

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
ECOLE NORMALE SUPERIEURE
DEPARTEMENT DE Sciences biologiques



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
HIGHER TEACHER TRAINING COLLEGE
DEPARTMENT OF Biology

**Evaluation au laboratoire de l'effet de l'exposition a des
CMEO d'intrants agricoles sur le developpement et la
reproduction d'*Anopheles coluzzii* coetzee, 2013
(Diptera: culicidae), vecteur majeur du paludisme**

Mémoire presente en vue de l'obtention du D.I.P.E.S II

Par :

LONMENE TAZO Arnaud
Licencie es sciences

Sous la direction
AWONO AMBENE Herman P.
Charge de Recherches



Année Académique
2015-2016



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire de Yaoundé I. Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : biblio.centrale.uyi@gmail.com

WARNING

This document is the fruit of an intense hard work defended and accepted before a jury and made available to the entire University of Yaounde I community. All intellectual property rights are reserved to the author. This implies proper citation and referencing when using this document.

On the other hand, any unlawful act, plagiarism, unauthorized duplication will lead to Penal pursuits.

Contact: biblio.centrale.uyi@gmail.com

DEDICACE

A mes parents **TAZO PIERRE** et **MANGOUO MARIE**.

REMERCIEMENTS

Toute pensée relative à la réalisation de ce travail se serait sans doute soldée par une impasse si n'eût été la volonté de Dieu, tout Puissant que je remercie particulièrement pour son inextinguible amour.

Beaucoup de personnes m'ont soutenu et marqué à différents niveaux lors de la réalisation de cette étude. J'aimerais aujourd'hui pouvoir leur témoigner ma profonde gratitude. Il s'agit de :

- Dr AWONO AMBENE Parfait pour l'encadrement, les orientations, les conseils et la disponibilité qu'il a témoignés à mon égard,
- Dr FOKO DADJI Gisèle Aurélie pour avoir accepté de codiriger ce travail, ses conseils m'ont été d'une aide précieuse,
- Dr Constant Roger AYENENGOYE, Secrétaire Exécutif de l'OCEAC, qui m'a accordé un stage de formation dans son institution,
- toute l'équipe de recherche du Laboratoire de Recherche sur le Paludisme de l'OCEAC en particulier les Docteurs NDO Cyrille, ETANG Josiane Désirée, ANTONIO-NKONDJIO Christophe et NSANGO Sandrine, pour leurs conseils et orientations,
- Pr ANDJIGA Gabriel N., Directeur de l'Ecole Normale Supérieure (ENS) de Yaoundé, pour son encadrement,
- Pr SONKE Bonaventure, Chef de Département des Sciences Biologiques de l'ENS de Yaoundé pour ses enseignements,
- tous les enseignants du Département des Sciences Biologiques de l'ENS de Yaoundé pour leur inestimable contribution à ma formation,
- tous mes camarades de promotion de l'ENS, ceux de l'unité Hydrobiologie et Environnement du Laboratoire de Biologie Générale de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I ainsi que ceux du Laboratoire de Recherche sur le Paludisme (LRP) de l'OCEAC pour leur collaboration et leur soutien. Avec eux, j'ai passé d'agréables moments d'échange. Je voudrais profiter ici pour remercier particulièrement ZEBAZE MEGUIE Joël pour le rôle qu'il a joué dans mon initiation à la recherche,
- tous mes aînés de l'unité Hydrobiologie et Environnement et spécialement M. MVONDO Narcisse ainsi que ceux du LRP pour leurs encouragements et leur soutien,
- toute ma famille pour l'intérêt qu'elle a accordé à mes études depuis mon plus bas âge et particulièrement mes frères KENNE DIFFO Bernardin Beauderic et METINO TAZO Anatole France et ma sœur MAKO TAZO Berbeline pour leur soutien inconditionnel et sans faille,

- tous mes amis et voisins des cités JUNGLE B et NICOLAS I pour des chaleureux moments passés avec eux, moments pendant lesquels j'ai également beaucoup appris,
- tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à mon éducation et partant à la réalisation de ce travail, qu'ils trouvent entre ces lignes l'expression de ma profonde gratitude.

SOMMAIRE

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
SOMMAIRE	iv
ABSTRACT	vi
Liste des abréviations et acronymes	vii
Liste des figures	vii
Liste des tableaux.....	vii
INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I. REVUE DE LA LITTERATURE	3
I.1. Généralités sur les anophèles	3
I.1.1. Caractéristiques et position taxinomique d' <i>Anopheles gambiae</i> s.l.	3
I.1.2. Présentation générale des anophèles en Afrique	4
I.1.3. Stades de développement des anophèles.....	4
I.1.4. Gîtes larvaires à anophèles et pollution	6
I.2. Vecteur majeur du paludisme en zone urbaine, <i>Anopheles coluzzii</i>	8
I.3. Généralités sur les intrants agricoles	9
I.3.1. Engrais	9
I.3.2. Pesticides.....	9
I.3.3. Impact des intrants agricoles sur l'environnement	12
I.4. Quelques indicateurs écotoxicologiques des polluants dans les milieux aquatiques	13
CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES.....	15
II.1. Cadre et période de l'étude	15
II.1.1. Cadre de l'étude	15
II.1.2. Période de l'étude.....	15
II.2. Choix du matériel biologique.....	15
II.3. Description des xénobiotiques utilisés	15
II.4. Méthodes.....	16

II.4.1. Protocole expérimental.....	16
II.4.2. Tests de gamme pour la détermination de la Concentration Minimale avec Effet Observable (CMEO).....	19
II.4.3. Analyses physicochimiques	21
II.4.4. Elevage des larves d’anophèles soumises à la Concentration Minimale avec Effet Observable	21
II.4.5. Conservation des imagos au laboratoire.....	21
II.4.6. suivi des pontes issus des isofemelles	22
II.4.7. Analyse statistique des données	22
CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION	23
III.1. Résultats	23
III.1.1. Détermination des Concentrations Minimales avec Effet Observé	23
III.1.2. Physicochimie des milieux expérimentaux	24
III.1.3. Développement préimaginal d’ <i>Anopheles coluzzii</i> en présence des xénobiotiques	26
III.1.4. Effet des xénobiotiques sur la reproduction d’ <i>Anopheles coluzzii</i>	26
III.2. Discussion.....	31
CHAPITRE IV. IMPLICATIONS SUR LE SYSTEME EDUCATIF.....	34
IV.1. Introduction	34
IV.2. Données d’ensemble	34
IV.3. Fiche pédagogique	35
IV.4. Conclusion.....	41
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	42
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	43

ABSTRACT

Mosquitoes of the genera *Anopheles* constitute a major preoccupation as vectors of diseases like malaria and filarial and are essentially controlled with the help of insecticide. The mediums in which anopheles larvae develops are aquatic ecosystems subjected to xenobiotic of anthropic origin capable of modifying their sensitivity to insecticide. To verify this hypothesis, we aim at studying the prolonged impact of two agricultural inputs on the reproduction and development of malaria major vector *Anopheles coluzzii*. The study consisted in carrying out the tests of range to determine the Lowest Observed Effect Concentration (LOEC), then to expose the larvae of mosquitos to these LOEC in order to evaluate the effect on their reproduction and their development. In addition, the physico-chemical analysis was carried out. The LOEC was of 2×10^{-8} g/L for the cypercal and 0.2 g/L for ammonia. The physico-chemical analyses reveal that contrary to the cypercal, ammonia varies significantly the pH and the electric conductivity compared to the witness sample. The observations made on the productivity of the breeding of the emergent adult mosquitoes of the larvae exposed to xenobiotic showed a weak reproductive success compared to the witness. Thus with the first generation, fecundity was lower for the tests than for the witnesses (the average number of laid eggs passed from 123.16 ± 44.82 for the witness to 92 ± 28.44 and 92.19 ± 34.07 respectively for the cypercal and the ammonia) just as the fertility (the percentage of eggs hatching was 80.04 for the witness, 67.56 for the cypercal and 69.52 for ammonia). The larval rate of survival, the rate of nymphose, the rate of emergence, the rate of inhibition of emergence, the preimaginal yield and the total yield were also weaker for the tests than for the witnesses. With the second generation, the parameters of growth continued to drop but slightly for ammonia while the cypercal made decrease by advantage and significantly these parameters except for the rate of eggs hatching and the rate of larval survival. This information contributes to a better comprehension of the impact of anthropic environment on the adaptive capacities of the mosquitoes with respect to the pollutants present in the larval breeding sites and opens prospects for research on the cost of resistance to insecticides on the dynamics of the populations of mosquito.

Keywords: Xenobiotic, *Anopheles*, reproduction, development, agricultural input.

LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES

ADN : Acide désoxyribonucléique;

CMEO : Concentration Minimale avec Effet Observé ;

CSEO : Concentration Sans Effet Observé ;

CYP : Cypercal ;

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane ;

E.C. : Concentré Emulsionnable ;

OCEAC : Organisation de Coordination pour la lutte contre les Endémies en Afrique Centrale ;

OMS : Organisation Mondiale de la Santé ;

OMS/AFRO : bureau régional de l'Organisation Mondiale de la Santé pour l'Afrique ;

PCR: Polymerase Chain Reaction;

WHO: World Health Organization.

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Cycle de développement des Anophèles.....	5
Figure 2. Dispersion des insecticides dans les écosystèmes.....	13
Figure 3. Xénobiotiques utilisés pour les tests de gamme.....	16
Figure 4. Protocole expérimental utilisé au cours de l'étude.....	17
Figure 5. Taux de nymphose obtenu dans les différents bacs d'élevage.....	23
Figure 6. Evolution journalière de la température dans les bacs d'élevage au cours du développement préimaginal d' <i>Anopheles coluzzii</i>	24
Figure 7. Evolution journalière du pH dans les bacs d'élevage au cours du développement préimaginal d' <i>Anopheles coluzzii</i>	25
Figure 8. Evolution journalière de la conductivité électrique dans les bacs d'élevage au cours du développement préimaginal d' <i>Anopheles coluzzii</i>	26
Figure 9. Différents paramètres de développement préimaginal d' <i>Anopheles coluzzii</i> après exposition au cypercal.....	28
Figure 10. Différents paramètres de développement préimaginal d' <i>Anopheles coluzzii</i> après exposition au cypercal.....	30

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Paramètres de croissance d' <i>Anopheles coluzzii</i>	18
---	----

INTRODUCTION GENERALE

La croissance rapide de la population mondiale a imposé la mise sur pieds des stratégies de gestion parmi lesquelles la réorientation de la politique agricole. C'est ainsi que l'agriculture est de nos jours assujettie à la mécanisation, à la sélection des variétés plus productives, à l'irrigation et à l'usage des intrants agricoles afin d'augmenter les rendements. Les intrants agricoles sont des éléments qui contribuent à l'amélioration de la production agricole (ONG Afrique Verte Niger 2011). Ils regroupent entre autres les fertilisants (engrais), les produits phytosanitaires (pesticides), les semences et les plants, les activateurs ou retardateurs de croissance, les matériels et autres équipements agricoles (ONG Afrique Verte Niger 2011). Ces intrants ont rendu et continuent de rendre à l'Homme de substantiels services en termes d'amélioration des rendements agricoles. Cependant, les conséquences de leur utilisation sur la santé et l'environnement sont importantes et méritent une attention particulière, surtout pour les intrants chimiques.

De fait, l'utilisation des fertilisants et des pesticides en agriculture entraîne des dégradations parfois fortes et durables des écosystèmes (Montuelle 2009) et surtout des hydrosystèmes qui en constituent des réceptacles ultimes. On peut ainsi assister à la mort des organismes, à l'extinction de certaines espèces et également à l'installation de certains groupes au fort pouvoir colonisateur (Boyer 2006), à l'instar des anophèles, vecteurs du paludisme (Muller et *al.* 2008, Ranson et *al.* 2009), maladie qui demeure en Afrique subsaharienne l'endémie majeure (WHO 2014).

En effet, le paludisme ou malaria est une parasitose due à des hématozoaires du genre *Plasmodium* et transmis à l'Homme par la pique d'un moustique femelle du genre *Anopheles*. Le paludisme est la première cause de morbidité et de mortalité dans le monde (WHO 2014) et plus précisément en milieu intertropical où les conditions climatiques sont favorables au développement des vecteurs. En effet, 90% des 584000 décès enregistrés dans le monde en 2013 et imputables à la malaria étaient originaires de l'Afrique subsaharienne. La lutte contre ce fléau repose principalement sur l'utilisation des insecticides en imprégnation des moustiquaires et en pulvérisation intradomiciliaires. Malheureusement, ces insecticides sont confrontés à une menace, celle de la résistance des vecteurs (Enayati et Hemingway 2010).

Les études récentes ont montré que les polluants présents dans les gîtes larvaires contribuent à augmenter la résistance des anophèles aux insecticides (Boyer 2006, Poupardin 2011, Lonméné 2015). Dès l'or, une autre question se pose, celle de savoir si cette résistance des anophèles aux insecticides n'aurait pas un effet sur la reproduction et le développement des

moustiques. Afin de répondre à cette question, il convient d'évaluer les effets des xénobiotiques précis sur le développement et la reproduction des populations anophéliennes. Ceci permettra d'optimiser la lutte anti-larvaire en tenant compte de la dynamique des larves dans les gîtes pollués lors des campagnes de traitement.

C'est dans ce contexte que la présente étude s'inscrit et vise à déterminer les impacts de l'exposition aux intrants chimiques couramment utilisés en agriculture, notamment un insecticide à base de pyréthrinoides et d'organophosphorés (cypercal), et l'ammoniaque qui constitue l'élément essentiel des engrais azotés sur les tendances de développement préimaginal d'*Anopheles coluzzii*. Spécifiquement, il s'est agit :

- de déterminer la Concentration Minimale avec Effet Observé (CMEO) de chaque xénobiotique sur les larves d'*Anopheles coluzzii* ;
- de mesurer quelques paramètres physico-chimiques au cours du développement préimaginal d'*Anopheles coluzzii* dans les milieux expérimentaux contenant les xénobiotiques à des CMEO ;
- de déterminer les paramètres de développement préimaginal des larves d'*Anopheles coluzzii* exposées aux xénobiotiques à des CMEO ;
- de déterminer la durée global du développement des larves d'*Anopheles coluzzii* au contact des xénobiotiques à des CMEO.

Le présent travail se divise en quatre chapitres. Le premier traite de la revue de la littérature, le deuxième présente le matériel et les méthodes utilisés, le troisième présente les résultats et la discussion et le quatrième illustre l'implication du sujet sur le système éducatif. L'ensemble est couronné d'une conclusion et des perspectives.

CHAPITRE I. REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. Généralités sur les anophèles

I.1.1. Caractéristiques et position taxinomique d'*Anopheles gambiae* s.l.

Les Anophèles sont des insectes holométaboles dont la larve, la nymphe et l'adulte diffèrent sur le plan morphologique. Leur développement passe par une phase larvaire aquatique avant le stade adulte aérien, les deux étant entrecoupés d'une courte phase nymphale également aquatique (Clements 1992).

La position taxinomique des anophèles adaptée de Harbach (2004) et Gillot (2005), est la suivante :

Règne Animal.

Embranchement des Arthropodes (Siebold et Stannius 1845) :

- présence d'un exosquelette;
- présence d'appendices articulés.

Sous-embranchement des Hexapodes :

- corps divisé en 3 tagmes bien différenciés : tête-thorax-abdomen ;
- présence de 3 paires de pattes thoraciques, thorax à trois métamères.

Classe des Insectes :

- pièces buccales visibles à l'extérieur (ectognathes) ;
- présence de l'organe de Johnston sur le scape antennaire.

Sous-classe des Ptérygotes :

- présence fondamentale de deux paires d'ailes à un stade de leur développement post-embryonnaire portées par le meso et le post-thorax.

Section des Oligonéoptères :

- champ jugal avec une seule nervure longitudinale simple.

Ordre des Diptères (Linné 1758) :

- présence d'une paire d'ailes, les ailes postérieures étant transformées en balanciers ;

Sous-ordre des Nématocères (Latreille 1825) :

- antennes longues et multiarticulées ;
- pronotum séparé du mésonotum par une suture transverse.

Famille des Culicidae (Latreille 1825) :

- corps recouvert d'écailles filiformes ;
- bord postérieur des ailes frangé d'écailles.

Sous-famille des Anophelinae (Theobald 1905) :

- trompe dressée en avant, beaucoup plus longue que le reste de la tête ;
- scutellum régulièrement courbé au bord postérieur.

Tribu des Anophelini (Belkin 1962).

Genre *Anopheles* (Meigen 1918) :

- taches formées par les écailles claires et sombres sur la costa ;
- présence ou non de touffes latérales sur l'abdomen.

Espèce *Anophèles coluzzii* (Coetzee 2013) :

- costa avec 5 taches pâles dont 2 basales ;
- fémurs et tibias antérieurs largement tachetés.

I.1.2. Présentation générale des anophèles en Afrique

Les anophèles appartiennent au groupe des moustiques qui ont apparus il y a plus de 170 millions d'années et qui comptent plus de 3500 espèces réparties majoritairement au sein des trois genres principaux : *Aedes*, *Anopheles* et *Culex* (Resh et Cardé 2003). Parmi ces moustiques, ceux du genre *Anopheles* sont représentés en Afrique subsaharienne par 450 espèces parmi lesquelles 16 qui diffèrent par leurs compétences vectorielles, assurent la transmission du paludisme (Gillies et De Meillon 1968, Antonio-Nkondjio et al. 2006).

Une cinquantaine d'espèces anophéliennes sont référencées au Cameroun ; les espèces responsables de la transmission du paludisme sont regroupées en 5 vecteurs majeurs qui comportent au moins cinq espèces (*Anopheles (An.) gambiae*, *An. coluzzii*, *An. arabiensis*, *An. funestus*, *An. nili*, *An. moucheti*) et 9 vecteurs secondaires (*An. paludis*, *An. hancocki*, *An. ovengensis*, *An. carnavalei*, *An. coustani*, *An. marshallii*, *An. pharoensis*, *An. welcomei* et *An. ziemanni*) (Antonio-Nkondjio et al. 2006).

I.1.3. Stades de développement des anophèles

Le cycle de développement des anophèles comprend une phase aquatique (œuf, larve, nymphe) et une phase aérienne ou stade adulte ou imago (figure 1).

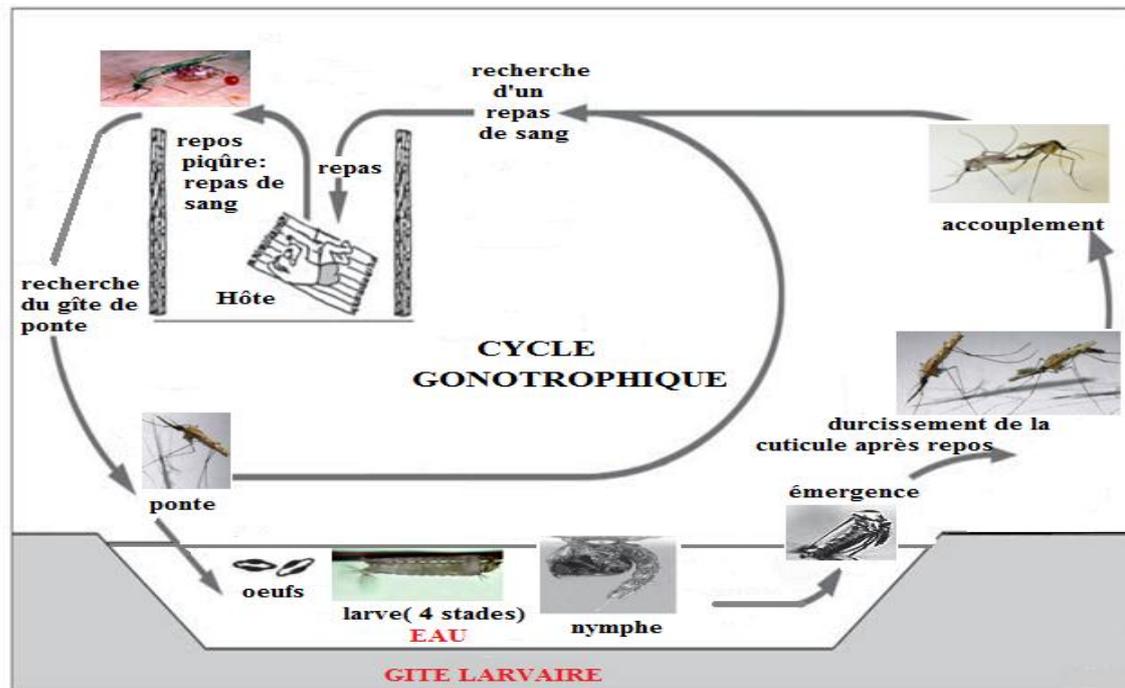


Figure 1. Cycle de développement des Anophèles (Mouchet et *al.* 2004).

I.1.3.1. Stades préimaginaux

L'œuf, la larve et la nymphe constituent les stades successifs du développement aquatique ou préimaginal des anophèles (Figure 1). La durée du cycle préimaginal varie d'une à deux semaines selon les espèces et les conditions écologiques, ceci après l'oviposition ou ponte des œufs isolés par les femelles à la surface de l'eau (Carnevale et *al.* 2009).

A l'éclosion des œufs 2 à 3 jours après la ponte, les larves libérées subissent trois mues successives au cours de leur développement et passent ainsi par 4 stades larvaires. Ces quatre stades sont morphologiquement comparables mais de tailles différentes et dénommés successivement L1, L2, L3 et L4 ; après le stade L4, la larve se transforme en nymphe (nymphose). Les stades larvaires ont une durée de vie de 48 heures pour le stade I, 24 heures pour le stade II et le stade III et 24 à 312 heures (13 jours) pour le stade IV à des températures de l'eau comprises entre 24 et 29°C (Diop et *al.* 1998)

La nymphe, en forme d'une virgule, ne se nourrit pas et reste généralement à la surface de l'eau, mais plonge lorsqu'elle est dérangée. Sa durée de développement est courte, un à deux jours généralement, rarement de 3 à 5 jours maximum selon la température avant l'émergence de l'adulte ou imago (Carnevale et *al.* 2009).

I.1.3.2. Stade imaginal ou adulte

Contrairement aux stades préimaginaux qui vivent en milieu aquatique, l'adulte évolue en milieu aérien. Il s'agit d'un insecte au corps long et grêle, doté de longues pattes et de pièces buccales de type piqueur-suceur. Après l'émergence, il se repose quelques heures au bord du gîte, afin de permettre la maturation rapide des organes locomoteurs. La maturation des autres organes survient dans les 2 à 3 jours qui suivent l'éclosion (Carnevale et *al.* 2009). L'alimentation sucrée concerne les mâles et les femelles et procure les substances énergétiques (hydrates de carbone) nécessaires pour le vol (Carnevale et *al.* 2009).

Les mâles s'accouplent avec les femelles au cours de l'essaimage à l'aube ou au crépuscule et les spermatozoïdes sont stockés dans une spermathèque où ils conservent leur pouvoir fécondant jusqu'à la mort de la femelle (Bruce-Chwatt et Zulueta 1985). Le cycle gonotrophique constitue l'ensemble des étapes caractérisées par la recherche de l'hôte par la femelle à jeun, la piquûre, la prise et la digestion du sang (qui favorise la maturation des ovocytes) et la recherche d'un gîte de ponte. En général, les femelles ne s'accouplent qu'une seule fois dans leur vie, mais pondent périodiquement pendant toute leur existence.

I.1.4. Gîtes larvaires à anophèles et pollution

I.1.4.1. Caractérisation des gîtes larvaires

Un gîte larvaire est une zone ou un contenant dans lequel l'humidité ou l'accumulation d'eau permet aux insectes de se développer durant toute la partie préimaginale de leur cycle de vie (Hounkpé 2012). Ces dernières sont généralement des mares, des zones de suintement, des anses calmes des rivières (au cours lent), des rizières, des aisselles des feuilles de certaines plantes épiphytes ainsi que des flaques d'eau de pluie (WHO 1999). Les gîtes larvaires peuvent également être des sillons de cultures, des anses calmes des rigoles, des caniveaux et des céanes (Larivière et Abonnenc 1958). Toutefois, les anophèles n'ont pas de gîtes précis car la même espèce peut coloniser différents types de biotopes en fonction de la disponibilité des collections d'eau. De plus, de nos jours, les Anophèles qui autrefois préféraient les gîtes non pollués, pullulent de plus en plus dans les gîtes pollués des milieux urbains, qui autrefois servaient de gîte de reproduction pour d'autres genres de moustiques à l'instar des *Culex* (Trape 1986, Ranson et *al.* 2011, Mvondo 2011).

I.1.4.2. Variables physico-chimiques de l'eau des gîtes larvaires

Plusieurs variables physiques (température, turbidité, matières en suspension, couleur...) et chimiques (pH, oxygène dissous, dureté totale, alcalinité, conductivité électrique...) peuvent être mesurés dans les gîtes larvaires.

Parmi ces paramètres, la température, le pH et la conductivité électrique sont les plus utilisés. En effet, la température de l'eau, en régissant l'ensemble des réactions chimiques influence la répartition des espèces car en tant que organismes hétérothermes, les anophèles ont leur température préférentielle de développement (Galkovskaja 1987, Mikschi 1989). Dans les gîtes larvaires, la température est le principal facteur qui influence le développement préimaginal des anophèles et des autres organismes qui peuvent y être associés. En effet, Holstein (1952) a montré que le développement préimaginal des anophèles varie entre six et huit jours à une température comprise entre 30 et 34°C et entre douze et seize jours à 24°C.

Le pH indique l'équilibre entre les acides et les bases dans une eau. Le pH influence la forme et la biodisponibilité des éléments nutritifs dans l'eau. Il influence également la toxicité de plusieurs éléments en régissant un grand nombre de réactions chimiques (OBV Yamaska 2015). Celui des gîtes larvaires est fortement influencé par le degré et le type de pollution. D'après l'Agence de l'Eau (1999), un pH compris entre 6,0 et 8,5 UC est favorable à l'expression des potentiels biologiques de nombreux groupes d'organismes. Par ailleurs, en milieu naturel les larves d'anophèles sont rarement présentes dans des milieux ayant un pH supérieur à 8 UC (Antonio-Nkondjio et al. 2009)

La conductivité électrique correspond à la capacité de l'eau à conduire l'électricité. Elle dépend de leur concentration en ions et de la température. Elle donne une bonne indication des changements de la composition des eaux et spécialement de leur concentration en minéraux. Les valeurs de la conductivité électrique en milieu naturel sont très variables. Celles trouvées par Mvondo (2011) sont comprises entre 113,5 µS/cm et 1552 µS/cm.

I.1.4.3. Pollution des gîtes larvaires

La pollution se définit comme une modification défavorable du milieu naturel qui apparaît en totalité ou en partie comme un produit de l'action humaine au travers des effets directs ou indirects altérant les critères de répartition des flux d'énergie, des niveaux de radiation, de la constitution physico-chimique du milieu et de l'abondance d'espèces vivantes (Ramade 2002).

Les gîtes larvaires à anophèles peuvent être pollués par des xénobiotiques anthropiques (hydrocarbures, pesticides) ou naturels (toxines naturelles). Parmi ces polluants, ceux d'origine anthropique sont issus des activités domestiques, industrielles et agricoles.

Les polluants domestiques proviennent des salles de bain, des cuisines et sont généralement riches en détergents, en graisses, en solvants et en débris organiques (Cors 2007).

Quant aux polluants industriels, leur nature varie d'une industrie à une autre. En plus des matières organiques azotées ou phosphorées, ils contiennent très souvent des composés nocifs pour l'environnement. En effet, divers métaux lourds (Cadmium, Zinc, Plomb, Chrome, Mercure), composés organiques synthétiques ou non difficilement biodégradables et des graisses, y sont présents souvent en grande quantité (Ndiayé 2005).

Les polluants agricoles proviennent de l'usage en agriculture des engrais chimiques de synthèse (engrais phosphatés et azotés) et des pesticides. Ces différents polluants, une fois dans les gîtes larvaires peuvent entraîner un déséquilibre de cet écosystème ainsi que des effets sur la biologie de l'ensemble des organismes qui y vivent.

I.2. Vecteur majeur du paludisme en zone urbaine, *Anopheles coluzzii*

Le complexe *Anopheles gambiae* comptait avant 2013 huit espèces jumelles : *Anopheles* (*An.*) *gambiae* s.s. Giles 1902; *An. arabiensis* Patton 1905; *An. quadriannulatus* Théobald 1911; *An. bwambae* White 1973 ; *An. quadriannulatus* B Hunt et al. (1998) ; *An. merus* Dönitz 1902 ; *An. melas* Théobald 1911 et *An. comorensis* Brunhes, le Goff et Geoffroy 1997. La distinction de ces espèces fait intervenir plusieurs aspects entre autres la migration électrophorétique des enzymes (Miles 1978), les chromosomes polyténiques (Coluzzii et al. 1985), la *polymerase chain reaction* (PCR) (Scott et al. 1993), la différence des hydrocarbures cuticulaires (Carlson et Service 1980). L'étude des fragments intergéniques des rDNA de l'espèce *An. gambiae* s.s. a révélé deux profils différenciant les formes moléculaires «M» et «S» (Favia et al. 1997). De plus, les études récentes très poussées de biologie moléculaire, de systématique et de taxonomie ont permis d'élever les formes moléculaires «M» et «S» au rang d'espèce ; elles portent ainsi respectivement les appellations d' *Anopheles coluzzii* et d'*Anopheles gambiae* (Coetzee et al. 2013). Par ailleurs, *An. quadriannulatus* B est devenu *An. amharicus* Hunt, Wilkerson et Coetzee 2013. Le complexe *Anopheles gambiae* compte désormais neuf espèces jumelles.

Anopheles coluzzii est une espèce inféodée aux eaux polluées des milieux urbains. En effet, les études récentes ont montré une large prédominance de cette espèce dans les villes de Douala et Yaoundé (Tene et al. 2012 ; Antonio-Nkondjio et al. 2014). De plus cette espèce est connue plus tolérante à l'ammoniaque qu'*An. gambiae* (ancienne forme S) (Tene et al. 2012). Sachant qu'*An. gambiae* s.s. Giles est responsable de 95% de la transmission du paludisme (Mouchet et al. 2004) en Afrique, *An. coluzzii* grâce à sa grande proximité avec l'Homme et sa plasticité vis-vis des polluants y jouerait un rôle substantiel dans un futur proche du fait de l'urbanisation galopante.

I.3. Généralités sur les intrants agricoles

Les intrants agricoles sont classés en plusieurs groupes à savoir fertilisants (engrais), les produits phytosanitaires (pesticides), les activateurs ou retardateurs de croissance, les semences et plants, les matériels et autres équipements agricoles (ONG Afrique Verte Niger 2011). Parmi ces produits, les plus accessibles sont les fertilisants (engrais) et les produits phytosanitaires (pesticides).

I.3.1. Engrais

Les engrais sont des produits organiques ou minéraux, incorporés à la terre pour assurer la nutrition des végétaux et améliorer les propriétés physico-chimiques et biologiques des sols (Trépanier 2009). On distingue deux types à savoir les engrais chimiques (qui renferment les engrais minéraux et les engrais organiques) et les engrais naturels (Trépanier 2009).

Les engrais minéraux sont produits par synthèse chimique, ou par exploitation de gisements naturels de phosphate et de potassium. Ils sont aussi fabriqués à partir de l'azote de l'air. On distingue les engrais minéraux simples (apportant à la plante un seul type de minéral) et les engrais minéraux composés (apportant deux ou trois types de minéraux à la plante), on aura ainsi les engrais binaires et les engrais ternaires. Les différents éléments minéraux qu'on retrouve dans les engrais sont le phosphore, l'azote et le potassium.

Les engrais organiques sont des engrais dont la totalité des composantes a une origine animale et ou végétale (le sang desséché, les fumiers). Ils peuvent être aussi d'origine industrielle : c'est le cas de l'urée.

Les engrais naturels sont des apports fertilisants donc la fabrication ne requiert pas des interventions de synthèse chimique. Il s'agit des substances organiques d'origine végétale ou animale ou encore des substances minérales extraits des mines et utilisées telles quelles (Trépanier 2009).

I.3.2. Pesticides

I.3.2.1. Définition

Les pesticides sont des substances chimiques, naturelles ou synthétiques, destinées à lutter contre les parasites végétaux et animaux nuisibles aux cultures, aux récoltes et à l'homme (Bouchon et Lemoine 2003). Ils peuvent être classés en fonction de leurs cibles et de leur composition chimique.

I.3.2.2. Classification des pesticides

I.3.2.2.1. Classification en fonction des organismes cibles

En fonction des organismes auxquels ils sont destinés, il existe une dizaine de classes de pesticides dont les plus utilisés sont les insecticides, les herbicides et les fongicides (Baldi et *al.* 2013).

- Les insecticides sont utilisés pour détruire les insectes nuisibles. Ils appartiennent principalement à quatre familles chimiques (les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthriinoïdes) (Baldi et *al.* 2013). Les pyréthriinoïdes sont actuellement les plus utilisés en agriculture et en santé publique (Dartigues 1987) ; parmi eux, la deltaméthrine est le plus efficace et le plus largement recommandé pour la lutte contre les vecteurs du paludisme, dans les zones envahies par les criquets où il existe les cultures alimentaires à cause de sa faible toxicité (Dartigues 1987) ;

- Les herbicides sont importants dans la lutte contre les plantes parasites, ils sont utilisés comme désherbants totaux qui détruisent tous les végétaux et comme désherbants sélectifs qui détruisent les plantes indésirables sans toucher aux cultures ;

- Les fongicides sont utilisés pour lutter contre les champignons parasites et autres microorganismes pouvant affecter le bon développement des plantes.

I.3.2.2.2. Classification chimique des pesticides

Il existe plusieurs familles chimiques de pesticides dont les plus connus sont les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthriinoïdes de synthèse (Bouchon et Lemoine 2003).

I.3.2.2.2.1. Organochlorés

Ils sont obtenus par chloration d'hydrocarbures aromatiques. Ce sont les plus anciennement utilisés en agriculture et en santé publique de tous les pesticides. C'est le cas du dichloro-diphényl-trichloroéthane (DDT) qui est le plus connu de ces molécules. Il a été largement utilisé dans la zone intertropicale, comme insecticide, tant pour l'agriculture que pour la lutte contre le paludisme, ce qui a donné d'excellents résultats après la deuxième guerre mondiale (Dartigues 1987). Cette molécule a ainsi permis à la fin des années 1940 l'élimination quasi-totale des anophèles dans les habitations en Grèce (WHO 1970). Cependant, le DDT ainsi que ses successeurs (Lindane, Dieldrine, Chlordane, Chlordecone, Perchlordecone, hexachlorocyclohexane...) sont caractérisés par une forte rémanence temporelle (demi-vie de l'ordre de 10 ans) et une faible spécificité. Ces propriétés, considérées comme des atouts au début de leur utilisation, se sont révélées être catastrophiques à long terme pour

l'environnement, ce qui, ajouté à l'apparition des résistances, a hypothéqué leur emploi (Dartigues 1987). Ils ont de ce fait été progressivement abandonnés au profit d'autres molécules plus respectueuses pour l'environnement.

I.3.2.2.2.2. Organophosphorés

Les organophosphorés sont des esters obtenus par réaction de divers alcools avec l'acide orthophosphorique ou l'acide thiophosphorique (Dimefox, Dichlorvos, Schradan, Parathion, Malathion, Fénitrothion...) (Robert 1984). Ils ont historiquement remplacé les organochlorés, car ils présentent une faible rémanence (de l'ordre de 48 heures dans l'eau), une toxicité aiguë plus élevée et une meilleure sélectivité vis-à-vis des insectes. Peu solubles dans l'eau, ils ne sont pas stockés dans les organismes, car facilement biodégradables (Robert 1984).

I.3.2.2.2.3. Carbamates

Esters de l'acide N-méthylcarbamique, ils sont utilisés comme insecticides, nématicides et herbicides. Leur précurseur de synthèse est l'isocyanate de méthyle, molécule extrêmement toxique qui a été utilisée comme gaz de combat pendant la première guerre mondiale. Les carbamates sont des anticholinéstatiques, mais donc l'action est réversible (Champ 1985), contrairement à celle des organophosphorés. Leur demi-vie s'étend de quelques jours à plusieurs mois, voire plusieurs années dans les eaux souterraines (Champ 1985).

I.3.2.2.2.4. Pyréthriinoïdes

Les pyréthriinoïdes sont des dérivés synthétiques de la pyréthrine, molécule présente dans la fleur de pyrèthre dont l'activité insecticide était connue depuis l'époque des Perses (Bouchon et Lemoine 2003). Ils sont très puissants, biodégradables (rémanence de l'ordre du mois), photo oxydables, peu toxiques pour les homéothermes, peu soluble dans l'eau et rapidement hydrolysés (Dartigues 1987). Les pyréthriinoïdes sont largement utilisés en agriculture et en santé publique pour l'imprégnation des moustiquaires (Chandre et *al.* 1999); les plus utilisés sont la deltaméthrine, la perméthrine, la cyperméthrine, la lambda-cyhalothrine et la cyfluthrine.

La deltaméthrine est le plus puissant et le plus utilisé de toutes ces molécules. Elle a été synthétisée par ROUSSEL-UCLAF dans les années 1970 pour remplacer le DDT (devenu inefficace sur les anophèles) dans le cadre de la lutte contre le paludisme (Dartigues 1987). C'est une molécule très respectueuse pour l'environnement qui, aux doses usuelles d'emploi, n'est pratiquement pas toxique sur les animaux à sang chaud. Elle présente un coefficient de sécurité de 5400 contre 67 seulement pour le DDT et 516 pour la perméthrine, elle est utilisée depuis 1978 pour la lutte contre les vecteurs du paludisme (Dartigues 1987).

I.3.3. Impact des intrants agricoles sur l'environnement

I. 3.3.1. Impact des engrais

Les engrais sont le plus souvent apportés sans chercher à adapter leur nature et leur dose aux besoins réels de la culture. Ainsi, le plus souvent, ils ne sont pas utilisés en totalité par les plantes en croissance. Ils sont ainsi entraînés vers les eaux superficielles (rivières, lacs) ou vers les nappes d'eau souterraines. Les nitrates et les phosphates en excès entraînent la prolifération des végétaux aquatiques qui en se décomposant utilisent le dioxygène de l'eau, ce qui provoque à terme la mort des animaux lorsque le taux d'oxygénation atteint un seuil critique : c'est le phénomène d'eutrophisation.

I.3.3.2. Impact des pesticides

C'est dans les années 1940 que les premiers pesticides de synthèse firent leur apparition sur le marché, avec des résultats très positifs quant à l'augmentation des rendements agricoles et en santé publique. Vingt ans plus tard, les premières accusations d'atteinte à la santé des personnes et à l'environnement se firent entendre (Carson 1962).

C'est le manque de sélectivité des pesticides vis-à-vis de leur cible qui provoque la plupart des effets nocifs pour l'environnement. Bien que la plupart des traitements sont appliqués sur les parties aériennes des plantes, une bonne part du produit atteint toujours le sol, où vivent des bactéries, des champignons, des algues, des vers de terre et des insectes, entre autres (Russel 1973) ; l'atmosphère et les hydrosystèmes sont également contaminés (figure 2). Les effets nocifs de ces pesticides sur la microflore du sol peuvent ainsi conduire au remplacement des espèces les plus sensibles par les plus résistantes (Gerber et *al.* 1989) dont certaines peuvent être phytopathogènes. De plus, l'atteinte des vers de terre est catastrophique du fait de leur important rôle dans la fertilisation du sol et au sein des réseaux trophiques édaphiques.

Concernant les écosystèmes aquatiques, ils sont considérés comme des réceptacles ultimes des composés chimiques synthétisés par l'Homme. Dans ces milieux, le risque de contamination pour les organismes est beaucoup plus élevé qu'en milieu terrestre car en plus des voies classiques d'absorption à savoir l'ingestion et l'inhalation, s'ajoute celle à travers les téguments. On peut donc assister à des effets aigus tel que la mort des poissons (Pimentel et *al.* 1993) ou à des effets chroniques à l'instar de la résistance des larves et imagos des moustiques aux insecticides.

L'absorption des pesticides par les plantes est probablement une des voies majeures qui conduisent à leur accumulation dans les réseaux trophiques (bioaccumulation) et, partant, à leur

mise en contact avec l'homme et les animaux (Paterson et *al.* 1990). Dans le cas des pesticides persistants, on peut même assister à des phénomènes de bioamplification (Cooper 1991). Ici, la concentration du toxique dans les organismes va s'accroître quand on s'élève dans la pyramide trophique. Cette accumulation dans les organismes permet aux produits phytosanitaires d'exercer leurs effets néfastes sur la santé à long terme.

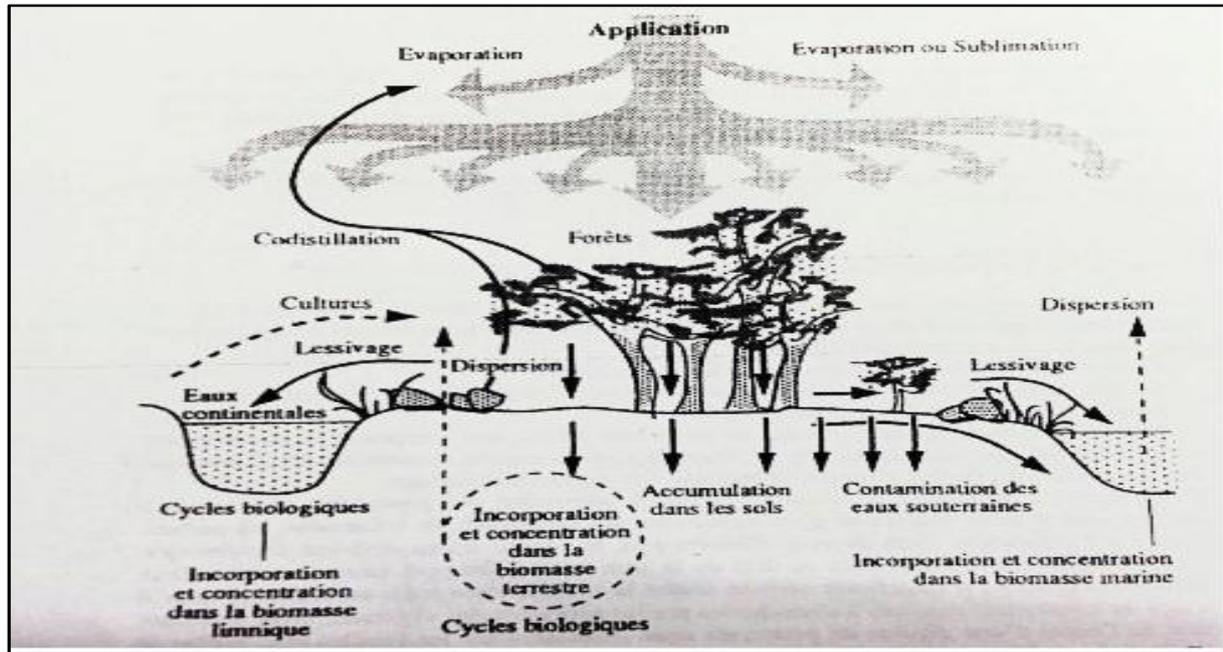


Figure 2. Dispersion des insecticides dans les écosystèmes (Ramade 2000).

I.4. Quelques indicateurs écotoxicologiques des polluants dans les milieux aquatiques

L'écotoxicologie qui étudie les impacts des agents polluants sur la structure et le fonctionnement des écosystèmes, a développé des outils (biomarqueurs, bioindicateurs) et des méthodologies (biotests) qui permettent une caractérisation des dangers et des sources de pollutions ainsi que leurs impacts sur les milieux récepteurs (ZABR 2009).

La mise sur pieds des biotests implique celle des écosystèmes artificiels qui en fonction de leur taille et de la durée de l'expérimentation peuvent être des macrocosmes (environ 700 m³ et pour des expériences à long terme), des mésocosmes (100 litres à 20 m³ et pour des études à moyen terme) ou des microcosmes (litres à décilitres et pour des expériences à court terme) (Lacroix 2012)

Les biotests permettent de déterminer plusieurs indicateurs écotoxicologiques (Chenon 2011) telles que la Concentration Létale 50% (CL₅₀) (concentration pour laquelle on observe 50 % d'individus morts), la Concentration Sans Effet Observé (CSEO) (plus forte concentration

testée qui n'entraîne pas d'effet significativement différent du témoin), la Concentration Minimale avec Effet Observé (CMEO) (plus faible concentration testée ayant entraîné un effet significativement différent du témoin). Ces indicateurs écotoxicologiques à leur tour permettent de prédire ou d'évaluer les effets des polluants dans les écosystèmes. Deux principaux types d'effets sont distingués à savoir les effets aigus et les effets chroniques.

Les effets aigus sont ceux qui apparaissent rapidement (quelques heures ou quelques jours), conséquence d'une courte exposition à une forte concentration de polluant. L'effet aigu le plus souvent mesuré est la mortalité.

Les effets chroniques ou retardés sont ceux qui apparaissent à long terme et sont la conséquence d'une exposition répétée et prolongée à de faibles doses de polluants. Il peut s'agir des effets sur la descendance, sur le comportement, sur la physiologie, sur le génome (généotoxicité).

CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Cadre et période de l'étude

II.1.1. Cadre de l'étude

L'étude s'est déroulée au Laboratoire de Recherche sur le Paludisme (LRP) de l'Organisation de Coordination pour la lutte contre les Endémies en Afrique Centrale (OCEAC) à Yaoundé.

II.1.2. Période de l'étude

L'étude s'est déroulée en deux phases.

- La première phase qui s'est étendue de janvier à février 2016 nous a permis d'effectuer les tests de gamme pour déterminer la CMEO pour chaque xénobiotique.
- La deuxième phase a eu lieu entre mars et mai 2016 : c'est la phase pendant laquelle les larves ont été exposées sur deux générations aux CMEO du cypercal et de l'ammoniaque et les paramètres de développement préimaginal et la durée globale du développement déterminés

II.2. Choix du matériel biologique

Le modèle biologique utilisé au cours de ce travail est *Anopheles coluzzii*. Ce moustique est le vecteur majeur du paludisme en zone urbaine d'après les études récentes (Téné et al. 2013, Antonio-Nkondjio et al. 2014)

A son fort impact sanitaire, s'ajoutent sa facilité d'élevage au laboratoire et son temps de génération court (environ un mois) (Diop et al. 1998). Ce qui en fait un modèle de choix pour le présent travail. L'échantillon utilisé nous a été fourni par le LRP et avait été ramené de Ngouso (un quartier de la ville de Yaoundé)

II.3. Description des xénobiotiques utilisés

Dans le cadre de cette étude, l'ammoniaque et le cypercal (figure 3, page 16) ont été utilisés. Ces produits chimiques ont été choisis en raison de leur rôle en agriculture et surtout pour le fait qu'en exposant les larves d'*Anopheles coluzzii* à des concentrations sublétales de ces xénobiotiques, on constate une augmentation de leur résistance à la deltaméthrine (Lonméné 2015). L'ammoniaque est utilisée pour la fabrication des engrais azotés et le cypercal est utilisé comme insecticide-acaricide dans la culture du coton dans la région du Nord-Cameroun.



Figure 3. Xénobiotiques utilisés pour les tests de gamme : A= ammoniac, B= cypercal P 720.

L'ammoniaque est une solution aqueuse de gaz ammoniac. Elle contient l'azote qui est un atome retrouvé dans les engrais azotés. Ces engrais sont utilisés massivement aux cotés des engrais phosphatés et potassiques pour l'amendement des sols afin d'améliorer les rendements agricoles dans l'optique de couvrir les besoins des populations sans cesse croissantes. Plusieurs études ont montré la présence des différentes formes d'azotes dans les gîtes larvaires (Mvondo 2011, Toukam 2011, Téné et *al.* 2012) ; ces différentes formes sont principalement : l'azote ammoniacal (NH_4^-), les nitrates (NO_2^-) et les nitrites (NO_3^-). L'essentiel de l'ammoniaque retrouvé dans l'environnement est d'origine agro-pastorale et industrielle.

Le cypercal P720 E.C. est un insecticide-acaricide à large spectre d'action du cotonnier. Ce pesticide renferme deux principes actifs à savoir la cyperméthrine (molécule de la famille chimique des pyréthriinoïdes de synthèse) et le profénofos (molécule de la famille chimique des organophosphorés). Il est efficace contre les larves carpophages et phyllophages, et contre les insectes piqueurs-suceurs du cotonnier. La classification toxicologique du FAO/OMS range ce pesticide dans la classe II qui est celle des produits modérément dangereux.

II.4. Méthodes

II.4.1. Protocol expérimental

Tableau 1. Paramètres de croissance d'*Anopheles coluzzii*

Paramètres de croissance	Formule
1- nombre moyen d'œufs pondus	$m = \frac{\text{nombre total d'œufs pondus}}{\text{nombre de femelle}}$
2- taux d'éclosion : il permet d'estimer le nombre d'œufs éclos en fonction du nombre total d'œufs pondus	$T_e = \frac{\text{nombre d'œufs éclos} \times 100}{\text{nombre total d'œufs}}$
3- taux de survie larvaire : il permet d'estimer le nombre de stade IV obtenues en fonction du nombre du nombre d'œufs éclos	$T_{sl} = \frac{\text{nombre de larves de stade IV} \times 100}{\text{nombre d'œufs éclos}}$
4- taux de nymphose : il permet d'estimer le nombre de nymphes obtenues en fonction du nombre de larves de stade IV	$T_n = \frac{\text{nombre de nymphes obtenues} \times 100}{\text{nombre de larves de stade IV}}$
5- taux d'émergence (Tem) : c'est le nombre d'adultes émergés en fonction du nombre total de nymphes	$T_{em} = \frac{\text{nombre d'adultes} \times 100}{\text{nombre total de nymphes}}$
6- taux d'inhibition de l'émergence : c'est la proportion des nymphes non écloses en fonction du nombre total des nymphes	$T_{ie} = \frac{\text{nombre de nymphes non écloses} \times 100}{\text{nombre total de nymphes}}$
7- rendement préimaginal : il estime la proportion de nymphes obtenues en fonction du nombre d'œufs éclos	$R_{pi} = \frac{\text{nombre de nymphes} \times 100}{\text{nombre d'œufs éclos}}$
8- rendement global : il estime la proportion d'adultes obtenus en fonction du nombre d'œufs pondus	$R_g = \frac{\text{nombre total d'adultes} \times 100}{\text{nombre total d'œufs pondus}}$

La méthodologie utilisée au cours de cette étude comporte trois étapes (figure 4, page 17). Ces étapes sont premièrement les tests de gammes qui ont permis de déterminer la Concentration Minimale avec Effet Observé (CMEO) ; en suite la production de moustiques adultes soumis à la CMEO et enfin le suivie des pontes obtenues des isofemelles afin de calculer les paramètres de développement préimaginal et la durée global du développement (tableau 1, page 17). La CMEO (plus faible concentration testée ayant entraîné un effet significativement différent du témoin) a été choisie pour l'exposition des larves car les moustiques adultes dont les larves ont été exposées à cette concentration sont résistants à la deltaméthrine. Ce qui implique qu'il y'aurait effet reproductif relatif à cette résistance.

II.4.2. Tests de gamme pour la détermination de la Concentration Minimale avec Effet Observable (CMEO)

II.4.2.1. Composition des différents bacs d'élevage

Les tests ont été effectués dans les bacs d'élevage, contenant des larves d'anophèles âgées de quatre jours (stade III) et à différentes concentrations de contaminants. Ces bacs sont cylindriques et de nature plastique. Ils ont un volume de 900 mL, un diamètre de 9,5 cm à la base et 11cm à l'entrée et une hauteur de 11,7 cm. Pour chaque test, sept bacs ont été utilisés, le premier représentant le témoin et les autres constituant les bacs tests. Dans les sept bacs, il a été introduit 0,5 litre d'eau distillée, 100 larves d'Anophèles, seuls les bacs tests contenaient un contaminant à une concentration précise (les concentrations sont indiquées au II.2.1.2). Dans le bac témoin, 0,5 litre d'eau distillée et 100 larves d'Anophèles ont été introduites.

Le dispositif expérimental ainsi constitué (figure 4) a été suivi quotidiennement jusqu'à la nymphose. En effet, chaque jour, les morts et les nymphes sont comptés par bac et retirés ; la température, le pH et la conductivité électrique sont mesurés ; et la TetraMinBaby® (aliment pour alevins) est administrée aux organismes de chaque bac. Cet aliment est constitué de protéines brutes (48%), de matières grasses brutes (10%), de cendres brutes (10%), de cellulose brute (2%), d'humidité (6%) et des vitamines A, D3 et E (26%).

En outre, il était ajouté tous les 48 heures une certaine quantité d'eau distillée ayant la même concentration de polluant qu'au début de l'expérience afin de maintenir dans les bacs le même niveau d'eau. Par ailleurs, la température du laboratoire est maintenue relativement élevée par un radiateur de marque ewt (27°C), l'humidité relative était de 70 à 80.

Après ce premier test, d'autres ont été faits de la même manière, en prenant un intervalle de concentration situé entre les concentrations qui entraînent une forte mortalité et celles où on n'observe pas de mortalité jusqu'à obtenir la plus faible concentration entraînant un effet significatif : C'est la Concentration Minimale avec Effet Observé (CMEO).

II.4.2.2. Calcul des doses expérimentales

II.4.2.2.1. Cas du cypercal P720

Plusieurs concentrations ont été testées, la plus grande étant de 18g/L correspondant à celle recommandée aux planteurs. Le cypercal P720 est un pesticide renfermant deux principes actifs qui sont la cyperméthrine (120g/L) et le profénofos (600g /L). Connaissant le volume d'un sachet qui est de 125 mL, on peut calculer la masse de chaque principe actif.

- Cas de la cyperméthrine (120g/L) :

120 g — 1000 mL

X_1 g — 125 mL, avec X_1 la masse de la cyperméthrine

On a : $X_1 = 125 \times 120/1000$

Donc

$$X_1 = 15\text{g}$$

- Cas du profénofos (600 g/L)

600 g — 1000 L

X_2 g — 125 mL avec X_2 la masse du profénofos

On a $X_2 = 125 \times 600/1000$: donc

$$X_2 = 75\text{ g}$$

Chaque sachet de 125 mL est dilué dans 5 litres d'eau distillée et on peut ainsi calculer la concentration de chaque principe actif puis la concentration finale C_t qui est celle recommandée aux planteurs. La concentration (C) d'un soluté en solution est égale à sa masse (m) divisée par le volume total de la solution (V_t), ($C = m/V_t$).

- Cas de la cyperméthrine (120 g/L)

Soit C_1 la concentration de la cyperméthrine, on a :

$$C_1 = m/V_t \rightarrow C_1 = 15/5,125 = 2,93\text{ g/L}$$

- Cas du profénofos (600g/L)

Soit C_2 la concentration du profénofos, on a :

$$C_2 = m/V_t \rightarrow C_2 = 75/5,125 = 14,63\text{ g/L}$$

Calcul de la concentration totale C_t

$$C_t = C_1 + C_2 \rightarrow C_t = 2,93 + 14,63 = 17,56\text{ g/l}$$

Soit C_1 la concentration de la solution mère, on veut préparer une solution fille de concentration C_2 et de volume V_2 connus. Alors, on prélève un volume V_1 de la solution mère qui s'obtient par la formule suivante en mL :

$$C_1V_1 = C_2V_2 \rightarrow V_1 = C_2V_2/C_1$$

II.4.2.2.2. Cas de l'ammoniaque

L'ammoniaque utilisée est concentrée à 5% en milieu aqueux, soit 50g/L. les concentrations testées varient entre 0,1 g /L et 1g/L. Elles correspondent à l'intervalle de concentrations qui ont souvent été retrouvées dans les gites larvaires à anophèle. A partir de la solution mère (5%), il a été préparé des solutions de volumes connus à ces différentes concentrations. Ainsi, à partir de l'ammoniaque de concentration C_1 (50g/L), une solution S_1 de concentration C_2 et de volume V_2 connus en prélevant un volume V_1 de la solution mère a été préparée. Ce volume (V_1) s'obtient de la manière suivante (en mL) :

$$C_1V_1 = C_2V_2 \rightarrow V_1 = C_2V_2/C_1$$

II.4.3. Analyses physicochimiques

Les paramètres physicochimiques mesurés au cours de cette étude sont la température, la conductivité électrique et le potentiel Hydrogène (pH). Ces paramètres ont été mesurés de manière quotidienne à l'aide d'un multimètre de marque ewt (pH/Conductimètre-Thermomètre). Une fois que l'appareil est allumé, on introduit l'électrode dans l'échantillon et les valeurs sont relevées après leur stabilisation à l'écran de l'appareil.

La température est exprimée en degré Celsius ($^{\circ}\text{C}$). La conductivité électrique en $\mu\text{S}/\text{cm}$ et le pH en Unité Conventionnelle (U.C.)

II.4.4. Elevage des larves d'anophèles soumises à la Concentration Minimale avec Effet Observable

Pour chaque polluant, six bacs d'élevage ont été utilisé dont deux témoins et quatre tests. Dans les bacs témoin, il a été introduit 0,5 litre d'eau distillée et 100 larves âgées de quatre jours. Dans chaque bac test, il a été introduit 0,5 litre d'eau, 100 larves et le polluant à la CMEO. Le dispositif expérimental est suivi quotidiennement : retrait d'éventuels morts et nymphes ; ajout de TetraMinBaby® (aliment pour alevins) ; mesure de la température, du pH et de la conductivité électrique.

II.4.5. Conservation des imagos au laboratoire

Les nymphes obtenues au cours de l'élevage des larves soumises à la CMEO sont triées quotidiennement, puis introduites dans les gobelets contenant une solution aqueuse ayant les

mêmes caractéristiques (même polluant, même concentration) que le milieu d'élevage. Ces gobelets sont ensuite placés dans des cages couvertes de tulle moustiquaire jusqu'à l'émergence des imagos qui se produit environ 24 à 48 heures plus tard. Dans les cages, les imagos sont nourris avec une solution de saccharose à 10% ; de plus, après accouplement, les femelles sont gorgées par le sang de lapin pendant trois jours successifs et mises en ponte individuelle.

II.4.6. suivi des pontes issus des isofemelles

Après obtention des œufs, la suite consiste à :

- Compter les œufs pondus par chaque moustique et incuber pendant 24 heures,
- Tremper individuellement dans de l'eau distillée et compter le nombre d'œufs éclos 24 heures après,
- Mélanger toutes les larves en deux lots (témoin et test) dans deux bacs ou plus si le nombre de larves est très élevé (tous les bacs doivent contenir approximativement le même nombre de larves et la même quantité d'eau),
- Suivre le développement chaque jour : retirer et compter les morts, les nymphes (avec la date d'apparition), ajout d'une quantité d'eau distillée correspondant à celle qui s'est évaporée afin de maintenir la même quantité d'eau dans les bacs,
- Compter les imagos suivant le sexe et la date des émergences.

Les données obtenues nous ont permis de calculer les paramètres de croissance.

II.4.7. Analyse statistique des données

Toutes les données ont été saisies dans le programme Excel version 2007 d'un microordinateur de marque « acer » qui nous a également permis d'effectuer les graphiques.

La comparaison des taux de nymphose obtenus dans les différents bacs d'élevage a été effectuée à l'aide du test de « χ^2 » par le logiciel SPSS Statistics 16.0.

Le logiciel SPSS 16.0. nous a également permis à l'aide du test de Kruskal-Wallis, de Mann Whitney et de l'ANOVA de comparer la variation des paramètres physicochimiques mesurés dans nos différents bacs d'élevage et des paramètres de croissance.

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Résultats

III.1.1. Détermination des Concentrations Minimales avec Effet Observé

Les tests de gamme effectués en présence du cypercal ont révélé un taux de nymphose de 96% dans le bac témoin, ce qui correspond à une mortalité larvaire de 4%. Pour les concentrations de cypercal supérieures ou égales à 5×10^{-8} g/L, aucune nymphose n'a été observée, soit 100% de mortalité larvaire ; et à la plus petite concentration testée (10^{-8} g/L), le taux de nymphose a été de 96%. Cependant, c'est à partir de la concentration de 2×10^{-8} g/L que le test de Khi^2 a révélé une différence significative entre le taux de nymphose obtenu avec le témoin et celui en présence du cypercal (figure 5A).

Par ailleurs, les tests de gamme effectués en présence d'ammoniaque ont donné pour le témoin un taux de nymphose de 96%. La plus faible concentration (0,1 g/L) a donné un taux de nymphose de 97% tandis qu'aucune nymphose n'a été observée à partir de la concentration de 0,4 g/L, soit 100% de mortalité larvaire. Cependant, c'est à partir de la concentration de 0,2 g/L que le taux de nymphose obtenu a significativement différencié du témoin (figure 5B).

Ces observations nous permettent de constater que la CMEO (plus faible concentration testée ayant entraîné un effet significativement différent du témoin) est de 2×10^{-8} g/L pour le cypercal et de 0,2 g/L pour l'ammoniaque (figure 5).

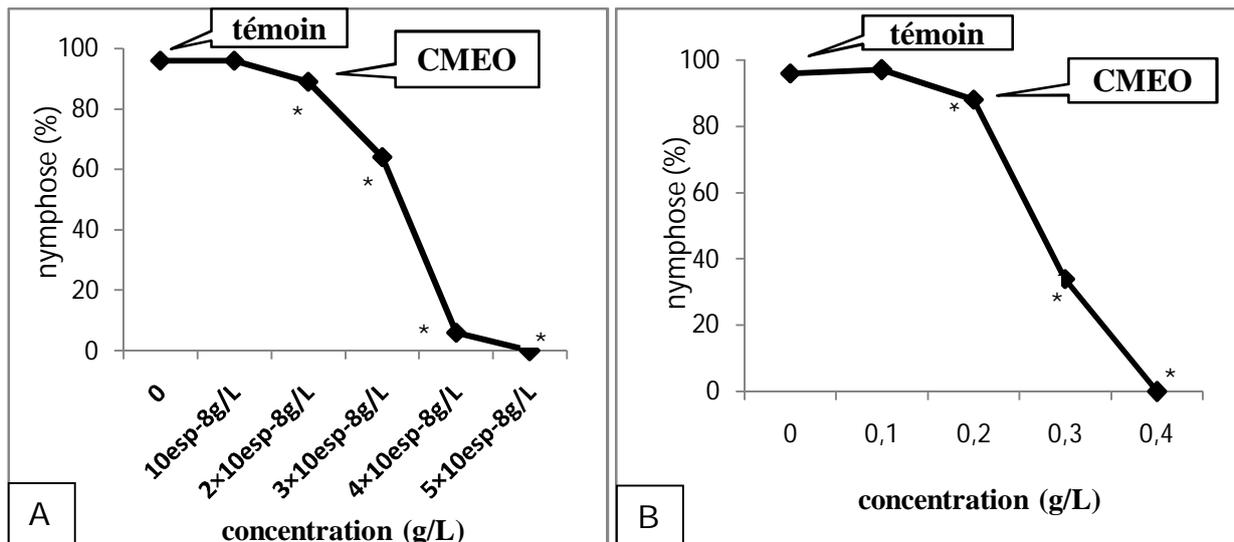


Figure 5. Taux de nymphose dans les bacs contenant du cypercal (A) et dans les bacs contenant de l'ammoniaque (B) : CMEO : Concentration Minimale avec Effet Observé ; * : valeurs statistiquement différentes du témoin.

III.1.2. Physicochimie des milieux expérimentaux

Les analyses physicochimiques ont été effectuées dans deux bacs témoins et quatre bacs tests et les moyennes calculées.

III.1.1.1. Variation de la température de l'eau

La température a eu le même profil de variation sous l'influence du cypercal à la CMEO que dans le bac témoin (figure 6A). Ses valeurs ont cependant variées d'un jour à l'autre avec un minimum de 25,2°C obtenue au quatrième jour du test dans le bac test et un maximum de 29,8°C obtenue au septième jour dans le bac témoin, la température moyenne étant de $27,41 \pm 1,05^\circ\text{C}$. Pour ce qui est des élevages en présence de l'ammoniaque (figure 6B), le profil de variation de la température a également été superposable pour l'ensemble des bacs y compris le témoin. Les variations journalières sont allées d'une valeur minimale de 23,5°C obtenue au huitième jour dans le bac témoin à une valeur maximale de 28,7°C obtenue au premier jour dans le bac test, avec une moyenne de $27,17 \pm 1,3^\circ\text{C}$. Le test de Kruskal Wallis montre une variation journalière significative ($P < 0,05$) de ce paramètre.

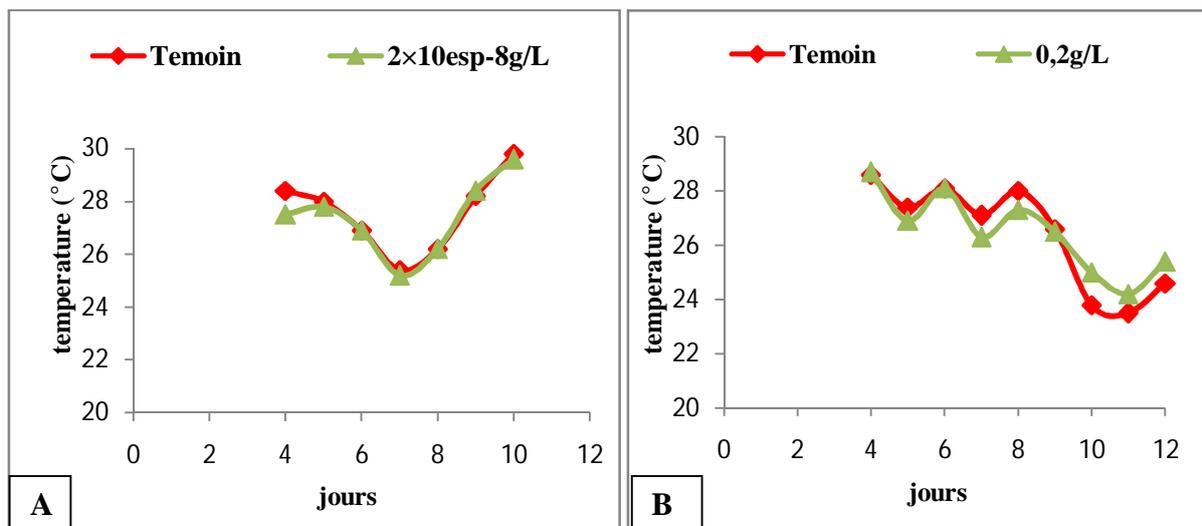


Figure 6. Evolution journalière de la température dans les bacs contenant le cypercal (A) et l'ammoniaque (B) aux CMEO au cours du développement préimaginal d'*Anopheles coluzzii*.

III.1.1.2. Variation du potentiel d'Hydrogène (pH)

Les profils de variation du pH sont similaires et superposables en présence du cypercal que dans le témoin (figure 7A). Les valeurs du pH sont situées au dessus de la neutralité et augmentent légèrement en fonction des jours. Elles sont contenues dans l'intervalle 7,90 UC et 8,06 UC obtenus respectivement au premier et au troisième jour du test dans le bac témoin avec une valeur moyenne de $7,99 \pm 0,04$ UC. Concernant le traitement à l'ammoniaque, les profils de variation du pH sont différents entre le test et le témoin (figure 7B) qui possède un

profil presque identique à celui du cypercal. Les valeurs de ce paramètre sont supérieures à 7 UC et montrent une croissance au début du test et une tendance à la stabilité vers la fin. Par ailleurs, le témoin a eu les plus faibles valeurs car elles ont varié de 7,91 UC au premier jour du test à 8,09 UC au quatrième jour avec une valeur moyenne de $8,04 \pm 0,065$ UC. Par contre les valeurs obtenues dans les bacs tests ont été de 8,31 UC pour le minimum au premier jour et 9,32 UC pour le maximum au septième jour avec une moyenne de $8,82 \pm 0,32$ UC.

Le test de Kruskal-Wallis montre une différence significative de la variation de ce paramètre entre le bac le témoin et les bacs tests ($p = 0,000$).

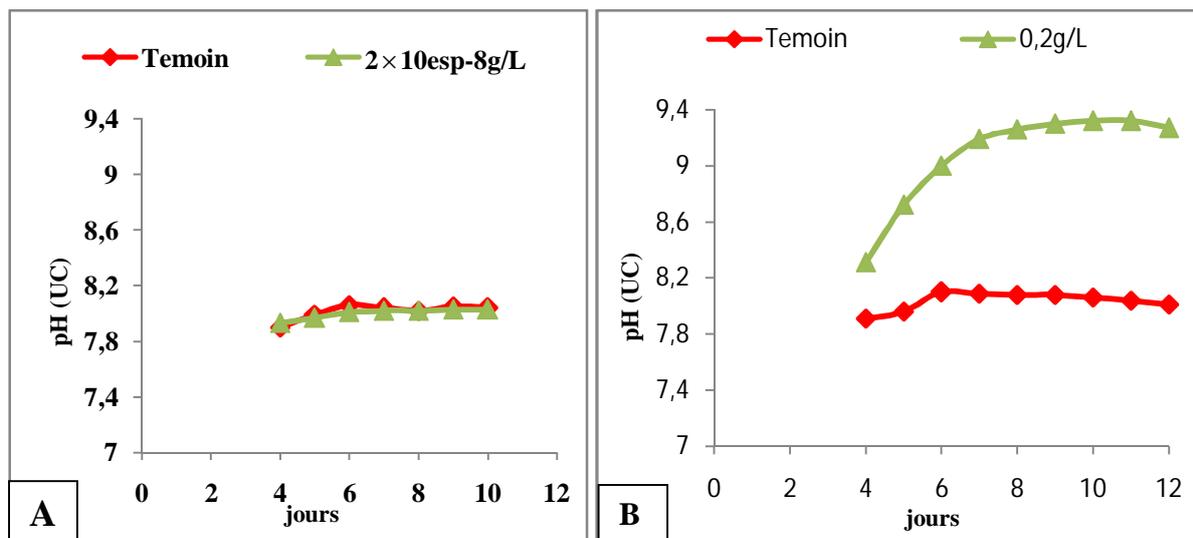


Figure 7. Evolution journalière du pH dans les bacs contenant le cypercal (A) et l'ammoniaque(B) aux CMEO au cours du développement préimaginal d'*Anopheles coluzzii*.

III.1.1.3. Evolution de la Conductivité électrique dans les différents bacs d'élevage

Les profils de variation de la conductivité électrique dans les milieux d'élevage (contenant le cypercal ou l'ammoniaque) sont similaires (Figure 8) et en plus superposables et confondus avec le témoin dans le cas des élevages en présence du cypercal (Figure 8A). Par ailleurs ses valeurs augmentent en fonction du temps. Cependant, ces valeurs sont moins élevées dans les bacs contenant le cypercal que dans ceux contenant l'ammoniaque (figure 8B) car elles ont variées entre $9,1 \mu\text{S}/\text{cm}$ et $187,5 \mu\text{S}/\text{cm}$ enregistrés respectivement au premier et au septième jour dans les bacs tests avec une moyenne de $76,71 \pm 19,59 \mu\text{S}/\text{cm}$. Tandis qu'avec les élevages en présence de l'ammoniaque, le bac témoin a présenté les plus faibles valeurs, allant de $17,89 \mu\text{S}/\text{cm}$ au premier jour à $221 \mu\text{S}/\text{cm}$ au dernier jour avec une moyenne de $120,09 \pm 68,91 \mu\text{S}/\text{cm}$. Dans les bacs tests, les valeurs de la conductivité électrique ont augmenté avec le temps d'exposition. La valeur minimale ($77,7 \mu\text{S}/\text{cm}$) de

cette variable a été obtenue au premier jour du test et la valeur maximale (264 $\mu\text{S}/\text{cm}$) au quatrième jour du test, la moyenne étant de $193,93 \pm 21,06 \mu\text{S}/\text{cm}$. Le test de Kruskal-Wallis montre une variation significative entre le bac témoin et les bacs tests

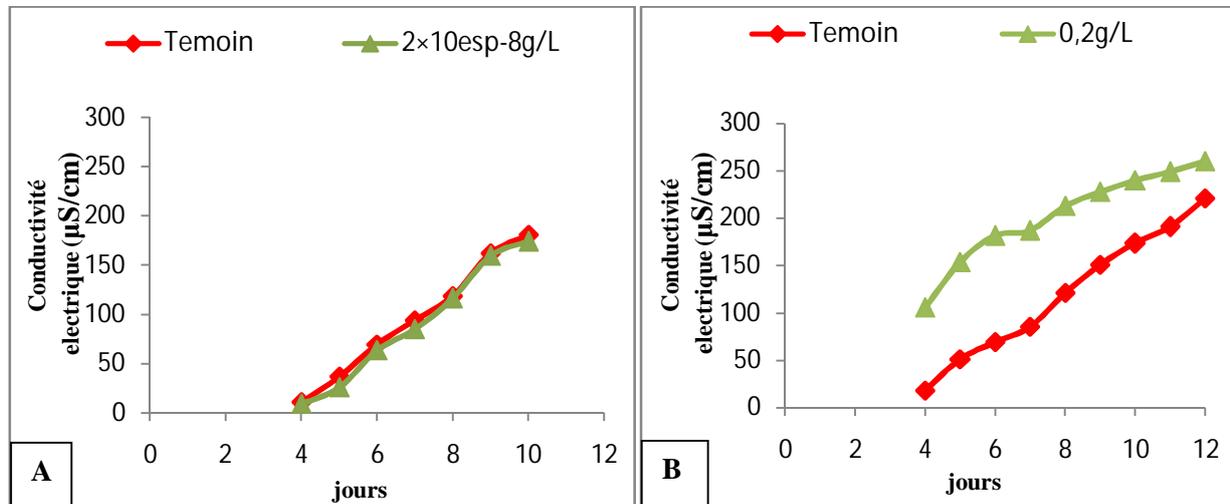


Figure 8. Evolution journalière de la Conductivité électrique dans les bacs contenant le cypercal (A) et l'ammoniaque (B) aux CMEO au cours du développement préimaginal d'*Anopheles coluzzii*.

III.1.3. Développement préimaginal d'*Anopheles coluzzii* en présence des xénobiotiques

La durée globale du développement préimaginal d'*Anopheles coluzzii* sur les deux générations d'exposition a varié de 7 à 10 jours pour le témoin et de 7 à 12 pour le cypercal et 7 à 13 jours pour l'ammoniaque. Ces durées ont été obtenues pour la température de l'eau variant entre 23 et 30°C. Ces valeurs sont légèrement plus élevées pour les tests que pour les témoins mais ne diffèrent pas significativement.

III.1.4. Effet des xénobiotiques sur la reproduction d'*Anopheles coluzzii*

Les larves d'Anophèles ont été exposées aux xénobiotiques (cypercal ou ammoniaque) sur deux générations et les paramètres de croissance préimaginale ainsi que la durée globale du développement ont été déterminés et comparés au témoin (larves non exposées aux xénobiotiques).

III.1.4.1. Effet du cypercal sur la reproduction d'*Anopheles coluzzii*

Le nombre moyen d'œufs par ponte individuelle a été déterminé par comptage et la moyenne (m) déterminée d'après 31 pontes individuelles pour le témoin, 33 pour chacune des générations 1et 2 : pour le témoin (T), $m = 123,16 \pm 44,82$ (avec un maximum de 182 et un minimum de 26 œufs par ponte) ; pour la première génération (G1), $m = 92 \pm 28,44$ (avec un maximum de 157 et un minimum de 24 œufs par ponte) et pour la deuxième génération, $m =$

80, 45 ± 37,78 (avec un maximum de 154 et un minimum de 22 œufs par ponte). Le test de l'ANOVA montre une différence significative entre le témoin et les tests (G1 et G2) ($p = 0,018$ et $p = 0,000$ respectivement) ; cette différence est non significative entre G1 et G2. ($p = 0,784$).

L'éclosion des œufs a été observée après 24 heures d'incubation et les larves de stade I ont été dénombrées. Le calcul du taux d'éclosion est de 80,04% dans le témoin, 67,56% à la première génération et 70,53% à la deuxième génération. Le test de Mann-Whitney montre une différence significative entre le témoin et les tests ($p = 0,000$) et non significative entre G1 et G2 ($p = 0,434$).

Le taux de survie larvaire calculé par rapport au nombre de larves qui arrivent au dernier stade est de 100% pour le témoin, 94,5% à la première génération et 94,7% à la deuxième génération. Ce taux est significativement entre le témoin et les tests.

Le taux de nymphose calculé par rapport au nombre de larves de stade IV est de 97, 94% ; 88,57% et 80,89% respectivement pour le témoin, la première et la deuxième génération. Ce taux diffère significativement entre le témoin et les tests.

Le taux d'émergence, calculé par rapport au nombre de nymphes est de 98, 98% ; 95,7% et 88,9% respectivement pour le témoin, la première et la deuxième génération. Le test de Mann-Whitney montre une variation significative entre le témoin et la deuxième génération.

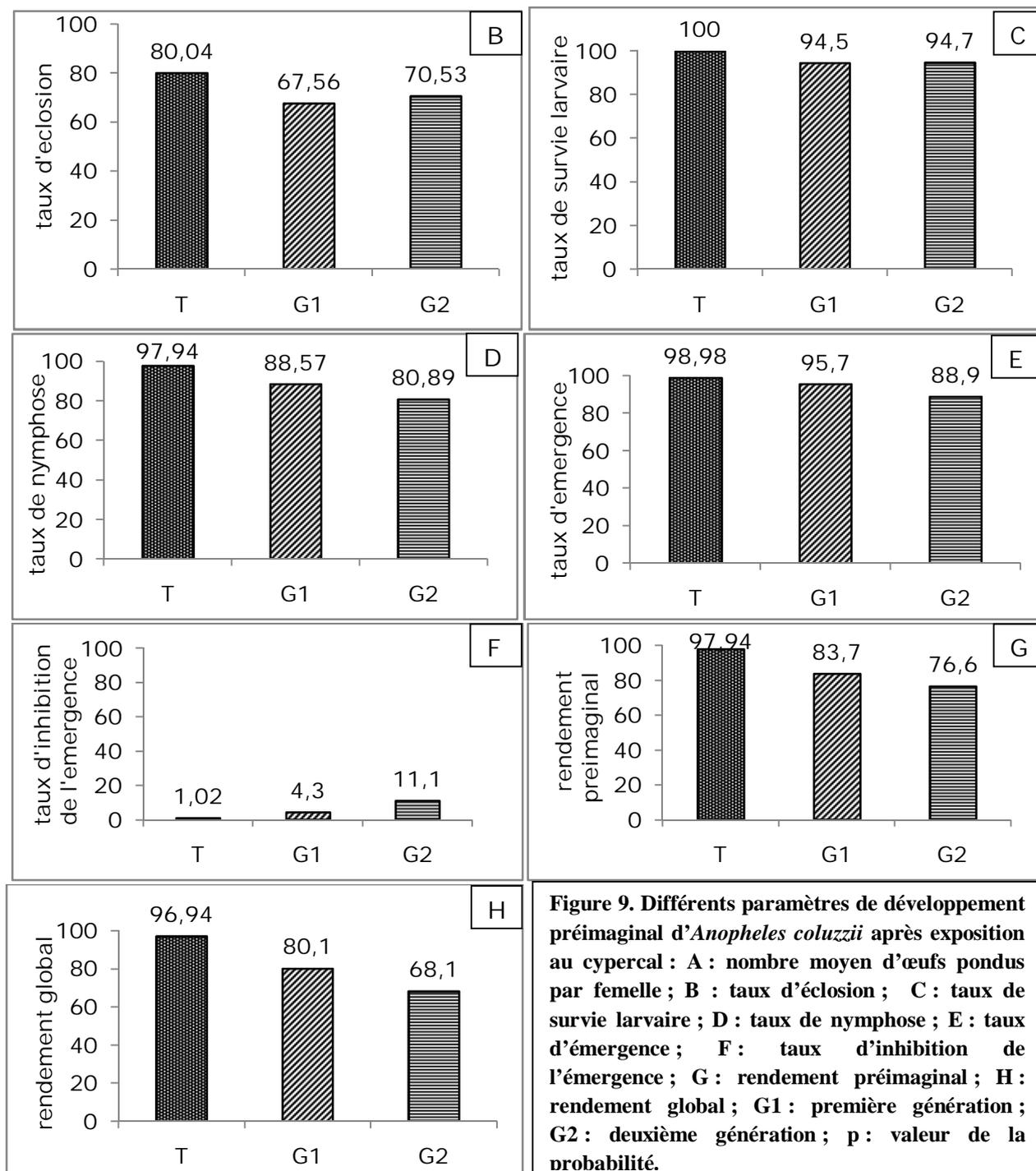
Le taux d'inhibition de l'émergence qui est la proportion de nymphes non écloses en fonction du nombre total de nymphes est de 1,02% pour le témoin, 4,3% pour la première génération et 11,1% pour la deuxième génération. Une différence significative a été observée entre le témoin et la deuxième génération.

Le rendement préimaginal qui est la proportion de nymphes obtenues en fonction du nombre d'œufs éclos est de 97, 94% ; 83,7% et 76,6% pour le témoin, la première et la deuxième génération respectivement. Le rendement préimaginal a été significativement différent entre les tests et le témoin.

Le rendement global qui est la proportion d'adultes obtenus en fonction du nombre d'œufs pondus est de 96,94 pour le témoin, 80,1% pour la première génération 68,1% pour la deuxième génération. Ce rendement a significativement différé entre le témoin et les tests.

Le sex-ratio est égal à 1 malgré une production légèrement élevée des femelles tant pour le témoin que pour les tests (51,38% pour le témoin, 51,19% à la première génération et 51,40% à la deuxième génération) mais le test de Kruskal Wallis n'indique aucune différence significative.

	témoin	G1	G2	P (témoin-G1)	P (témoin-G2)	P (G1-G2)
Nombre moyen d'œuf	123,16 ± 44,82	92 ± 28,44	80,45 ± 37,78	0,018	0,000	0,784



III.1.4.2. Effet de l'ammoniaque sur la reproduction d'*Anopheles coluzzii*

Le nombre moyen d'œufs par ponte individuelle a été déterminé par comptage et la moyenne (m) déterminée d'après 31 pontes individuelles pour le témoin, 31 et 30 pour chacune des générations 1et 2 respectivement : pour le témoin (T), $m = 123,16 \pm 44,82$ (avec un maximum de 182 et un minimum de 26 œufs par ponte) ; pour la première génération (G1), $m = 92,19 \pm 34,07$ (avec un maximum de 180 et un minimum de 29 œufs par ponte) et pour la deuxième génération, $m = 92,16 \pm 30,66$ (avec un maximum de 159 et un minimum de 30 œufs par ponte). Le test de l'ANOVA montre une différence significative entre le témoin et les tests (G1 et G2) ($p = 0,023$ et $p = 0,024$ respectivement) et non significative entre G1 et G2. ($p = 1,000$).

Le taux d'éclosion des œufs est passé de 80,04% pour le témoin (T) à 69,52% et 69,11% pour les tests, respectivement pour la première (G1) et la deuxième génération (G2). Le test de Mann-Whitney montre une différence significative entre le témoin et les tests ($p = 0,000$) et non significative entre G1 et G2 ($p = 0,948$).

Le taux de survie larvaire a varié entre 100% pour le témoin et 95,9% (G1) puis 94,5% (G2) pour les tests. Ce taux est significativement entre le témoin et les tests ($P = 0,002$).

Le taux de nymphose est : T = 97, 94%, G1 = 89,26% et G2 = 88,98%. Ce taux varie significativement entre le témoin et les tests.

Le taux d'émergence, calculé par rapport au nombre de nymphes est : T = 98, 98%, G1 = 96,96% et G2 = 96,54%. Ce taux ne diffère pas entre le témoin et les tests.

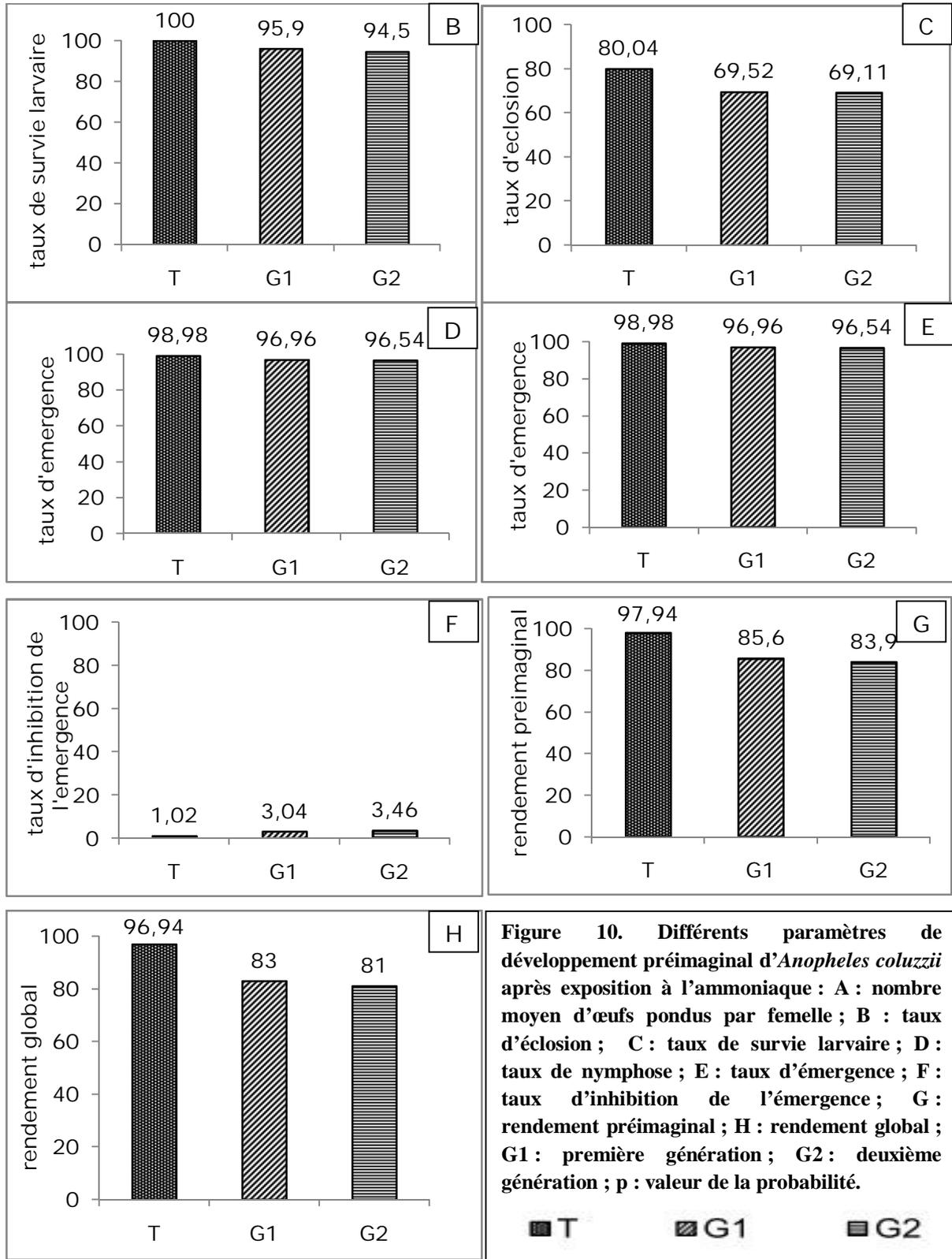
Le taux d'inhibition de l'émergence qui est la proportion de nymphes non écloses en fonction du nombre total de nymphes est : T = 1,02%, G1 = 3,04% et G2 = 3,46%. Aucune différence significative n'a été observée entre le témoin et les tests.

Le rendement préimaginal qui est la proportion de nymphes obtenues en fonction du nombre d'œufs éclos est : T = 97, 94%, G1 = 85,60% et G2 = 83,90%. Le rendement préimaginal a été significativement différent entre les tests et le témoin.

Le rendement global qui est la proportion d'adultes obtenus en fonction du nombre d'œufs pondus est : T = 96,94, G1 = 83% et G2 = 81%. Ce rendement a significativement varié entre le témoin et les tests.

Le sex-ratio est égal à 1 avec une production plus élevée des femelles (51,38% pour le témoin, 52% à la première génération et 50,74% à la deuxième génération) mais le test de Kruskal Wallis n'indique aucune différence significative.

	témoin	G1	G2	P (témoin-G1)	P (témoin-G2)	P (G1-G2)
Nombre moyen d'œuf	123,16 ± 44,82	92,19 ± 34,07	92,16 ± 30,66	0,023	0,024	1,000



III.2. Discussion

Les taux très élevés de nymphose obtenus dans les bacs témoins (96%) sont attribuables aux conditions du laboratoire. En effet, de l'eau distillée a été utilisée pour les tests. Une telle eau est exempte de microorganismes entomopathogènes (bactéries, levures, champignons) et d'organismes planctoniques susceptibles d'être des compétiteurs ou des prédateurs des larves. A ceci s'ajoutent une température relativement élevée, une nourriture suffisante et très bien adaptée et le fait que la souche utilisée est adaptée aux conditions de laboratoire. Dans les conditions quasi similaires, Diop et *al.* (1998) ont trouvé au laboratoire un taux de nymphose de 96% et 98% respectivement à la deuxième et à la troisième génération sur une souche d'*Anopheles arabiensis* ramenée des céanes (puisards pour le maraîchage) d'un quartier urbain de Dakar.

La mortalité larvaire a augmenté avec la concentration du xénobiotique dans les bacs d'élevage. Ces polluants peuvent agir de plusieurs manières ; en effet, l'ammoniac agit par inhalation, par voie cutanée et par ingestion et est partiellement détoxiquée sous la forme d'urée (Barneaud et *al.* 2012). Quant au cypercal, il comporte deux principes actifs qui agissent par ingestion et par contact (RECA Niger 2013). Le catabolisme de ces différents xénobiotiques fait intervenir les enzymes de détoxification chez les moustiques dont certains pourront être exprimés à l'état adulte. En effet, une étude récente a montré que les larves d'*An. coluzzii* sont plus tolérantes à l'ammoniac que celles d'*An. gambiae* (Téné et *al.* 2013). Le cypercal agit à très faible dose sur les larves de moustique tandis que l'ammoniac agit à des doses un peu plus élevées. Ainsi, la CMEO obtenue pour le cypercal est très faible comparée à la concentrations recommandée aux planteurs, ce qui montre des dégâts importants que les pesticides généralement utilisés pour l'agriculture et après leur lessivage dans les hydrosystèmes, peuvent causés à cours, à moyen ou à long terme sur les organismes aquatiques (Pesson 1980).

Les valeurs presque égales de la température obtenues dans les différents milieux d'élevage par jour s'expliqueraient par le fait que les bacs utilisés pour les tests étaient de petite taille et épousaient la température du laboratoire. En effet, la température de l'eau dépend essentiellement de la température ambiante (Rodier et *al.* 2009). Par ailleurs, la température moyenne relativement élevée ($27,29 \pm 1,17^{\circ}\text{C}$) traduirait l'usage d'un radiateur lors de nos élevages. Ceci, permet d'optimiser le rendement préimaginal et de réduire la durée du développement larvaire. En effet, Holstein (1952) a montré que le développement préimaginal des anophèles varie entre six et huit jours à une température comprise entre 30 et 34°C et entre douze et seize jours à 24°C. Cependant, les variations journalières de la

température observées lors de cette étude s'expliqueraient par des séquences marche/arrêt du radiateur. Quant aux valeurs du pH enregistrées dans les bacs d'élevage, elles sont situées au dessus de la neutralité et augmentent progressivement au cours de l'expérimentation. Toutefois, le pH moyen des bacs contenant le cypercal est compris entre 6 et 8,5 UC, ce qui est compatible avec le développement des invertébrés aquatiques (AE 1999), tandis que celui des bacs contenant l'ammoniaque se situe au-delà de cette zone mais permet le développement de nos organismes, ceci pourrait entraîner des modifications physiologiques chez ces derniers. Le fait que le profil de variation de la conductivité électrique soit superposable entre le témoin et les bacs contenant le cypercal montre que cette augmentation serait due à la minéralisation de la tetramin administrée quotidiennement pour l'alimentation des larves, le cypercal étant un micropolluant, agit à très faible dose sans modification de la conductivité électrique de l'eau. Les élevages en présence d'ammoniaque ont montré une différence significative ($p < 0,05$) de la conductivité électrique entre le témoin et les tests, ce qui montre l'implication de l'ammoniaque dans la variation de ce paramètre. Cependant, ces valeurs de la conductivité électrique enregistrées dans les milieux d'élevage restent faibles ($< 600 \mu\text{S}/\text{cm}$) et seraient en faveur d'un équilibre biologique normal (Jullian *et al.* 2005).

La durée du cycle préimaginal d'*Anopheles coluzzii* de 7 à 13 jours observée pour le témoin et pour les tests sur les deux générations d'exposition est comparable à celles qui ont été rapportées respectivement par Holstein (1952) sur *Anopheles gambiae* et Diol *et al.* (1998) sur *Anopheles arabiensis* en insectarium. Il est connu que la température de l'eau fait varier la durée du développement préimaginal, elle est de 6 à 8 jours pour une eau de 30 à 34 ° C et de 12 à 16 jours à 24 ° C chez *Anopheles gambiae* (Holstein 1952).

L'exposition des larves d'*Anopheles coluzzii* au cypercal et à l'ammoniaque a permis de constater pour une première génération, une baisse significative de la fécondité et de la fertilité (se traduisant respectivement par la diminution du nombre moyen d'œufs pondus par femelle et par la baisse du pourcentage d'éclosion des œufs), du taux de survie larvaire, du taux de nymphose, du rendement préimaginal et du rendement global. Cependant, à la deuxième génération, seul le cypercal a permis d'observer une variation significative du taux d'émergence et du taux d'inhibition de l'émergence entre le témoin et le test. Enfin, le sex-ratio et la comparaison des paramètres de croissance entre la première et la deuxième génération des tests n'ont pas montré de différence significative. Nos résultats sont en accord avec ceux d'Okoye (2007) qui a montré que les moustiques adultes ayant survécus à une exposition aux pyréthriinoïdes sont moins prolifiques que ceux qui n'ont pas été exposés. Cette baisse de la reproduction serait due aux effets sublétaux des xénobiotiques, les quels auraient

une action reprotoxique. La baisse considérable de la reproduction observée après une première génération d'exposition pourrait être une première sélection exercée par des xénobiotiques sur des individus n'ayant pas la capacité de les éliminer après absorption par détoxification, favorisant ainsi ceux qui en sont capables. En effet, il a été montré que l'exposition des larves de moustique aux polluants s'accompagne d'une augmentation des activités globales de détoxification (Boyer 2006, Poupardin 2011). Les moustiques ayant ainsi résistés à ces xénobiotiques au stade larvaire ont en plus les moyens de résister aux insecticides au stade adulte grâce à ces mêmes mécanismes de détoxification. Ceci a été élucidé par les travaux récents menés par Antonio-Nkondjio et *al.* (2014) et Lonméné (2015). Le premier auteur a montré que l'exposition des larves d'*Anopheles gambiae s.l.* au savon et au peroxyde d'hydrogène augmente la tolérance des adultes à la perméthrine et le second a montré que l'exposition des larves d'*Anopheles coluzzii* au cypercal et à l'ammoniaque se traduit chez les adultes émergents par une hausse progressive de la tolérance à la deltaméthrine qui atteint 20% à la cinquième génération d'exposition. La résistance des larves de moustique aux xénobiotiques et celle des adultes aux insecticides sont donc liées. Ce double mécanisme à savoir la sélection des larves résistantes aux xénobiotiques et la sélection des adultes résistants aux insecticides pourrait expliquer le large succès d'*Anopheles coluzzii* dans les gîtes pollués des milieux urbains comme l'a montré les travaux antérieurs (Téné et *al.* 2013, Antonio-Nkondjio et *al.* 2014).

CHAPITRE IV. IMPLICATION SUR LE SYSTEME EDUCATIF

IV.1. Introduction

D'après l'OMS, les progrès sans précédents ont été accomplis dans la lutte contre le paludisme ces dix dernières années. Ils sont en grande partie le résultat d'une intensification des interventions de lutte antivectorielle dans l'ensemble du monde et particulièrement en Afrique subsaharienne. Cependant, l'apparition d'une résistance des plasmodies aux antipaludiques et des anophèles aux insecticides commence à menacer ces progrès fragiles. Pour ce qui est de la résistance des anophèles aux insecticides, si rien n'est fait, elle pourrait entraîner une hausse sensible de l'incidence du paludisme et de la mortalité palustre. De ce fait, Les pays d'endémie sont exhortés à élaborer et à appliquer des stratégies complètes pour maîtriser la résistance aux insecticides et à assurer sans tarder une surveillance entomologique et un suivi de la résistance. Etant désormais connu que la résistance des anophèles aux insecticides a un déterminisme environnemental, il convient d'intégrer le respect de l'environnement dans l'esprit des populations et ceci dès le plus bas âge. L'école étant le lieu de socialisation par excellence demeure le cadre idéal de sensibilisation des jeunes sur l'intérêt de la protection de l'environnement.

IV.2. Données d'ensemble

Deux disciplines concourent à l'amélioration de la qualité d'enseignement : la didactique et la pédagogie.

Le mot didactique vient du grec didaskein qui veut dire enseigner, mettre les connaissances à la disposition des apprenants. La pédagogie quant à elle, est la science qui permet de conduire un enfant vers un type de comportement attendu dans la société. L'une des principales attributions de l'enseignement est de faire acquérir les connaissances aux élèves. Pour une acquisition efficace des connaissances, l'enseignant devrait s'appuyer sur les prérequis de l'apprenant, de son milieu et utiliser la méthode active en l'occurrence la méthode O.H.E.R.I.C. Cette méthode consiste à avoir les données initiales, à poser les problèmes scientifiques, à formuler les hypothèses pertinentes, à mettre en place des tests d'hypothèse, à recueillir des résultats, à les interpréter et à tirer les conclusions. Elle utilise l'approche fonctionnelle, une démarche explicative, permet d'acquérir des connaissances et de développer l'esprit scientifique.

Selon les estimations de l'OMS, le paludisme tue chaque année près de 600000 personnes dans le monde dont 90% en Afrique subsaharienne. C'est pour cette raison qu'il est important d'intégrer les activités de prévention de la transmission de cette maladie dans les programmes scolaires.

IV.3. Fiche pédagogique

Fiche pédagogique de préparation d'une leçon selon l'APC

ETABLISSEMENT :	LYCEE ET COLLEGES DU CAMEROUN	Noms et prénom du professeur :	
MODULE V :	Education à l'environnement et au développement durable		
FAMILLE DE SITUATIONS :	Gestion des ressources naturelles : eau, air, sol	Date :	
EXEMPLE DE SITUATION :	La pollution de l'eau dans la nature	Classe :	6 ^{ème}
PALIER DE COMPÉTENCES :	Sensibiliser sur les avantages liés à la préservation de la bonne qualité des eaux	Effectif :	G : F :
CATEGORIE D'ACTION	Lutte contre la pollution de l'eau	Durée :	55 minutes
SEQUENCE :	La pollution de l'eau et ses conséquences		
SEANCE:	La pollution par les pesticides	Période :	
Objectif Pédagogique Opérationnel	A la fin de cette séance, l'élève doit être capable de lire et faire respecter les conditions d'utilisation d'un pesticide donné		

ETAPE	Actions	OPOI	Contenus Spécifiques aux OPOI	Matériels ou supports didactiques	Activités d'enseignement/apprentissage	Évaluation de l'atteinte des OPOI	Durée
INTRODUCTION		1-Établir le contrat professeur-élève		Programme officiel	Écriture du titre au tableau, communication de l'objectif aux apprenants; prise des notes par les apprenants.		15 minutes
		2-Vérifier les prés requis	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Notion d'environnement ➤ Rappel des différentes sources de pollution des eaux 	Cours et apprentissages précédents	Jeux questions-réponses	Question 1 : définir environnement Question 2 : quelles sont les différentes sources de pollution des eaux ?	
		3-Déterminer l'intérêt de la séquence d'apprentissage	Intérêt : participer activement à la lutte contre la résistance des anophèles insecticides	vécu quotidien	brainstorming		
		4- identifier et formuler le problème à résoudre	Situation problème contextualisée	Situation de vie contextualisée	Jeux questions / réponses		

DEVELOPPEMENT	La pollution de l'eau dans la nature	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Définir pesticide ➤ Définir les classes fonctionnelles des pesticides les plus utilisées ➤ Nommer les cibles du cypercal ➤ Identifier les doses à utiliser 	<p>1. qu'est ce qu'un pesticide?</p> <p>2. les différentes classes de pesticides en fonction de leurs cibles</p> <p>3. un exemple de pesticide : le cypercal</p> <p>3.1. classe et cibles</p> <p>3.1. doses d'utilisation</p>	<p>Document 1 : différentes classes fonctionnelles des pesticides</p> <p>Document 2 : photos d'un sachet du cypercal</p>	Exploitation des documents	<p>-Lire le document 1 et répondre aux questions suivantes :</p> <p>Question 1 : qu'est-ce qu'un pesticide ?</p> <p>Question 2 : citer et définir les différentes familles de pesticides qui ressortent dans le texte</p> <p>-observer le document 2 et répondre aux questions suivantes</p> <p>Question 3 : à quelle famille appartient le cypercal ?</p> <p>Question 4 : quelles sont ses cibles et les doses à utiliser</p>	35 minutes
CONCLUSION	<p>Les pesticides sont des substances chimiques, naturelles ou synthétiques, destinées à lutter contre les parasites végétaux et animaux nuisibles aux cultures, aux récoltes et à l'homme. Les plus utilisés sont les insecticides, les herbicides et les fongicides.</p> <p>Afin de lutter contre la pollution de l'environnement, l'utilisation des pesticides doit obéir au respect des doses et des cibles indiquées par le fabricant sur leur emballage.</p>					<p>rappeler la définition de pesticide</p> <p>rappeler les différentes classes de pesticides les plus utilisées</p>	5 minutes

FICHE LINEAIRE

I- INTRODUCTION (5 minutes)

1- Etablir le contrat professeur-élève

Écriture du titre au tableau,
communication de l'objectif aux apprenants,
prise des notes par les apprenants.

2- Vérifier les prérequis (jeu questions/réponses)

Question 1 : définir environnement

Question 2 : quelles sont les différentes sources de pollution des eaux ?

Réponses attendues

Réponse 1 : l'environnement est le milieu tant naturel que artificiel dans le quel nous vivons.

Réponse 2 : les différentes sources de pollution des eaux sont : rejets urbains (eaux usées des habitations et des commerces), industriels (déchets industriels) et agricoles (pesticides, engrais)

3- Intérêt de la leçon

Participer activement à la lutte contre la résistance des anophèles insecticides.

4- Formuler le (s) problème scientifique (s)

Situation problème contextualisée

L'utilisation abusive et anarchique (non respect des cibles et des doses indiqués par le fabricant) des pesticides pour traiter les plantes s'accompagne de l'entraînement d'une partie de ces substances vers les milieux aquatiques où vivent les larves d'anophèles, moustiques qui transmettent le paludisme. Ces substances appelées polluants agissent sur les larves et sélectionnent celles qui sont résistantes aux insecticides. De même, les moustiques adultes qui résultent de ces larves sont aussi résistants aux insecticides. Cette résistance aux insecticides compromet la lutte contre le paludisme. Cette maladie tue près de 600000 personnes dans le monde chaque année.

GUIDE D'EXPLOITATION

Après avoir lu attentivement le texte, répondre aux questions suivantes.

- 1) citer trois problèmes qui ressortent dans le texte.
- 2) quelle est la relation entre ces trois problèmes ?
- 3) par rapport à ce qu'on vient de voir, qu'est ce qu'on peut encore chercher à connaître?

REponses ATTENDUES

1) l'utilisation abusive et anarchique des pesticides, la résistance des moustiques aux insecticides et la difficulté de lutter contre le paludisme

2) la relation entre ces problèmes est que l'utilisation abusive des pesticides entraîne la résistance des moustiques aux insecticides, ce qui compromet la lutte contre le paludisme.

3) problèmes scientifiques

- Quels sont les différentes classes des pesticides avec leurs cibles ?
- Quel est le mode d'emploi des pesticides ?

II- DEVELOPPEMENT (45 minutes)

ACTIVITE 1 : analyser le document 1 et répondre aux questions :

Question 1 : qu'est-ce qu'un pesticide ?

Question 2 : citer et définir les différentes familles de pesticides qui ressortent dans le texte

ACTIVITE 2 :

Observer le document 2 et répondre aux questions suivantes

Question 3 : à quelle famille appartient le cypercal ?

Question 4 : quelles sont ses cibles et les doses à utiliser par les planteurs ?

CONTENU

OPO : A la fin de cette séance, l'élève doit être capable de lire et faire respecter les conditions d'utilisation d'un pesticide donné

1. qu'est ce qu'un pesticide?

OPOI : *définir un pesticide*

On appelle pesticide, toute substance chimique, naturelle ou synthétique, destinée à lutter contre les parasites végétaux et animaux nuisibles aux cultures, aux récoltes et à l'homme.

2. les différentes classes de pesticides en fonction de leurs cibles

OPOI : *définir les classes de pesticide les plus utilisées*

Il existe une dizaine de classe de pesticides dont les plus utilisés sont les insecticides, les herbicides et les fongicides

- Les insecticides sont utilisés pour détruire les insectes nuisibles
- Les herbicides sont importants dans la lutte contre les plantes parasites
- Les fongicides sont utilisés pour lutter contre les champignons parasites

3. un exemple de pesticide : le cypercal

3.1. Classe et cibles

OPOI : nommer les cibles du cypercal

Le cypercal appartient à la classe des insecticides. Il est utilisé pour lutter contre les insectes nuisibles pour la culture du coton. Tout comme le cypercal, tous les autres pesticides sont destinés à des cibles indiquées par le fabricant.

3.1. Doses d'utilisation

OPOI : identifier les doses d'utilisation

Chaque sachet de 125 mL est dilué dans 5 litres d'eau pour pulvériser un demi-hectare de culture, soit deux sachets pour un hectare.

III- CONCLUSION (5 minutes)

Les pesticides sont des substances chimiques, naturelles ou synthétiques, destinées à lutter contre les parasites végétaux et animaux nuisibles aux cultures, aux récoltes et à l'homme. Les plus utilisés sont les insecticides, les herbicides et les fongicides.

Afin de lutter contre la pollution de l'environnement, l'utilisation des pesticides doit obéir au respect des doses et des cibles indiquées par le fabricant sur leur emballage.

JEU BILINGUE : environnement (environment), pesticide (pesticide), pollution (pollution).

OUVERTURE POUR LA PROCHAINE SEANCE : effet de la pollution sur la faune aquatique

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE :

- **Ministère des enseignements secondaires, aout 2014, programme d'étude de 6^e et 5^e : SCIENCES.**
- **Bouchon C. et Lemoine S., 2003.** Niveau de contamination par les pesticides des chaînes trophiques des milieux marins côtiers de la Guadeloupe et recherche de biomarqueurs de génotoxicité.
- **Lonmene Tazo A., 2015, mémoire de Master.**

Document 1 : différentes classes de pesticides

Dans le domaine de l'agriculture, les **pesticides** sont appelés produits phytopharmaceutiques ou phytosanitaires. Il en existe principalement trois catégories:

- **les herbicides** (pour lutter contre les mauvaises herbes),
- **les fongicides** (pour lutter contre les champignons) et
- **les insecticides** (pour lutter contre les insectes).
- D'autres produits existent ayant une action sur les rongeurs (rodenticides), sur les escargots et les limaces (molluscicides)...

Document 2 : photo d'un sachet de cypercal



IV.4. Conclusion

Au vu de ce qui précède, mettre un accent particulier sur la bonne gestion de l'utilisation des pesticides permettra à terme de minimiser les effets néfastes sur l'environnement. L'école étant un lieu de socialisation important pour les enfants et les jeunes, ces notions doivent être intégrées dans les programmes scolaires pour garantir un développement durable.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

De notre étude, il ressort que le cypercal (utilisé comme insecticide-acaricide pour la culture du coton) et l'ammoniaque (molécule qui est retrouvée dans les engrais azotés utilisés en agriculture pour l'amendement des sols) sont des substances qui sélectionnent les moustiques dans les gîtes larvaires, éliminant ceux qui ont une faible tolérance et permettant à ceux qui les résistent de se proliférer. Ces derniers ont été connus résistants aux pyréthrinoïdes utilisés en santé publique. Ces substances exercent leurs effets à très faible dose, ce qui permet de comprendre leur importance dans la déstabilisation des écosystèmes. Dans de telles circonstances, si rien n'est fait pour la protection de l'environnement et que les pollutions environnementales augmentent, ce mécanisme favorisant le succès des moustiques ayant une forte fitness pourrait entraîner une hausse de l'incidence du paludisme et de la mortalité palustre réduisant en néant les progrès sans précédents accomplis ces dix dernières années dans la lutte contre le paludisme.

Pour nos travaux futurs, nous nous proposons, d'approfondir les études sur le coût de la résistance des moustiques aux insecticides.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agence de l'Eau (AE) (1999) Système d'évaluation de la qualité de l'eau des cours d'eau : grilles de seuils par usage et fonction, version 1, Annexe B, 23 p.
- Antonio-Nkondjio C., Hinzoumbe Kerah C., Simard F., Awono-Ambéné P., Chouaibou M., Tchuinkam T. et Fontenille D. (2006) Complexity of the Malaria Vectorial System in Cameroon: Contribution of Secondary Vectors to Malaria Transmission. *Journal of Medical Entomology*, 43(6): 1215-1221.
- Antonio-Nkondjio C., Ndo C., Costantini C., Awono-Ambene P., Fontenille D. et Simard F. (2009) Distribution and larval habitat characterization of *Anopheles moucheti*, *Anophèles nili*, and other malaria vectors in river network of southern Cameroon. *Acta Trpica*, 10:1016-1022.
- Antonio-Nkondjio C., Youmsi-Goupeyou M., Kopya E., Tene-Fossog B., Njiokou F., Costantini C. and Awono-Ambene P. (2014) Exposure to disinfectants (soap or hydrogen peroxide) increases tolerance to permethrin in *Anopheles gambiae* populations from the city of Yaoundé, Cameroon. *Malaria Journal*, 13:296-302.
- Baldi I., Cordier S., Coumoul X., Elbaz A., Gamet-Payraastre L., Le Bailly P., Multigner L., Rahmani L., Spinosi J., Van Maele Fabry G. (2013) Pesticides, effets sur la santé. Editions Inserm 101, rue de Tolbiac, 75013 Paris, 161 p.
- Barneaud A., Bisson M., Del Grata F. Ghillebaert F. Guillard D. et Tack K. (2012) Ammoniac. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, INERIS, 110 p.
- Bouchon C. et Lemoine S. (2003) Niveau de contamination par les pesticides des chaînes trophiques des milieux marins côtiers de la Guadeloupe et recherche de biomarqueurs de génotoxicité. Rapport final : décembre 2003, Université des Antilles et de la Guyane, 71 p.
- Boyer S. (2006) Résistance Métabolique des Larves de Moustiques aux Insecticides: Conséquences Environnementales. Thèse de Doctorat de l'Université Joseph Fourier – Grenoble I. Spécialité : Biologie. 78 p.
- Bruce-Chwatt L. J. et Zulueta J. D. (1985) Essential Malariology: W. Heinemann med. Books Limited, London, 166-209.
- Carlson D.A. and Service M.W. (1980) Differentiation of the *Anopheles gambiae* Giles complex (*Diptera: Culicidae*) by analysis of cuticular hydrocarbons. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 73: 589-592.

- Carnevale P., Robert V., Manguin S., Corbel V., Fontenille D., Garros C., et Rogier C. (2009) Les anophèles. Biologie, transmission du *Plasmodium* et lutte antivectorielle. IRD Edition. Marseille, France. 392 p.
- Carson R.L. (1962) Silent spring. Riverside Press, Cambridge, MA, USA, 378 p.
- Champ P. (1985) Mode d'action et utilisation des organophosphorés. Insectes-Insecticides-Santé. Colloque national d'Angers, 207-221.
- Chandre F., Darriet F., Manga L., Akogbeto M., Faye O., Mouchet J., et Guillet P. (1999) Situation de la résistance aux pyréthriinoïdes chez *Anopheles gambiae s.l.*. *Bulletin of the World Health Organization*, 77(3): 230-234.
- Chenon P. (2011) Les outils existants ou à développer pour l'évaluation de l'innocuité des MFSC. RITTMO Agro Eenvironnement, 24 p.
- Clements A.N. (1992) The biology of mosquitoes: Development, nutrition and reproduction. London, Chapman Hall, 509 p.
- Coetzee M., Hunt R.H., Wilkerson R., Della Torre A., Coulibaly M.B. and Besansky N.J. (2013) *Anopheles coluzzii* and *Anopheles amharicus*, new members of the *Anopheles gambiae* complex. *Zootaxa*, 3619:246– 274.
- Coluzzi M., Petrarca V. and Di Meco M. A. (1985) Chromosomal inversion intergradations and incipient speciation in *Anopheles gambiae*. *Bulletin of Zoology*, 52: 45-63.
- Cooper K. (1991) Effects of pesticides on wildlife. In W.J. Hayes and R.R. Laws: Handbook of Pesticide Toxicology. Academic Press, San Diego, USA, 463-496.
- Cors M. (2007) Techniques extensives d'épuration des eaux usées domestiques. Dossier Inter-Environnement Wallonie, 43 p.
- Dartigues V. (1987) Utilisation de la deltaméthrine dans la lutte contre le paludisme. *Edition Copedith 7, rue des Ardennes-Paris*, 75 p.
- Diop A., Faye O. et Molez J. F. (1998) Mise en place en insectarium d'une souche d'*Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae). *Entomologie Médicale*, 15:3-8.
- Enayati A. et Hemingway J. (2010) Malaria Management: Past, Present, and Future. *Annual Review of Entomology*, 55: 569 –591.
- Favia G., della Torre A., Bagayoko M., Lanfrancotti A., Sagnon N., Toure T., Coluzzii M. (1997) Molecular identification of sympatric chromosomal forms of *Anopheles gambiae* and further evidence of their reproductive isolation. *Insect Molecular Biology*, 6: 377–383.
- Galkovskaja G. A. (1987) Planktonic rotifers and temperature. *Hydrobiologia*, 147 :307 – 317.
- Gerber H.R., Anderson J.P.E., Bügel-Mogensen B., Castle D., Domsch K.H., Malkomes H.-P., Arnold D.J., Van De Werf H., Verbeken R., and Vonk J.W. (1989) 1989 Revision of

- recommended laboratory tests for assessing side-effects of pesticides on soil microflora. *Toxicology and environmental Chemistry*, 30: 249-61.
- Giles G.M. (1902) A handbook of the gnats of mosquitoes. 2nd Edition, London, John Bale, Sons and Danielsson, 511 p.
- Gillies M. T. & Meillon B. (1968) The *Anophelinae* of Africa South of the Sahara (Ethiopian zoogeographical region). Publications of the South Africa Institute for Medical Research, Johannesburg, 2e Edition, 343 p.
- Gillot C. (2005) Entomology. 3^e edition, Springer, 834 p.
- Harbach R.E. (2004) The classification of genus *Anopheles* (Diptera: *Culicidae*): a working hypothesis of phylogenetics relationships, *Bulletin of Entomology Research*, 94:537-553.
- Holstein MH. (1952) Biologie d'*Anopheles gambiae* : recherches en Afrique Occidentale Française. O.M.S. Série monographies, O.M.S. Ed. Genève Suisse, 176 p.
- Houkpe J. (2012) Gîtes larvaires d'*Aedes albopictus* dans le bâti et les ouvrages de gestion des eaux pluviales : état des lieux et enjeux en terme de stratégie de contrôle. Mémoire pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur du Génie Sanitaire(IGS), Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique (EHESP), 68 p.
- Jullian E., Hirbec A., Ker B.N. et Liu R. Z. (2005) Qualité de l'eau du bassin versant de l'Ardèche. Université de Paris 7 – Denis – Diderot UFR des sciences physiques de la terre (IUP Génie de l'Environnement), 30 p.
- Lacroix G. (2012) Intérêt des systèmes expérimentaux à long terme pour comprendre et mieux gérer la biodiversité (Biodiversité et milieux aquatiques: quelles pistes pour la gestion des rivières et des plans d'eau?). Séminaire ONEMA (14 et 15 novembre), Espace Saint Martin, Paris, 30 p.
- Larivière M. et Abonnenc E. (1958) Les gîtes larvaires de *Culicidae* dans la presqu'île du Cap Vert. *Annales Hygiène et Médecine. Coloniales*, 11 p.
- Lonméné T. A. (2015) Sensibilité à la deltaméthrine induite chez le vecteur majeur du paludisme *Anopheles coluzzii* Coetzee, 2013 (Diptera : *Culicidae*) après exposition à des concentrations sub-létales d'intrants agricoles. Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I, Mémoire de Master, Hydrobiologie et Environnement, 50 p.
- MEC (Ministère de l'Environnement du Canada) (2003) Avis concernant l'aération ou la circulation artificielle de l'eau des lacs comme mesures de restauration de la qualité de l'eau. 11 p.
- Mikschi E. (1989) Rotifer distribution in relation to temperature and oxygen content. *Hydrobiologia*, 187: 209 – 214.

- Miles S.J. (1978) A biochemical key to adult members of the *Anopheles gambiae* group of species (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 15: 297-299.
- Montuelle B. et Bouchez A. (2009) Adaptation et tolérance du périphyton aux pesticides. In rapport de la 5^e journée de la ZABR : La démarche écotoxicologique pour la protection et l'évaluation de la qualité des milieux aquatiques. Parc des expositions de Valence, 110 : 83-92.
- Mouchet J., Carneval P., Coosemans M., Julvez J., Manguin S., Richard-Lenoble D. et Sircoulon J. (2004) Biodiversité du paludisme dans le monde. Edition *John Libbey Eurotext*, Montrouge, France, 300 p.
- Muller P., Chouaibou M., Pignatelli P., Etang J., Walker E. D., Donnelly M. J., Simard F. and Ranson H. (2008) Pyrethroid tolerance is associated with elevated expression of antioxidants and agricultural practice in *Anopheles arabiensis* sampled from an area of cotton fields in Northern Cameroon. *Molecular Ecology*, 17:1145-1155.
- Mvondo N. (2011) Etude comparée de la physicochimie de l'eau et de la biodiversité zooplanctonique de quelques gîtes larvaires avec et sans anophèles de la ville de Douala. Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I, Mémoire de Master, Hydrobiologie et Environnement, 50 p.
- Ndiayé M. L. (2005) Impacts des eaux usées sur l'évolution chimique et microbiologique des sols : étude de cas à Pikine (Dakar – Sénégal). Mémoire D.E.S.S.N.E n° 110. Université de Lausanne. 102 p.
- OBV Yamaska (Organisme du Bassin Versant de la Yamaska) (2015) Rapport d'échantillonnage de la qualité de l'eau 2014 dans deux sous bassins versants sur le territoire de la municipalité de Bolton-Ouest, pour la municipalité de Bolton-Ouest. Organisme du Bassin Versant de la Yamaska, 45 p.
- Okoye Nkem P. (2007) Biology of insecticide resistance in the African malaria vector *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae). Faculté des Sciences, Université de Witwatersrand, Johannesburg, thèse de Doctorat PhD, 213 p.
- ONG Afrique Verte Niger (2011) Mise en place de la Boutique d'Intrants agricoles. Livret des apprenants sur la mise en place des Boutiques d'Intrants agricoles, 16 p.
- Paterson S., Mackay D., Tam D., Shiu W.Y. (1990) Uptake of organic chemicals by plants: a review of processes, correlations and model. *Chemosphere*, 21: 297-331.
- Pesson P. (1980) La pollution des eaux continentales, incidence sur les biocénoses aquatiques. Gauthier Villars, Paris, 83 p.

- Pimentel D., Acquay H., Biltonen M., Rice P., Silva M., Nelson J., Lipner S., Giordan S., Horowitz A., D'amore M. (1993) Assessment of environmental and economic impacts of pesticide use. In : Pimentel D. and Lehman H. : The pesticide question : environment, economics and ethics. *Routledge*, Chapman and Hall, New York, 47-84.
- Poupardin R. (2011) Interactions gènes-environnement chez les moustiques et leur impact sur la résistance aux insecticides. Thèse Pour obtenir le grade de Docteur de l'université de Grenoble. Spécialité : Biodiversité, Ecologie et Environnement, 286 p.
- Ramade F. (2000) Dictionnaire encyclopédique des pollutions. Edition science international, 312 p.
- Ramade F. (2002) Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement. Paris, Dunod, 2ème édition, 1075 p.
- Ranson H., Abdallah H., Badolo A., Guelbeogo W. M., Kerah-Hinzoumbe C., Yangalbe-Kalnone E., Sagnon N., Simard F. and Coetzee M. (2009) Insecticide resistance in *Anopheles gambiae*: data from the first year of a multi-country study highlight the extent of the problem. *Malaria Journal*, 8:299-308
- Ranson H., Rossiter L., Orтели F., Jensen B., Wang X.L., Roth C.W., Collins F.H. and Hemingway J. (2011) Identification of a novel class of insect glutathione S-transferases involved in resistance to DDT in the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Biochemical Journal*, 359:295-304.
- RECA (Réseau National des Chambres d'Agriculture du Niger) (2013) Fiche conseil pour la matière active : cyperméthrine (insecticide), Famille : pyréthrinoïdes, 5 p.
- Resh V. H. and Cardé R. T. (2003) The Encyclopedia of Insects. Academic Press, Amsterdam. 57 p.
- Robert V. (1984) Lutte contre les vecteurs du paludisme. Polycopié, 27 p., tiré de Mouchet J., lutte contre les vecteurs et nuisances en santé publique. Encyclopédie Médecine Paris. Maladies infectieuses, 8120 (B10) : 3-1980.
- Rodier J., Legube B., Merlet N., Brunet R., Mialocq J-C., Leroy P., et Houssin M. (2009) L'analyse de l'eau. Dunod, Paris, 9^e édition, 1526 p.
- Russell E.W. (1973) Soil conditions and plant growth. Longman: London. 10^e Edition, 849 p.
- Scott J. A., Brogdon W., and Collins H. (1993) Identification of single specimens of the *Anopheles gambiae* complex by polymerase chain reaction. *Tropical Medecine and Hygiene*, 49:520-529.
- Téné F. B., Kopya E., Ndo C., Menze-Djantio B., Costantini C., Njiokou F., Awono-Ambene P., and Antonio-Nkondjio C. (2012) Water Quality and *Anopheles gambiae* Larval

- Tolerance to Pyrethroids in the Cities of Douala and Yaoundé (Cameroon). *Journal of tropical Medicine*, 10:1155-1155.
- Téné F. B., Antonio-Nkondjio C., Kengne P., Njiokou F., Nora J., Besansky and Carlo C. (2013) Physiological correlates of ecological divergence along an urbanization gradient: differential tolerance to ammonia among molecular forms of the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Ecology*, 13:1-12.
- Toukam U. A. (2011) Etude comparée du peuplement zooplanctonique de quelques gîtes larvaires avec/sans Anophèles de la ville de Yaoundé. Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I, Mémoire de Master, Hydrobiologie et Environnement, 50 p.
- Trape J. F. (1986) L'impact de l'urbanisation sur le paludisme en Afrique Centrale. Thèse d'état, Université de Paris Sud, Centre d'Orsay. 180 p.
- Trépanier M. (2009) Démystifions les engrais naturels, journée sur les méthodes biologiques en horticulture ornementale. Université de Laval, 27 p.
- WHO (World Health Organization) (1999) World malaria report. Geneva (Switzerland), Annual Report, 195 p.
- WHO (World Health Organization) (2014) World malaria report. Geneva (Switzerland), Annual Report, 242 p.
- ZABR (Zone Atelier Bassin du Rhône) (2009) La démarche écotoxicologique pour la protection et l'évaluation de la qualité des milieux aquatiques. Parc des expositions de Valence, 110 p.

ANNEXES

Annexe 1 : Variables physico-chimiques (température, pH et conductivité électrique) et biologiques (mortalité larvaire et nymphose) mesurées au cours des tests de gammes en présence d'ammoniaque dans les bacs d'élevage.

Paramètres mesurés	temps	Concentration							
		témoin	0,1 g/L	0,2 g/L	0,3 g/L	0,4 g/L	0,5 g/L	0,6 g/L	0,7 g/L
Température	Jour 1	28,6	28,6	28,7	28,5	28,6	28,6	28,5	28,5
	Jour 2	27,4	26,9	26,9	27,9	27,7	27	26,8	26,9
	Jour 3	28,1	28,3	28,1	28,1	/	/	/	/
	Jour 4	27,1	26,4	26,3	26,6	/	/	/	/
	Jour 5	28	27,4	27,3	27,2	/	/	/	/
	Jour 6	26,6	26,5	26,5	27	/	/	/	/
	Jour 7	23,8	24,8	25	25	/	/	/	/
	Jour 8	23,5	23,9	24,2	/	/	/	/	/
	Jour 9	24,6	25,6	25,4	/	/	/	/	/
pH	Jour 1	7,91	8,31	8,31	8,31	8,31	8,31	8,31	8,32
	Jour 2	7,96	8,72	8,72	8,73	8,72	8,72	8,71	8,73
	Jour 3	8,1	9	9	9	/	/	/	/
	Jour 4	8,08	9,19	9,19	9,3	/	/	/	/
	Jour 5	8,08	9,26	9,26	9,19	/	/	/	/
	Jour 6	8,08	9,3	9,3	9,26	/	/	/	/
	Jour 7	8,06	9,32	9,32	9,22	/	/	/	/
	Jour 8	8,04	9,32	9,32	/	/	/	/	/
	Jour 9	8,01	9,26	9,27	/	/	/	/	/
Conductivité électrique	Jour 1	17,89	77,7	105,5	140,5	158,1	193,7	181,3	200
	Jour 2	51,1	129,8	153,5	195	183	208	207	211
	Jour 3	69,3	134,8	181,6	248	/	/	/	/
	Jour 4	85,3	148,1	186,9	264	/	/	/	/
	Jour 5	121	176,8	213	243	/	/	/	/
	Jour 6	150,7	196,6	228	241	/	/	/	/
	Jour 7	173,5	210	240	248	/	/	/	/
	Jour 8	191	221	249	/	/	/	/	/
	Jour 9	221	239	260	/	/	/	/	/
Nombre de larves mortes	Jour 1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Jour 2	0	0	0	44	100	100	100	100
	Jour 3	0	0	0	2	/	/	/	/
	Jour 4	1	0	0	2	/	/	/	/
	Jour 5	1	0	1	0	/	/	/	/
	Jour 6	0	0	3	4	/	/	/	/
	Jour 7	1	2	2	2	/	/	/	/
	Jour 8	1	1	3	/	/	/	/	/
	Jour 9	0	0	1	/	/	/	/	/
Nombre de nymphe	Jour 1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Jour 2	0	0	0	0	0	0	0	0
	Jour 3	14	6	11	4	/	/	/	/
	Jour 4	26	11	21	12	/	/	/	/
	Jour 5	24	16	10	4	/	/	/	/
	Jour 6	18	28	22	8	/	/	/	/
	Jour 7	5	20	6	0	/	/	/	/
	Jour 8	1	6	3	/	/	/	/	/
	Jour 9	1	2	0	/	/	/	/	/

Annexe 2 : Variables physico-chimiques (température, pH et conductivité électrique) et biologiques (mortalité larvaire et nymphose) mesurés au cours des tests de gammes en présence du cypercal dans les bacs d'élevage.

Paramètres mesurés	temps	Concentration									
		témoin	10-8 g/L	2×10-8 g/L	3×10-8 g/L	4×10-8 g/L	5×10-8 g/L	6×10-8 g/L	7×10-8 g/L	8×10-8 g/L	9×10-8 g/L
Température	Jour 1	28,4	27,4	27,5	27,5	27,3	27,6	27,4	27,5	27,3	27,3
	Jour 2	28	27,81	27,8	27,7	27,7	27,7	27,9	27,9	28,1	28,1
	Jour 3	26,9	26,8	26,9	26,8	26,8	26,7	26,7	/	/	/
	Jour 4	25,4	25,5	25,2	25,4	25,5	/	/	/	/	/
	Jour 5	26,2	26,3	26,2	26,3	26,3	/	/	/	/	/
	Jour 6	28,2	28,3	28,4	28,4	28,4	/	/	/	/	/
	Jour 7	29,8	29,6	29,6	29,2	29,1	/	/	/	/	/
pH	Jour 1	7,9	7,91	7,93	7,94	7,95	7,94	7,95	7,95	7,95	7,95
	Jour 2	7,99	7,98	7,97	7,97	7,97	7,97	7,97	7,97	7,97	7,98
	Jour 3	8,06	8,02	8,01	8,01	8,01	8,01	8,01	/	/	/
	Jour 4	8,04	8,03	8,02	8,02	8,02	/	/	/	/	/
	Jour 5	8,02	8,02	8,02	8,02	8,02	/	/	/	/	/
	Jour 6	8,05	8,04	8,03	8,03	8,03	/	/	/	/	/
	Jour 7	8,04	8,03	8,03	8,02	8,02	/	/	/	/	/
Conductivité électrique	Jour 1	11,34	10,03	9,1	10,5	13,4	12,39	10,64	12,27	11,78	11,35
	Jour 2	36,9	31	26,1	30,9	32,1	23,4	30	28,6	35,4	32
	Jour 3	69,7	64,2	63,8	62,6	69,3	55,5	62,2	/	/	/
	Jour 4	94,3	89,5	84,8	86,6	88,8	/	/	/	/	/
	Jour 5	118,5	113,3	116,5	120,6	130,8	/	/	/	/	/
	Jour 6	162,4	160,1	159,6	171,8	167,2	/	/	/	/	/
	Jour 7	181,1	175,5	174,1	187,5	181,7	/	/	/	/	/
Nombre de larves mortes	Jour 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Jour 2	0	0	0	4	3	99	96	100	100	100
	Jour 3	0	0	0	5	25	1	4	/	/	/
	Jour 4	0	0	0	15	35	/	/	/	/	/
	Jour 5	0	0	0	7	20	/	/	/	/	/
	Jour 6	1	3	2	1	6	/	/	/	/	/
	Jour 7	3	1	7	1	0	/	/	/	/	/
Nombre de nymphe	Jour 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Jour 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Jour 3	9	6	7	4	1	0	0	/	/	/
	Jour 4	10	12	13	16	2	/	/	/	/	/
	Jour 5	15	21	23	18	2	/	/	/	/	/
	Jour 6	39	31	33	20	0	/	/	/	/	/
	Jour 7	20	17	13	1	1	/	/	/	/	/

Annexe 3 : photos de quelques matériels et manipulations au laboratoire



Un multimètre

1) Mesure des paramètres physico-chimiques



1) cuvette contenant les larves d'*Anopheles coluzzii*



2) cage contenant les adultes d'*Anopheles coluzzii*

Lapin avec la peau rasée au niveau de la région ventrale
Cage contenant les moustiques



3) Dispositif permettant de gorger les moustiques



Boîte de pétri
Papier filtre
Œufs d'*Anopheles coluzzii*

4) pondeur contenant les œufs d'*Anopheles coluzzii*