extérieurs (fosse de Muirhead-Thomson). Les mâles étaient disséqués et leurs testicules examinés pour vérifier s'ils étaient fertiles ou stériles, tandis que les femelles étaient mises individuellement dans des tubes contenant de l'eau, pour la ponte. Les femelles ne donnant pas d'œufs étaient disséquées et classées en fécondées ou non (après un examen de la spermathèque) et en nullipares et pares (après un examen du système trachéal de l'ovaire). Les femelles gravides mourant sans avoir pondu étaient aussi disséquées pour voir si les spermathèques contenaient des spermatozoïdes. La ponte était gardée plusieurs jours afin de vérifier l'éclosion, et était classée en œufs de taille normale et flottants et en œufs de petite taille et tombant au fond du tube. De plus, des échantillons des pontes étaient examinés pour voir s'ils provenaient de femelles d'espèce naturelle A ou de femelles hybrides. Les œufs de ces dernières ressemblaient à ceux d'*A. melas* avec une partie basale importante large et aucune fente entre le côté dorsal du flotteur et la frange du dos. Les œufs d'*A. gambiae*, espèce A, ont normalement une partie dorsale étroite ceinturant l'œuf et une fente importante entre le flotteur et la frange. Les femelles qui pondaient et qui survivaient et les pontes qui éclosaient étaient relâchées dans le village. Dans les villages témoins, la capture se faisait uniquement dans les maisons, et on ne libérait pas les moustiques

capturés. Le tableau III résume les résultats obtenus dans le village traité et les villages témoins, tandis que le tableau IV essaie de préciser pour des périodes approximatives d'une semaine le lâcher réel des mâles stériles en fonction de la proportion théoriquement nécessaire suivant la densité de la population.

Tableau III. — Résultats globaux du lâcher des mâles stériles

	Pala	Témoins
Nymphes lâchées	295.813	
% de mortalité	10 (56.651)	
% de femelles		
% de mâles recapturés stériles	♀ (21.676)	
— dans les cases	66 (275)	
— dans les abris extérieurs	83 (173)	
Nombre de femelles ayant pondu	357	296
Nombre de pontes écloses	319	276
pontes		
n. } normales/espèce A	12	4
éclo- } normales/hybride	9	0
ses } anormales	17	16

Tableau IV. — Résultats théoriques et réels de lâchers périodiques de mâles stériles

Période	Femelles par jour par case	Emer- gence théorique par jour ♂ et ♀	Nombre de ♂ stériles néces- saires par jour	Nombre réel de ♂ stériles émergeant par jour	% de ♂ capturés stériles	Pala Espèce A normale dont les pontes n'éclosent pas	Témoins pontes normales n'éclosant pas
10-16/11 ...	5	2.400	72.000	26.000	—	—	0/40
17-23/11 ...	2	960	28.800	4.000	68	3/61	1/41
24-30/11 ...	1,3	624	18.720	5.900	76	3/89	0/33
1-7/12	1	480	14.000	6.000	85	2/35	2/39
8-14/12 ...	0,4	192	5.760	5.700	86	3/60	0/27
15-21/12 ...	0,3	144	4.320	4.500	54	0/10	0/41
22-28/12 ...	0,1	48	1.440	2.500	87	0/4	—
29-12-3/1 ..	0	?	?	2.300	89	—	0/21
4-1-13/1 ..	0,02	10	300	?	61	0/2	—

L'estimation de la densité permet d'affirmer que la méthode de capture à la main a un rendement de 50 % et que les moustiques posés à l'intérieur des maisons représentent un quart de la population totale (75 % se reposent à l'extérieur). Le taux jour-

nalier de survie naturelle des femelles était de 0,9, et d'après celui-ci on a calculé que le nombre moyen de pontes par femelle était de trois pendant dix jours. Le nombre de cases de Pala était de 300 ; il y avait cinq femelles par case :

$$\frac{5 \times 2 \times 4 \times 300}{10} \left. \begin{array}{l} \} = 1.200 \text{ femelles} \\ \} = 2.400 \text{ femelles et mâles par jour.} \end{array} \right\}$$

Le nombre nécessaire de mâles stériles fut calculé d'après Cuellar (1969 *b*). 300.000 mâles stériles étaient nécessaires pour l'éradication de 10.000 individus des deux sexes qui se transformaient quotidiennement en adultes. Le nombre réel des mâles stériles était considéré comme égal à 80 % de celui des nymphes lâchées en raison d'une mortalité (qui variait de 5 à 16 %) et d'une certaine proportion de femelles (qui variait au moins de 1 % à 11 %).

On peut voir dans le tableau IV que c'est seulement à partir de la deuxième semaine de décembre que le nombre de mâles stériles lâchés atteint le nombre estimé nécessaire ; cet état de fait subsista durant un mois. Cependant, pendant plus de six semaines, 75 % des mâles capturés dans les cases et dans les abris extérieurs étaient des mâles stériles que l'on avait introduits. A partir du début de décembre, la densité de la population naturelle déclina rapidement jusqu'à la fin du mois, et une seule femelle fut attrapée par la méthode de capture à la main.

Cependant, dans le principal village témoin de Borodougou, la densité des adultes était plus élevée quoique déclinant jusqu'à atteindre deux femelles par case à la fin de l'expérience.

Au total, 1.804 femelles étaient mises en tube, provenant du village de Pala, avant le lâcher des mâles stériles, ainsi que des deux villages témoins ; pendant toute l'expérimentation, 70 % de celles-ci ont pondu. A Pala, après le lâcher des mâles, 70 % des 502 femelles pondirent, 23 % moururent dans un état gravide, et 7 % ne donnèrent pas d'œufs. La plupart de ces dernières n'étaient pas fécondées, et les trois quarts de celles-ci étaient nullipares. Des proportions similaires étaient obtenues avec des femelles attrapées dans les villages témoins. Sur 1.254 pontes obtenues à partir des femelles originaires de Pala capturées avant le lâcher des mâles stériles, et des femelles capturées durant la période de l'expérience dans les deux villages témoins, 1.214 éclorement. Sur 31 pontes qui n'écloraient pas, 22 furent considérées comme anormales. Après les lâchers, le pourcentage de pontes anormales était à peu près le même (environ 5 %) dans le village traité de Pala et dans les villages témoins. Le pourcentage total du rapport des pontes non écloses par rapport aux pontes considérées comme normales était de 5,88 pour les femelles attrapées à Pala après deux mois de lâchers des mâles stériles. Durant la même période, dans les villages témoins, 1,35 % des pontes qui semblaient normales n'écloraient pas. Cependant, 2,52 % des pontes qui semblaient normales à Pala provenaient des femelles hybrides, et 3,36 % seulement provenaient de femelles de l'espèce A.

Conclusion

La principale conclusion que l'on peut tirer de cette expérience sur le terrain est qu'il se produit très peu d'accouplements entre les mâles stériles introduits et les femelles indigènes, et certainement pas assez pour conduire à l'éradication des populations naturelles dans un temps raisonnable. Il y a une disparition virtuelle de la population naturelle, mais cela ne peut pas être attribué à l'introduction de mâles stériles. Même lorsqu'il apparaît que le nombre de mâles introduit est en excès par rapport à celui calculé comme nécessaire, il n'y a pas d'augmentation évidente des pontes stériles. Que la dispersion des mâles stériles à partir de leur gîte larvaire soit réussie, ainsi que le mélange avec la population naturelle, ces résultats sont démontrés par le fait que durant la principale période de lâcher, 75 % des mâles capturés dans le village et aux alentours étaient stériles. La raison de cette absence d'accouplement entre mâles stériles et femelles naturelles doit provenir d'une barrière à l'accouplement qui s'extériorise dans les conditions naturelles et non dans les conditions confinées d'une cage de laboratoire.

Indubitablement, les conditions climatiques, peu favorables au moment du maximum de lâcher, ont contribué à l'insuccès de l'expérience, qui peut être aussi dû au fait que les mâles stériles aient été élevés dans les conditions artificielles d'un laboratoire. Malgré tout, l'obstacle principal doit être la barrière à l'accouplement, qui empêche l'hybridation des espèces sympatriques. D'autre part, des accouplements d'espèces homologues étaient évidents non seulement entre mâles et femelles d'espèce A, mais entre mâles hybrides et femelles hybrides (9 des 21 pontes stériles, d'apparence normale, originaires de Pala, provenaient de femelles hybrides), tandis que le fait qu'aucun des œufs hybrides n'éclore indique que l'accouplement entre les mâles naturels d'espèce A et les femelles hybrides n'a jamais lieu. Il reste à démontrer si cette barrière au croisement interspécifique demeure aussi marquée lorsqu'on emploie un hybride provenant des mâles de l'espèce A naturelle et des femelles *A. melas*. Dans ce cas seulement, des éléments de deux espèces sont en cause, tandis que dans l'utilisation d'un croisement entre un mâle d'espèce B et une femelle *A. melas* contre l'espèce A, les éléments de trois espèces sont mis en jeu.

Bibliographie

- BRYAN (J.), 1968. — Results of consecutive matings of female *Anopheles gambiae*, species B with fertile and sterile males. *Nature (Lond.)*, 218, 489.
- COZ (J.), DAVIDSON (G.), CHAUVET (G.) et HAMON (J.), 1968. — La résistance des anophèles aux insecticides en Afrique tropicale et à Madagascar. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd.*, 6, 207-210.
- CRAIG (G.), 1967. — Mosquitoes: female monogamy induced by male accessory gland substance. *Science*, 156, 1499-1501.

- CUELLAR (C. B.), 1969 *a.* — A theoretical model of the dynamics of an *Anopheles gambiae* population under challenge with eggs giving rise to sterile males. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 40, 205-212.
- , 1969 *b.* — The critical level of interference in species eradication of mosquitoes. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 40, 213-219.
- DAVIDSON (G.), 1956. — Insecticide resistance in *Anopheles gambiae* Giles : a case of simple Mendelian inheritance. *Nature (Lond.)*, 178, 863-864.
- , 1964. — The five mating types in the *Anopheles gambiae* complex. *Riv. Malariol.*, 43, 167-183.
- , 1969 *a.* — The potential use of sterile hybrid males for the eradication of member species of the *Anopheles gambiae* complex. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 40, 221-228.
- , 1969 *b.* — Genetical control of *Anopheles gambiae*. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd.* (sous presse).
- , ODETOYINBO (J. A.), COLUSSA (B.) et COZ (J.), 1969. — A field attempt to assess the mating competitiveness of sterile males produced by crossing two member species of the *Anopheles gambiae* complex. *Bull. Wld. Hlth. Org.* (sous presse).
- , PATERSON (H. E.), COLUZZI (M.), MASON (G. F.) et MICKS (D. W.), 1967. — The *Anopheles gambiae* complex. Chapter 6 in *Genetics of Insect Vectors of Disease*, ed. by Wright, J. W. and Pal, R. Elsevier Publ. Co., Amsterdam, pp. 211-250.
-