

Institut Sénégalais de Recherches Agricoles



Fiche Technique

Processus de standardisation de l'élevage de masse d'*Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): effets du rationnement alimentaire des larves sur les traits d'histoire de vie

Gorgui Diouf^{1,2}, Assane Gueye Fall¹, Mamadou Ciss¹, Momar Talla Seck¹

Document présenté par:

Gorgui Diouf^{1,2}, Assane Gueye Fall¹, Mamadou Ciss¹, Momar Talla Seck¹



Institut Sénégalais de Recherches Agricoles/Laboratoire National de l'Élevage et de Recherches Vétérinaires BP 2057 Dakar-Hann, Sénégal.



Université Cheikh Anta Diop, Faculté des Sciences et Techniques,
Département de Biologie Animale, Laboratoire d'Écologie Vectorielle et Parasitaire,
Dakar, Sénégal.

Bibliographie:

La résistance aux insecticides est devenue un problème majeur dans les programmes de lutte anti vectorielle [1-4] et justifie l'intensification de la recherche sur les méthodes alternatives et respectueuses de l'environnement [5], parmi lesquelles figure la technique de l'insecte stérile (TIS). La mise en place de cette dernière repose sur l'existence d'un élevage de masse de l'espèce cible, pouvant produire des mâles en quantité suffisante et de bonne qualité. Dans ce processus, l'alimentation des larvaires représente un des facteurs importants, permettant d'optimiser les performances des insectes parce que sa qualité et sa quantité interviennent sur la vitesse de croissance et le rendement de l'élevage des insectes [6]. Ainsi l'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de la quantité d'aliment fourni aux larves d'*Aedes aegypti*, sur le taux de survie larvaire, la durée de développement des larves, ainsi que la fécondité et la survie des adultes.

Méthodologie:

1. Présentation de l'insectarium et origine des moustiques

L'étude a été réalisée à l'insectarium du Service de Bio-Ecologie et de Pathologies Parasitaires (BEPP), du Laboratoire National de l'Élevage et de Recherches Vétérinaires (LNERV), de l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA). La partie de l'insectarium qui est réservée à l'élevage de moustiques est constituée de trois petites salles d'environ 8m² chacune, disposant d'étagères adaptées. L'une des salles est consacrée à l'élevage des larves et les deux autres à des celles adultes. Les salles sont équipées d'un climatiseur et d'un humidificateur (modèle : Cuoghi NEB 6500 Humidifier) pour maintenir les conditions d'élevage constantes. Les conditions de température et d'humidité relative des salles ont été de 25 ±1°C et 75 ± 5% avec une alternance lumière/obscurité de 12h/12h. Un enregistreur de température et d'humidité (thermo-hygrometer HOBO; Onset, Pocasset, MA) était accroché dans les salles pour relever en continue ces paramètres.

Pour démarrer l'élevage, des larves de moustiques sauvages ont été récoltées au niveau des bacs en fer contenant de l'eau et qui servaient à l'élevage de mollusques au niveau du service BEPP. Elles ont été transférées à l'insectarium puis suivies jusqu'à l'émergence des adultes qui sont par la suite identifiés grâce à la clé d'identification établie par Edwards (1941) [7].

2. Effet de la quantité de la nourriture sur la durée du développement larvaire et la survie des larves

Nous avons évalué l'impact de trois rations alimentaires sur quelques traits de vie d'*Aedes aegypti*. Pour chaque ration cinq réplicas ont été réalisés. Des lots de 1000 larves de stades 1 ont été répartis dès l'éclosion dans les plateaux émaillés contenant un 1,5l d'eau vieillie d'au moins une semaine. La poudre de Mikrovit^R 35g e/75ml, aliment d'alvine, multivitaminé et multi-minéraux a servi de nourriture larvaire. Les trois rations alimentaires utilisées sont les suivantes:

- ✓ Ration 1: 0,2g d'aliment tous les deux jours,
- ✓ Ration 2: 0,5g d'aliment tous les deux jours et
- ✓ Ration 3: 1g d'aliment tous les 5 jours.

Pour déterminer la durée du développement larvaire, les nymphes sont récoltées chaque matin à l'aide d'une pipette pasteur dont le bout est coupé et mises dans des pots contenant de l'eau et sont transférées dans les cages adultes selon leurs plateaux d'origine.

3. Influence de la quantité de nourriture des larves sur la fécondité des femelles et la survie des adultes

Les adultes sont élevés dans des cages constituées d'une charpente métallique de dimension 30×30×30 cm, recouverte par un tulle moustiquaire muni d'une ouverture (manchon) permettant les manipulations. Les mâles sont nourris avec une solution d'eau sucrée à 10% préparée avec de l'eau distillée et du sucre en poudre blanche. Une alimentation mixte, sang/solution sucrée, est donnée aux femelles une fois par semaine pour le sang à l'aide d'un «hemotek» et de manière continue pour la solution sucrée.

Afin d'évaluer l'effet des trois rations alimentaires des larves (R1, R2 et R3) sur la fécondité, des femelles de cinq à sept jours sont regroupées par lot de 50 individus avec 25 mâles, soit un sexe ratio femelle/mâle de 2/1. Le suivi a été fait pendant quatre semaines sur un total de cinq réplicas. Chaque semaine, le papier pondoir est retiré et remplacé par un nouveau. Les œufs pondus sur ce papier pondoir sont comptés à la loupe binoculaire à l'aide d'une source de lumière froide. Le nombre de moustiques morts est recueilli chaque semaine au moment de renouveler le papier pondoir. Le nombre d'œufs pondus par femelle est le rapport entre le nombre total d'œufs récoltés sur le nombre de femelles vivantes.

$$\text{nombre d'œufs pondus par femelles} = \frac{\text{nombre total d'œufs pondus}}{\text{nombre de femelles vivantes}}$$

La survie des mâles et celle des femelles ont été évaluées séparément. Pour évaluer la survie en fonction du rationnement alimentaire chez les deux sexes, nous avons échantillonné trente (30) individus âgés de trois jours qui sont mis dans des gobelets en plastique (REF 02114 (24AC)) dont l'ouverture est recouverte de moustiquaire. Les femelles, tout comme les mâles, sont exclusivement alimentées avec la solution sucrée. Le comptage des individus morts est effectué quotidiennement du premier jour jusqu'à la mort de tous les individus.

4. Analyses statistiques

La saisie et l'enregistrement des données ont été réalisés à l'aide du tableur Excel 2013. Le logiciel R [8] via l'interface R studio a permis d'analyser les données. Des tests statistiques comme Kruskal-wallis [9], pour évaluer la significativité des différences observées dans leur globalité et Mann-withney- Wilcoxon tests [10] pour voir les différences qui existent entre les traitements.

Résultats:

La quantité d'aliment fourni aux larves a un impact sur leur vitesse de croissance (tableau 1). En effet, globalement la durée du développement larvaire varie de 7 à 27 jours pour la ration 1 (R1), de 6 à 15 jours pour la ration 2 (R2) et de 6 à 18 jours pour la ration (R3). Elle affecte ainsi significativement la durée du développement larvaire ($\text{Chi}^2 = 16,3957$, $\text{df}=2$, $\text{P}= 0,0003$). La plus faible quantité (0,2g/2 jours) a entraîné une nymphose plus tardive et asynchrone (20 jours) tandis que les grandes quantités (0,5g/2 jours et 1g/5 jours) ont donné une nymphose plus précoce et plus synchrone (R2 : 10 jours ; R3 : 13 jours) avec respectivement 42,67% et 48,34% de nymphose le 8^{ème} jour. Par contre, avec la ration R1, la nymphose est maximale le 9^{ème} jour avec seulement 16,26%.

Les trois rations ont eu dans l'ensemble des taux de survie larvaire respectifs de 85,4%, 94,2% et 76,76% mais les différences observées ne sont pas statistiquement significatives ($\text{Chi}^2 = 1,7797$, $\text{df}= 2$, $\text{P}= 0,4107$).

Tableau 1: Taux de survie des larves et durée de la pupaison en fonction des rations

Rations	Paramètres		
	Durée de la pupaison (1er-dernier jour)	Jour de pupaison maximale (%)	Taux de survie des larves \pm sd*
Ration 1	20 (7-26)	9 (16,26)	85,4 \pm 23,5

Ration 2	10 (6-15)	8 (42,67)	94,2±7,07
Ration 3	13 (6-18)	8 (48,34)	76,76±9,69

*Sd: *standard deviation*

A la première génération d'adulte issus de ces larves, une différence significative ($P < 0,05$) entre la moyenne d'œufs pondus par femelle à la première ponte et celle de la troisième ponte, a été notée en fonction des rations alimentaires utilisées (tableau 2). En effet, lors de ces deux pontes, les femelles issues de la ration R2 pondent en moyenne beaucoup plus d'œufs que celles issues de R1 et R3. Il faut noter que les femelles pares pondent en moyenne significativement plus d'œufs que les nullipares (1^{ère} ponte).

Tableau 2: moyenne d'œufs pondus par femelle \pm standard deviation en fonction des rations et de la parité.

Rations	1 ^{er} ponte	2 ^{ème} ponte	3 ^{ème} ponte	4 ^{ème} ponte
Ration 1	17,09±14,23	58,11±37,04	33,21±17,47	41,68±10,25
Ration 2	44,21±19,59	95,85±118,15	42,64±9,09	49,35±21,86
Ration 3	47,71±15,59	68,71±58,68	37,98±8,54	48,98±23,42

Pour ce qui est de la survie, une faible variabilité a été notée dans la survie moyenne des femelles (36 jours pour R1 et 31 jours pour R2 et R3) et des mâles (34 jours pour R1, 33 jours pour R2, et 39 jours pour R3). Chez les femelles, les individus issus de R2 et R3 ont perdu 50% de leur population au 27^{ème} jour alors qu'à cette date le taux de survie de R1 (petite quantité) était encore de 71,66%. C'est au 37^{ème} jour que la population issue de R1 atteint 50% de mortalité alors que cette mortalité était respectivement de 91,67% et 93% pour R2 et R3. Ces différences de survies observées chez les femelles issues des différents groupes sont statistiquement significatives ($P = 0,04253$). Chez les mâles, le taux de survie des individus issus de R1 est supérieur à celui de R2 et R3 durant les 25 premiers jours. A partir du 27^{ème} jour, la tendance est à l'inverse pour R1 et constante pour R2 avec un taux de survie de 50% alors qu'il est de 55,57% pour R3 (Figure1). Cependant, ces différences ne sont pas statistiquement significatives ($P > 0,05$).

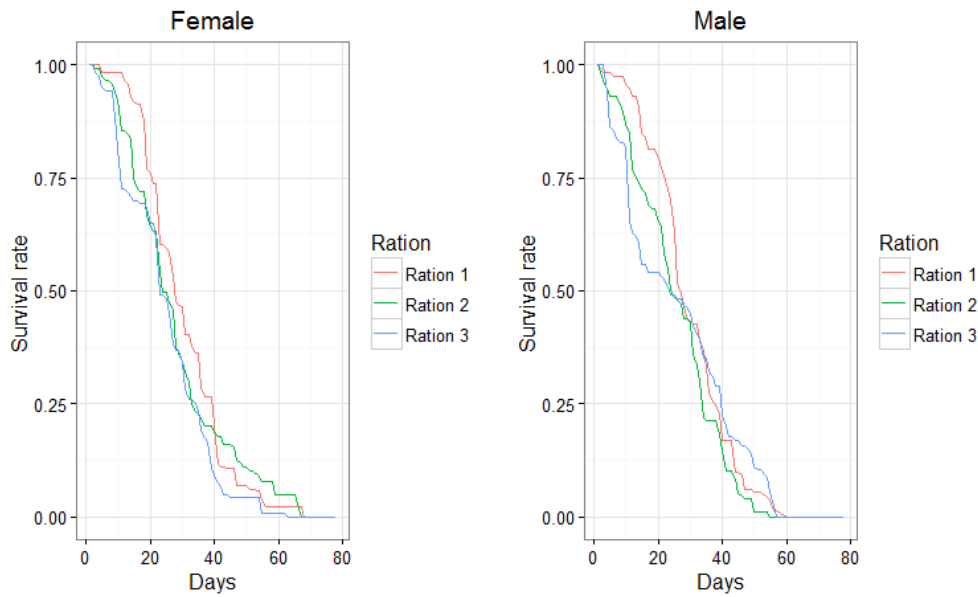


Figure 1: Courbe de survie Kaplan-Meier des adultes en fonction des rations alimentaire

Conclusion:

Cette étude a permis de connaître les besoins nutritionnels des larves d'*Aedes aegypti* qui sont nécessaires à la production d'adultes de bonne qualité. Nos résultats montrent que la quantité d'aliment fournie aux larves n'a pas d'effet sur la survie larvaire mais affecte le temps de développement des larves, la dynamique de production des pupes, la survie et la fécondité des femelles et à moindre mesure la survie des mâles. Ils révèlent aussi que la ration R2, 0,5g d'aliment tous les deux jours, semble être la quantité optimale,

Remerciements :

Les auteurs remercient l'Agence internationale de l'énergie atomique (AIEA) d'avoir partiellement financé cette étude à travers le "Coordinated Research Contract Mosquito Handling, Transport, Release and Male Trapping Methods".

References

1. Dia I, Diagne CT, Ba Y, Diallo D, Konate L, Diallo M: **Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* populations from Senegal and Cape Verde Archipelago**, *Parasites & vectors* 2012, **5**(1):238,
2. Vontas J, Kioulos E, Pavlidi N, Morou E, Della Torre A, Ranson H: **Insecticide resistance in the major dengue vectors *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti***, *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2012, **104**(2):126-131,
3. Bisset J, Marín R, Rodríguez M, Severson D, Ricardo Y, French L, Díaz M, Perez O: **Insecticide resistance in two *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) strains from Costa Rica**, *Journal of medical entomology* 2013, **50**(2):352-361,
4. Dusfour I, Thalmensy V, Gaborit P, Issaly J, Carinci R, Girod R: **Multiple insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations compromises the effectiveness of dengue vector control in French Guiana**, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2011, **106**(3):346-352,
5. Boyer S: **La technique de l'insecte stérile: une lutte ciblée sans insecticide**, *Med Trop (Mars)* 2012, **72**:60-62,
6. Parker A: **Mass-rearing for sterile insect release**. In: *Sterile Insect Technique*: Springer; 2005: 209-232.
7. Edwards, F. W. (1941). Mosquitoes of the Ethiopian Region. HI.-Culicine Adults and Pupae. Mosquitoes of the Ethiopian Region. HI.-Culicine Adults and Pupae.
8. **R: A language and environment for statistical computing**, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, [<http://www.R-project.org>]
9. Myles Hollander and Douglas A, Wolfe (1973): **Nonparametric Statistical Methods**, New York: John Wiley & Sons 1973:115–120,
10. Bauer DF: **Constructing confidence sets using rank statistics**, *Journal of the American Statistical Association* 1972, **67**: 687–690,