

# Effet du phytoplancton *Scenedesmus quadricauda* (Meyen, 1929) sur les larves de *Anopheles gambiae* (Giles, 1902) en présence de leur aliment de référence

---

**Lenuthadius Yao HOUESSO<sup>1, 2, 3\*</sup>, Armel DJENONTIN<sup>1, 2</sup>,  
Mouhamadou Nourou Dine LIADY<sup>3</sup>, Aziz BOURAIMA<sup>1, 2</sup>,  
Edmond SOSSOUKPE<sup>3</sup>, Donald G. GANDIGBE<sup>1, 2</sup>,  
Yaovi ZOUNNON<sup>3</sup>, Christophe SOARES<sup>1, 2</sup>,  
Martin AKOGBÉTO<sup>1</sup> et Emile Didier FIOGBE<sup>3</sup>**

## Résumé

La présente étude a été initiée, afin de comprendre l'effet du phytoplancton *Scenedesmus quadricauda* sur les larves de *Anopheles gambiae* en présence d'autres sources alimentaires. Les larves de *An. gambiae* ont été exposées à *S. quadricauda* seul, à l'aliment de référence des larves au laboratoire (croquettes pour chat) seul et au mélange des deux aliments. Le contenu de l'intestin des larves a été observé au microscope juste après l'alimentation afin de déterminer le type d'aliment ingéré par les larves. La digestibilité des aliments a été déterminée par observation de l'état de l'intestin des larves après dissection des larves toutes les heures jusqu'à 8 heures après exposition des larves aux aliments. Parallèlement, des bio essais ont été réalisés avec le même design et les taux de mortalité des larves de *An. gambiae* ont été déterminés. Les résultats obtenus ont montré que les larves de *An. gambiae* ingèrent indifféremment le phytoplancton *S. quadricauda* et les croquettes pour chat lorsqu'elles sont en présence de ces deux aliments. Lorsque les larves ont consommé les croquettes pour chat, cet aliment a disparu de l'intestin des larves 5 heures après exposition. En revanche, la contenance de l'intestin des larves a très peu changé lorsqu'elles ont consommé *S. quadricauda*, ce phytoplancton a été observé dans l'intestin des larves durant toute la durée de l'expérience. Les taux de mortalité larvaire ont été de 0%, 100% et de 85% lorsque les larves sont exposées respectivement aux croquettes pour chat seul, au *Scenedesmus quadricauda* seul et au mélange de ce phytoplancton et des croquettes pour chat. De la présente étude, il ressort que même en présence de leur nourriture de référence, les larves de *An.*

---

<sup>1</sup> Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC), 06 BP 2604, Cotonou (Bénin),

<sup>2</sup> Centre de Recherche pour la lutte contre les Maladies Infectieuses Tropicales (CRéMIT), Université d'Abomey-Calavi (UAC), BP 526, Cotonou (Bénin)

<sup>3</sup> Laboratoire de Recherche sur les Zones Humides (LRZH), Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université d'Abomey-Calavi (UAC), BP 526, Cotonou (Bénin)

\*Auteur correspondant : Lenuthadius Yao HOUESSO, Centre de Recherche pour la lutte contre les Maladies Infectieuses Tropicales (CRéMIT), Université d'Abomey-Calavi (UAC), Laboratoire de Recherche sur les Zones Humides (LRZH), Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université d'Abomey-Calavi (UAC), BP 526, Cotonou (Bénin)BP 526, Cotonou (Bénin). Email : [lenuthadius.houessou@gmail.com](mailto:lenuthadius.houessou@gmail.com)

*gambiae* consomment le phytoplancton *S. quadricauda*, ne les digèrent pas et en meurent. L'usage de *S. quadricauda* pourrait donc être envisagé en association aux outils de lutte contre les vecteurs du paludisme après des essais en milieu naturel.

**Mots clés :** *Anopheles gambiae*, Phytoplancton, *S. quadricauda*, Digestibilité, contrôle de vecteur

## **Effect of phytoplankton *Scenedesmus quadricauda* (Meyen, 1929) on larvae of *Anopheles gambiae* (Giles, 1902) in the presence of their reference food**

### **Abstract**

The present study was initiated to understand the effect of the phytoplankton *Scenedesmus quadricauda* on *Anopheles gambiae* larvae in the presence of other food sources. *An. gambiae* larvae were exposed to *S. quadricauda* alone, to cat food alone and to a mixture of the two foods. The gut contents of the larvae were observed microscopically immediately after feeding to determine the type of food ingested by the larvae. Feed digestibility was determined by observing the condition of the larval gut after dissection of the larvae every hour until 8 hours after exposure of the larvae to the feed. In parallel, bioassays were performed with the same design and the mortality rates of *An. gambiae* larvae were determinate. The results showed that *An. gambiae* larvae ingested both phytoplankton and cat food in the presence of these two foods. When the larvae consumed the cat food, this food disappeared from the larvae's intestine 5 hours after exposure. In contrast, the larvae's gut content changed very little when they consumed the phytoplankton *S. quadricauda*, which was observed in the larvae's gut throughout the experiment. Larval mortality rates were 0%, 100% and 85% when the larvae were exposed to cat food alone, *S. quadricauda* alone and to a mixture of this phytoplankton and cat food, respectively. From the present study, it appears that, even if in presence of their reference food, *An. gambiae* consumed *S. quadricauda* phytoplankton, were unable to digest it and died. After trial in natural conditions, *S. quadricauda* could therefore be associated with current malaria vector control tools.

**Keywords:** *Anopheles gambiae*, Phytoplancton, *S. quadricauda*, Digestibility, Vector control

## **Introduction**

Les moustiques ont tué beaucoup plus d'hommes que toutes les guerres réunies à cause des maladies telles que le paludisme auxquelles ils nous exposent (1). Le paludisme est un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale et l'une des principales causes de morbidité et de mortalité dans de nombreux pays (2). Il

continue de toucher plus fortement les femmes enceintes et les enfants dépourvus d'immunité efficace en Afrique (1,3). Le paludisme est causé par un protozoaire du genre *Plasmodium* transmis à l'Homme à l'occasion de la piqûre des femelles de moustiques du genre *Anopheles*. La lutte antivectorielle représente actuellement le principal moyen de prévention contre le paludisme. Cette lutte, selon l'OMS, repose sur une gestion environnementale des populations de moustiques (4). Cette gestion passe tant par une modification des habitats destinée à prévenir, limiter ou supprimer les gîtes larvaires potentiels que par une adaptation du comportement humain en vue de réduire au mieux le contact hôte-vecteur (gestion des déchets, suppression ou bâchage de récipients d'eau potentiels). Suivant les avancées scientifiques et technologiques du moment, la lutte antivectorielle a pu être renforcée par des moyens physiques et mécaniques, tels que l'épandage d'huile à la surface des eaux ou encore le piégeage massif des adultes à proximité des habitations (5). Cette technique de gestion élémentaire fut prépondérante jusqu'à l'avènement des insecticides de synthèse après la seconde guerre mondiale (5–8). Même s'il est vrai que ces moyens d'action de lutte contre les moustiques par l'utilisation des insecticides à effet rémanent ont été grandement améliorés au fil du temps, il serait erroné de penser que ces insecticides ont résolu le problème de la lutte contre les vecteurs du paludisme (9). Car, en dehors des effets nocifs de ces produits chimiques sur les populations non-cibles et les dégâts qu'ils créent à l'environnement (10–12), le phénomène de la sélection de la résistance au sein des populations des vecteurs au quel conduisent ces produits devient un casse-tête dans le cadre de la lutte contre les vecteurs du paludisme (9,13–15). Un exemple récent peut être donné par des souches de *An. gambiae* du Sud-Est du Nigéria résistantes à plusieurs insecticides dont pirimiphos-methyl, deltaméthrin et au dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) (16). Face au problème lié à la résistance au sein des populations de vecteurs, il est alors nécessaire de penser à d'autres moyens de lutte antivectorielle. Ainsi, le Directeur Général de l'OMS, à la parution du rapport de l'OMS (17) sur le paludisme dans le monde de 2018, par son écrit, demande aux acteurs non seulement à changer de cap mais aussi à améliorer l'approche de la lutte contre le paludisme, notamment dans les pays où la maladie pèse le plus lourdement. Un message qu'il a rappelé en 2019, 2020 puis en 2021 pour lancer le « défi du paludisme », et appeler la communauté sanitaire internationale à renforcer les investissements dans la recherche-développement de nouveaux outils

et approches pour lutter contre le paludisme (2,3,18). De ces propos qui montrent les limites des outils actuels dans le cadre de la lutte contre le paludisme (18), il urge d'explorer d'autres moyens alternatifs pour lutter contre les vecteurs de paludisme (9). C'est le cas de la lutte biologique qui peut être définie comme « la réduction d'une population par l'utilisation de compétiteurs, prédateurs, parasites, pathogènes ou de toxines dérivées de ceux-ci » (19). Il s'agit ainsi de maintenir une population sous un seuil acceptable en termes de nuisance et de risque épidémique (dans le cas de la lutte antivectorielle) par l'intermédiaire d'un organisme (dit auxiliaire) ou de substances d'origine naturelle tout en évitant des effets délétères à l'écosystème (19).

Les algues vertes constituent une part importante de l'alimentation de nombreux types de larves de moustiques qui se nourrissent de manière opportuniste de micro-organismes, de petits animaux aquatiques comme les rotifères, et d'autres petites particules de nourriture dans leur environnement aquatique (20,21). La nourriture est un facteur important dans la croissance des larves d'anophèles. Le nombre de moustiques adultes obtenus après émergence des larves, leur morphologie et éventuellement la durée de vie des larves et celle des adultes, peuvent dépendre de la nourriture larvaire (22). De ce fait, la nourriture des larves de moustiques peut avoir une incidence importante sur la transmission du paludisme (22). Bien qu'une abondance d'algues fournit généralement des conditions favorables à la production de moustiques, Purdy en 1924, a découvert que certaines algues peuvent tuer les larves de moustiques (23). Il a remarqué que les larves de *Culex* et de *Anopheles* étaient pratiquement absentes dans une rizière de Californie riche en cyanobactérie, alors que dans les champs voisins ne comprenant pas les filaments de cyanobactéries, il remarqua la présence d'une grande population de ces larves. La connaissance de l'alimentation d'une espèce en milieu naturel est une étape indispensable à la compréhension de sa biologie et de son écologie (24). L'alimentation d'une espèce peut permettre d'expliquer les variations de croissance, certains aspects de la reproduction, les migrations et le comportement de recherche et de prise de nourriture. En outre, l'étude du régime d'une espèce, permet de comprendre comment s'effectue le partage des ressources dans le milieu et les phénomènes de compétition (24,25). Ainsi la connaissance du comportement alimentaire des anophèles permet d'expliquer certaines modalités de transmission des plasmodies et revêt, de ce fait, un

intérêt épidémiologique évident (17). L'analyse du régime alimentaire des populations naturelles, se fait le plus souvent de façon indirecte, par l'examen du contenu de l'estomac ou du tube digestif tout entier (26). Dans le cadre de la lutte biologique contre les larves de *An. gambiae* par l'utilisation d'espèce naturelle, plusieurs études ont porté sur l'utilisation du zooplancton (27–29), du phytoplancton (27,30–32,32–35) et des macroinvertébrés (36). Les résultats de ces études ont montré que certaines espèces planctoniques, sont de très bonnes sources de nourriture des larves de *An. gambiae* et à d'autres genres de moustiques. D'autres par contre sont indigestes (phytoplancton) pour les larves. Ces résultats ont été appuyés par des observations microscopiques du contenu de l'intestin lors de la dissection des larves (23,37–41). Dans une récente étude, le phytoplancton *S. quadricauda* a été révélé toxique aux larves de *An. gambiae* au laboratoire (42). En prélude à l'évaluation de l'effet de cette algue sur les larves de *An. gambiae* dans les gîtes larvaires naturels, il est important de comprendre l'évolution dans l'intestin et l'effet de cette algue sur les vecteurs du paludisme en présence d'autres sources d'aliment. Dans le milieu naturel en effet, en plus du phytoplancton, d'autres sources d'aliments pour les larves sont présentes en suspension. C'est pourquoi cette étude est initiée en vue de déterminer l'effet du phytoplancton *S. quadricauda* sur les larves de la souche « Kisumu » de *An. gambiae* lorsqu'elles sont exposées à la fois à ce phytoplancton et à leur aliment de référence (croquettes pour chat) dans les conditions de laboratoire.

## I. Matériel et méthodes

Les expériences dans le cadre de cette étude ont été menées à l'annexe du Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC) sise dans la commune de Abomey-Calavi. L'algue *S. quadricauda* qui a été utilisée lors des tests a été cultivée au CREC sur le milieu de référence de Nichol's Bolds Basal Medium (NBBM). Les tests ont été réalisés sur des larves de troisième stade (larves L3) de *An. gambiae* (Kisumu) élevées à l'insectarium du CREC.

### **1.1. Test de la préférence alimentaire des larves de *Anopheles gambiae***

Un plan expérimental à un facteur (aliment consommé) composé de trois traitements a été mis en œuvre. Les trois traitements se présentent comme suit :

- ✓ T1 : Eau distillée + croquette pour chat ;
- ✓ T2 : Eau distillée + *S. quadricauda* et
- ✓ T3 : Eau distillée + *S. quadricauda* + croquettes pour chat.

Chaque traitement a été testé en triplicata. Le dispositif expérimental a été constitué d'un total de neuf (9) bacs. Dans les traitements T2 et T3 chacun des bacs a reçu 1 litre de culture du *S. quadricauda* à une concentration de 25000 cel/ml. Les bacs du traitement T3 ont reçu chacun en plus du *S. quadricauda* de l'aliment artificiel des larves de moustique (croquettes pour chat) à la même fréquence que les larves nourries au laboratoire.

Dans chacun de ces neuf (9) bacs, ont été introduits des lots de 25 larves de stade 3 de la souche sensible (Kisumu) de *An. gambiae* préalablement laissées à jeun pendant 12 heures. Ces larves ont été laissées dans les bacs pendant 1 heure correspondant au temps nécessaire pour leur alimentation. Après l'exposition, les larves ont été recueillies et rincées avec de l'eau distillée afin d'éliminer tous les débris alimentaires pouvant s'accoler sur leur corps. Après rinçage, les larves ont été disséquées et le contenu de leur intestin a été recueilli pour une observation microscopique à l'objectif 10X et si nécessaire à l'objectif 40X pour confirmer. Le protocole utilisé est celui de Ahmad (33) modifié.

### **1.2. Détermination du temps de digestion des aliments par les larves de *Anopheles gambiae***

Un plan expérimental à un facteur (aliment consommé) composé de trois traitements a été mis en œuvre. Les trois traitements se présentent comme suit :

- ✓ T1 : Eau distillée + croquette pour chat ;
- ✓ T2 : Eau distillée + *S. quadricauda* et
- ✓ T3 : Eau distillée + *S. quadricauda* + croquettes pour chat.

Chaque traitement a été testé en triplicata. Le dispositif expérimental a été constitué d'un total de neuf (9) bacs. Dans les traitements T2 et T3 chacun des bacs a reçu 1 litre de culture du *S. quadricauda* à une concentration de 25000 cel/ml. Les bacs du traitement T3 ont reçu chacun en plus du *S. quadricauda* de l'aliment artificiel des larves de moustique (croquettes pour chat) à la même fréquence que les larves nourries au laboratoire.

Dans chacun de ces neuf (9) bacs, ont été introduits des lots de 40 larves de stade 3 de la souche sensible (Kisumu) de *An. gambiae* préalablement laissées à jeun pendant 12 heures. Ces larves ont été laissées dans les bacs pendant 1 heure correspondant au temps nécessaire pour leur alimentation. Après l'exposition, les larves ont été recueillies et rincées avec de l'eau distillée afin d'éliminer tous les débris alimentaires pouvant s'accrocher sur leurs corps. Après rinçage, les larves ont été introduites dans des bacs ne contenant que de l'eau distillée afin de permettre aux larves de digérer les aliments ingérés. Chaque 1 heure, 5 larves ont été disséquées dans chacun des bacs dans le but de voir la présence ou la disparition des aliments dans le tube digestif des larves. Cette dissection a été faite toutes les heures durant 8 heures. Les observations microscopiques ont été faites à l'objectif 10X et si nécessaire à l'objectif 40X pour confirmer. Le protocole utilisé est celui de Ahmad (33) modifié.

### **1.3. Effet du phytoplancton *Scenedesmus quadricauda* sur les larves de *Anopheles gambiae***

Dans le cadre de l'évaluation de l'effet de *S. quadricauda* sur les larves de *An. gambiae* en présence leur aliment de référence, un plan expérimental à un facteur (aliment consommé) composé de trois traitements a été étudié.

- ✓ T1 : Eau distillée + croquette pour chat ;
- ✓ T2 : Eau distillée + *S. quadricauda* et
- ✓ T3 : Eau distillée + *S. quadricauda* + croquettes pour chat.

Chaque traitement a été testé en triplicata avec un dispositif expérimental constitué d'un total de neuf (9) bacs. Dans les traitements T2 et T3, chaque bac a reçu 1 litre de la culture du *S. quadricauda* à une concentration de 25000 cel/ml (42). Les bacs du traitement T1 (témoin) ont reçu de l'aliment artificiel des larves de

moustique (croquette pour chat) à la même fréquence que les larves nourries au laboratoire.

Avant l'introduction des larves dans chacun des bacs, les bacs contenant l'inoculum de phytoplancton ont été laissés dans la salle d'expérimentation durant 2 heures de temps afin d'acclimater le milieu. Dans chacun de ces neuf (9) bacs, ont été introduits des lots de 25 larves de stade 3 de la souche sensible (Kisumu) de *An. gambiae* élevées à l'insectarium du Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (CREC) et préalablement laissées à jeun pendant 12 heures. Ces larves ont été suivies jusqu'à leur émergence. Durant l'expérience le nombre de larves mortes chaque 24 heures a été déterminé par comptage et les taux de mortalité cumulée ont été calculés.

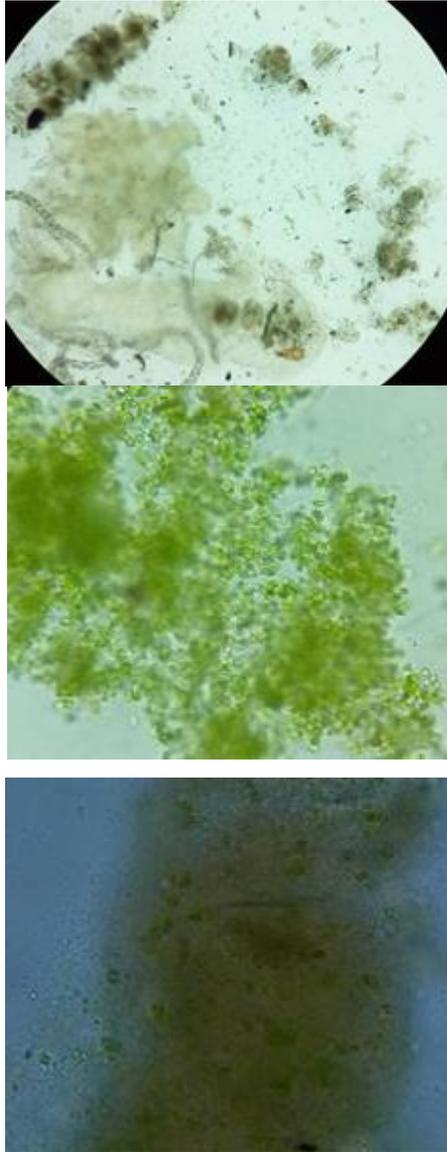
### **Analyses statistiques**

L'analyse de variance (ANOVA) a été utilisée pour comparer les nombres de larves de moustiques mortes lors des différents bio essais. Les tests ont été réalisés à l'aide du logiciel statistique, STATISTICA (Statsoft.inc) et sont considérés comme significatif quand  $p < 0,05$ .

## **II. Résultats**

### **2.1. Préférence alimentaire des larves de *Anopheles gambiae***

La dissection de l'intestin des larves après leur exposition aux différents aliments et l'observation de leur contenu ont révélé que l'intestin des larves nourries avec de la croquette pour chat contenait de la croquette pour chat (figure 1 A), ceux des larves nourries au *S. quadricauda* contenait que cette algue (figures 1 B). Quant à l'intestin des larves nourries au mélange fait de *S. quadricauda* et de la croquette pour chat, il contenait les deux aliments (figures 1 C). Ces résultats montrent que les larves consomment les aliments dont elles sont en présence et ne font pas de différence entre le phytoplancton *S. quadricauda* et les croquettes pour chat.



**Figure 1** : Contenu de l'intestin des larves après ingestions des différents aliments

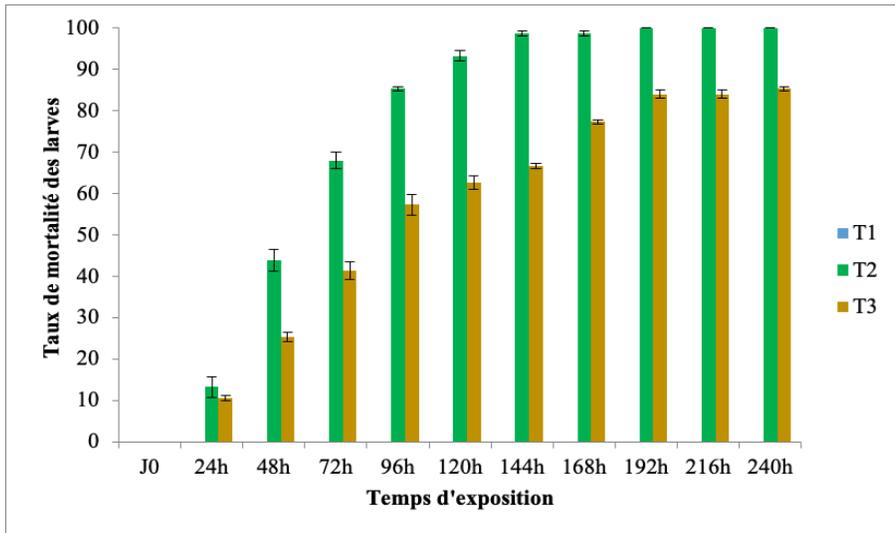
**A** : Contenu de l'intestin d'une larve ayant consommé de la croquette pour chat

**B** : Contenu de l'intestin d'une larve ayant consommé de *Scenedesmus quadricauda* ;

**C** : Contenu de l'intestin d'une larve ayant consommé le mélange *Scenedesmus quadricauda* et croquette pour chat. Observation microscopique à l'objectif 40x.

## 2.2. Etude de la digestibilité des aliments par les larves de *Anopheles gambiae*

Quelques minutes après la consommation de la croquette pour chat par les larves, l'intestin des larves de *An. gambiae* était rempli par une grande quantité de croquettes pour chat (figure 2). Une heure après la consommation de la croquette pour chat par les larves, une légère diminution de la quantité de croquettes pour chat a été observée dans l'intestin des larves laissant ainsi des vides dans l'intestin. Cette diminution devient plus intense entre 3 heures et 4 heures après exposition. Entre 5 heures et 6 heures après d'exposition, l'intestin des larves contenait une petite quantité de croquette pour chat. Après 8 heures d'exposition, l'intestin des larves était presque vide (tableau I). Avec les larves nourries aux *S. quadricauda*, aucun signe de disparition de l'algue n'a été observé dans l'intestin des larves quelle que soit la durée de l'expérience. Ainsi entre 1 heure et 8 heures après exposition des larves au *S. quadricauda*, la contenance de l'intestin des larves a été la même (tableau I). Avec les larves exposées au mélange fait de *S. quadricauda* et de croquettes pour chat, seule la croquette pour chat disparaissait de l'intestin au fur et à mesure que le temps passait. L'intestin des larves dans les 4 premières heures après exposition contenait à la fois de *S. quadricauda* et des croquettes pour chat. Cinq (5) heures après exposition des larves au mélange, l'intestin des larves contenait une petite quantité de croquettes pour chat et une grande quantité de *S. quadricauda* et 8 heures après l'exposition, l'intestin des larves ne contenait que de *Scendesmus quadricauda*. A cette heure, aucune trace de croquettes pour chat n'a été remarquée dans l'intestin des larves (tableau I).



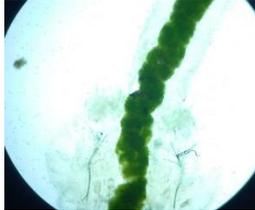
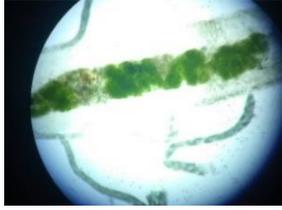
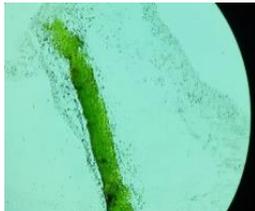
**Figure 2 :** Taux de mortalité des larves après exposition aux différents aliments

T1 : Taux de mortalité des larves exposées aux croquettes pour chat ; T2 : Taux de mortalité des larves exposées uniquement à la culture monospécifique de *S. quadricauda* ; T3 : Taux de mortalité des larves exposées au mélange *S. quadricauda* et croquette pour chat

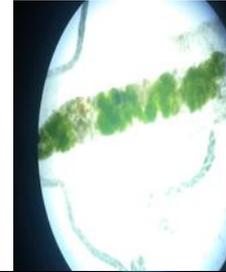
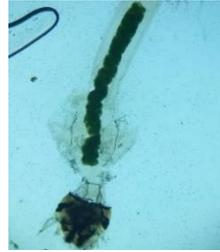
### 2.3. Effet du phytoplancton *Scenedesmus quadricauda* sur les larves de *Anopheles gambiae*

Le taux de mortalité des larves de *An. gambiae* exposées aux croquettes de chats (Témoin) a été de 0 %. Avec les larves exposées à l'inoculum de *S. quadricauda* seul (T2), le taux de mortalité a été de 68% au troisième jour. Ce taux est passé à 99% au sixième jour puis à 100% au huitième jour. En présence de *S. quadricauda* et des croquettes pour chat (T3), le taux de mortalité larvaire a connu une diminution comparée au taux de mortalité obtenu dans le traitement 2, ce taux est passé de 100% à 85% au dixième jour après exposition des larves au mélange des deux aliments (figure 2). Une différence significative entre les taux de mortalité dans les 3 traitements a été observée (Anova,  $p < ,05000$ ). Cette différence observée serait d'une part liée à la composition des traitements T2 et T3 et au temps mis par le phytoplancton *S. quadricauda* pour tuer les larves dans ces deux traitements d'autre part.

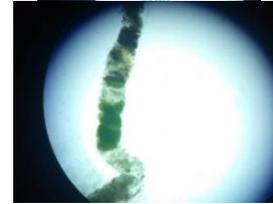
**Tableau I :** Synthèse sur la digestion en fonction de la variation du temps et de l'aliment consommé par les larves de *Anopheles gambiae*

Temps après exposition	T1 : Aspect de l'intestin des larves exposé aux croquettes pour chat	T2 : Aspect de l'intestin des larves exposé <i>Scenedesmus quadricauda</i>	T3 : Aspect de l'intestin des larves exposé aux croquettes pour chat + <i>Scenedesmus quadricauda</i>
1 heure			
2 heures			

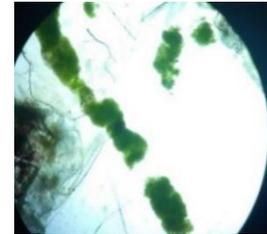
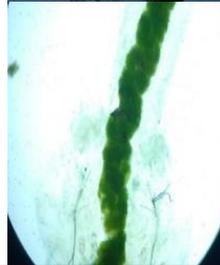
3 heures

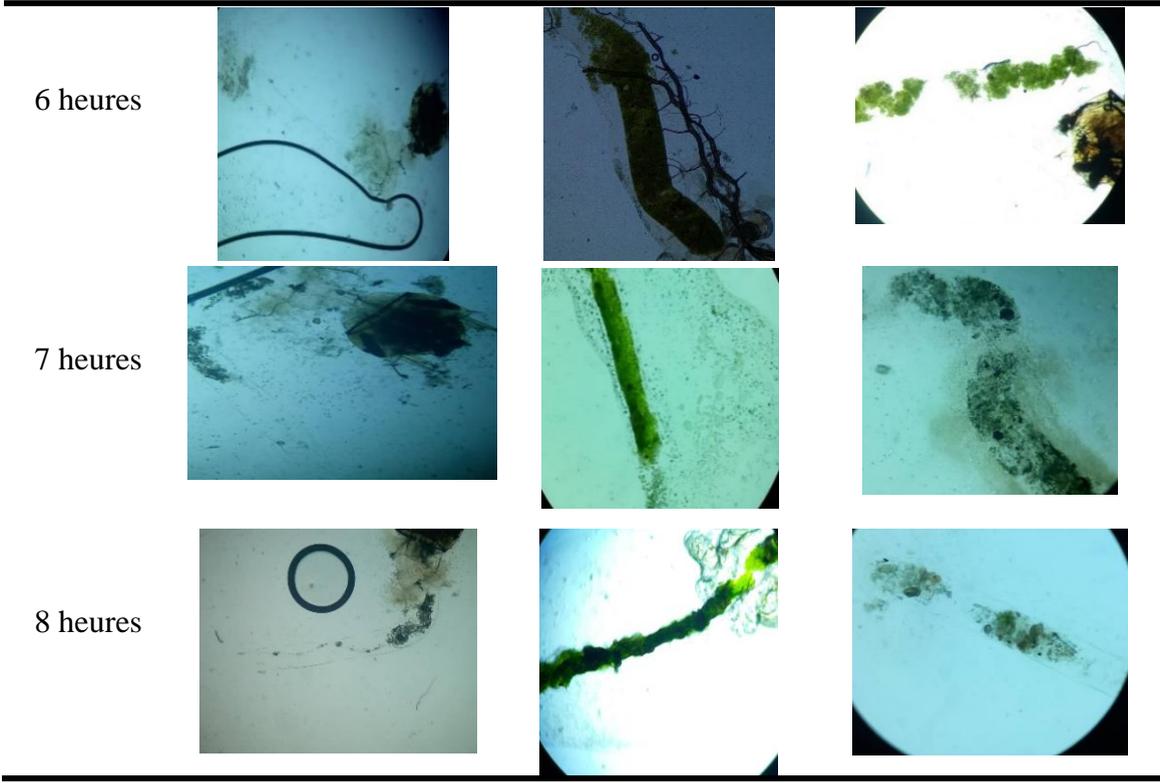


4 heures



5 heures





### III. Discussion

La présente étude a montré que les larves de *An. gambiae* exposées au mélange de croquette de chat et de *S. quadricauda* ont consommé les 2 aliments. Ces larves ont pu digérer la croquette pour chat, mais le phytoplancton *S. quadricauda* est resté intact dans leur intestin. Cette étude révèle aussi que l'indigestion du *S. quadricauda* par les larves qui l'ingèrent.

La non distinction des aliments par les larves observée dans cette étude est en accord avec des études antérieures faites sur *Aedes albopictus* (43). Coggeshall (40), dans une étude portant sur la relation entre le plancton et les espèces anophéliques en 1925, démontre que les larves de moustique ne font aucune discrimination dans le choix de leurs nourritures. Après plusieurs observations sur les aliments disponibles dans les gîtes larvaires et ceux contenus dans l'intestin de trois espèces de *Anopheles* (*An. quadrimaculatus*, *An. punctipennis* et *An. crucians*), cet auteur arrive à la conclusion que ces dernières se contentent juste des aliments disponibles dans l'environnement dans lequel elles vivent. D'autres études ont démontré que les larves d'anophèles en filtrant l'eau, ingèrent toutes substances présentes dans les gîtes larvaires pourvu que celles-ci soient assez petites pour entrer dans la bouche des larves de moustiques, ce qui indique que la taille de l'aliment ingéré est le principal facteur déterminant la consommation ou non de cet aliment (44–47). Ces résultats corroborent les résultats de notre étude. Certains résultats d'études antérieures, stipulent qu'une larve de stade 3 peut ingérer toute particule dont la taille est inférieure ou égale à 50 µm (20,21,48,49). L'algue *Scenedesmus* quelle que soit l'espèce, à une longueur comprise entre 5- 30 µm et un diamètre compris entre 8 et 10 µm (33,34) et reste aussi bien en suspension à la surface de l'eau. Cette taille est favorable à son ingestion par les larves de *An. gambiae* quel que soit le stade (48). En dehors de la relation qui lie la taille de l'aliment à l'âge des larves, plusieurs auteurs ont conclu que l'aliment ingéré dépend du mode d'alimentation des larves qui est en harmonie avec la morphologie des pièces buccales de l'espèce (46,20,47,50,51). La plupart des espèces d'anophèles sont des collectrices (45). De ce fait, ces moustiques ingéreront plus facilement *S. quadricauda* dans leur milieu, ce qui est favorable à l'utilisation de cette algue dans la nature pour le contrôle des larves d'anophèle. Cette approche reste toutefois à confirmer au cours d'une étude.

La capacité de digérer les microorganismes qui constituent l'aliment des larves est déterminée par les propriétés de la paroi externe des organismes et du temps que passent ces organismes dans l'intestin des larves (48). L'indigestion de *S. quadricauda* reportée dans cette étude corrobore les résultats de plusieurs auteurs qui ont remarqué l'incapacité des larves de moustique à digérer cette algue (33,34,64,65). Selon ces auteurs, cette indigestion du *Scenedesmus* est associée à l'impuissance des enzymes digestives des larves de *An. gambiae* à lyser la paroi cellulaire de cette algue. En revanche, ces enzymes lysaient facilement la croquette pour chat. La paroi cellulaire de *S. quadricauda* est constituée de 3 couches : la couche cellulosique interne, la couche pectique externe et une couche médiane mince (66–68). La couche pectine externe (trilaminaire) de la paroi cellulaire contient de la sporopollénine (69), un caroténoïde responsable de l'indigestibilité de *S. quadricauda* par les larves de *An. gambiae* (70). Les larves de moustiques disposent de plusieurs enzymes qui interviennent dans la digestion. Il s'agit entre autres de la protéase, la trypsine, la chymotrypsine, lipase et l' $\alpha$ -amylase (71–76). Parmi toutes ces enzymes digestives, Ahmad (33,34) en 2001 et 2004 démontre que c'est l'enzyme  $\alpha$ -amylase qui reste inefficace et ne peut lyser la couche pectique externe du *S. quadricauda*.

Les larves nourries avec les croquettes pour chat dans le traitement 1 ayant survécu, prouve que la mort des larves exposées au *S. quadricauda* dans les traitements 2 et 3 lors des bioessais serait la conséquence de l'indigestion de cette algue (tableau 1). Des études antérieures ont montré que plusieurs espèces des Chlorococcales tuent les larves de moustiques parce que ces dernières n'arrivent pas à digérer ces algues (27,32-34). Ahmad (2001,2004), a montré que les larves de *Aedes aegypti* exposées au genre *Scenedesmus* sont mortes suite à une indigestion de cette algue (33-34).

## Conclusion

Les résultats de cette étude révèlent clairement que la cause de la mort des larves de *An. gambiae* exposées au phytoplancton *S. quadricauda* est liée au fait que ces larves ne parviennent pas à digérer cette espèce de phytoplancton. En dehors de l'indigestion, les larves de moustique *An. gambiae* ne font aucune différence entre les aliments qui sont présents dans leurs milieux de vie et n'ont donc pas une préférence alimentaire. L'algue *S. quadricauda* pourrait alors être potentiellement utilisée pour la lutte contre les phases immatures des

vecteurs du paludisme. Mais avant, il est nécessaire que les travaux soient poursuivis dans les milieux naturels dans le but d'évaluer l'effet de cette algue sur les larves de *An. gambiae* en conditions naturelles.

## Remerciements

Nous disons un sincère merci à tous ceux qui, de près ou de loin, nous ont assistés et contribué à la réalisation de ce travail.

## Références bibliographiques

1. Rodhain F. Les maladies à vecteurs. Paris: Presses universitaires de France; 1999. 127 p. (Que sais-je?).
2. OMS. Rapport 2020 sur le paludisme dans le monde [Internet].
3. OMS. Rapport sur le paludisme dans le monde [Internet]. 2019
4. WHO. Manual on environmental management for mosquito control with special emphasis on malaria vectors. WHO Offset Publ. 1982;(66):1-283.
5. Becker N, Petric D, Zgomba M, Boase C, Madon M, Dahl C, et al. Mosquitoes and Their Control. Springer Science & Business Media; 2010. 594 p.
6. Regnault-Roger C. Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement [Internet]. Librairie Lavoisier. 2005 [cité 14 avr 2022].
7. Yu SJ. The Toxicology and Biochemistry of Insecticides. Boca Raton: CRC Press; 2011. 296 p.
8. Rattner BA. History of wildlife toxicology. *Ecotoxicol Lond Engl*. oct 2009;18(7):773-83.
9. Rodhain F, Perez C. Précis d'entomologie médicale et vétérinaire; notions d'épidémiologie des maladies à vecteurs [Internet]. Paris (France) Maloine; 1985.
10. Everts JW, Koeman JH. The ecological impact of insecticides in connection to the control of tsetse flies in Africa: A review. *Integr Tse-Tse Fly Control Methods Strateg*. 2020;49-56.
11. Dejoux C. La pollution des eaux continentales africaines: Expérience acquise, situation actuelle et perspectives. Paris: IRD Orstom; 1998. 513 p.

12. Lévêque C. Impact de la lutte antivectorielle sur l'environnement aquatique. *Ann Parasitol Hum Comparée*. 1990;65:119-24.
13. N'Guessan R, Corbel V, Akogbéto M, Rowland M. Reduced efficacy of insecticide-treated nets and indoor residual spraying for malaria control in pyrethroid resistance area, Benin. *Emerg Infect Dis*. févr 2007;13(2):199-206.
14. Riaz MA, Chandor-Proust A, Dauphin-Villemant C, Poupardin R, Jones C, Strode C, et al. Molecular mechanisms associated with increased tolerance to the neonicotinoid insecticide imidacloprid in the dengue vector *Aedes aegypti*. *Aquat Toxicol Amst Neth*. 25 sept 2012;126.
15. Zoh DD, Alou LPA, Toure M, Penetier C, Camara S, Traore DF, et al. The current insecticide resistance status of *Anopheles gambiae* (sl)(*Culicidae*) in rural and urban areas of Bouaké, Côte d'Ivoire. *Parasit Vectors*. 2018;11(1):1-12.
16. Chukwuekezie O, Nwosu E, Nwangwu U, Dogunro F, Onwude C, Agashi N, et al. Resistance status of *Anopheles gambiae* (s.l.) to four commonly used insecticides for malaria vector control in South-East Nigeria. *Parasit Vectors*. 24 mars 2020;13(1):152.
17. Carnevale P, Frézil JL, Bosseno MF, Le Pont F, Lancien J. Etude de l'agressivité D'*Anopheles gambiae* A en fonction de l'âge et du sexe des sujets humains. *Bull World Health Organ*. 1978;56(1):147-54.
18. OMS. Rapport sur le paludisme dans le monde [Internet]. 2021
19. Woodring J, Davidson EW. Biological control of mosquitoes, In Beaty BJ, Marquardt WC (eds) *The Biology of Disease Vectors*. University Press of Colorado, USA, 530–548
20. Merritt RW, Dadd RH, Walker ED. Feeding behavior, natural food, and nutritional relationships of larval mosquitoes. *Annu Rev Entomol*. 1992;37:349-76.
21. Merritt R, Craig D, Walker E, Vanderploeg H, Wotton R. Interfacial feeding behavior and particle flow patterns of *Anopheles quadrimaculatus* larvae (Diptera: *Culicidae*). *J Insect Behav*. 11 janv 1992;5:741-61.
22. Barber MA. The Food of Anopheline Larvae: Food Organisms in Pure Culture. *Public Health Rep* 1896-1970. 1927;42(22):1494-510.

23. Purdy WC. Biological Investigation of California Rice Fields and Attendant Waters with reference to Mosquito Breeding. US Government Printing Office; 1925.
24. Rosecchi E. Comparaison de cinq indices alimentaires utilisés dans l'analyse des contenus stomacaux. :13.
25. Berg J. Discussion of methods of investigating the food of fishes, with reference to a preliminary study of the prey of *Gobiusculus flavescens* (Gobiidae). *Mar Biol.* 1 sept 1979;50(3):263-73.
26. Windell JT, Bowen SH. Methods for study of fish diets based on analysis of stomach contents. Bagenal Timothy Ed Ibp Int Biol Programme Handb No 3 Methods Assess Fish Prod Fresh Waters 3rd Ed Xv365p Illus *Blackwell Sci Publ.* 24 juill 1978;0-632001259219226.
27. Marten GG. Impact of the copepod *Mesocyclops leuckarti pilosa* and the green alga *Kirchneriella irregularis* upon larval *Aedes Albopictus* (Diptera: Culicidae). *Bull Soc Vector Ecol.* 1984;9(1):1-5.
28. Marten G, Bordes E, Nguyễn M. Use of cyclopoid copepod for mosquito control. *Hydrobiologia.* 1 janv 1994;292-293:491-6.
29. Marten G, Suárez M, Astaeza R, Erradicaci SN de. An Ecological Survey of *Anopheles albimanus* Larval Habitats in Colombia. undefined
30. Marten GG. Indigestible phytoplankton for mosquito control. *Parasitol Today.* mai 1986;2(5):150-1.
31. Marten GG, Reid JW. Larvicidal Algae: In from Floore (ed), Biorational Control of Mosquitoes,. *Am Mosq Control Assoc Bull* No7 232. juill 2007;179-185.
32. Marten GG. Mosquito control by plankton management: the potential of indigestible green algae. *J Trop Med Hyg.* oct 1986;89(5):213-22.
33. Ahmad R, Chu WL, Ismail Z, Lee HL, Phang SM. Effect of ten chlorophytes on larval survival, development and adult body size of the mosquito *Aedes aegypti*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* mars 2004;35(1):79-87.
34. Ahmad R, Chu WL, Lee HL, Phang SM. Effect of four chlorophytes on larval survival, development and adult body size of the mosquito *Aedes aegypti*. *J Appl Phycol.* 1 août 2001;13:369-74.

35. Dhillon MS, Mulla MS. Impact of green alga, *Chlorella ellipsoidea*, on development and survival of mosquitoes breeding in cemetery vases. *Environ Entomol.* 20 août 1982;112:292-6.
36. Garcia-Sánchez DC, Pinilla GA, Quintero J. Ecological characterization of *Aedes aegypti* larval habitats (Diptera: *Culicidae*) in artificial water containers in Girardot, Colombia. *J Vector Ecol.* 2017;42(2):289-97.
37. Howard LO, Dyar HG, Knab F. The mosquitoes of North and Central America and the West Indies [Internet]. Vol. 1. Washington, D. C. : Carnegie Institution of Washington,; 1912. 568 p.
38. Metz CW. Observations on the Food of *Anopheles* Larvæ. *Public Health Rep* 1896-1970. 1919;34(32):1783-91.
39. Lamborn WA. The Bionomics of some Malayan Anophelines. *Bull Entomol Res.* mai 1922;13(2):129-49.
40. Coggeshall LT. Relationship of Plankton to Anopheline Larvae. *Am J Hyg* [Internet]. 1926 6(4).
41. Rudolfs W. Mosquito Breeding in Specific Places. *J Parasitol.* 1924;11(2):79-83.
42. Houessou LY, Djènontin A, Sossoukpè E, Liady MND, Adandé R, Bouraïma A, Soares C, Akogbéto M, Fiogbé ED. Exploring phytoplankton management for controlling the malaria vector *Anopheles gambiae* in Benin. *J Appl Phycol* (2022). <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02883-z>
43. Marten GG. The potential of mosquito-indigestible phytoplankton for mosquito control. *J Am Mosq Control Assoc.* mars 1987;3(1):105-6.
44. Barber MA. The Food of Culicine Larvae. Food Organisms in Pure Culture. *Public Health Rep* [Internet]. 1928 [cité 7 avr 2022];43(1).
45. Senior White R. Algae and the food of Anopheline larvae. *Indian Jour Med Res.* 24 juill 1928;15(4):969-88.
46. Dahl C, Widahl LE, Nilsson C. Functional Analysis of the Suspension Feeding System in Mosquitoes (Diptera: *Culicidae*). *Ann Entomol Soc Am.* 1 janv 1988;81(1):105-27.
47. Dahl C, Sahlén G, Grawé J, Johannisson A, Amneus H. Differential Particle Uptake by Larvae of Three Mosquito Species (Diptera: *Culicidae*). *J Med Entomol.* 1 mai 1993;30(3):537-43.

48. Clements AN. The biology of mosquitoes, vol. 1 : development, nutrition and reproduction (reprinted 2000 with corrections) [Internet]. Librairie Lavoisier. [cité 13 avr 2022].
49. Merritt RW, Olds EJ, Walker ED. Natural food and feeding behavior of *Coquillettidia perturbans* larvae. *J Am Mosq Control Assoc.* mars 1990;6(1):35-42.
50. Rettich F, Popovský J, Cepák V. Algae and blue-green algae as mosquito food [in Czech]. *Fottea.* 1 janv 2001;1(1):93-101.
51. Merritt RW. Do different instars of *Aedes triseriatus* feed on particles of the same size?. *J Am Mosq Control Assoc.* 1987;3(1):94-6.
52. Surtees G. Functional and Morphological Adaptations of the Larval Mouthparts in the Sub-Family Culicinae (*Diptera*) with a Review of some Related Studies by Montschadsky. *Proc R Entomol Soc Lond A.* 1959;34(Pt 1/3):7-16.
53. Hamlyn-harris R. The Relation of certain Algae to Breeding Places of Mosquitos in Queensland. *Bull Entomol Res* [Internet]. 1928 [cité 8 avr 2022];18(pt. 4).
54. Rudolfs W, Lackey JB. The Composition of Water and Mosquito Breeding. *Am J Epidemiol.* 1 janv 1929;9(1):160-80.
55. Macgregor M. The Influence of the Hydrogen-Ion Concentration in the Development of Mosquito Larvae. (Preliminary Contribution.).
56. Macgregor ME. Mosquito Surveys. A Handbook for Anti-Malarial and Anti-Mosquito Field Workers. *American Public Health Association*; 1927.
57. HINMAN EH. A study of the food of mosquito larvae (*Culicidae*). *Am J Epidemiol.* 1 juill 1930;12(1):238-70.
58. Charles V, Vijayan VA, Aivazi AA, Hosmani SP. Feeding habitats of mosquito larvae and their gut flora at Mysore. *Nat Environ Pollut Technol.* 1 juin 2011;10:219-24.
59. Garros C, Ngungi N, Githeko AE, Tuno N, Yan G. Gut Content Identification of Larvae of the *Anopheles gambiae* Complex in Western Kenya Using a Barcoding Approach. *Mol Ecol Resour.* mai 2008;8(3):512-8.
60. Howland LJ. The Nutrition of Mosquito Larvae, with special Reference to their Algal Food. *Bull Entomol Res.* déc 1930;21(4):431-9.

61. Tuno N, Miki K, Minakawa N, Githeko A, Yan G, Takagi M. Diving Ability of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) Larvae. *J Med Entomol.* 1 août 2004;41:810-2.
62. Tuno N, Kohzu A, Tayasu I, Nakayama T, Githeko A, Yan G. An algal diet accelerates larval growth of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) and *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol.* 2018;55(3):600-8.
63. Pucat AM. The functional morphology of the mouthparts of some mosquito larvae. *Quaest Entomol.* 1965;1:41-86.
64. Bennett KD. Textbook of pollen analysis. K. Faegri, J. Iversen (4th edn by K. Faegri, P. E. Kaland, K. Krzywinski), Publisher John Wiley and Sons, Chichester 1989 (328 pp) £51.00 ISBN 0 471 92178 5. *J Quat Sci.* 1990;5(3):254-5.
65. Atkinson AW, Gunning BES, John PCL. Sporopollenin in the cell wall of *Chlorella* and other algae: Ultrastructure, chemistry, and incorporation of <sup>14</sup>C-acetate, studied in synchronous cultures. *Planta.* 1 mars 1972;107(1):1-32.
66. Bisalputra T, Weier TE. The Cell Wall of *Scenedesmus quadricauda*. *Am J Bot.* 1963;50(10):1011-9.
67. Bisalputra T, Weier TE, Risley EB, Engelbrecht AHP. The Pectic Layer of the Cell Wall of *Scenedesmus quadricauda*. *Am J Bot.* 1964;51(5):548-51.
68. Bisalputra T. The origin of the pectic layer of the cell wall of *Scenedesmus quadricauda* [Internet]. 1965 [cité 14 avr 2022].
69. Burczyk J, Szkawran H, Zontek I, Czygan FCh. Carotenoids in the outer cell-wall layer of *Scenedesmus* (*Chlorophyceae*). *Planta.* 1 mars 1981;151(3):247-50.
70. Mahdy A, Mendez L, Tomás-Pejó E, del Mar Morales M, Ballesteros M, González-Fernández C. Influence of enzymatic hydrolysis on the biochemical methane potential of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus* sp. *J Chem Technol Biotechnol.* 2016;91(5):1299-305.
71. Hinman EH. Enzymes in the Digestive Tract of Mosquito Larvae. *Ann Entomol Soc Am.* 1 mars 1933;26(1):45-52.
72. Yang YJ, Davies DM. Digestive enzymes in the excreta of *Aedes aegypti* larvae. *J Insect Physiol.* nov 1971;17(11):2119-23.

73. Yang YJ, Davies DM. Trypsin and chymotrypsin during metamorphosis in *Aedes aegypti* and properties of the chymotrypsin. *J Insect Physiol.* 1 janv 1971;17(1):117-31.
74. McGeachin RL, Willis TG, Roulston EF, Lang CA. Variation in alpha-amylase during the life span of the mosquito. *Comp Biochem Physiol Part B Comp Biochem.* 15 sept 1972;43(1):185-91.
75. Volkmann A, Peters W. Investigations on the midgut caeca of mosquito larvae-II. Functional aspects. *Tissue Cell.* 1989;21(2):253-61.
76. Dadd RH. Alkalinity within the midgut of mosquito larvae with alkaline-active digestive enzymes. *J Insect Physiol.* 1975b;21(11):1847-53.