

Morphologie comparée des espèces A et B du complexe *A. gambiae* Mesure de la spermathèque

M. EYRAUD

Technicien entomologiste médical à
l'O.R.S.T.O.M., S.S.C. Bondy

P. CARNEVALE

Entomologiste médical de l'O.R.S.T.O.M.
Brazzaville (Rép. pop. du Congo)

J. COZ

Entomologiste médical à l'O.R.S.T.O.M.
Dakar (Sénégal)

RÉSUMÉ.

Les auteurs, se référant à une étude de CLARKE, ont mesuré la taille des spermathèques de quatre souches d'*A. gambiae*, deux naturelles, *A. gambiae* A (Pala), *A. gambiae* B (kano) et deux souches artificielles obtenues à partir de croisements entre les deux premières, Paka 1 (espèce B), Paka 2 (espèce A). La taille de la souche de Pala est supérieure à celle de l'espèce B (kano). Les souches obtenues par introgression ont des spermathèques de taille intermédiaire.

ABSTRACT.

The authors, looking at a Clarke's study, have measured spermathecae of four *A. gambiae* strains, two natural ones, *A. gambiae* A (Pala), *A. gambiae* B (Kano) and two artificial strains, obtained through multiple crosses between the first two ones, Paka 1 (species B) and Paka 2 (species A). Pala size is superior to species B Kano strains. The strains obtained by introgressive mechanisms have spermathecae of intermediate size.

INTRODUCTION

La détermination de l'arthropode assurant la transmission d'une affection parasitaire dans une aire considérée, représente le préliminaire indispensable à toute étude épidémiologique.

En région éthiopienne, *Anopheles gambiae* (s.l.) est le vecteur majeur du paludisme humain. Cependant, depuis DAVIDSON et JACKSON (1962), DAVIDSON (1964) et

PATERSON (1964), nous savons que ce nom d'*Anopheles gambiae* recouvre, en fait, un complexe de cinq espèces jumelles. Reconnaître chacune des espèces d'un complexe représente un problème délicat, problème qui a été abordé de plusieurs façons selon les auteurs. Jusqu'à présent la taxonomie classique ne semble pas satisfaisante, elle ne serait valable que dans certaines conditions (COLUZZI, 1964 ; CHAUVET et DEJARDIN, 1968). COZ (1972 a) montre, en effet, que certaines différences morphologiques observées entre les espèces A et B ne sont que des caractères de souches ou de populations.

La méthode la plus sûre, mais d'utilisation peu pratique, est encore l'examen de la descendance obtenue à partir de croisements avec des souches de référence.

L'étude des chromosomes polytènes des glandes salivaires des larves (COLUZZI, 1966 ; COLUZZI et SABATINI, 1967), puis, par extension, des chromosomes des cellules nourricières des ovarioles (COLUZZI, 1968) a grandement facilité la différenciation pratique des espèces A et B.

La cytotaxonomie, bien que d'emploi plus aisé que la méthode mixiologique, nécessite un matériel et une technicité, pas toujours disponible lors d'études sur le terrain.

Il importait donc de pouvoir bénéficier d'une méthode relativement simple permettant de reconnaître rapidement l'espèce présente dans un certain biotope.

Récemment CLARKE (1972), a mis en évidence une nette différence dans la taille des spermathèques de plusieurs souches des espèces A et B. Ce caractère morphologique étant facilement observable et mesurable, nous avons voulu savoir s'il pouvait être utilisé avec les souches d'*Anopheles gambiae* actuellement à notre disposition.

1. MATERIEL ET METHODE

Quatre souches d'*Anopheles gambiae* sont actuellement maintenues en élevage au laboratoire d'entomologie médicale de Bondy.

Deux souches naturelles :

- la souche PALA = espèce A,
- la souche KANO = espèce B.

Deux souches artificielles :

- des hybrides issus du croisement Pala (A) × Kano (B) ont été maintenus
- en atmosphère humide pour un lot (Paka 2).
- et en atmosphère sèche pour l'autre lot (Paka 1).

Après un certain nombre de générations, il n'est plus resté que l'espèce A dans la pièce humide et l'espèce B dans la pièce sèche (Coz, 1972 b).

Nous avons donc mesuré la taille des spermathèques des représentants de ces quatre souches : les deux souches pures et les deux souches obtenues après hybridation et ségrégation.

1.1. Dissection

Nous avons prélevé un certain nombre de femelles dans différentes cages d'élevage. Ces femelles ont été anesthésiées à l'éther puis rapidement disséquées. La dissection a été faite dans l'eau physiologique (chlorure de sodium à 9 g par litre). La spermathèque, immergée dans une goutte d'eau physiologique était recouverte d'une lamelle très légère afin d'éviter qu'elle n'éclate. Elle est particulièrement fragile lorsqu'elle est remplie de spermatozoïdes.

La préparation ainsi faite est immédiatement photographiée. Si, pour une raison quelconque, la photographie ne peut être prise tout de suite, il faut veiller à ce que la spermathèque soit constamment maintenue dans une goutte d'eau physiologique.

1.2. Mesures

De telles préparations ne pouvant être conservées, nous avons photographié les spermathèques intactes ayant ainsi un matériel de référence à partir duquel différentes mesures ont pu être faites. Pour ce travail, nous avons utilisé un photomicroscope avec l'optique suivante : Objectif 40 × et projectif 2.

Les mensurations des spermathèques ont été faites à partir des négatifs : ces négatifs ont été placés dans un lecteur de microfilm et nous avons noté, à l'aide d'un papier millimétré, la taille de chaque spermathèque. Pour avoir la mesure exacte de chaque spermathèque, nous avons aussi photographié un micromètre objectif ; nos mesures de la photographie agrandie ont pu être faites en unités de lecture représentant 2,5 microns.

2. RESULTATS

Sur un total de 160 dissections, nous avons pu mesurer 120 spermathèques. Cette différence est due, soit à l'éclatement de la spermathèque lors de la préparation, soit à divers incidents lors de la prise de vue.

Ces 120 résultats concernent :

- 41 spermathèques pour l'espèce A (souche Pala).
- 32 spermathèques pour l'espèce B (souche Kano).
- 32 spermathèques pour la souche Paka 2 de l'espèce A.
- 15 spermathèques pour la souche Paka 1 de l'espèce B.

2.1. Etude de la distribution

La taille minimale observée a été de 36 unités de lecture (90 μ) tandis que la taille maximale a été de 62 unités de lecture (155 μ).

Les résultats de la répartition des tailles selon les différentes souches sont groupés dans le tableau I. On peut remarquer que la souche Pala de l'espèce A possède une spermathèque plus grande que la souche Kano de l'espèce B.

En effet, les spermathèques de la souche Pala présentent une variation de taille de 112,5 μ à 115 μ, tandis que, pour la souche Kano, cette variation va de 90 à 112,5 μ.

Par contre, les résultats semblent plus délicats à interpréter lorsqu'on s'adresse aux représentants des souches artificielles « Paka ». Les souches Paka 1 (espèce B) et Paka 2 (espèce A), obtenues à partir d'hybrides issus du croisement A × B, montrent des valeurs intermédiaires dans la taille des spermathèques (fig. 1).

2.2. Analyse statistique des résultats.

Le calcul d'une moyenne et de la variance d'une distribution suppose qu'elle est normale. Par anamorphose, nous avons transformé les courbes de fréquences cumulées des pourcentages en droites de HENRY (fig. 2).

Les valeurs ainsi obtenues s'alignent, pour la souche Kano, sensiblement suivant une droite. Par contre, pour les trois autres souches l'ajustement à une droite ne nous paraît pas satisfaisant. Elle nous fait penser à une distribution bimodale des valeurs.

Effectivement, on peut noter (fig. 1) un premier sommet, nettement marqué à 49 unités de lecture (122 μ) et un second, moins accentué, à 55 unités de lecture (137,5 μ).

Si l'on se réfère à ces valeurs, il se confirme que la différence de taille des spermathèques est significative et permet la séparation des deux souches pures Pala et Kano.

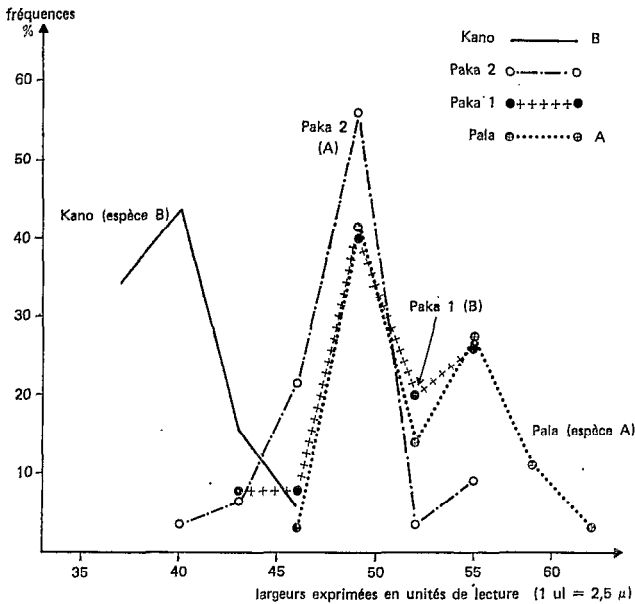


FIG. 1

Nous avons toutefois déterminé les principales caractéristiques (moyenne et écart-type) des quatre distributions observées :

souche Pala (espèce A)	moyenne (\bar{x}) = 130,92 μ	écart-type (σ) = 9,215 μ
souche Kano (espèce B)	moyenne (\bar{x}) = 99,53 μ	écart-type (σ) = 6,583 μ
souche Paka 1 (espèce B)	moyenne (\bar{x}) = 126,50 μ	écart-type (σ) = 8,905 μ
souche Paka 2 (espèce A)	moyenne (\bar{x}) = 120,85 μ	écart-type (σ) = 8,029 μ

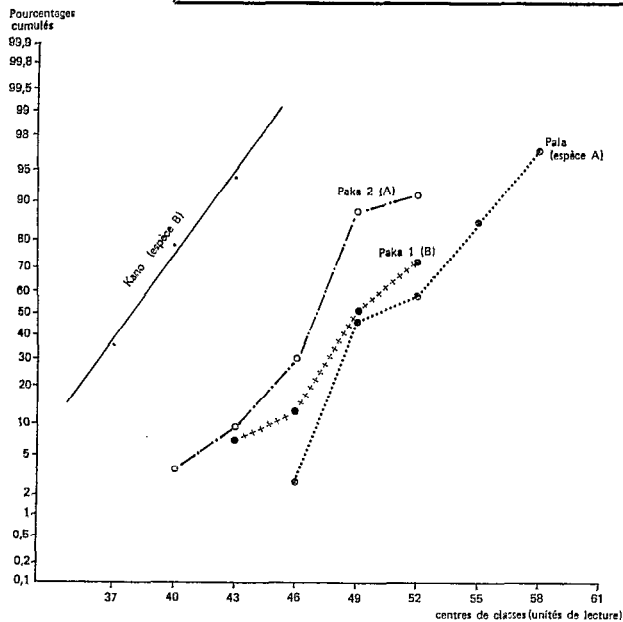


FIG. 2

TABLEAU I. — Distribution de la largeur des spermathèques dans les souches étudiées

Classes en unité de lecture 1 μ = 2,5 μ	Pala (A)		Kano (B)		Paka 1 (B)		Paka 2 (A)	
	N	%	N	%	N	%	N	%
36-38 μ .	—	—	11	34,375	—	—	—	—
39-41 μ .	—	—	14	43,750	—	—	1	3,125
42-44 μ .	—	—	5	15,625	1	6,67	2	6,25
45-47 μ .	1	2,44	2	6,250	1	6,67	7	21,875
48-50 μ .	17	41,46	—	—	6	40	18	56,25
51-53 μ .	6	14,63	—	—	3	20	1	3,125
54-56 μ .	11	26,83	—	—	4	26,67	3	9,375
57-59 μ .	5	12,20	—	—	—	—	—	—
60-62 μ .	1	2,44	—	—	—	—	—	—
Total ...	41	100	32	100	15	100,01	32	100

La spermathèque de l'espèce A est nettement supérieure à celle de l'espèce B.

Les deux souches artificielles présentent des valeurs intermédiaires, de plus il s'avère que la souche Paka 1 (espèce B) présente une spermathèque, en moyenne sensiblement plus grande que la souche Paka 2 (espèce A).

3. DISCUSSION ET CONCLUSION

CLARKE (1972) donne pour l'espèce A des tailles de spermathèque supérieures à celles de l'espèce B :

- 131,2 μ < X_A < 144,5 μ
- 109,9 μ < X_B < 122,7 μ

Pour notre part, nous avons observé un phénomène similaire puisque nous avons obtenu

$$X_A = 131, \mu \text{ et } X_B = 99,5 \mu.$$

Avec une spermathèque de taille moyenne égale à 131 μ , la souche Pala que nous avons examinée se situe bien dans la zone de l'espèce A.

BIBLIOGRAPHIE

Par contre la souche de Kano, avec une spermathèque égale à 99,5 μ , se trouve légèrement en-deçà de la zone de l'espèce B telle qu'elle est décrite par CLARKE (*loc. cit.*).

Nos résultats sont donc satisfaisants et permettent de considérer comme fort intéressant le caractère morphologique étudié.

Mais ce caractère est encore à utiliser avec de grandes réserves ; l'exemple des souches artificielles « Paka » nous montre les limites de cette méthode biométrique. En se basant sur les chiffres de CLARKE (*loc. cit.*) où placer la souche Paka 1 (espèce B) dont la spermathèque a une taille moyenne de 126,5 μ ? Et que dire pour la souche Paka 2 (espèce A) qui présente une spermathèque de taille moyenne égale à 120,8 μ , valeur qui la situe dans la zone B ?

Nos observations ont été faites à partir de colonies d'insectarium, les souches ont donc subi des sélections multiples et nos résultats ne doivent pas être extrapolés.

Il conviendrait de reprendre et d'amplifier les observations dans la nature tout en contrôlant les résultats par un examen cytomorphologique.

Si le côté application pratique de la méthode doit encore être confirmé avant toute utilisation systématique, par contre cette étude présente un intérêt fondamental.

En effet, si l'on considère comme « marqueur » la taille de la spermathèque, les valeurs observées pour les souches « hybrides » montrent que, par introgression, il peut y avoir passage d'un caractère d'un pool génique à un autre.

Ces « hybrides » étudiés sont, en fait, des espèces pures puisque les croisements Paka 1 \times espèce A et Paka 2 \times espèce B donnent une descendance dont tous les mâles sont stériles tandis que cette F1 mâle est fertile lors des croisements Pala \times Paka 2 et Kano \times Paka 1 (Coz, 1972 b).

Ces souches pures et artificielles semblent, malgré la ségrégation dont elles ont été l'objet, présenter encore des caractères parentaux et ceci est particulièrement visible dans le cas de la spermathèque.

Les croisements interspécifiques entre les espèces A et B ne sont vraisemblablement pas très fréquents dans la nature (Coz, 1972 b). Certains exemples, cependant, en ont été donnés (Coz et HAMON, 1964 ; RAMSDALE et LEPOR, 1967 ; WHITE, 1970). Il est possible dans certaines conditions artificielles de faire passer le caractère « taille de la spermathèque », de l'espèce A à l'espèce B, ou du moins il est possible d'obtenir par introgression des souches des espèces A et B présentant des caractères intermédiaires. Le fait de trouver, dans la nature, des spermathèques intermédiaires, amènerait à rejeter la méthode proposée, mais serait un argument pour les tenants de la possibilité d'un certain échange de gène entre quelques espèces jumelles.

Manuscrit reçu au S.C.D. le 1^{er} juin 1972.

- CHAUVET (G.) et DEJARDIN (J.), 1968. — Caractères chéto-taxiques de distinction des larves d'espèces A et B du complexe *Anopheles gambiae* à Madagascar. *Cahier O.R.S.T.O.M. Sér. ent. méd et Parasit.*, **6**, 69-101.
- CLARKE (J. L.), 1972. — Potential use of the spermatheca in the separation of species A and B of the *Anopheles gambiae* complex in Northern Nigeria. *Bull. Org. mond. Santé.*, **45**, 260-263.
- COLUZZI (M.), 1964. — Morphological divergences in the *Anopheles gambiae* complex. *Riv. Malariol.*, **43**, 197-232.
- COLUZZI (M.), 1966. — Osservazioni comparative sul cromosoma X nelle specie A et B del complesso *Anopheles gambiae*. *Accademia nazionale dei lincei. Rendiconti della classe di scienze fisiche, Matematiche e naturali.* vol. **40**, 671-679.
- COLUZZI (M.) and SABATINI (A.), 1967. — cytogenetic observations on species A and B of the *Anopheles gambiae* complex. *Parasitologia*, **9**, 73-88.
- COLUZZI (M.), 1968. — Cromosomi politenici delle cellule nutrice ovariche nel complesso *gambiae* del genere *Anopheles*. *Parasitologie*, **10**, 179-194.
- COZ (J.) et HAMON (J.), 1964. — Le complexe *Anopheles gambiae* en Afrique Occidentale. *Riv. Malariol.*, **43**, 233-263.
- COZ (J.), 1972 a. — Contribution à l'étude du complexe *A. gambiae*. Répartition géographique et saisonnière en Afrique de l'Ouest. *Cah. O.R.S.T.O.M. Sér. Ent. Méd. et Parasit.* (à paraître).
- COZ (J.), 1972 b. — Contribution à l'étude du complexe *A. gambiae* Giles. Mécanismes d'isolement génétique. *Cah. O.R.S.T.O.M. Sér. Ent. Méd. et Parasit.* (à paraître).
- DAVIDSON (G.), 1964. — *Anopheles gambiae*, a complex of species. *Bull. Org. mond. Santé*, **31**, 625-634.
- DAVIDSON (G.) et JACKSON (C. E.), 1962. — Incipient speciation in *Anopheles gambiae* Giles. *Bull. Org. mond. Santé*, **27**, 303-305.
- PATERSON (H. E.), 1964. — Direct evidence for the specific distinctness of forms A, B, and C of the *Anopheles gambiae* complex. *Riv. Malariol.*, **43**, 193-196.
- RAMSDALE (C. D.) and LEPOR (G. H.), 1967. — Studies on the *Anopheles gambiae* complex in West Africa. *Bull. Org. mond. Santé*, **36**, 494-500.
- WHITE (G. B.), 1970. — The use of cytogenetical methods for identification of *A. gambiae* complex mosquitoes in the study of African malaria vectors. *Communication au Cong. Int. de Parasit. Washington, D.C. 1970.*