

# INFLUENCE DES MATIÈRES VÉGÉTALES ET DES ENGRAIS NPK SUR LA BIOLOGIE DE *Aedes aegypti* (DIPTERA : CULICIDAE)

DARRIET F.\*, ZUMBO B.\*\* , CORBEL V.\*\*\* & CHANDRE F.\*

**Summary:** INFLUENCE OF PLANT MATTER AND NPK FERTILIZER ON THE BIOLOGY OF *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE)

In this laboratory study, we investigated the attractiveness of gravid *Aedes aegypti* females for aquatic habitats containing either NPK fertilizer or plant matter or a mixture of both. The development of larvae, adult emergence and weight of emerged adults were measured for each group and physicochemical analysis of water was made for the dosage of minerals and organic compounds. After 23 days experiment, NPK solution remained as attractive as the mixture of NPK + plant matter but did not ensure suitable development of larvae. The plant matter infusion showed less attractiveness for laying eggs than NPK but provided larvae with sufficient organic nutrients for their development. The combination of both NPK + plant matter provided the greatest attractiveness for gravid females and sufficient organic substance allowing mosquito larvae to grow. Physicochemical analyses of water containing NPK showed minerals only ( $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^- + \text{P} + \text{K}$ ) whereas plant matter showed high content of carbon and nitrogen. The NPK + plant matter mixture contained both organic and minerals elements that favoured the proliferation of bacteria and then the development of mosquito larvae. These findings could lead to the development of new traps that could attract females mosquitoes and killed hatched larvae if mix with appropriate larvicides.

**KEY WORDS:** *Aedes aegypti*, plant matter, NPK fertilizer, physicochemical properties of waters, oviposition, larval development.

**Résumé :**

Dans cette étude de laboratoire, les auteurs ont mesuré sur des femelles gravides de *Aedes aegypti*, l'attractivité à la ponte de milieux aqueux contenant un engrais NPK, de la matière végétale (MV) et un mélange composé de MV+NPK. Tandis que les analyses physico-chimiques ont permis d'identifier puis de doser les constituants de chaque milieu, le suivi des larves et la pesée des femelles émergentes nous ont renseigné sur l'impact des composés minéraux et organiques sur le développement des moustiques. Sur les 23 jours qu'a duré l'expérience, la solution NPK est restée aussi attractive que le mélange MV+NPK sans toutefois pouvoir assurer le développement des larves. L'infusion MV a révélé une attractivité à la ponte moins importante, mais elle a apporté aux larves de moustiques les substances organiques dont la solution NPK était dépourvue. Enfin le mélange MV+NPK a attiré les femelles à la ponte tout en assurant pleinement la croissance des larves de *Ae. aegypti*. Alors que les analyses physico-chimiques de NPK ont révélé une composition essentiellement minérale ( $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^- + \text{P} + \text{K}$ ) et celles de MV de fortes concentrations en carbone et en azote organiques, le mélange MV+NPK s'est distingué par une composition mixte organique et minérale qui a favorisé la prolifération des bactéries et le développement des larves de moustiques. Ce sont des observations importantes qui pourraient aider à la fabrication de pièges à la fois attractifs et létaux (NPK+larvicide) et dont les fonctions seraient de piéger les femelles gravides à la recherche d'un lieu de ponte et de tuer les larves à l'éclosion des œufs.

**MOTS CLÉS :** *Aedes aegypti*, matière végétale, engrais NPK, physicochimie des eaux, oviposition, développement larvaire.

Dans la vie d'un moustique, l'acte d'oviposition conditionne à lui seul la survie ou la mort de la génération suivante (Subra, 1971). Le choix du lieu de ponte est influencé par une multitude de facteurs physico-chimiques variables d'un endroit à un autre. Les eaux des gîtes se caractérisent par leur teneur

en matière organique (Harrington *et al.*, 2008), leur charge et leur diversité en algues et en bactéries (Hazard *et al.*, 1967 ; Trexler *et al.*, 2003) et la présence ou non de larves de la même espèce (Soman & Reuben, 1970 ; Darriet & Corbel, 2008a). Parmi les moustiques qui colonisent les collections d'eau les plus hétéroclites, se distingue *Aedes aegypti* (L.), vecteur de la dengue dans de nombreux pays du monde. Les gîtes larvaires favorables à l'évolution de *Ae. aegypti* en milieu urbain sont pour la plupart créés par la main de l'homme (Cordellier *et al.*, 1977). Les femelles déposent leurs œufs dans des collections d'eaux domestiques et péri-domestiques comme les jarres, les fûts, les citernes, les abreuvoirs, les vases, les coupelles des plantes ornementales, les boîtes de conserves, les pneus, les carcasses de voiture et d'appareils électroménagers. Les eaux stagnantes dans ces récipients sont souvent souillées par des

\* Institut de recherche pour le développement (IRD), Laboratoire de lutte contre les insectes nuisibles, 911, avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France.

\*\* Service de lutte antivectorielle, Direction des affaires sanitaires et sociales (DASS) de Mayotte BP 104, 97600 Mamoudzou.

\*\*\* IRD/CREC, 01 BP 4414 RP, Cotonou, Bénin.

Correspondance : Frédéric Darriet.

Tél. : 33 (0)4 67 04 19 24 – Fax : 33 (0)4 67 54 20 44

E-mail : darriet@mpl.ird.fr

apports de matière végétale. De longue date, les infusions de feuilles, de foin et d'herbe fraîche sont connues pour leurs propriétés attractives vis-à-vis des moustiques (Chadee *et al.*, 1993 ; Scott *et al.*, 2001). De même, la pollution de certains gîtes larvaires par des engrais de type NPK influence le comportement de ponte de *Ae. aegypti* (Darriet & Corbel, 2008b). Les engrais étant utilisés partout dans les villes et les campagnes pour fertiliser les plantes en pots, les jardins et les cultures de plein champ, il est indiscutable qu'une fraction non négligeable de ces intrants se retrouve dans certaines collections d'eau. Dans la présente étude, nous avons suivi le comportement de ponte de *Ae. aegypti* ainsi que le temps de développement des larves et le poids des adultes émergents selon que les eaux contenaient de la matière végétale, de l'engrais NPK ou un mélange des deux composés. L'analyse des eaux a permis d'identifier les principaux constituants et de les doser sur une durée de 23 jours ; le but de ces analyses étant de corrélérer au mieux les paramètres biologiques de *Ae. aegypti* en fonction des caractéristiques physico-chimiques des eaux.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### LE MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Durant toute l'étude, nous avons utilisé la souche Bora de *Ae. aegypti* originaire de la Polynésie Française. Cette souche dépourvue de mécanisme de résistance aux insecticides est maintenue depuis plus de dix ans à l'insectarium du laboratoire de Lutte contre les Insectes Nuisibles (LIN-IRD) de Montpellier, France. Les femelles de *Ae. aegypti* fécondées par les mâles présents dans la même cage ont été gorgées sur les oreilles d'un lapin, sept jours après leur émergence imaginale. Quarante-huit heures après la prise du repas de sang, les femelles gravides ont été utilisées afin de réaliser les essais sur le comportement de ponte.

### LES COLLECTIONS D'EAUX

Trois bacs en plastic d'une contenance de 60 litres ont été remplis, chacun, avec 30 litres d'eau osmosée. Dans le premier bac, il a été ajouté 5 g/l de matière végétale (MV) composée de graminées sèches (foin) vendues en animalerie pour l'alimentation des lapins et des petits rongeurs (Zolux®). Le deuxième bac a reçu la concentration de 17-23-17 mg/l d'engrais NPK [Algoflash® 5 % d'azote (N), 7 % de phosphore (P) et 5 % de potassium (K)] qui s'était révélée la plus attractive sur les femelles de *Ae. aegypti* à la recherche d'un lieu de ponte (Darriet & Corbel, 2008b). Le troisième bac contenant le mélange a totalisé 5 g de foin par litre auxquels a été ajoutée la concentration de 17-23-17 mg/l de NPK (MV+NPK).

Pendant les 23 jours qu'a duré l'étude, les bacs ont été maintenus à l'insectarium à une température de  $27 \pm 2$  °C et une hygrométrie relative de 80 %.

### LE COMPORTEMENT DE PONTE DE *Aedes aegypti*

Les tests d'attractivité à la ponte des femelles de *Ae. aegypti* ont été réalisés dans des tunnels expérimentaux dont l'armature rectangulaire en verre (tunnel) mesurait  $0,25 \times 0,25$  m de section sur 0,75 m de longueur. Les échantillons de MV, NPK et de MV+NPK prélevés à J<sub>2</sub>, J<sub>9</sub>, J<sub>16</sub> et J<sub>23</sub> ont été testés, pour chacun des prélèvements, simultanément dans trois tunnels. Au centre ainsi qu'aux deux extrémités d'un même tunnel étaient placés deux gobelets d'une contenance de 200 ml dont la paroi intérieure était tapissée d'une bande de papier filtre blanc de  $0,20 \times 0,05$  m. Un tunnel comportait de la sorte, six gobelets dont deux recevaient chacun 50 ml d'eau MV, deux autres 50 ml d'eau NPK et enfin les deux derniers gobelets, 50 ml d'eau MV+NPK. À chaque prélèvement, la rotation des gobelets a été réalisée de manière à ce que chacun d'entre eux se trouve à une position différente dans les trois tunnels.

- Tunnel 1 (Trinôme 1) : NPK → MV → MV+NPK
- Tunnel 2 (Trinôme 2) : MV+NPK → NPK → MV
- Tunnel 3 (Trinôme 3) : MV → MV+NPK → NPK

Quinze femelles de moustiques ont été introduites par tunnel et sont restées en contact avec les différents milieux durant 48 heures. Une fois les femelles extraites du tunnel, les œufs pondus sur les bandes de papier filtre ont été comptés pour chacun des milieux. Les moyennes d'œufs pondus calculées sur l'ensemble des essais (J<sub>2</sub>, J<sub>9</sub>, J<sub>16</sub> et J<sub>23</sub>) ont été comparées deux à deux (MV *versus* NPK ; MV *versus* MV+NPK ; NPK *versus* MV+NPK) par un test t de Student pour deux échantillons appariés (XLSTAT, 2006).

### LES ANALYSES PHYSICOCHIMIQUES DES EAUX

Les analyses physico-chimiques des eaux prélevées à J<sub>0</sub>, J<sub>2</sub>, J<sub>9</sub>, J<sub>16</sub> et J<sub>23</sub> se sont centrées sur le dosage des matières organiques en suspension, du carbone organique total (C), du phosphore (P), du potassium (K), de l'azote (N) global, de l'azote Kjeldahl, de l'azote ammoniacal (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), de l'azote nitrique (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) et de l'oxygène dissous (O<sub>2</sub>). L'azote Kjeldahl totalise les quantités d'azote organique et ammoniacal. Tous les prélèvements ont été traités selon les Normes Françaises, Normes Européennes, International Standard of Organisation (NF EN ISO) par les laboratoires Bouisson Bertrand de Montpellier ([www.bouisson-bertrand.fr](http://www.bouisson-bertrand.fr)). Pour un affichage à la fois plus clair et plus synthétique des résultats, l'interprétation des analyses physico-chimique des eaux a été réalisée à partir de la teneur moyenne des composés relevée au cours des cinq prélèvements.

## LE TEMPS DE DÉVELOPPEMENT LARVAIRE ET LE POIDS DES ADULTES À L'ÉMERGENCE

Les solutions contenant l'engrais NPK et la matière végétale (MV) utilisés seuls et en mélange (MV+NPK) ont été préparées dans trois cuvettes en plastic. Un effectif de 100 larves de stade 1 de *Ae. aegypti* a été ajouté dans chaque cuvette, la nourriture des larves n'ayant été amenée que par les seuls éléments constitutifs des milieux. Les adultes émergents ont été dénombrés et les femelles mises à sécher dans des tubes en plastique de 1,5 ml remplis au tiers de leur volume par des billes de gel de silicate (Fisher Scientific). Le poids sec de chaque femelle a été pesé sur une balance de précision ( $d = 0,1$  mg). Les moyennes des poids secs ont été comparées deux à deux par un test t de Student pour deux échantillons indépendants (XLSTAT, 2006).

## RÉSULTATS

### LE COMPORTEMENT DE PONTE DE *Aedes aegypti* (tableau I)

Le nombre moyen d'œufs pondus a été plus élevé dans l'eau NPK que dans l'eau MV (test t de Student, ddl = 11,  $P = 0,013$ ). Le mélange MV+NPK a également été plus attractif que l'eau MV (test t de Student, ddl = 11,  $P = 0,00012$ ). La comparaison de NPK versus MV+NPK n'a toutefois pas révélé de différence significative (test t de Student, ddl = 11,  $P = 0,109$ ).

	Moyenne d'œufs pondus (IC 95 %) <sup>a</sup>
MV 5 g/l	267,1 (149,8-384,4)
NPK 17-23-17 mg/l	600,8 (441,8-759,8)
MV 5 g/l + NPK 17-23-17 mg/l	788,8 (664,8-912,8)

<sup>a</sup> intervalle de confiance à 95 %

Tableau I. – Moyennes d'œufs pondus (12 lots de 15 femelles de *Aedes aegypti* répartis sur les prélèvements de J<sub>2</sub>, J<sub>9</sub>, J<sub>16</sub> et J<sub>23</sub>) dans des eaux qui contenaient de la matière végétale (MV), de l'engrais NPK et un mélange des deux substrats (MV+NPK).

### LES ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DES EAUX (fig. 1)

La matière organique en suspension et le carbone organique sont libérés par les plantes qui infusent dans l'eau. La teneur élevée en carbone dans les eaux MV et MV+NPK est induite par la dégradation de la cellulose ainsi que par la libération des sucres et des protéines contenus dans la fibre végétale. La présence de carbone dans la solution NPK – à l'origine exempte de matière organique – s'explique très probablement par la

prolifération des bactéries et des algues durant les 23 jours qu'a duré l'expérience.

Les teneurs en phosphore (P) et en potassium (K) sont variables selon la nature des eaux. Dans la solution NPK, ces deux sels minéraux sont amenés par l'engrais. L'infusion MV libère dans l'eau une teneur moyenne en phosphore de 5 mg/l et de 74 mg/l de potassium. Le mélange MV+NPK cumule pour ces deux mêmes éléments, les apports faits à la fois par l'engrais et la matière végétale.

L'azote global dosé dans l'eau NPK correspond à la quantité d'azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ) et nitrique ( $\text{NO}_3^-$ ) amenés par l'engrais. Dans l'infusion MV, la teneur en azote global bien supérieure aux seules concentrations de  $\text{NH}_4^+$  et de  $\text{NO}_3^-$ , indique qu'une grande partie de l'azote libéré par la matière végétale est de nature organique. La composition du mélange MV+NPK consiste en deux tiers d'azote organique et un tiers d'azote minéral ( $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ ). Dans l'eau NPK, l'azote Kjeldahl est égale à la teneur en ions ammonium alors que dans les eaux MV et MV+NPK, l'azote Kjeldahl est principalement constitué d'azote organique. Le processus naturel de nitrification de l'azote ( $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ ) nécessite une forte demande en oxygène. Les teneurs faibles en oxygène dissous relevées dans les eaux MV et MV+NPK sont très certainement liées à l'activité oxydante des bactéries nitrifiantes (Bock *et al.*, 1989).

### LE TEMPS DE DÉVELOPPEMENT LARVAIRE ET LE POIDS DES ADULTES À L'ÉMERGENCE (fig. 2)

Dans l'eau qui contenait l'engrais NPK, toutes les larves sont mortes avant la nymphose. Dans les eaux MV et MV+NPK, la chronologie des émergences imaginale a été identique avec, toutefois, une vitesse de croissance des larves légèrement supérieure pour celles qui se sont développées dans MV. En l'absence d'émergence dans la solution NPK, le poids sec des femelles de *Ae. aegypti* n'a pu être établi que pour celles qui ont émergé dans MV et MV+NPK. Avec une moyenne de 0,70 (0,63-0,77) mg pour les femelles issues de MV et une moyenne de 0,79 (0,73-0,85) mg pour les femelles de MV+NPK, l'analyse statistique n'a pas révélé de différence significative de poids (test t de Student, ddl = 78,  $P = 0,051$ ).

## DISCUSSION

Par le biais de tunnels expérimentaux, nous avons mesuré sur des femelles gravides de *Ae. aegypti*, l'attractivité de solutions aqueuses contenant un engrais NPK, de la matière végétale (MV) et un mélange des deux parties (MV+NPK). Les analyses physico-chimiques des trois types de gîtes ont permis d'identifier puis de doser les principaux constituants. Par ailleurs, le suivi des larves et la pesée des femelles émergentes

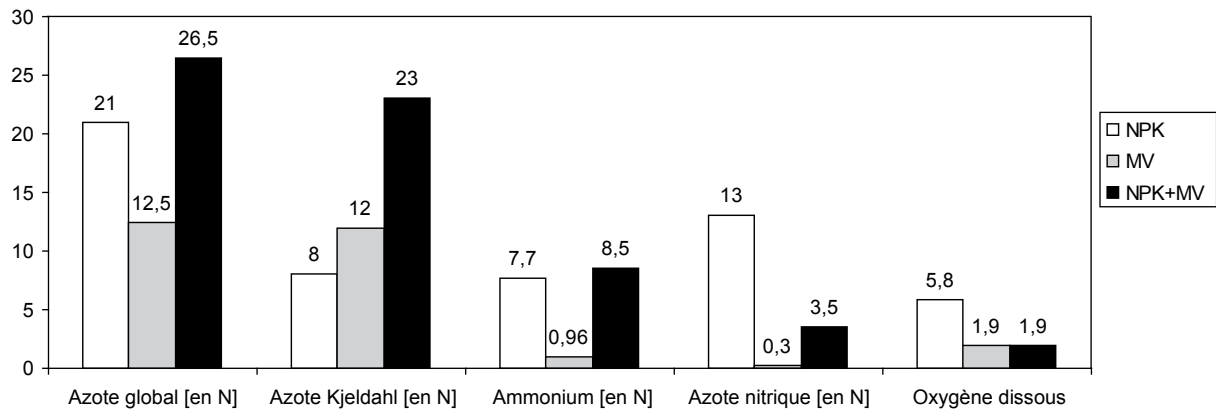
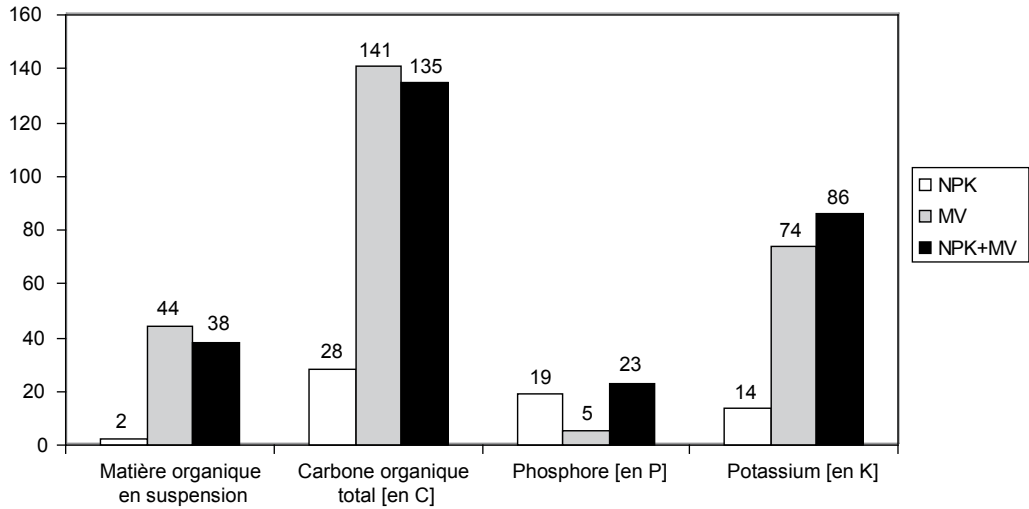


Fig. 1. – Analyses physico-chimiques des eaux contenant de la matière végétale (MV), de l’engrais NPK et un mélange de MV+NPK (moyennes des teneurs en mg/l à partir des prélèvements faits à J<sub>0</sub>, J<sub>2</sub>, J<sub>9</sub>, J<sub>16</sub> et J<sub>23</sub>).

NB : les dosages affichés pour chacun des paramètres analysés représentent la moyenne effectuée sur les cinq prélèvements.

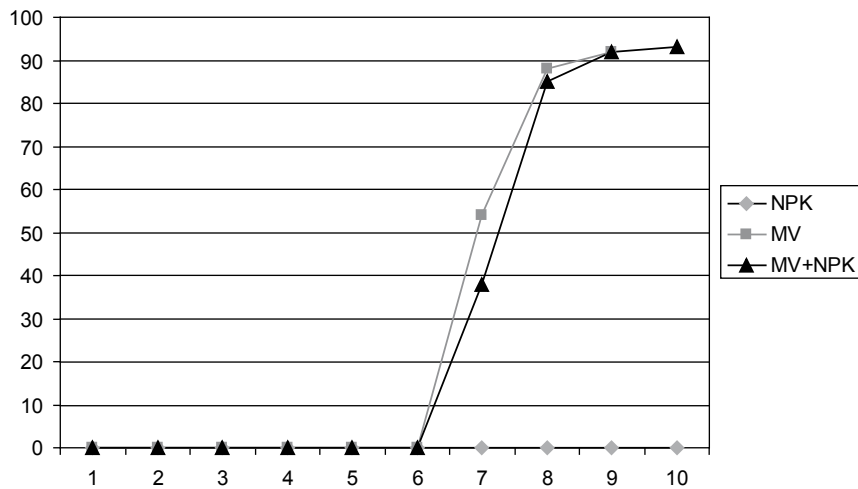


Fig. 2. – Nombre cumulé d’adultes émergés dont les larves ont évolué dans les milieux contenant de la matière végétale (MV), de l’engrais NPK et un mélange de MV+NPK.

nous ont renseignés sur l'impact que pouvaient générer les composés minéraux et organiques sur le développement de *Ae. aegypti*. Les relevés effectués au cours des essais en tunnels à J<sub>2</sub>, J<sub>9</sub>, J<sub>16</sub> et J<sub>23</sub> ont montré que les moyennes d'œufs pondus ont été significativement plus importantes dans les eaux NPK et MV+NPK. La matière végétale seule (MV) s'est avérée moins attractive que les deux autres milieux. Selon la même chronologie (J<sub>0</sub>, J<sub>2</sub>, J<sub>9</sub>, J<sub>16</sub> et J<sub>23</sub>), les analyses physico-chimiques ont révélé une composition différente des eaux. Dans la solution NPK, les éléments les plus abondants ont été ceux amenés par l'engrais. Dans l'eau où a infusé la matière végétale, les concentrations en carbone et en potassium se sont révélées importantes alors que les teneurs en azote et en phosphore sont restées faibles. Le mélange MV+NPK a cumulé les apports faits par l'engrais et la matière végétale, à savoir l'établissement d'un complexe organo-minéral riche en substances nutritives.

Ainsi, la solution NPK reste aussi attractive à la ponte que le mélange MV+NPK malgré la quasi absence de matière organique. L'infusion MV montre une attractivité moins importante mais elle apporte aux larves de moustiques les substances organiques qui manquent à la solution NPK. Le mélange MV+NPK attire les femelles à la ponte tout en assurant le plein développement de la génération suivante. Ces observations de laboratoire sont fondamentales dans la mesure où de telles associations MV+NPK abondent dans les milieux naturels. À l'île de la Réunion, *Aedes albopictus* colonise en milieu urbain les soucoupes placées sous les plantes en pots (Delatte *et al.*, 2008) où les eaux d'arrosage et de pluie percolent à travers des terres et des terreaux riches en sels minéraux et en matière organique. Dans les rizières, où ce qui reste de la paille de riz après la récolte est incorporé dans le sol, la densité maximale en larves de *Anopheles arabiensis* dans les casiers a été observée peu après l'épandage des engrais au moment du repiquage (Mwangangi *et al.*, 2006). La dégradation de la cellulose est conduite par de nombreux champignons et quelques grands groupes de bactéries (Dommergues, 1968). L'azote, le phosphore et le potassium (NPK) favorisent la croissance des microorganismes (Dommergues, 1968 ; Madigan & Martinko, 2007). L'azote sous sa forme NH<sub>4</sub><sup>+</sup> alimente les bactéries du genre *Nitrosomonas* qui oxydent l'ammonium en azote nitreux (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> → NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), ce dernier étant utilisé à son tour par les bactéries *Nitrobacter* qui le transforment en nitrates (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> → NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). L'azote est l'atome le plus abondant dans la chimie du vivant après le carbone. Ce composé est indispensable à la synthèse des acides aminés, des protéines et des acides nucléiques. Le phosphore est assimilé par les cellules pour la synthèse des acides nucléiques et des phospholipides alors que le potassium est plus spécifiquement impliqué dans la

synthèse des protéines (Madigan & Martinko, 2007). Le potassium intervient aussi dans le processus de croissance des végétaux, sa teneur dans les tissus jeunes des graminées pouvant atteindre 2 à 3 % du poids de la matière sèche (Soltner, 1980). Cette forte teneur en potassium chez les graminées explique les concentrations élevées dans les eaux MV et MV+NPK. Un mélange qui associe matière végétale et engrais NPK constitue un milieu mixte organo-minéral propice à la pullulation des bactéries. Tout au long de cette étude, nous avons observé que l'association MV+NPK dans l'eau attirait non seulement les femelles de moustiques à la ponte mais qu'elle assurait aussi pleinement la survie des larves qui s'y développaient. Pour se nourrir, les larves de moustiques ingèrent une grande quantité de matière organique, ce qui provoque une diminution de la turbidité des eaux et permet à l'azote organique de s'acheminer vers la voie de la minéralisation (Darriet & Corbel, 2008a).

## CONCLUSION

Une eau dans laquelle se trouve de la matière végétale et un engrais de type NPK (MV+NPK) génère d'importantes propriétés attractives à l'encontre des femelles de *Ae. aegypti* à la recherche d'un lieu de ponte. Les analyses physico-chimiques révèlent une composition mixte organique et minérale qui favorise le développement des bactéries et des larves de moustiques. Les gîtes à *Ae. aegypti* sont des collections d'eau de petites et de moyennes dimensions disséminées un peu partout dans les zones urbaines et péri-urbaines. Dans cette étude de laboratoire, le mélange MV+NPK semble montrer que les fractions minérale et organique qui le constituent assurent le "gîte et le couvert" pour le moustique *Ae. aegypti*. En milieu rural, les rizières qui s'étendent sur plusieurs hectares sont connues pour favoriser la pullulation de *Anopheles gambiae*, vecteur du paludisme en Afrique subsaharienne. L'enfouissement des pailles de riz dans le sol au moment du labour ajouté à l'introduction d'engrais NPK au cours du repiquage favorise la pullulation du moustique vecteur (Mwangangi *et al.*, 2006). Il ne serait pas surprenant de découvrir que la plupart des moustiques nuisants et vecteurs de maladies obéissent aux mêmes exigences physico-chimiques de leurs eaux de ponte. Les engrais attirent les moustiques à l'endroit précis où ils sont appliqués alors que les insecticides sélectionnent les mécanismes de résistance. Des actions combinées d'attraction à la ponte et de pression de sélection qui montrent combien il est important de bien connaître le comportement du moustique afin de mieux le combattre.

## RÉFÉRENCES

---

- BOCK E., KOOPS H.P. & HARMS H. Nitrifying bacteria, in: Autotrophic bacteria. Schlegel H.G., Bowien B. (eds), Sciences Tech. Publ., Madison, Wisconsin, and Springer-Verlag, Berlin, 1989, 80-96.
- CHADEE D.D., LAKHAN A., RAMDATH W.R. & PERSAD R.C. Oviposition response of *Aedes aegypti* mosquitoes to different concentrations of hay infusion in Trinidad, West Indies. *Journal of American Mosquito Control Association*, 1993, 9, 346-348.
- CORDELLIER R., GERMAIN M., HERVY J.P. & MOUCHET J. Guide pratique pour l'étude des vecteurs de fièvre jaune en Afrique et méthode de lutte. ORSTOM Éditions, Initiation – Documents techniques, 1977, Paris.
- DARRIET F. & CORBEL V. Propriétés attractives et modifications physicochimiques des eaux de gîtes colonisées par des larves de *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae). *Comptes*