

Étude allozymique chez *Lutzomyia umbratilis* (Diptera, Psychodidae), vecteur de la leishmaniose en Guyane française

Michel TIBAYRENC*
Marie-Louise CARRIOU**
Bertrand CORNEAU***
François Xavier PAJOT****

Résumé

Les auteurs étudient le type électrophorétique de 6 enzymes (8 loci) chez *Lutzomyia umbratilis*, vecteur de la leishmaniose cutanée en Guyane française. Pour 2 de ces loci, les fréquences alléliques sont calculées, et une comparaison est faite entre population de sol et de canopée.

Mots-clés : Phlébotome – Électrophorèse – Enzymologie – Guyane française.

Summary

AN ALLOZYMIC STUDY IN LUTZOMYIA UMBRATILIS (DIPTERA, PSYCHODIDAE), VECTOR OF LEISHMANIASIS IN FRENCH GUIANA.

The authors study the electrophoretic type of 6 enzymes (8 loci) in *Lutzomyia umbratilis*, which is vector of cutaneous leishmaniasis in French Guyana. For 2 of these loci, the allelic frequencies are calculated, and a comparison of 2 populations (ground level and canopy) is made.

Key words : Sand-fly – Electrophoresis – Enzymology – French Guiana.

A notre connaissance, la technique des zymogrammes n'a été appliquée aux phlébotomes que dans le travail de Miles & Ward (1978), approche technique préliminaire ne comportant pas d'analyse génétique.

En Guyane française, le vecteur de la leishmaniose cutanée est *Lutzomyia umbratilis* (Le Pont, Pajot, Reguer, 1980). Ce phlébotome présente une aire de répartition très vaste, et il est permis de soupçonner en fait l'existence d'un complexe d'espèces jumelles. Nous avons choisi d'aborder ce problème par la méthode des allozymes.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les phlébotomes ont été piégés sur appât humain :
— en juillet 79, au sol, sur la piste dite de St-Élie (zone de forêt primaire située à 12 km à l'ouest de Cayenne) : population 1 ;
— en octobre 79, au même endroit, en canopée : population 2 ;
— en septembre 79, en canopée, à Montsinery (piste dite du FRG, 70 km SW de Cayenne, forêt primaire) : population 3.

* Entomologiste médical, O.R.S.T.O.M., B.P. 165, 97300 Cayenne, et S.S.C. O.R.S.T.O.M., 70, route d'Aulnay, 93140 Bondy.

** Maître de recherche C.N.R.S., laboratoire de Génétique évolutive, 91190 Gif/Yvette.

*** Pharmacien-chimiste des Armées, Institut Pasteur de la Guyane, 97300 Cayenne (Directeur : Dr Y. Robin).

**** Entomologiste médical, O.R.S.T.O.M., B.P. 165, 97300 Cayenne.

A l'institut Pasteur de Cayenne, nous avons conduit les électrophorèses sur acétate de cellulose (matériel HELENA) pour les enzymes phosphoglucomutase et isocitrate déshydrogénase (techniques inspirées de celle de Kreutzer *et coll.*, 1977), chaque spécimen étant broyé dans 10 microlitres de « stabilisateur d'enzyme » (Miles & Ward, 1978) après détermination par examen extemporané des spermatozoaires.

Au laboratoire de Génétique évolutive de Gif, sur des spécimens envoyés de Guyane dans la neige carbonique, nous avons poursuivi les manipulations en acétate de cellulose. Nous avons d'autre part utilisé les enzymes estérase, tétrazolium oxydase, malate déshydrogénase et xanthine déshydrogénase en gels tubulaires de polyacrylamide (procédés notés par Carriou 1977). Avec cette 2^e technique, chaque spécimen a été broyé dans 10 microlitres de stabilisateur d'enzyme, puis mêlé à 30 microlitres d'une solution de saccharose à 40 %.

4 allèles, que l'on désigne par a, b, c, d (du plus rapide au plus lent). Les données numériques pour les 2 populations sont consignées dans le tableau I. Les résultats semblent montrer 2 populations chacune en équilibre de Hardy-Weinberg, et présentant toutes deux les mêmes fréquences alléliques. Rien ne per-

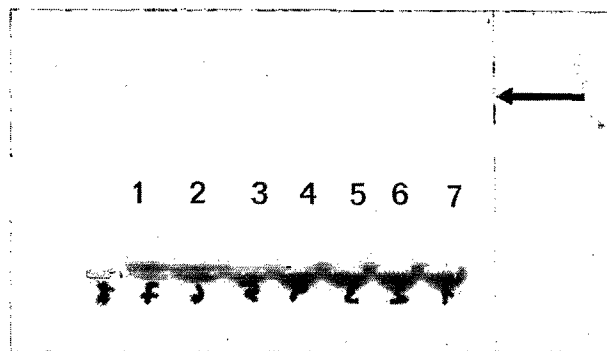


PHOTO 1. — PGM sur acétate de cellulose.

2. RÉSULTATS

PGM sur acétate de cellulose (photo 1 et fig. 1)

La révélation pour cette enzyme est exceptionnellement bonne. Les résultats semblent indiquer une commande génétique simple : enzyme monomérique codée par un seul gène, au locus duquel ségrègent

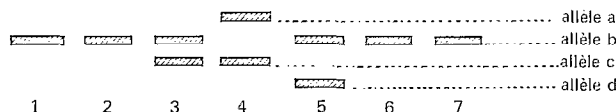


FIG. 1. — Diagramme de la photo 1.
1, 2, 6, 7 : homozygotes b/b. 3 : hétérozygote b/c.
4 : hétérozygote a/c. 5 : hétérozygote b/d.

TABLEAU I

	PGM pop. 1	PGM pop. 2	MDH pop. 3
Nombre specimens testés	104	22	55
nombres allèles	4	4	3
Fréquences alléliques	a = 0,091 b = 0,764 c = 0,139 d = 0,005	a = 0,068 b = 0,750 c = 0,159 d = 0,022	a = 0,827 b = 0,064 c = 0,109 —
Fréquences phénotypiques : observées, et théoriques (entre parenthèses)	b/b : 0,557 (0,583) c/c : 0,009 (0,019) a/a : 0,000 (0,008) b/c : 0,240 (0,212) b/a : 0,166 (0,139) b/d : 0,009 (0,007) c/a : 0,019 (0,025)	b/b : 0,545 (0,562) c/c : 0,000 (0,025) a/a : 0,000 (0,004) b/c : 0,272 (0,238) b/a : 0,181 (0,102) b/d : 0,045 (0,033) c/a : 0,045 (0,021)	b/b : 0,018 (0,004) c/c : 0,690 (0,683) a/a : 0,018 (0,011) b/c : 0,090 (0,105) b/a : 0,000 (0,013) — c/a : 0,181 (0,180)

met donc pour l'instant de suspecter l'existence de 2 populations séparées, sol et canopée. Mais les données fournies par l'étude d'un seul locus sont insuffisantes pour trancher.

MDH sur acrylamide (fig. 2)

On n'a pu utiliser que la population 3. On observe des phénotypes à 1 bande et à 3 bandes. On pose l'hypothèse que MDH chez *L. umbratilis* est un enzyme de structure dimère (hétérozygotes à 3 bandes) codée par un seul gène au locus duquel ségrègent

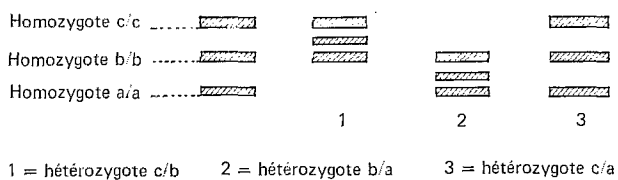


FIG. 2. — diagramme pour MDH (et IDH).

3 allèles a, b, c (du plus rapide au plus lent). Les fréquences phénotypiques ainsi observées sont en accord avec les prévisions de la loi de Hardy-Weinberg (équilibre panmictique). Les données numériques sont jointes à celles de PGM dans le tableau I. Cette enzyme est également révélabale sur acétate de cellulose.

XDH sur acrylamide

Il a été testé un nombre insuffisant de spécimens (8) pour calculer des fréquences alléliques. On observe des phénotypes à 1 et à 3 bandes. On peut postuler que cette enzyme, de structure dimère, est codée par un seul gène au locus duquel ségrègent au moins 2 allèles.

IDH sur acétate de cellulose

La révélation de cette enzyme est capricieuse. Pour les phlébotomes nous n'avons pas pu l'obtenir avec des gels de polyacrylamide, et les résultats sur acétate de cellulose sont inconstants. Sur 8 spécimens testés, on observe des phénotypes à 1 et à 3 bandes. Chez cette enzyme de structure dimère, on constate donc l'existence de 3 allèles. Le cas est donc comparable à celui de MDH (fig. 2).

TO : (acrylamide)

Ce locus semble monomorphe : on observe constamment la présence d'une bande de décoloration unique, aussi bien chez des spécimens pris dans la population 2 que chez d'autres issus de la population 3. Il semble exister un seul gène de commande avec un seul allèle. Du fait de l'absence d'hétérozygotes, on ne peut savoir si cette enzyme est de structure polymère ou non.

Estérase sur acrylamide (photo 2)

18 spécimens testés, pris dans la population 3, ont tous montré le même phénotype : il semble exister 3 zones d'activité différentes (A, B, C sur la photo) : une bande A lente, une bande B très intense, et une double bande rapide C. Ces 3 zones d'activité correspondent sans doute à 3 loci différents.

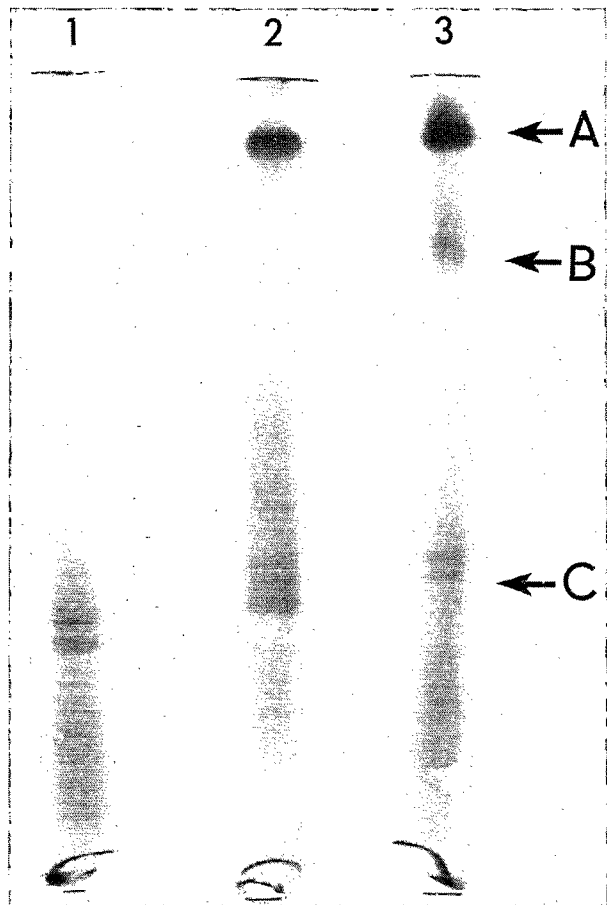


PHOTO 2. — EST sur polyacrylamide.

CONCLUSION

Bien que *Lutzomyia umbratilis* soit une très petite espèce, la présente étude montre que les révélations enzymatiques sont possibles chez elle : une partie des manipulations a même porté sur des spécimens dépourvus d'abdomen, qui avaient été conservés plusieurs mois à — 20° (population 3). Pour des insectes de petite taille comme les phlébotomes, la technique de l'acétate de cellulose est particulièrement précieuse, puisqu'un seul spécimen (broyat de 10 microlitres) autorise la révélation d'au moins 3 enzymes.

8 loci sont d'ores et déjà utilisables. Nous avons pu calculer des fréquences alléliques pour deux d'entre eux (PGM et MDH) et faire des comparaisons de fréquence entre 2 populations pour PGM.

Le travail va maintenant porter sur les points suivants :

— recherche d'autres enzymes utilisables (pour les calculs de distance génétique, on utilise en général au moins 10 loci) ;

— mise au point de la technique sur acétate de cellulose pour d'autres enzymes que PGM, MDH et IDH ;

— comparaison de populations allopatriques avec calculs de distances génétiques, à la recherche d'espèces jumelles.

*Manuscrit déposé au Service des Publications de l'O.R.S.T.O.M.
le 4 mars 1980*

BIBLIOGRAPHIE

- CARRIOU (M. L.), 1977. — Recherches sur le polymorphisme enzymatique du complexe *Jaera albifrons*, Leach (Crustacé, Isopode). Thèse Sciences Paris VI.
- KREUTZER (R. D.), POSEY (F. T.), et BROWN (P. A.), 1977. — A fast and sensitive procedure for identifying genetic variants of phosphoglucomutase in certain genera of mosquitoes. *Mosq. News*, 37 : 407-409.
- LE PONT (F.), PAJOT (F. X.) et REGUER (R.), 1980. — Preliminary observations on the sylvatic cycle of leishmaniasis in French Guiana. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 74, 1 : 133.
- MILES (M.) et WARD (R.), 1978. — Preliminary isoenzyme studies on phlebotomine sandflies (Diptera : Psychodidae). *Ann. trop. Med. Parasit.*, 72 : 398-400.