

Étude du complexe *Simulium damnosum* en Afrique de l'Ouest

I. Techniques d'étude. Identification des cytotypes (1)

Daniel QUILLEVERE (2)

RÉSUMÉ.

La découverte d'un complexe d'espèces chez *Simulium damnosum* interdit désormais l'étude du seul vecteur ouest-africain de l'onchocercose sans tenir compte de ses différents cytotypes. Diverses techniques d'étude ont été testées et l'auteur précise celles qui doivent être retenues de préférence en milieu tropical. Les larves sont fixées vivantes sur le terrain dans du Carnoy modifié et conservées à basse température (0° à 5 °C). La coloration de Feulgen donne les meilleurs résultats. Le montage définitif se fait au Neutral. Les observations et les photographies des chromosomes se font en contraste de phase qui donne des résultats supérieurs à ceux obtenus en fond clair.

Le complexe *Simulium damnosum* est représenté en Afrique de l'Ouest par 7 cytotypes regroupés en 4 « espèces ». L'espèce « Nile-Sirba » est caractéristique des zones de savane, les espèces « Bille-Yah » et « Bandama-Soubre » se trouvent principalement en forêt, l'espèce « Diégouera » est connue seulement de son gîte de description au Mali occidental. Des inversions chromosomiques fixes permettent d'identifier ces différentes « espèces ». A l'intérieur d'une même « espèce » les cytotypes se différencient grâce aux inversions chromosomiques flottantes. L'auteur a dessiné les cartes chromosomiques utilisables pour l'identification des divers cytotypes ouest-africains. Cette étude est un travail préliminaire qui permettra d'établir s'il existe ou non des relations des divers cytotypes avec les variations bioécologiques observées chez *Simulium damnosum* et avec l'épidémiologie locale de l'onchocercose.

ABSTRACT.

Since the discovery of a complex of species in *Simulium damnosum* s.l., it is no more possible to study the single West-African vector of onchocerciasis without reference to its various cytotypes. Various technics of study have been tested and the author specifies those that must preferentially be retained in tropical environment. The larvae are fixed alive in the field in modified Carnoy and preserved at low temperature (0° to 5 °C). The Feulgen staining gives the best results. The permanent mounting is made with Neutral. The observations and photographs of the chromosomes are done using "contrast phasis" which gives better results than "transmitted light".

The *Simulium damnosum* complex in West-Africa includes seven cytotypes grouped in four "species". The "Nile-Sirba" species is characteristic of savannah zones, the "Bille-Yah" and "Bandama-Soubre" ones are mainly found in forest zone, the "Dieguera" one is only known from its description site in Western Mali. Fixed chromosomal inversions authorize the identification of these different "species". Inside the same species the cytotypes can be differentiated by the floating inversions. The author has drawn the chromosomal maps usable for the identification the different West-African cytotypes. This study is a preliminary work which will enable the establishment of existing or non existing relations of the different cytotypes with the bioecological variations observed in *Simulium damnosum* and the local onchocerciasis epidemiology.

(1) Ce travail a bénéficié d'une subvention de l'Organisation Mondiale de la Santé.

(2) Entomologiste médical de l'O.R.S.T.O.M., Mission O.R.S.T.O.M. auprès de l'O.C.C.G.E., B.P. 1500, Bouaké (Côte-d'Ivoire).

1. INTRODUCTION.

1.1. Historique.

Depuis 1926, année où BLACKLOCK découvrit le rôle de *Simulium damnosum* Theobald, 1903 dans la transmission de l'onchocercose, de nombreux travaux mirent en évidence la grande variabilité de comportement du vecteur ainsi que la diversité épidémiologique et clinique de la maladie. Dès lors, plusieurs chercheurs envisagèrent l'hypothèse de l'existence d'un complexe d'espèces indifférenciables morphologiquement mais écologiquement différentes. Seule l'étude précise des chromosomes géants des glandes séricigènes des larves permit à DUNBAR (1966) d'entreprendre l'étude cytotaxonomique du complexe *S. damnosum* : parmi des larves en provenance d'Ouganda il identifiait 4 types cytologiques différents. En 1969, DUNBAR distingue 9 types cytologiques, 8 en Afrique de l'Est et 2 en Afrique occidentale, l'un Nile étant commun aux 2 régions. En 1971, DUNBAR et VAJIME décrivent 18 cytotypes, 11 « endémiques » de l'Afrique de l'Est, 6 de l'Afrique occidentale et 1 (Nile) commun à ces 2 régions. Enfin, en 1972 VAJIME (comm. person.) regroupe les 7 cytotypes Ouest-africains en 4 « espèces » : Bille-Yah, Bandama-Soubré, Nile-Sirba, Diéguéra. Les 2 premières espèces se rencontrent principalement en forêt et les 2 dernières en savane. VAJIME précise aussi que ces 4 espèces et ces 7 cytotypes forment en réalité 10 populations ou sous-populations différentes.

1.2. But du travail.

Les seules études menées jusqu'à présent sur la cytologie de *S. damnosum* s.l. l'ont été au Canada ou en Afrique de l'est par l'équipe DUNBAR-VAJIME (1966, 1969, 1971, 1972). Il était donc urgent que ces mêmes études soient faites en Afrique de l'ouest sur le terrain même où sévit le plus gravement l'endémie onchocercienne.

Quoique fort intéressants, les résultats publiés jusqu'à présent ne permettaient pas d'identifier les cytotypes ouest-africains. En effet, seuls les « idiogrammes » de Nile et Bandama sont à ce jour publiés; ils sont peu précis car les chromosomes y sont représentés sous forme très schématique sans aucune indication des bandes (cf. fig. 7).

2. TECHNIQUES D'ÉTUDE.

2.1. Récolte et fixation du matériel.

Lors des récoltes sur le terrain des larves vivantes sont plongées directement dans le fixateur (Carnoy modifié) sans dissection préalable. L'addition de chloroforme

au Carnoy permet d'obtenir d'excellentes fixations des chromosomes géants. Cette méthode permet de récolter très rapidement un grand nombre de larves. VAJIME (comm. person.) préconise d'ouvrir les larves avant la fixation. A notre avis cette méthode valable dans les pays nordiques présente 2 inconvénients en zone tropicale : d'une part la récolte est bien plus longue pour un matériel moins abondant, d'autre part la température ambiante étant très élevée le matériel risque d'être détérioré par la chaleur. Avec notre méthode les derniers mouvements musculaires suffisent à entraîner le fixateur à l'intérieur du corps des larves et à assurer une fixation rapide des glandes séricigènes.

2.2. Coloration.

Nous avons testé 4 méthodes différentes de coloration :
— coloration de Feulgen;
— coloration à l'orcéine acéto-lactique;
— coloration au violet de crésyl;
— coloration au carmin acétique.

La coloration de Feulgen donne les meilleurs résultats, ses inconvénients étant la durée (1 à 2 h) et le besoin d'une hydrolyse préalable dans l'acide chlorhydrique à chaud (bain-marie ou étuve). La coloration à l'orcéine acéto-lactique plus rapide (quelques minutes) donne également de bons résultats à condition toutefois de procéder à un bain préalable dans l'acide chlorhydrique à froid. Celui-ci permet de ramollir la soie contenue dans les glandes séricigènes qui, durcie lors de la fixation et de la coloration, empêche alors l'étalement des chromosomes. Les colorations au violet de crésyl et au carmin acétique ne nous ont pas donné de résultats aussi satisfaisants.

2.3. Montage.

2.3.1. MONTAGE PROVISOIRE.

Après la coloration au Feulgen, chaque larve est placée dans une goutte d'acide acétique à 50 % pour la dissection. Les glandes séricigènes sont séparées du reste de la larve qui est placée dans de l'alcool à 70 % en vue d'une étude morphologique ultérieure. On couvre alors la préparation d'une lamelle et on procède à l'écrasement.

2.3.2. MONTAGE DÉFINITIF.

Après s'être assuré au microscope du bon étalement des chromosomes, on place la lame dans le freezer d'un réfrigérateur lamelle en dessous. Après 2 ou 3 heures, on sort la lame et on fait sauter rapidement la lamelle. Une partie du matériel reste fixée sur la lame l'autre sur la lamelle. On passe lame et lamelle dans l'alcool absolu et le toluène.

On sort la lame du toluène et on place une goutte de Neutral à l'endroit où se trouve le matériel. On recouvre

avec une lamelle propre. On place alors sur la lame à côté de la lamelle une deuxième goutte de Neutral que l'on recouvre avec la lamelle sortie du toluène. Chaque lame porte donc 2 lamelles, l'une recouvrant le matériel resté sur la lame et l'autre le matériel resté sur la lamelle. La lame, où sont inscrites les indications identifiant le matériel, est alors placée à l'étuve pour le séchage. Nous préférons le Neutral au baume pour le montage des lamelles, car sur une longue période il n'altère pas les colorations comme le fait le baume. De plus le Neutral est incolore, sèche rapidement et a le même indice de réfraction que le verre.

2.4. Observation et photographie.

Les chromosomes sont observés à fort grossissement (objectif 40 ou 100 à immersion) en contraste de phase. Le contraste de phase donne des images nettement plus contrastées et précises que l'observation en fond clair. D'autres auteurs utilisent un filtre spécial qui, en fond clair, donne un bon contraste pour les bandes chromosomiques; cependant l'image obtenue est très simplifiée et certaines bandes disparaissent complètement alors que d'autres forment des « groupes » d'interprétation problématique; cette observation est à notre avis suffisante pour une simple « détermination » des cytotypes mais pas pour une étude précise des inversions. Signalons aussi que pour l'observation en contraste de phase la coloration des chromosomes doit être légère, sinon on observe un « engorgement » des bandes chromosomiques.

Le contraste de phase permet d'autre part d'obtenir de bons clichés photographiques sur lesquels les chromosomes se détachent nettement sur le fond grisâtre alors qu'en fond clair la lumière du champ microscopique atténuée beaucoup la netteté de l'image. Les agrandissements photographiques et les dessins réalisés à la chambre claire servent à l'établissement des cartes chromosomiques.

2.5. Établissement des cartes chromosomiques.

Pour chaque cytotype on sélectionne des photographies où les chromosomes sont nets et bien étalés. On découpe les chromosomes et on les recolle sur papier cartonné en rectifiant au maximum les courbures afin de pouvoir comparer côte à côte les chromosomes correspondants de diverses larves.

A partir du montage photographique obtenu, on dessine ensuite sur calque les bandes chromosomiques et on précise le dessin à l'aide du microscope. On obtient ainsi une carte photographique et une carte dessinée permettant de préciser les bandes apparaissant plus ou moins nettement sur la photographie.

Pour étudier plus précisément la succession des bandes on divise la longueur totale des 3 chromosomes en 100 parties, en ayant soin toutefois que chacune d'elles soit définie par des bandes repérables. On numérote ces parties de

1 à 100 en débutant par le bras court du chromosome I et en terminant par le bras long du chromosome III. C'est ainsi que le chromosome I est numéroté de 1 à 42, le chromosome II de 43 à 72, le chromosome III de 73 à 100. Lorsque l'on compare ensuite les chromosomes de larves différentes il est plus commode de repérer et de numérotiser les parties homologues afin de mettre en évidence les inversions.

3. CYTOTAXONOMIE DE *Simulium damnosum*.

3.1. Caryotype de *Simulium damnosum*.

Simulium damnosum s.l. possède 3 paires de chromosomes. Les chromosomes géants des glandes séricigènes sont polyténiques; nous observons seulement 3 chromosomes, chacun étant en réalité composé de 2 chromosomes homologues appariés.

Les 3 chromosomes géants de *Simulium damnosum* sont aisément différenciables (fig. 1). Le chromosome I est le plus long et représente 42 % de la longueur additionnée des 3 chromosomes. Il possède un centromère (C)

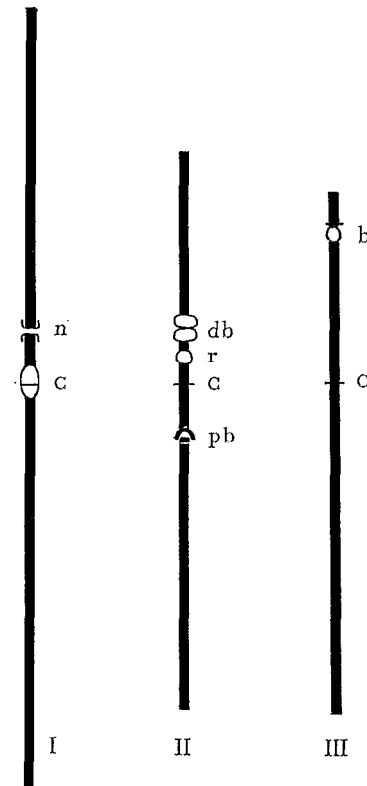


FIG. 1. — Caryotype de *Simulium damnosum*.
b : balbiani; C : centromère; db : double bulle; n : nucléole;
pb : parabalbani; r : anneau de balbiani.

peu visible situé en son milieu, associé à une zone élargie à chromatine diffuse. Près du centromère, sur le bras court, se trouve le nucléole (n). Le rapport entre le bras court et le bras long est de 1/1,1 (fig. 3 et pl. I, 2).

Les chromosomes II et III sont presque de longueur équivalente, le premier représente 30 % et le second 28 % de la longueur additionnée des 3 chromosomes. Tous deux sont acrocentriques le centromère étant déporté vers l'une des extrémités. Le rapport bras court/bras long est de 1/1,4 pour le chromosome II et de 1/1,8 pour le chromosome III. Dans les 2 cas, le centromère (C) n'est pas très visible (sauf chez « Yah ») car il est constitué d'une simple bande pouvant au premier abord être confondue avec les bandes voisines. Le chromosome II possède sur le bras court une zone à double dilatation appelée double-bulle (db) et séparée par 2 bandes sombres de l'anneau de Balbiani (r) zone également élargie à coloration claire (fig. 3 et pl. II, 1). Sur le bras long se trouve le parabalbani (pb) autre zone élargie en forme de croissant mais plus petite et moins nette que la précédente. Le chromosome III est caractérisé par l'extrémité du bras court élargie en massue et par la présence juste en dessous d'une zone très peu colorée appelée « Blister » (b) précédée d'une forte bande sombre (fig. 3 et pl. I, 2 et pl. II, 2). Notons que chez « Yah » les 3 chromosomes sont liés au niveau des centromères : il y a fusion centromérique.

3.2. Inversions chromosomiques.

On appelle « inversion » le retournement d'un fragment de chromosome. Les cytotypes se différencient par la présence d'inversions fixes « inter-spécifiques » et peuvent posséder de plus une ou plusieurs inversions flottantes « intra-spécifiques » caractéristiques. Rappelons ici que chacun des 3 chromosomes est en réalité composé de 2 chromosomes homologues étroitement appariés.

Les inversions fixes sont uniquement homozygotes c'est-à-dire qu'elles concernent les 2 chromosomes. La configuration standard a disparu du pool génétique de la population.

Les inversions flottantes peuvent se trouver soit à l'état homozygote soit à l'état hétérozygote; dans ce cas l'un des chromosomes possède un fragment inversé et l'autre conserve la configuration standard. Dans une population en équilibre, pour une inversion flottante donnée, la moitié de la population possède l'inversion à l'état hétérozygote, le quart à l'état homozygote inversé et le quart restant conserve la configuration standard. Les inversions flottantes à l'état hétérozygote sont facilement repérables; on note alors la présence de « boucles d'inversions », les bandes homologues du segment inversé et du segment standard

restant accolées. Nous avons représenté sur la figure 2 la formation de la boucle d'inversion pour l'inversion IILC₈ à l'état hétérozygote. (Le C figurant dans la nomenclature DUNBAR-VAJIME indique que l'inversion IIL₈ est en réalité un complexe formé de plusieurs inversions imbriquées).

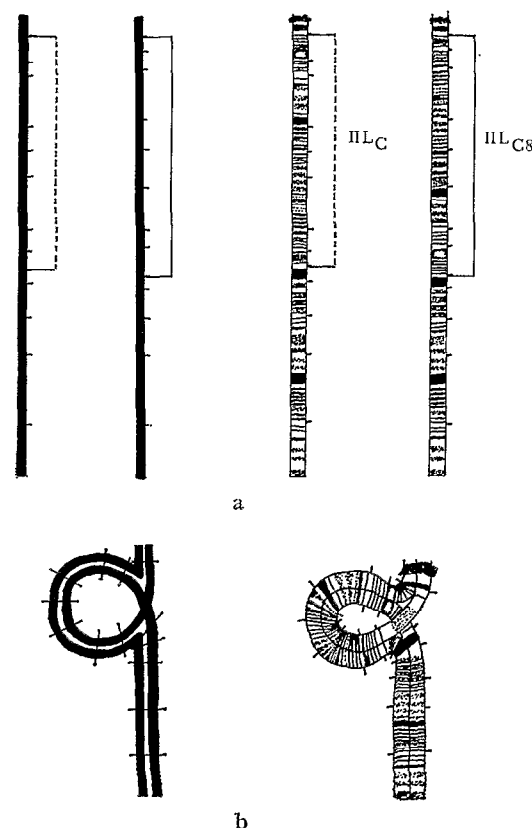
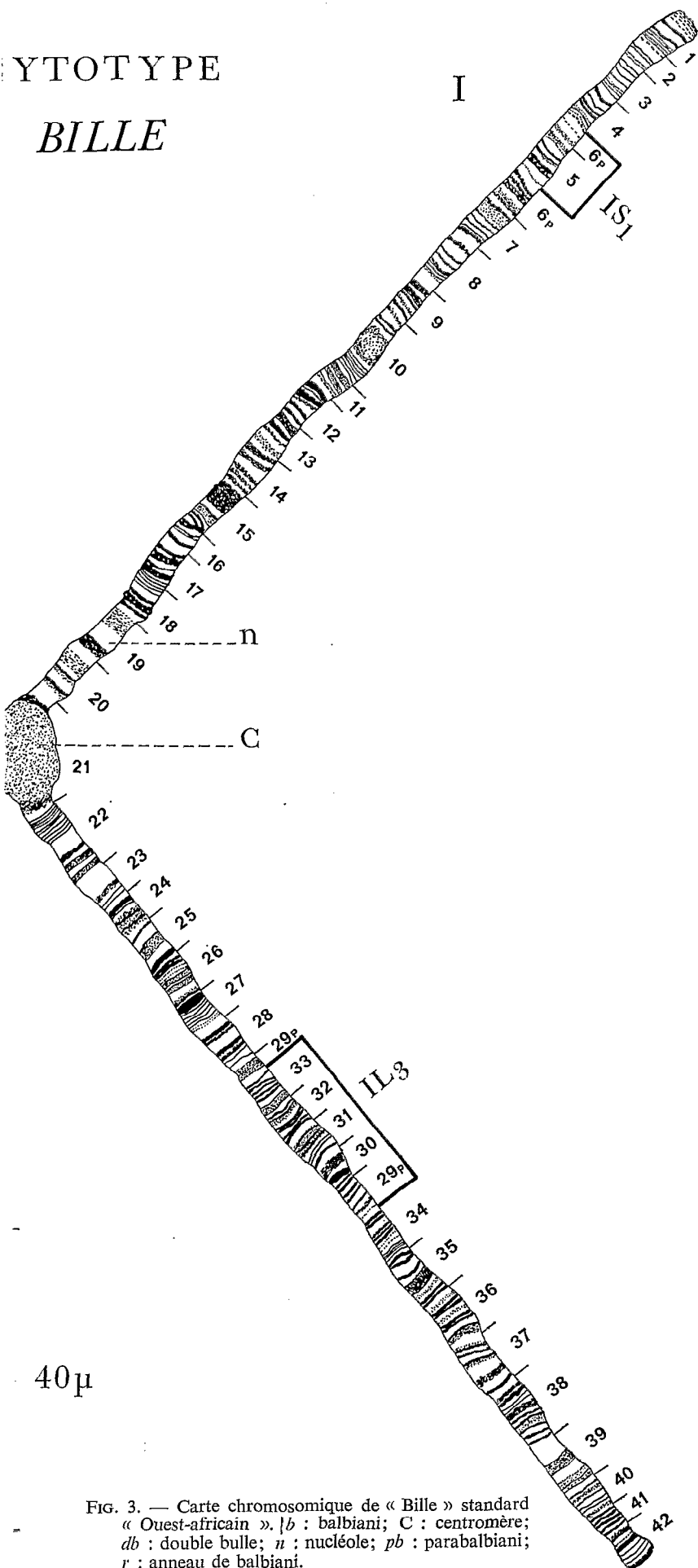


FIG. 2. — Formation de la boucle d'inversion pour IILC₈ à l'état hétérozygote.

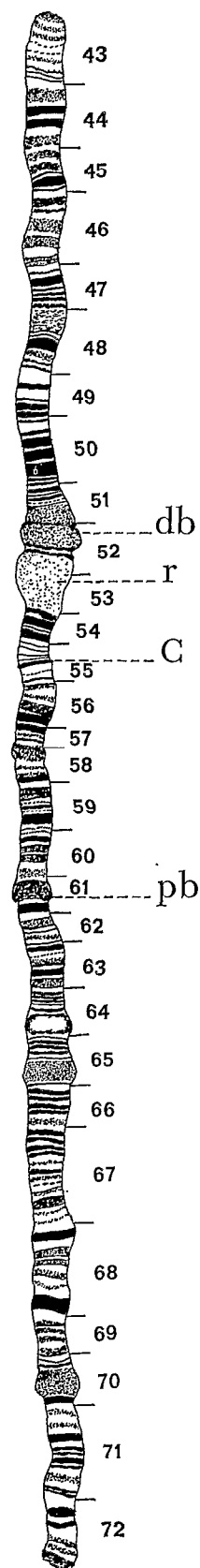
a : segments chromosomiques non appariés; b : segments chromosomiques appariés.

Nous utiliserons ici dans un souci de standardisation la même nomenclature que l'équipe DUNBAR-VAJIME en ce qui concerne les inversions. Les diverses inversions fixes ou flottantes sont désignées par un chiffre romain I, II ou III qui indique le chromosome concerné, une lettre majuscule, S, ou L, qui précise si l'inversion se trouve sur le bras court S (Short) ou sur le bras long L et enfin un chiffre arabe déterminé par l'ordre dans lequel ont été décrites les inversions d'un même bras chromosomique. Par l'exemple inversion l'IS₁, se trouve sur le bras court du chromosome I et c'est la première inversion que l'on y a découverte.

YTOTYPE
BILLE



II



III

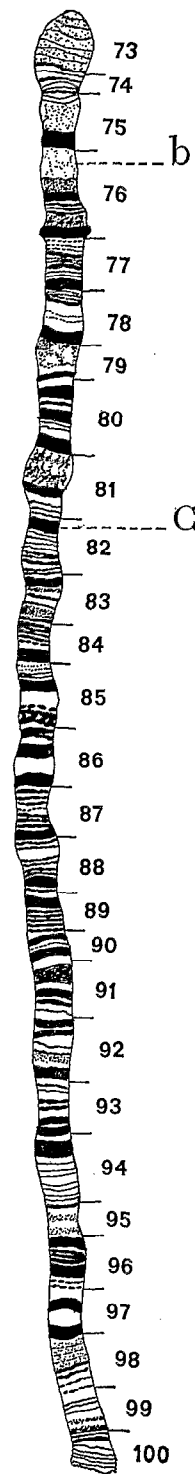


FIG. 3. — Carte chromosomique de « Bille » standard « Ouest-africain ». } *b* : balbiani; *C* : centromère; *db* : double bulle; *n* : nucléole; *pb* : parabalbiani; *r* : anneau de balbiani.

4. LE COMPLEXE *S. damnosum* EN AFRIQUE OCCIDENTALE.

4.1. Les différents cytotypes présents.

En Afrique occidentale tous les membres du complexe *S. damnosum* appartiennent au sous-groupe Nile (DUNBAR et VAJIME, 1971). Sept cytotypes ont jusqu'à présent été décrits en Afrique de l'Ouest et nous avons personnellement étudié 6 d'entre eux à savoir : Nile-Sirba (*), Bandama-Soubre, Bille et Yah regroupés en 3 paires par VAJIME (1972) compte-tenu de leurs affinités chromosomiques. Le septième, Diégouéra n'est connu pour l'instant que de son gîte de description au Mali septentrional.

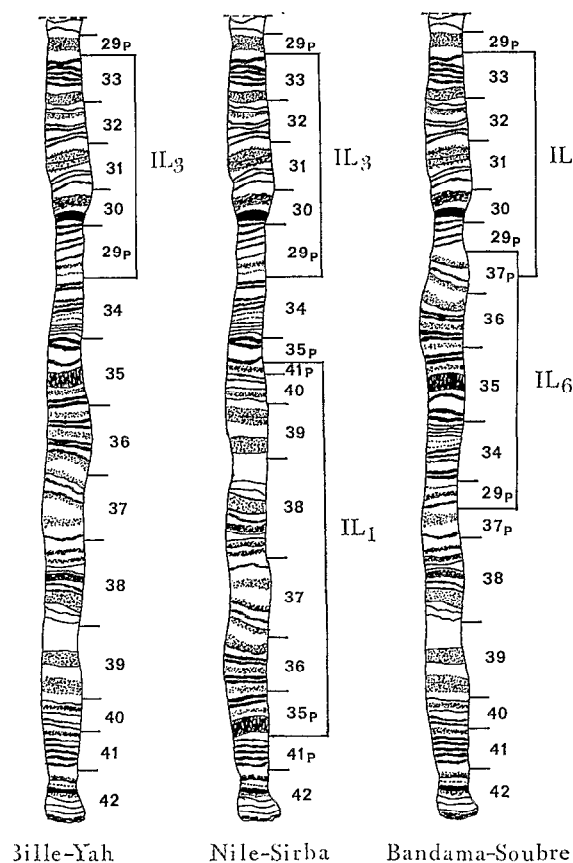


FIG. 4. — Différenciation des 3 paires de cytotypes par comparaison de l'extrémité du chromosome I.

(*) DUNBAR et VAJIME (comm. person.) séparent actuellement le cytotype Sirba en « Sirba » et « Soudan » en se basant sur l'inversion flottante IS_3 . Celle-ci est hétérozygote chez les mâles « Sirba » et « Soudan », homozygote standard chez les femelles de « Sirba » et homozygote inversé chez les femelles de « Soudan ».

Le sous-groupe Nile se différencie du sous-groupe Sanje que l'on trouve uniquement en Afrique orientale par la présence des inversions fixes IS_1 et IL_3 (DUNBAR et VAJIME, 1971). Tous les chromosomes I des différents cytotypes ouest-africains présenteront donc ces 2 inversions.

La forme Bille ne présentant que ces 2 inversions fixes a été choisie comme standard des cytotypes ouest-africains, Nyamagasani étant le standard pour toute l'Afrique (DUNBAR et VAJIME, 1972). Nous avons représenté la succession des bandes sur les 3 chromosomes du cytotype Bille (fig. 3), pour les autres cytotypes nous n'avons indiqué que les zones intéressantes pour leur identification (fig. 4, 5 et 6).

VAJIME (1972 et comm. person.) a établi la liste des différentes inversions chromosomiques fixes ou flottantes caractéristiques des diverses formes. Nous devons ici rappeler que les inversions fixes (toujours homozygotes) permettent de séparer les différentes « espèces » alors que les inversions flottantes (homozygotes ou hétérozygotes) permettent de séparer les cytotypes d'une même paire. Il est cependant nécessaire de considérer 2 sortes d'inversions flottantes. L'une concerne les inversions flottantes « déterminantes » pour les cytotypes selon qu'elles se trouvent à l'état homozygote standard, hétérozygote ou homozygote inversé. L'autre concerne les inversions flottantes « non déterminantes » dont l'existence à l'état homozygote ou hétérozygote n'a pas de valeur déterminante; elles présentent seulement une valeur indicative sur la composition du pool génétique d'une population donnée. Dans la suite de ce travail nous réserverons le terme d'inversion « flottante » aux inversions « non déterminantes »; quant aux inversions « déterminantes » pour les cytotypes, nous les appellerons « standard », « hétérozygote » ou « homozygote » selon leur état d'homozygote standard, d'hétérozygote ou d'homozygote inversé.

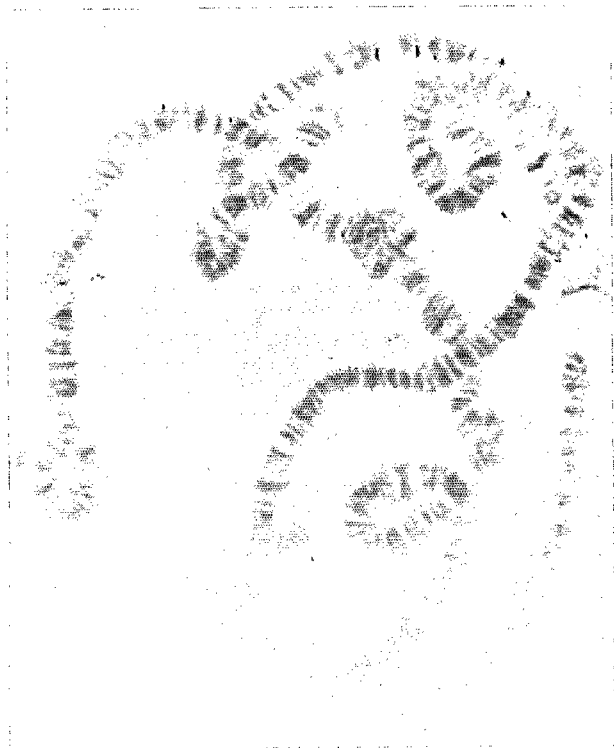
4.2. Les particularités chromosomiques des divers cytotypes.

Si nous considérons tout d'abord le chromosome I, chez le standard choisi Bille et chez Yah il porte uniquement les inversions fixes IS_1 et IL_3 caractéristiques du sous-groupe Nile (fig. 3). La paire Nile-Sirba possède de plus l'inversion fixe IL_1 et la paire Bandama-Soubre diffère du standard par l'inversion fixe IL_{3-6} . Il est donc possible en comparant l'extrémité du bras long du premier chromosome de différencier les 3 paires cytotaxonomiques. Pour plus de clarté nous avons représenté côte à côte sur la figure 4 les extrémités du bras long du chromosome I des 3 paires.

Le chromosome II (fig. 5) permet d'identifier les 2 cytotypes à l'intérieur d'une même paire. Pour Bille-Yah, Bille est standard pour la branche longue du chromosome II alors que Yah possède l'inversion II_{18} à l'état

PLANCHE I

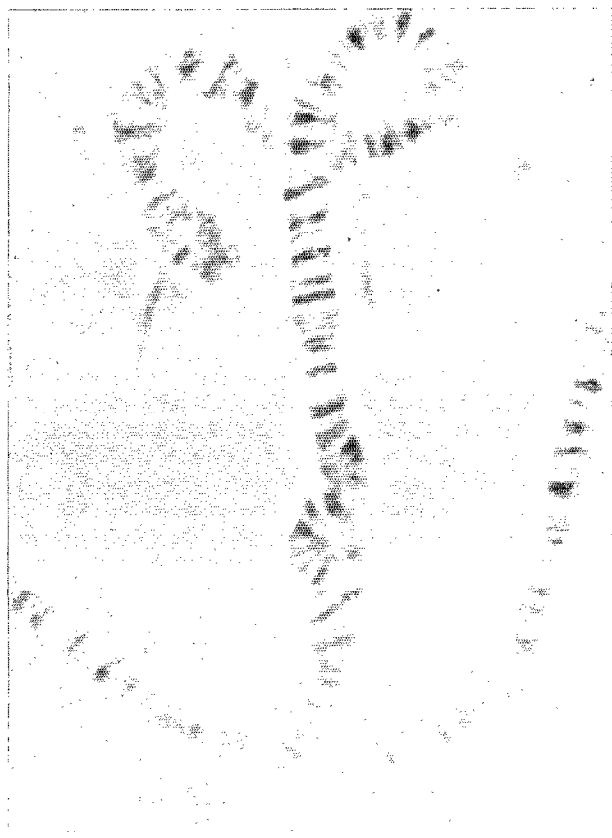
1. Inversions flottantes hétérozygotes $IS_2 + IS_3$.



2. Inversions flottantes hétérozygotes IS_3 , IL_2 et IIL_7
(boucle d'inversion ouverte).

PLANCHE II

1. Inversion flottante hétérozygote IILC₈.



2. Inversion flottante hétérozygote IIIL₆.

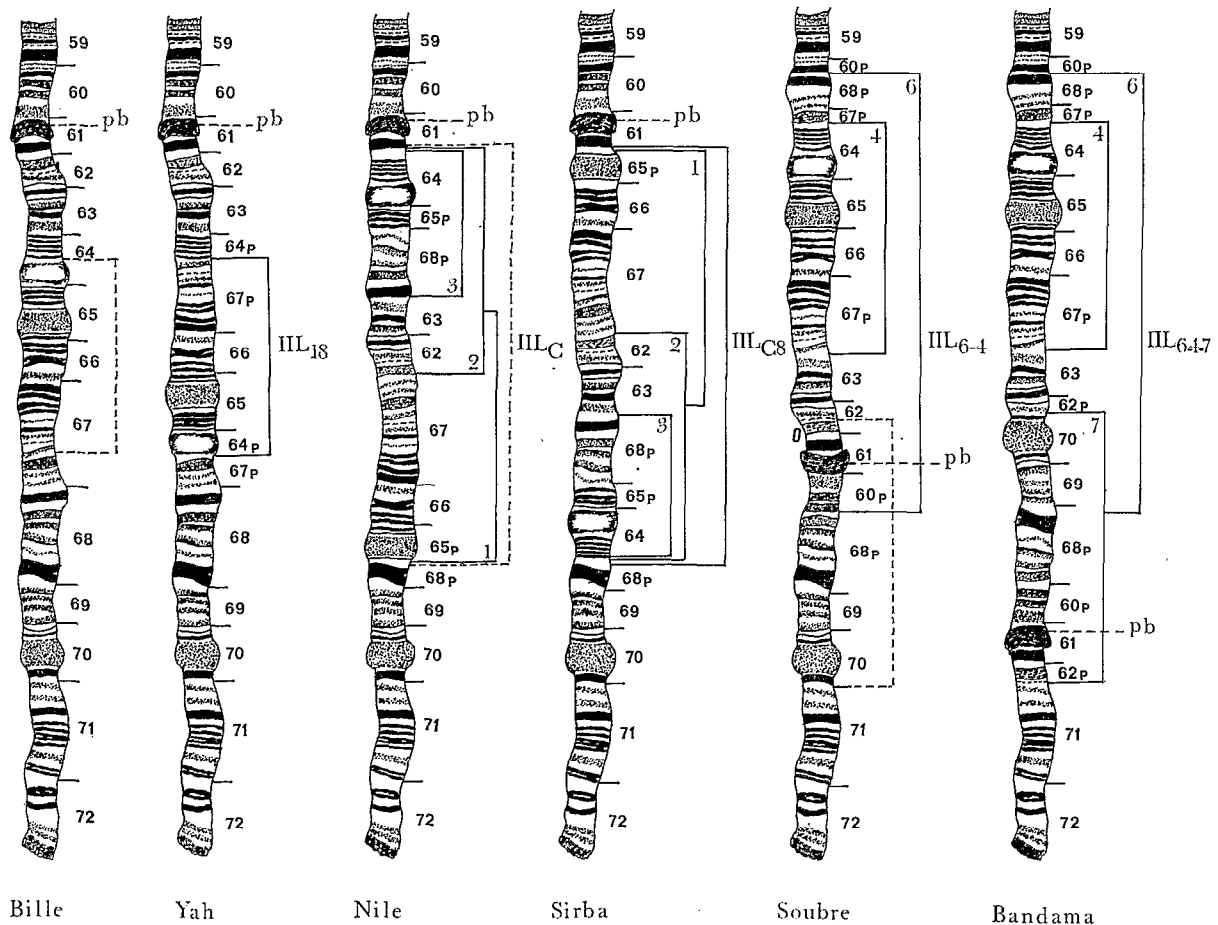


FIG. 5. — Détermination des 6 cytotypes par comparaison de l'extrémité du chromosome II.

pb : parabalbani.

homozygote ou hétérozygote. D'après VALIME (comm. person.) cette inversion chez Yah serait liée au sexe, les femelles étant homozygotes et les mâles hétérozygotes pour IIL_{18} (rappelons que chez « Yah » il y a fusion centromérique). Pour la paire Nile-Sirba on note la présence sur le bras long du chromosome II d'un complexe d'inversions que nous avons interprété comme formé de 3 inversions successives $IILC_1$, $IILC_2$ et $IILC_3$. Chez Nile, considéré comme le plus proche du standard Bille, VALIME pense que cette inversion complexe est également liée au sexe. Elle est standard pour les femelles et hétérozygote pour les mâles. Chez Sirba où elle n'aurait plus de relation avec le sexe, elle est homozygote. Enfin pour Bandama-Soubré l'inversion IIL_7 est homozygote chez Bandama et standard chez Soubré. Au cours de notre étude de la répartition géographique des cytotypes qui fera l'objet d'une publication prochaine, nous avons trouvé de très nombreux hétérozygotes IIL_{4-6}/IIL_{4-6-7} ce qui laisse pen-

ser qu'en fait Bandama et Soubré forment un seul et même cytotype, du moins en Côte d'Ivoire.

Le chromosome III (fig. 6) donne quelques informations supplémentaires. Il est standard chez Bille-Yah; chez Bandama-Soubré il possède les inversions fixes IIL_4 , IIL_4 et IIL_{17+2} ; chez Nile il possède l'inversion fixe IIL_2 et chez Sirba il possède de plus l'inversion IIL_6 à l'état homozygote (rarement hétérozygote). Cette même inversion se retrouve à l'état hétérozygote chez Nile.

Ces diverses inversions fixes ou déterminantes nous permettent d'établir une clé de détermination des cytotypes.

Inversions fixes

- $IS_1 + IIL_3$ Bille-Yah
- IIL_{18} standard Bille
- IIL_{18} hétérozygote Yah (mâle)
- IIL_{18} homozygote. Yah (femelle)

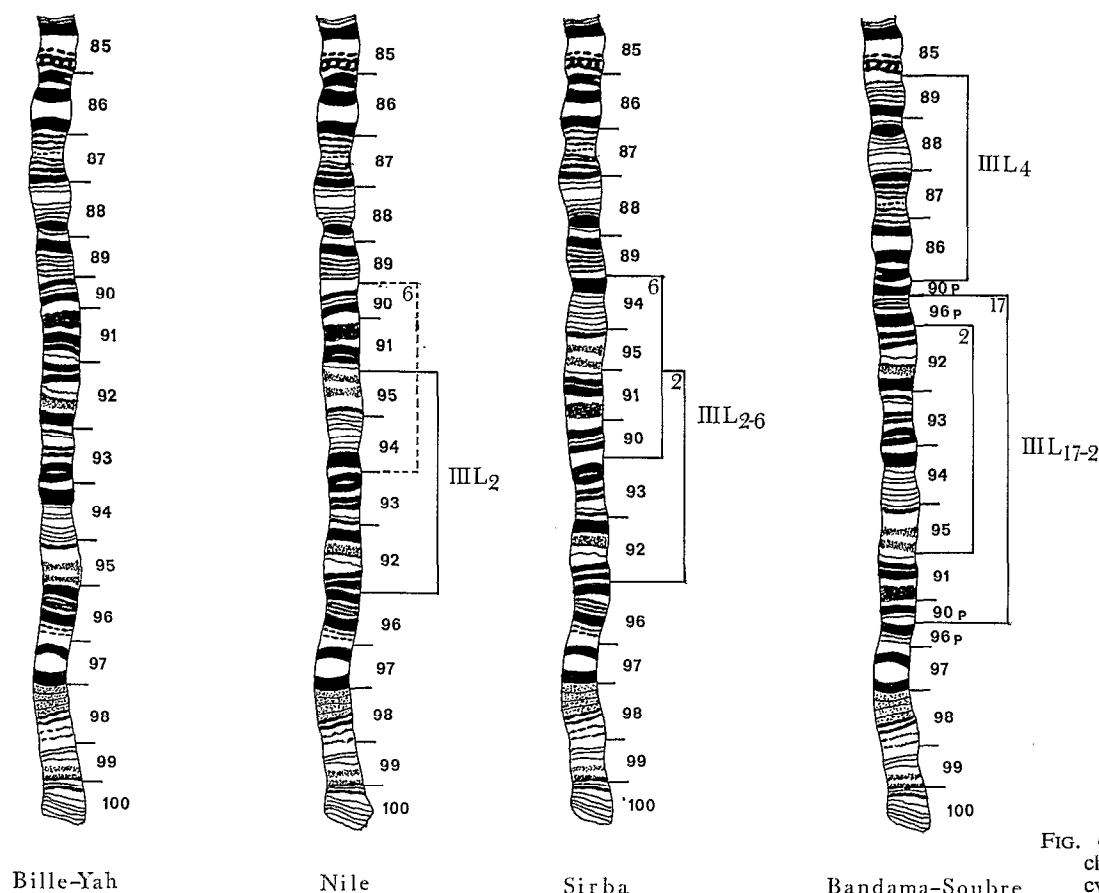


FIG. 6. — Extrémité du chromosome III des 6 cytotypes.

- $IS_1 + IL_3 + III L_2$ Nile-Sirba
- $IIIC_8$ standard Nile (femelle)
- $IIIC_8$ hétérozygote Nile (mâle)
- $IIIC_8$ homozygote Sirba

- $IS_1 + IS_2 + IL_{3-12}$
 + $IIIC_8$ Diégouéra (pour information)

- $IS_1 + IL_{3-6} + III L_{4-6}$
 $III L_3 + III L_{17+2}$ Bandama-Soubre
- $III L_7$ standard Soubre
- $III L_7$ hétérozygote « Hybride »
 Bandama-Soubre
- $III L_7$ homozygote Bandama

Toutes ces inversions, ainsi que les diverses inversions flottantes, sont regroupées sur les « idiogrammes » des 6 cytotypes (fig. 7). Sur ces idiogrammes les inversions fixes et homozygotes sont figurées sur la gauche et les inversions flottantes sur la droite.

4.3. Les spectres d'inversions flottantes.

Il est facile de constater que les cytotypes eux-mêmes sont sujets à variations lorsque leur aire de répartition est particulièrement étendue. C'est le cas par exemple pour la paire Nile-Sirba dans notre zone d'étude. Nous ne dissociions pas les 2 cytotypes puisqu'ils possèdent pratiquement les mêmes inversions flottantes (au sens large du terme, c'est-à-dire toutes les inversions autres que les inversions fixes). Si nous observons les préparations chromosomiques en tenant compte uniquement des inversions à l'état hétérozygote qui sont facilement repérables grâce à la présence de boucles d'inversions, on est frappé par la diversité existant même sur un faible échantillon.

Nous reviendrons plus en détail sur cette variation interne des cytotypes lorsque nous publierons les résultats de notre étude sur leur répartition géographique. Nous pouvons cependant dire dès à présent que le spectre des inversions flottantes semble devenir de plus en plus complexe lorsque l'on s'éloigne du centre de la zone de répartition d'un cytotype et de plus en plus simple lorsque

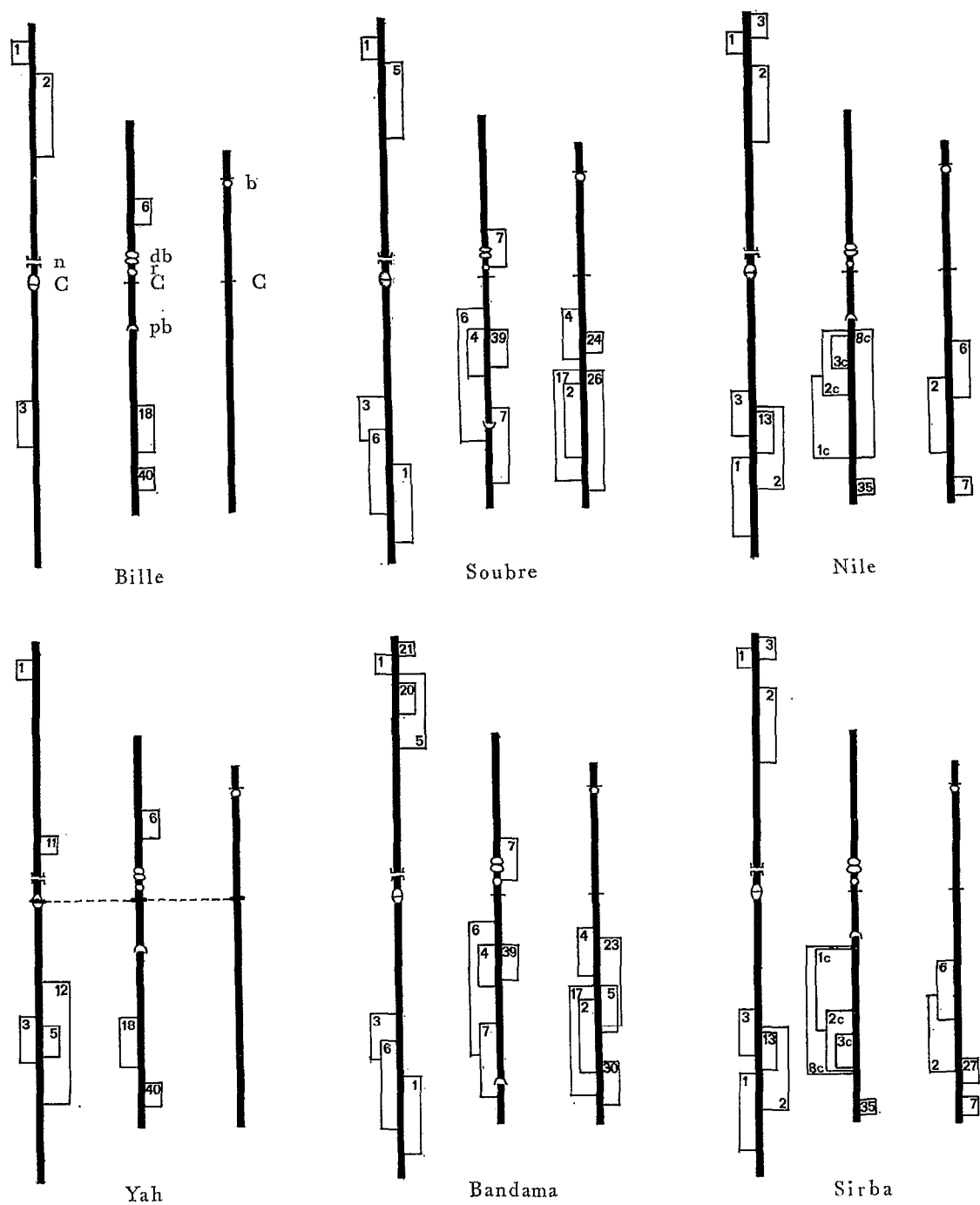


FIG. 7. — Idiogrammes des 6 cytotypes.

nous approchons du centre de cette aire. Ceci semble confirmé par la découverte à la limite nord de répartition des cytotypes Nile-Sirba (Bandiagara, zone subsaharienne du Mali, 14 °N), de spectres d'inversions flottantes similaires à ceux de la limite sud (Bonzi-Gangoro, zone forestière de Côte d'Ivoire).

4.4. Les particularités morphologiques des cytotypes.

Parallèlement aux études chromosomiques nous avons pu noter que les divers cytotypes sont une morphologie larvaire différente en ce qui concerne en particulier la présence et la netteté des tubercules dorsaux, la densité et la forme des écailles tégumentaires (QUILLÉVÉRÉ, 1974). Cela est surtout intéressant pour le cytotype Yah dont les tubercules sont particulièrement développés et les écailles denses et de grande taille. Ces caractères permettent de le distinguer des cytotypes Bandama et Soubre que l'on trouve dans les mêmes gîtes et qui eux n'ont pas de tubercules et ont des écailles petites et peu denses. Nous devons approfondir ces études de morphologie comparée et les étendre aux différents stades, nymphes et adultes et ce à l'aide du microscope électronique à balayage.

5. DISCUSSION DES RÉSULTATS.

5.1. Cartes chromosomiques.

Il nous faut tout d'abord remarquer que les cartes chromosomiques sont sujettes à variations compte-tenu de l'aspect changeant des bandes et du coefficient d'erreur dû à leur interprétation. L'aspect des bandes dépend en effet de l'âge de la larve étudiée, de la fixation, de la coloration et de l'étalement des chromosomes. Il n'est donc pas toujours facile de « lire » correctement ces bandes. De plus certaines inversions se chevauchent les unes les autres ou s'annulent plus ou moins ce qui rend l'interprétation parfois problématique. C'est ainsi que dans un précédent rapport (QUILLÉVÉRÉ, 1974) l'inversion III_{17+2} nous avait échappé, l'inversion III_2 annulant en grande partie l'inversion III_{17} . De même si nous comparons l'idiogramme de Nile publié par DUNBAR en 1966 et celui publié par DUNBAR et VAJIME en 1971 nous constatons que sur le premier sont indiquées une inversion fixe (IL_1) et 5 inversions flottantes, sur le second 4 inversions fixes (IS_1 , IL_3 , IL_1 , III_2) et 10 inversions flottantes. Nous pouvons cependant dire qu'actuellement les cytotypes sont bien connus ainsi que les diverses inversions. Le seul problème délicat reste le complexe $IILC_8$ présent chez Nile-Sirba et Diéguéra. Après étude de nombreuses larves et comparaison de plusieurs photographies et dessins nous avons proposé une interprétation tenant compte

de l'agencement présumé des bandes. Il serait cependant prématuré d'affirmer qu'il s'agit là de la seule interprétation possible.

5.2. Le déterminisme du sexe.

Le problème posé par le déterminisme du sexe est à revoir entièrement dans le complexe *Simulium damnosum*. Les travaux effectués jusqu'à présent dans cette voie par DUNBAR (comm. person.) et VAJIME & DUNBAR (1974) ont été basés sur une étude statistique des inversions chromosomiques. Après avoir déterminé le sexe des larves grâce aux ébauches génitales, les auteurs ont évalué mathématiquement quelle inversion flottante du spectre avait la plus forte probabilité d'être liée au sexe. Ensuite compte-tenu du résultat obtenu, ils ont testé divers systèmes sexuels permettant d'expliquer au mieux les pourcentages obtenus de larves présentant l'inversion choisie à l'état hétérozygote, homozygote inversé ou standard. Ils ont retenu le système sexuel présentant également la plus grande « probabilité ». Ces statistiques ayant de plus été effectuées à partir d'échantillons restreints (200 à 300 larves) et très disséminés dans l'espace et dans le temps, les résultats obtenus se sont révélés difficilement interprétables.

C'est ainsi que les cytotypes Bille et Yah très proches du point de vue chromosomique auraient des systèmes sexuels différents portés par des chromosomes différents et il en serait de même pour Nile et Sirba. De plus certaines inversions détermineraient le sexe pour un cytotype et n'auraient aucune valeur sexuelle pour le cytotype voisin (ex : $IILC_8$ et IS_3). Au cours de notre propre étude nous avons pu mettre en évidence de nombreuses exceptions aux règles établies. C'est ainsi que nous avons trouvé à plusieurs reprises dans différents gîtes, des larves présentant les inversions $IILC_8$ et IS_3 à l'état hétérozygote (inversions caractéristiques des mâles chez Nile ou des mâles chez Sirba) et qui étaient des larves femelles. De même nous avons trouvé à plusieurs reprises des larves mâles de Yah avec l'inversion III_{18} homozygote et non hétérozygote.

Tout cela nous incite donc à beaucoup de prudence et il nous paraît tout à fait prématuré de considérer les résultats obtenus par DUNBAR et VAJIME comme définitifs.

5.3. Espèces, cytotypes et populations.

Dans l'état actuel des connaissances sur le complexe *Simulium damnosum* la seule solution scientifiquement acceptable est de considérer comme des « espèces » les entités séparables par une ou plusieurs inversions fixes. Nous pouvons donc considérer que le complexe *Simulium*

damnosum comporte en Afrique de l'ouest 4 espèces : « Nile-Sirba », « Bandama-Soubre », « Bille-Yah », et « Diéguéra »; ce qui correspond tout à fait au découpage proposé par VAJIME (1972). Les cytotypes quant à eux ne sauraient tout au plus être considérés que comme des sous-espèces voire des populations différentes au sein d'une espèce.

Seule une étude précise de la génétique des populations pourra d'ici quelques années apporter une réponse cohérente aux divers problèmes en suspens.

5.4. Étude de la génétique des populations.

La grande diversité des types cytologiques chez *Simulium damnosum* (18 cytotypes décrits jusqu'à présent) ne peut s'expliquer uniquement par une recombinaison de gènes lors d'un crossing-over méiotique. Le processus primordial est celui de la dérive génique, continuellement engendrée par la création de sous-populations à partir d'un nombre restreint d'individus isolés de populations plus importantes. Chez *S. damnosum* cela est dû à plusieurs facteurs concomitants tels que la puissance de dispersion des femelles, l'alternance « saison des pluies — saison sèche », et aussi artificiellement, les campagnes insecticides (LE BERRE, 1966).

Lors de la formation de ces sous-populations, la proportion des différents types géniques responsables de l'adaptation au milieu peut être mauvaise par le seul fait du hasard, la loi des grands nombres ne jouant plus. Le « polymorphisme balancé » de la sous-population devra donc se reconstituer à partir de quelques individus au stock génique mal équilibré dans lequel certains des gènes de la population mère sont absents. Les conditions sélectives du milieu ayant en outre toutes chances d'être un peu différentes, d'autres gènes seront sélectionnés et la composition génétique de la sous-population isolée se différenciera de plus en plus de la population mère.

Il y a donc là matière à une étude précise de la phylogénie et de la spéciation. Il ne faut cependant pas oublier que la cytotaxonomie est avant tout un outil et un point de départ pour une étude bioécologique des divers cytotypes de *S. damnosum* et de leur rôle respectif dans l'épidémiologie locale de l'onchocercose.

6. CONCLUSIONS.

6.1. Résultats acquis.

Nous pensons qu'à l'heure actuelle, exception faite des systèmes sexuels, le complexe *S. damnosum* est bien connu du point de vue cytotaxonomique en Afrique de l'ouest comme en Afrique de l'est. Par contre tout reste encore à faire en Afrique centrale.

Nous possédons des cartes chromosomiques précises permettant l'identification des différents cytotypes et de leurs variations internes. Il nous paraît peu probable que de nouveaux cytotypes soient décrits en Afrique de l'ouest. Il ne pourrait s'agir dans le cas contraire que de cytotypes rares dont l'aire de répartition serait très réduite comme cela est le cas pour Diéguéra.

6.2. Perspectives d'avenir.

Comme nous l'avons dit précédemment, l'étude cytotaxonomique du complexe *S. damnosum* ne constitue pour nous qu'une base de départ pour l'étude écologique, biologique et épidémiologique des différents membres du complexe. Nous avons déjà établi une carte de répartition géographique des cytotypes principalement en Côte d'Ivoire et nous la publierons prochainement.

Le démarrage de la campagne de lutte contre *S. damnosum* s.l. en zone de savane d'Afrique occidentale donnera une accélération certaine aux programmes de recherche fondamentale et appliquée concernant le vecteur.

7. REMERCIEMENTS.

Il m'est un agréable devoir de remercier ici MM. PHILIPPON et BRUNHES qui ont assuré la Direction de ce travail et m'ont conseillé tout au long de la rédaction. Je tiens également à remercier M. DIALLO Souleymane, auxiliaire de laboratoire, pour sa précieuse collaboration technique. Je veux enfin remercier mes collègues du Centre entomologique de l'Onchocercose MM. PENDRIEZ, SÉCHAN, MONDET, ÉSCAFFRE, GRÉBAUT, ÉLOUARD, BERL, ELSÉN ainsi que MM. LE BERRE, BALDREY et PANGALET, Entomologistes du Programme de Lutte contre l'Onchocercose et M. CARLSSON, Professeur à l'Université d'Helsinki (Suède) pour le matériel d'étude qu'ils ont bien voulu me recueillir.

Manuscrit reçu au S.C.D. de l'O.R.S.T.O.M., le 14 mars 1975.

BIBLIOGRAPHIE

- AMIRKHAJIAN (J. D.), 1968. — A combined HCL-Acetic. Alcohol fixation and Hydrolysis followed by cresyl violet staining for mosquito chromosome spreads. *Stain Technology*, 43, 167-170.
- BLACKLOCK (D. B.), 1926. — The development of *O. volutus* in *S. damnosum* Theo. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 20, 1-48.
- DUNBAR (R. W.), 1966. — Four sibling species included in *Simulium damnosum* Theobald (Diptera- Simuliidae) from Uganda. *Nature*, 209, 597-599.
- DUNBAR (R. W.), 1969. — Nine cytological segregates in the *Simulium damnosum* complex (Diptera, Simuliidae). *Bull. Org. Mond. Santé*, 40, 974-979.

- DUNBAR (R. W.) et VAJIME (Ch. G.), 1971. — Étude cytotoxonomique du complexe *Simulium damnosum*. *WHO / Oncho* /71-87, 5 p.
- DUNBAR (R. W.) et VAJIME (Ch. G.), 1972. — Le complexe *Simulium (Edwardsellum) damnosum*: rapport sur les études cytotoxonomiques effectuées jusqu'en avril 1972. *WHO / Oncho* /72-100, 13 p.
- LE BERRE (R.), 1966. — Contribution à l'étude biologique et écologique de *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera, Simuliidae). *Mémoires O.R.S.T.O.M.*, n° 17, 204 p.
- OVAZZA (M.), 1971. — Notes sur l'étude cytotoxonomique des Simulies et en particulier de *S. damnosum*. *Rapport dactylographié, O.R.S.T.O.M.*, 12 p.
- QUILLÉVÉRÉ (D.), 1974. — Étude cytotoxonomique du complexe *Simulium damnosum* en Afrique occidentale. III. Cartes chromosomiques et répartition géographique des cytotypes. *Rapport multigraphié O.C.C.G.E., Centre Entomologique de l'Onchocercose*, n° 79 /*Oncho /Tech.* /74, 41 p.
- VAJIME (C. G.) and DUNBAR (R. W.), 1974. — Siblings and sex of *Simulium damnosum* complex from West Africa. *Proc. 3rd Int. Congr. Parasitology, Munich, 1974*, 2, 860-861.