

MISSION O.R.S.T.O.M.
AUPRES DE L'O.C.C.G.E.

N° 437/69-ORSTOM/Bobo
du 5.11.69

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU COMPLEXE A.GAMBIAE

Rapport n°7

par J. COZ⁺

+ Entomologiste médical, Mission O.R.S.T.O.M. auprès de
l'O.C.C.G.E. Centre MURAZ - BOBO-DIOULASSO.

30 DEC. 1969

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° 73650 ex 1

- P L A N -

I - METHODES DE DETERMINATION

I -1- Méthodes morphologiques

I -1-1- Résultats

I -1-2- Discussion

I -2- Méthodes chromosomiques

I -3- Méthode de croisements

II - REPARTITION GEOGRAPHIQUE

II -1-1- Haute-Volta

II -1-2- Etudes de contrôle

II -2- Mali

II -3- Côte d'Ivoire

II -4- Niger

III - ETUDE DU MAINTIEN EN COLONIES DE MELANGES A-B

I - METHODES DE DETERMINATION

Le problème de détermination est le premier auquel se heurte l'Entomologiste qui désire étudier la biologie des différentes formes du complexe A. gambiae sl. Les méthodes préconisées sont de trois sortes, tout d'abord les méthodes basées sur l'examen de caractères morphologiques externes (COLUZZI, 1964), CHAUVET et al. 1969). Viennent ensuite les méthodes basées sur l'examen des chromosomes (COLUZZI et SABATINI 1967, COLUZZI 1968). Enfin les croisements avec des Souches de référence dont l'identité doit être périodiquement contrôlée.

I-1 - Nous passerons sur les méthodes de détermination d'A. melas Theo. RIBBANS 1944), (MURHEAD-THOMSON 1945), pour étudier les caractères morphologiques susceptibles de séparer les formes A et B : les caractères préconisés par COLUZZI en 1964 étaient plutôt des caractères de souchesque d'espèce et ne doivent pas être retenus. CHAUVET et DESJARDINS (1968), ont effectué une étude exhaustive des différents caractères pour arriver à la conclusion que seuls deux caractères morphologiques étaient susceptibles d'être retenus la Soie Mésothoracique n°1 et la soie transuturale (PURI 1928). De ces deux caractères chétotaxiques, le dernier devait être abandonné (CHAUVET et al., 1969). Pour ces auteurs la soie Mesothoracique n°1 permet "un diagnostic sur des espèces A et B à condition d'utiliser des tailles d'échantillon au moins égales à 25".

Nous avons de notre côté analysé quelques résultats obtenus sur des souches d'Afrique de l'Ouest et obtenus les résultats suivants :

La souche PALA appartenant au groupe A (contrôle génétique et chromosomique) a pour valeurs :

| | | | |
|---|----|---|------------|
| <u>Soie suturale interne</u> - effectif | 78 | - | proportion |
| Soie à deux branches | 4 | - | 0,05 |
| Soie à 1 branche | 74 | - | 0,95 |

Conclusion - B

| | |
|---|-------------------|
| <u>Soie Mésothoracique n°1</u> effectif | 104 |
| moyenne: | $\bar{X} = 29,69$ |

Conclusion - B

La souche KANO appartenant au groupe B (contrôle génétique et chromosomique)

| | | | |
|---|----|---|------------|
| <u>Soie Suturale Interne</u> - effectif | 88 | - | proportion |
| Soie à deux branches | 21 | - | 0,24 |
| Soie à une branche | 67 | - | 0,76 |

Conclusion (plutôt B)

| | |
|---|-------------------|
| <u>Soie Mésothoracique n°1</u> effectif : | 95 |
| moyenne : | $\bar{X} = 30,20$ |

Conclusion : B

Il faut cependant noter que nous observons une valeur légèrement supérieure ou tout au moins sensiblement égale à celle de PALA - A.

- A.gambiae SOMOUSSO (groupe A, contrôle génétique et chromosomique) ; F1 de femelle sauvage.

| | | | |
|------------------------------|------------|----|------------|
| <u>Soie Suturale interne</u> | - effectif | 43 | proportion |
| Soies à 2 branches | - | 17 | 0,40 |
| Soies à 1 branche | - | 23 | 0,53 |
| Soies à 3 branches | - | 3 | 0,07 |

Conclusion - plutôt A

Soie Mésothoracique n°1 - effectif 43
moyenne $\bar{X} = 29,84$

Conclusion : B

- A.gambiae Bambey (Sénégal) - (groupe A, contrôle génétique et chromosomique)

| | | | |
|------------------------------|------------|----|------------|
| <u>Soie Suturale interne</u> | - effectif | 92 | proportion |
| Soies à 2 branches | - | 22 | 0,24 |
| Soies à 1 branche | - | 70 | 0,76 |

Conclusion : plutôt B

Soie Mésothoracique n°1 - effectif 83
moyenne $\bar{X} = 29,40$

Conclusion - Espèce B

- Souche Bobo (groupe A)

| | | | | |
|------------------------------|------------|----|------------|--|
| <u>Soie suturale interne</u> | - effectif | 37 | proportion | |
| Soies à 2 branches | - | 0 | 0 | |
| Soies à 1 branche | - | 37 | 1 | |

Conclusion - B

| | | | |
|---------------------------------|------------|-------------------|--|
| <u>Soies Mésothoracique n°1</u> | - effectif | 53 | |
| | moyenne | $\bar{X} = 31,89$ | |

(zone difficile à déterminer mais plutôt A)

- A.gambiae Pala sauvage (F1 issue d'une femelle sauvage groupe A. contrôle génétique)

| | | | | |
|------------------------------|------------|----|------------|--|
| <u>Soie suturale interne</u> | - effectif | 74 | proportion | |
| Soies à 2 branches | - | 2 | 0,03 | |
| Soies à 1 branche | - | 72 | 0,97 | |

Conclusion - B

| | | | |
|--------------------------------|------------|-------------------|--|
| <u>Soie Mésothoracique n°1</u> | - effectif | 78 | |
| | moyenne | $\bar{X} = 29,19$ | |

Conclusion B

I-1-2 - Discussion

Si on néglige la soie suturale interne qui d'après CHAUVET et al. (1969) est "à abandonner tout au moins dans le cadre des limites initialement proposées", il n'en demeure pas moins que les caractères chétotaxiques de la soie mésothoracique n°1, nous ont fait commettre 4 erreurs de détermination sur 6. Ceci nous permet d'affirmer qu'en Afrique de l'Ouest,

il ne saurait être question d'utiliser ces caractères. La valeur de la méthode ne saurait être discutée pour Madagascar ou sur 33 déterminations les auteurs n'ont commis aucune erreur. A notre avis toutefois ces caractères chetotaxiques ne sont pas des caractères d'espèce, mais de famille et il est possible que du fait de son insularité ou de tout autre raison, les formes A et B du complexe A.gambiae soient nettement plus différenciées à Madagascar que sur le continent.

1-2 - Les méthodes chromosomiques, basées sur les différences qui existent entre les X chromosomes sont peut être plus délicates que les précédentes mais sont plus sûres.

Les larves au stade IV se différencient aisément par deux caractères, l'extrémité du bras droit du X chromosome colorée par l'orceine acétique et la présence d'un "puff" subterminal dans l'espèce B ; l'espèce A possède par contre une extrémité achromatique et un "puff" proche du centromère.

Les femelles au stade III peuvent être également déterminées par l'examen des chromosomes des cellules nourricières des follicules ovariens.

Nous avons voulu comparer les résultats obtenus par ces deux méthodes dans les villages de Koudougou et Koumbia (Tableau n°1) (Haute-Volta).

Tableau n°1

| LOCALITE | C L ⁺ | | C F ⁺⁺ | |
|-----------|------------------|----|-------------------|----|
| | A | B | A | B |
| Koudougou | 10 | 11 | 10 | 7 |
| Koumbia | 17 | 5 | 94 | 15 |
| TOTAL | 27 | 16 | 104 | 22 |

+ (X chromosome larvaire)

++ (X " des femelles)

L'analyse statistique des résultats obtenus nous indique une différence significative au seuil de 5% (chi deux = 6,08 pour 1 degré de liberté). Cette différence observée peut provenir de trois raisons : la première est que l'analyse porte sur un effectif insuffisant, la seconde qu'il est plus facile d'élever des larves de B que de A, la troisième enfin que la lecture des chromosomes des femelles est plus difficile que celle des larves. Tout particulièrement le diagnostic de femelle de B présente quelques difficultés car l'extrémité du X chromosome si elle possède des ponctuations chromatiques importantes, n'a pas de "puff". L'extrémité du XA est facile à reconnaître même sur la femelle et permet donc de déterminer des chromosomes au demeurant pas très beaux.

1-3 - La méthode de croisement est excellente mais du fait du temps nécessaire à la réaliser, elle ne peut plus être utilisée que comme une méthode de contrôle.

II - REPARTITION GEOGRAPHIQUE

II-1-1 - Etude géographique des différentes formes d'A.gambiae (République de Haute-Volta) (Tableau 2)

| LOCALITE | Coordonnées géographiques | | Mois, Année | | Nature d' <u>A.gambiae</u> et Méthode de Détermination |
|--------------|---------------------------|------------------|-------------|------|--|
| | latitude | longitude | | | |
| OUAGADOU-GOU | 12°22'N | 1°32'0 | Mai | 1969 | Chromosome larvaire + 6 A |
| IMASSOGO | 12°26'N | 2°20'0 | Mai | 1969 | 2 B (CL) |
| KOUDOUGOU | 12°15'N | 2°22'0 | Mai | 1969 | 3 A { (CL) |
| | | | | | 3 B { (CL) |
| | | | Juin | 1969 | 5 A { (CL) |
| | | | | | 5 B { (CL) |
| | | | Juillet | 1969 | 2 A { (CL) |
| | | | | | 1 B { (CL) |
| Septembre | 1969 | 8 A { C.Femelle+ | | | |
| | | 6 B { C.F | | | |
| KAYA | 13°5'30"N | 1°5'0 | Juin | 1969 | 2 B - C.L |
| | | | | | 2 A { C.F |
| | | | | | 1 B { C.F |
| KOUMBIA | 11°14'N | 3°42'0 | Juillet | 1969 | 14 A { CL |
| | | | | | 5 B { CL |
| | | | | | 51 A { CF |
| | | | | | 6 B { CF |
| | | | Août | 1969 | 3 A CL |
| | | | | | 43 A { C.F. |
| | | | | | 9 B { C.F. |

Tableau 2 (Suite)

| | | | | | | |
|-----------|---------|--------|---------|------|-----|--------------------------|
| DI | 13°10'N | 3°25'O | Juillet | 1969 | 3 A | C.L |
| PALA | 11°09'N | 4°14'O | Juin | 1969 | 2 A | C.L (maisons) |
| | | | | | 4 A | C.F (maisons) |
| | | | Juillet | 1969 | 5 A | C.F (puits de M.Thomson) |
| TENKODOGO | 11°47'N | 0°23'O | Juillet | 1969 | 3 A | C.F |

+ chromosome larvaire (CL)
 chromosome des femelles (CF)

II-1-2 - Etudes de contrôle

- Koudougou pour contrôler nos déterminations, des adultes obtenus à partir de larves appelées B à l'examen du bras droit de l'hétérosome ont été croisées avec A.gambiae A:

- mâles de Koudougou x femelles de Pala

F1 - mâles 56 \downarrow femelles 61

- fertiles:0

- stériles:55

- Imassogo .- des adultes obtenus à partir de larves déterminées comme B ont été croisées avec du A.

- mâles de Imassogo x femelles de Pala A

F1 - mâles: 9 \downarrow femelles 10

- fertiles:10

- stériles 9

Tableau 3

II-2 - République du MALI

Etude géographique des différentes formes d'A.gambiae

| LOCALITE | Coordonnées géographiques | | Mois, année | Nature d' <u>A.gambiae</u> et Méthode de détermination |
|--------------------|---------------------------|-----------|----------------|--|
| | Latitude | Longitude | | |
| FOUROU | 10°45'N | 6°10'0 | Juin 1969 | 1 A - CL |
| SIKASSO | 11°20'N | 5°40'0 | " | 1 A - CL |
| LOULOUNI | 10°41'N | 5°31'0 | " | 1 A - CL |
| BOUGOUNSO | 12° 4'N | 5°10'0 | " | 3 A - CL |
| SOURKOU DIGA | 10°56'N | 5°45'0 | " | 1 A - CL |
| ZANGASSO | 12° 1'N | 5°37'0 | " | 1 A - CL |
| KARANGASSO | 12°16'N | 5° 2'0 | " | { 1 A - CL 2 B - CL |
| KONZANSO | 10°55'N | 5°57'0 | " | 1 A - CL |
| KEMENI | 13° 'N | 5°31'0 | " | 1 A - CL |
| OURE | 11°22'N | 7°22'0 | Juillet 1969 | 9 A - CL |
| TIENDO | 12°34'N | 6°49'0 | " | 1 A chromo.larve |
| BOUGOUNI | 11°25'N | 7°29'0 | " | 5 A - CL |
| SOKOLO | 11°22'N | 7°35'0 | " | 2 A - CL |
| KOLA | 12°20'N | 6°41'0 | " | 7 A - CL |
| DOMI | 12°26'N | 6°47'0 | " | 1 A - CL |
| DIARABOUGOU | 12°31'N | 6°49'0 | " | 4 A - CL |
| FOULABOULA | 11°22'N | 7°33'0 | " | 1 A - CL |
| SEREBOU- GOUFIE | 13°24'10"N | 6°12'0 | Septembre 1969 | (18 A - CF (4 B - CF |
| SEKORO | 13°24'N | 6°21'0 | " | (10 A - CL (4 B - CL |
| SEGOU | 13°21'N | 6°23'0 | " | (1 A - CL (3 B - CL |

...../.....

Tableau 3 (Suite)

| | | | | |
|------------|---------|-------|----------------|------------------------|
| KIRANGO | 13°42'N | 6° 5' | Septembre 1969 | 1 A - CL |
| MARKALA | 13°41'N | 6°5' | " | (2 B - CL 1 A - CL |
| M'PEBOUGOU | 13°38'N | 6° 4' | " | 1 A - CL |

II-3 - République de Côte d'Ivoire (Tableau 4)

| LOCALITE | Coordonnées géographiques | | Mois, année | Nature d' <u>A.gambiae</u> et Méthode de détermination |
|-----------|---------------------------|-----------|-------------|--|
| | Latitude | Longitude | | |
| SASSANDRA | 4°57'N | 6° 5'0 | Mai 1969 | 1 A - CL |
| S.P.T.R. | 5°23'N | 6°13'0 | | 1 A - CL |
| SAN-PEDRO | 4°44'N | 6°37'0 | | 5 <u>A.melas</u> Peigne de la larve |

II-4 - République du NIGER

LOCALITE

| | | | |
|-----------------|---------------------|---|----------------------|
| Niamey | Mariage | | |
| (Décembre 1968) | 1)- Mâles de Niamey | x | femelles Kano (B) |
| | - 87 mâles | - | 68 femelles |
| | - disséqués: 10 | | |
| | - fertiles : 10 | | |
| | 2)- Mâles de Niamey | x | femelles de Pala (A) |
| | - 1 mâle | - | 3 femelles |
| | - 1 stérile | | |

- Conclusion.- Les Anophèles de Niamey étudiés appartiennent à la forme B

III - ETUDE DU MAINTIEN EN COLONIE DES MELANGES A ET B ISSUS
DE TORODI (RAPP. 499/ORSTOM/BOBO) EN NOVEMBRE 1968.

III-1 - 18 Novembre 1968. Vérification d'hybridation des F1 issues de femelles sauvages par l'observation des chromosomes des glandes salivaires (de la F2) nous avons pu observer des larves présentant deux bras droits d'hétérosomes, un appartenant à la forme B, l'autre à la forme A.

- 21 Novembre 1968. La confirmation des résultats obtenus en début Novembre 1968 par l'examen des chromosomes des F1 issues de sauvages nous était donnée par des mariages de contrôle.

| | | |
|-----------------|----|-----------------------|
| Mâles de TORODI | x | femelles de Pala. (A) |
| - mâles : | 41 | - femelles 54 |
| - fertiles : | 11 | |
| - stériles : | 16 | |

| | | |
|-----------------|----|----------------------|
| Mâles de TORODI | x | femelles de Kano (B) |
| - mâles : | 27 | - femelles 43 |
| - fertiles : | 13 | |
| - stériles : | 21 | |

Ces deux expérimentations jointes au fait que nous avons démontré la présence de larves hybrides nous amenaient à conclure définitivement à un mélange de A et B.

La colonie était alors divisée en deux, une partie étant placée dans une pièce de l'insectarium à humidité relative élevée 80-90% (Torodi 2), l'autre dans une pièce à humidité plus basse, de l'ordre de 30 à 40% (Torodi 1).

III-2 - 16 Mai 1969, 3 mâles de Torodi 2 disséqués sont trouvés fertiles.

Le 27 Mai 1969, le mariage Pala (A) par Torodi nous donne les résultats suivants :

| | | |
|-----------------|----|------------------------|
| - Mâles de Pala | x | femelles de Torodi (2) |
| - 85 mâles | - | 78 femelles |
| - fertiles | 72 | |
| - stériles | 0 | |

La forme B avait donc complètement disparu du mois de Novembre 1968 au mois Mai 1969.

Pour contrôle nous avons effectué un mariage Torodi 2 par Kano (B) le 14 Juin 1969.

| | | |
|-------------------|---|------------------|
| Mâles de Torodi 2 | x | femelles de Kano |
| mâles 33 | - | 21 femelles |
| stériles 13 | | |
| fertiles 0 | | |

Les résultats obtenus confirmaient nos premières conclusions.

III-3 - Parallèlement nous procédions à l'analyse de Torodi 1 (7 juin 1969)

| | | |
|---------------------|---|----------------------|
| - Mâles de Pala | x | femelles de Torodi 1 |
| mâles 66 | - | femelles 56 |
| stériles 55 | | |
| fertiles 10 | | |
| - Mâles de Kano (B) | x | femelles de Torodi 1 |
| mâles 124 | - | femelles 180 |
| fertiles 2 | | |
| stériles 120 | | |

Ces résultats nous faisaient supposer qu'il se poursuivait toujours dans la cage Torodi 1 une intergradation étant difficile d'admettre que les formes A et B puissent subsister en cage sans hybridation.

L'étude des mâles de Torodi 1 (35 mâles disséqués, 35 fertiles) nous amenait à penser que la colonie était homogène. Pour en déterminer la nature nous procédions à l'examen des chromosomes des glandes salivaires des larves mais n'arrivions pas à obtenir de bonnes préparations ; par contre les chromosomes géants des cellules nourricières des follicules ovariens nous indiquaient un type A pur (voir photographies jointes au rapport).

- le 3 Juillet nous procédions à une nouvelle série de mariage avec la souche PALA (A).

Mâles de Torodi 1 x femelles de Pala (A)

mâles fertiles 59

mâles stériles 9

Femelles de Torodi 1 x mâles de Pala (A)

mâles fertiles 4

" stériles 2

La fertilité des mâles était étudiée par la mise à l'eau de 2.866 oeufs (mâles Torodi 1 x Pala femelles) qui donnaient 89,64% d'éclosion, une colonie de Bobo (A) prise comme témoin donnait 390 larves pour 541 oeufs (72,09%).

Les larves de Torodi mâles x Pala femelles, servaient à établir une colonie qui florissait encore la mi-October ; dix mâles disséqués le 13 October s'avéraient fertiles.

La conclusion de ce travail est que, placés dans des conditions de température et d'humidité différentes, des mélanges de A.gambiae A et A.gambiae B ne réagissent pas exactement de la même façon.

La chambre humide (Température ordinaire mais excès d'eau sur le plancher a rapidement éliminé la forme B par hybridation sélective).

La chambre sèche (Température ordinaire, humidité relative basse jusqu'en Juin, atteignant le niveau de la chambre dite humide à partir de ce mois) n'a pas réagi de la même façon sur le mélange (A - B).

Le 7 Juin 1969 Torodi 1 (polyhybrides) était presque complètement stérile lors de croisements avec la forme B, mais également peu

fertile avec la forme A. Ce polyhybride s'est par la suite orienté, l'humidité relative en-est-elle la cause ? vers la forme A typique. D'autres études se feront sur Torodi 1 dans les semaines à venir.

IV - ETUDE DU MAINTIEN EN COLONIE DES MELANGES A ET B (PALA - A, KANO B). (TABLEAU 5)

- Au début du Mois de Juin 100 nymphes de Kano et 100 nymphes de PALA étaient placées dans une même cage et une colonie était établie (PAKA).

Tableau 5

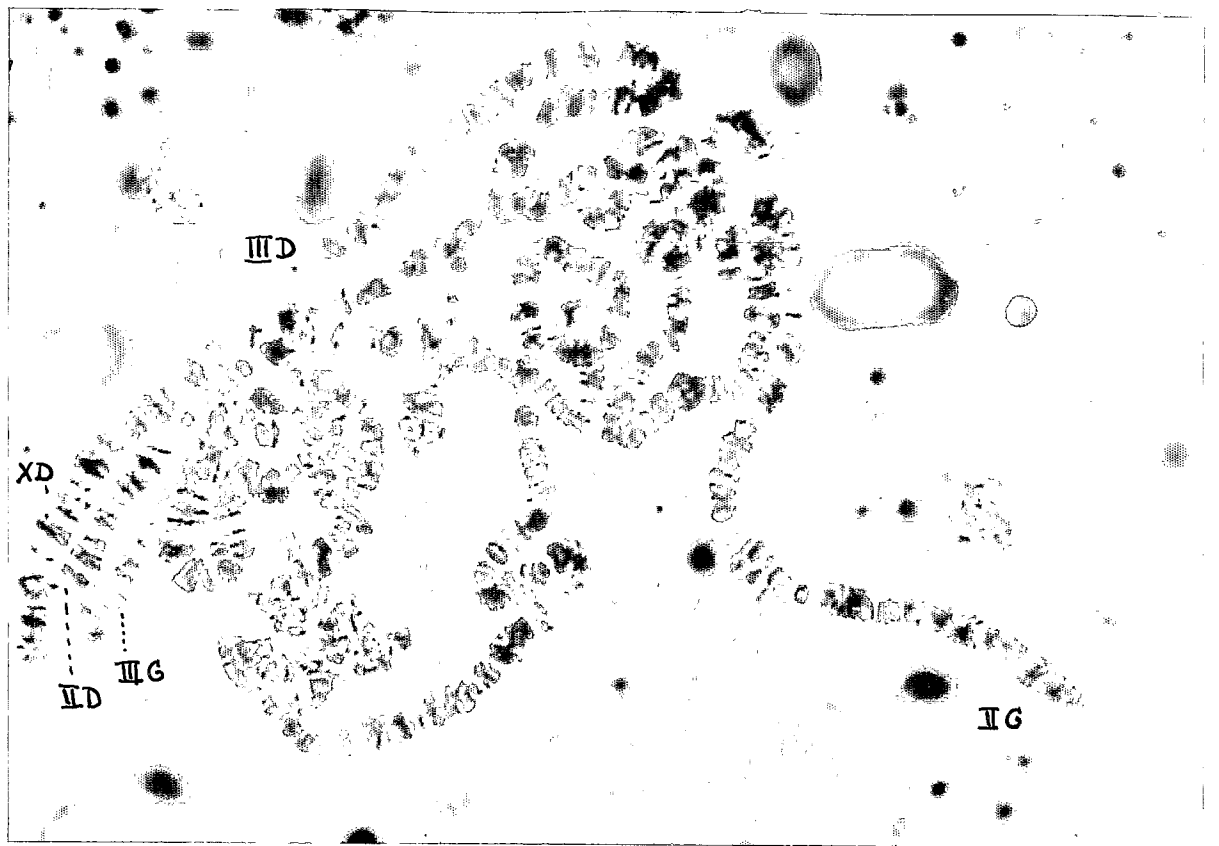
Etude de l'évolution d'un mariage A - B; Pala - Kano

| D a t e s | Fertiles | | Stériles | | |
|-------------------|----------|-------|----------|-------|--------|
| | N | % | N | % | |
| 24 juin 1969 | 26 | 41,3% | 37 | 58,7% | PAKA |
| 16 Juillet 1969 | 6 | | 4 | | PAKA 1 |
| 16 Juillet 1969 | 5 | | 3 | | PAKA 2 |
| 1er Août 1969 | 9 | | 9 | | PAKA 1 |
| 1er Août 1969 | 9 | | 11 | | PAKA 2 |
| 11 Août 1969 | 8 | 18,6% | 35 | 81,4% | PAKA 1 |
| 11 Août 1969 | 6 | 16,2% | 31 | 83,8% | PAKA 2 |
| 21 Août 1969 | 7 | 18,9% | 30 | 81,1% | PAKA 2 |
| 3 Septembre 1969 | 8 | | 10 | | PAKA 1 |
| 3 Septembre 1969 | 7 | 17,9% | 32 | 82,1% | PAKA 2 |
| 23 Septembre 1969 | 5 | | 12 | | PAKA 1 |
| 15 Octobre 1969 | 31 | 60,8 | 20 | 39,2 | PAKA 1 |
| 15 Octobre 1969 | 9 | 42,9 | 12 | 57,1 | PAKA 2 |

Cette colonie était divisée en deux : PAKA 1 placée dans la pièce sèche, PAKA 2 dans la pièce humide. Cinq mois après le premier mariage les intercroisements s'observaient toujours ; l'expérience en cours commencé avant le début de la saison des pluies se poursuit maintenant en saison sèche ; périodiquement des mâles sont enlevés et disséqués pour examiner leur tractus génital.

B I B L I O G R A P H I E

- CHAUVET (G.), DAVIDSON (G.) et DEJARDIN (J.), 1969.- Validité d'une méthode chétotaxique de distinction des larves des espèces A et B du complexe Anopheles gambiae Giles à Madagascar.
Cah.ORSTOM, ser.Ent.med.et Parasitol., VII, n°1, 51
- CHAUVET (G.) et DEJARDIN (J.), 1968.- Caractères chétotaxiques de distinction entre larves (stade IV) et l'espèce A et de l'espèce B du complexe Anopheles gambiae à Madagascar.
Cah.ORSTOM, ser.Ent.med., VI
- COLUZZI (M.) and SABATINI (A.), 1967.- Cytogénétiques observations on species A and B of the Anopheles gambiae complex.
Parassitologia. IX, 73
- COLUZZI (M.), 1968.- Cromosomi politenici delle cellule nutrici ovariche nel complesso gambiae del genere Anopheles.
Parassitologia. X, 179
- RIBBANS (C.R.), 1944.- Difference between Anopheles melas (A.gambiae, var melas) and A.gambiae the larval pecten.
Ann.trop.Med.Parasit., 38, 85
- MURHEAD-THOMSON (R.C.), 1945.- Studies on the breeding places and control of Anopheles gambiae and Anopheles gambiae var. melas in coastal districts of Sierra-Leone.
Bull.Ent.Res., 63, 185
- PURI (I.M.), 1928.- The relationship of certain morphological characters of anopheline larvae to the classification of Indian anopheline mosquitoes.
Indian.J.Med.Res., 519



chromosomes de cellules
nourricières des ovaires
d'une femelle de Teredi 1
type A

