

Incompatibilités cytoplasmiques dans le complexe *Culex pipiens*.

Une revue ⁽¹⁾

Michel MAGNIN ⁽²⁾⁽³⁾, Nicole PASTEUR ⁽²⁾

Résumé

Les auteurs rappellent les principales connaissances concernant les phénomènes d'incompatibilités cytoplasmiques chez les moustiques du complexe *Culex pipiens* L. Primitivement décrits entre populations d'origines géographiques lointaines, on sait aujourd'hui qu'ils existent aussi entre populations distantes de quelques kilomètres à quelques dizaines de kilomètres et qu'ils évoluent au cours du temps, peut-être très rapidement. Cela suggère une grande diversification et des capacités de modification importantes des facteurs contrôlant ces phénomènes.

Du fait des modifications des relations d'incompatibilités qui existent entre souches de laboratoire quand les larves sont élevées en présence de doses suffisantes d'un antibiotique (la tétracycline), il est probable qu'un des facteurs contrôlant les incompatibilités cytoplasmiques est un micro-organisme, sans doute *Wolbachia pipientis*. Toutefois les recherches récentes suggèrent que des facteurs génétiques propres aux moustiques interviennent aussi.

Ces connaissances sont discutées en fonction de l'impact que peuvent avoir les incompatibilités cytoplasmiques sur la structuration des populations naturelles et sur leur utilisation en lutte biologique.

Mots-clés : *Culex pipiens* — Incompatibilités cytoplasmiques — Populations naturelles — Lutte biologique.

Summary

CYTOPLASMIC INCOMPATIBILITIES IN THE *CULEX PIPENS* COMPLEX. A REVIEW. The authors summarize our actual knowledge on cytoplasmic incompatibilities in mosquitoes of the *Culex pipiens* L. complex. At first described between strains collected in distant areas, it is now known that incompatibilities also exist in restricted geographic areas (a few kilometers), and that they evolve with time, perhaps at a very fast rate (a few generations). This suggests that the factors responsible for cytoplasmic incompatibilities are highly diversified and able to undergo important modifications.

Studies on the modification of the incompatibility relationships between laboratory strains when larvae are reared in the presence of sufficient high doses of the antibiotic tetracycline show that micro-organisms (probably *Wolbachia pipientis*) play an important role in the phenomenon. However, recent investigations have also revealed that genetic factors of the mosquitoes are involved.

The results are discussed in relation to their consequences on the spatial structure of natural populations and on the use of cytoplasmic incompatibilities in biological control.

Key words : *Culex pipiens* — Cytoplasmic incompatibilities — Natural populations — Biological control.

(1) Ce travail a été financé par l'INSERM (contrat 84.1019) et le Ministère de la Recherche (« Aide à la biologie », 1984 et 1985, attribuée à G. Pasteur, Laboratoire de Génétique Écologique, École Pratique des Hautes Études, Université de Montpellier II).

(2) Institut des Sciences de l'Évolution (CNRS, UA 327), Laboratoire de Génétique, Université de Montpellier II, Place E. Bataillon, 34060 Montpellier, France.

(3) Centre ORSTOM, U.R. Lutte contre les Vecteurs, 3191 route de Mende, 34060 Montpellier, France.

Sous le terme d'incompatibilités cytoplasmiques, Laven (1967) a désigné les phénomènes de stérilité bidirectionnelle ou unidirectionnelle à hérédité maternelle que lui-même et Ghelelovitch (1952) avaient observés en croisant certaines souches du moustique commun *Culex pipiens* L. s. l. Ce terme est aujourd'hui conservé bien que l'hérédité strictement maternelle du phénomène soit partiellement remise en question.

Mises en évidence à partir de croisements entre souches d'origines géographiques distinctes, nous savons aujourd'hui que les incompatibilités cytoplasmiques peuvent se rencontrer au sein d'une population locale. En outre, elles semblent répandues dans l'ensemble du complexe *Culex pipiens*, c'est-à-dire aussi bien chez *C. pipiens* L. des zones tempérées, que chez *C. quinquefasciatus* Say des zones tropicales et subtropicales et chez *C. globocoxitus* endémique de l'Australie.

Enfin, Barr et ses collaborateurs (Barr, 1982 ; Wright *et al.*, 1978 ; Yen et Barr, 1971, 1973, 1974) ont montré que les incompatibilités cytoplasmiques sont associées à la présence de micro-organismes (*Wolbachia pipiens*) particulièrement abondants dans les organes génitaux des moustiques des souches qu'ils ont étudiées, et, bien que le phénomène n'ait pas été vérifié de manière systématique, il est couramment admis que ces symbiontes ont un rôle important dans le phénomène.

Nous faisons ici le point de nos connaissances actuelles sur le phénomène d'incompatibilité cytoplasmique dans le complexe *Culex pipiens* et nous discutons des conséquences de leur existence sur le flux génique au sein des populations naturelles et en lutte génétique.

Mise en évidence du phénomène d'incompatibilité cytoplasmique

Comme tout phénomène de stérilité, les incompatibilités cytoplasmiques sont mises en évidence en examinant la descendance des croisements réciproques réalisés entre les souches considérées. Trois types de résultats peuvent être alors obtenus : les deux croisements réciproques ne donnent pas de descendants (souches bidirectionnellement incompatibles), un seul des deux croisements donne des descendants (souches unidirectionnellement incompatibles ou compatibles), ou les deux croisements donnent une descendance (souches bidirectionnellement compatibles).

Les premiers travaux montrant que ces stérilités ont une hérédité indépendante du génome nucléaire sont dues à Ghelelovitch (1952) à partir de l'étude de trois souches (Hambourg, Paris et Tunis) présentant des relations d'incompatibilité différentes : bidirectionnelle-

ment compatibles (Hambourg et Tunis), bidirectionnellement incompatibles (Hambourg et Paris) et unidirectionnellement incompatibles (Paris et Tunis). Après avoir pratiqué neuf rétrocroisements successifs entre femelles (femelles Hambourg × mâles Tunis) et mâles Tunis, et entre femelles (femelles Paris × mâles Tunis) et mâles Tunis, il constate que les moustiques obtenus ont les mêmes caractéristiques de stérilité que ceux de la souche maternelle originelle (Hambourg et Paris, respectivement), bien que leur génome nucléaire ait été remplacé par celui de la souche Tunis. Laven (1967) confirme ces conclusions sur les mêmes souches (Hambourg et Paris), en pratiquant 50 rétrocroisements successifs et en vérifiant le remplacement du génome maternel par le génome paternel à l'aide de marqueurs génétiques. Les propriétés de croisement restant, à chaque génération, identiques à celles de la souche maternelle d'origine, Laven conclut que le facteur d'incompatibilité est probablement extrachromosomique et donne le nom d'*incompatibilité cytoplasmique* à ce phénomène.

Les tests pratiqués par Ghelelovitch et Laven représentent un travail considérable. L'hérédité maternelle a pu être établie, dans des travaux ultérieurs, par simple croisement des F1 issues des croisements bi- ou unidirectionnellement compatibles entre elles et avec les différentes souches maternelles (Raymond *et al.*, 1986a, par exemple). Toutefois, même cette procédure est longue et, bien souvent, les auteurs se contentent d'examiner le stade de développement atteint par les œufs obtenus dans chaque croisement. En effet, Laven (1967) et Jost (1970a) ont montré que, dans les cas d'incompatibilité cytoplasmique, les femelles sont inséminées et produisent des œufs dont beaucoup atteignent un stade de développement avancé, repérable notamment par la présence des taches oculaires rouges et bien différenciées, mais qui n'éclosent pas ou éclosent seulement dans moins de 1 % des cas.

Il est ainsi possible de définir si un croisement est compatible ou non, en déterminant le taux d'éclosion des œufs obtenus ou, plus simplement, comme Magnin *et al.* (sous presse) l'ont montré, en établissant la proportion de pontes ne donnant pas de larves (dans les croisements intrasouches, compatibles par définition, les taux d'éclosions sont égaux ou supérieurs à 80 %). Il faut noter ici que des taux d'éclosions intermédiaires (i.e. inférieurs à 80 % mais supérieurs à 1 %) sont parfois observés (Laven, 1951 ; Barr, 1966 ; Sasa *et al.*, 1966 ; French, 1978 ; Irving Bell, 1983 ; Magnin *et al.*, sous presse). De tels croisements sont qualifiés de « partiellement compatibles » (Barr, 1966) ou de « sub-fertiles » (Irving Bell, 1983). Il existe en réalité deux sortes de croisements partiellement compatibles : (a)

ceux dont toutes les pontes ont des taux d'éclosions intermédiaires, et (b) ceux qui comportent un mélange de pontes à taux d'éclosions normal (supérieur à 80 %) et de pontes qui n'éclosent pas comme celles des croisements incompatibles.

Pour conclure ce paragraphe, il convient d'insister sur le fait que, bien souvent, la mise en évidence du phénomène d'incompatibilité repose sur une simple observation phénologique (stade du développement embryonnaire que sont capables d'atteindre les œufs). En l'absence de données concernant l'hérédité du phénomène, il convient de ne généraliser qu'avec prudence les résultats d'auteurs qui n'ont, finalement, peut être pas tous observé le même phénomène.

Incompatibilités et distribution géographique

Si l'on ne tient pas compte de la méthode de mise en évidence, et si l'on considère que tous les auteurs ont observé le même phénomène, on peut dire que l'incompatibilité cytoplasmique a été trouvée chez les principaux membres du complexe *C. pipiens* et dans toutes les régions du globe.

Ainsi des incompatibilités ont été rapportées entre *C. pipiens* et *C. quinquefasciatus* en Asie (Sasa *et al.*, 1966 ; Subbaroa *et al.*, 1974) et en Australie (Irving Bell, 1983) et entre *C. pipiens* et *C. globocoxitus* (Dobrotworsky, 1955) en Australie.

Le phénomène est couramment décrit entre population d'origines géographiques différentes de *C. quinquefasciatus* en Amérique du Nord (Barr, 1966) et en Afrique (Roubaud, 1956 ; Subra *et al.*, 1968 ; Laven, 1969 ; Eyraud et Mouchet, 1970) ou de *C. pipiens* en Asie (Suenaga, 1981), en Australie (Dobrotworsky, 1955, 1967) et en Europe (Roubaud, 1945 ; Laven, 1951, 1967 ; Raymond *et al.*, 1986 a).

Enfin, Barr (1980) rapporte l'existence d'incompatibilités entre souches sympatriques originaires de la région de Los Angeles (Californie) et recueille des pontes à caractère incompatible dans un même gîte. Dans les populations naturelles de *C. pipiens* du sud de la France, Magnin *et al.* (sous presse) montrent un phénomène comparable.

Les tests réalisés pour obtenir les données décrites ci-dessus consistent à caractériser une souche par les résultats obtenus en la croisant avec l'ensemble des souches que l'on veut comparer. Il a été ainsi constaté que deux souches, même quand elles sont compatibles entre elles, ne présentent pas nécessairement les mêmes caractéristiques d'incompatibilité avec l'ensemble des autres souches. Cela a particulièrement été bien établi par Magnin *et al.* (sous presse) qui ont montré que

chacune des huit souches originaires du sud de la France qu'ils ont étudiées avait ses caractéristiques propres et possédait donc un « crossing type », ou « type de croisement » particulier. Tester une souche afin d'établir son « type de croisement » permet donc de mettre en évidence une variabilité des facteurs impliqués dans le phénomène d'incompatibilité à une échelle très fine.

Magnin *et al.* (sous presse) montrent que les taux d'incompatibilité entre « types de croisement » augmentent en fonction de la distance géographique séparant les gîtes de prélèvement et que des types différents mutuellement compatibles existent dans des populations séparées de 30 mètres alors que des incompatibilités sont présentes à partir de 2 kilomètres.

Stabilité des incompatibilités dans le temps

Alors que Laven (1967) déclare avoir maintenu près de dix ans une souche en élevage sans que son « type de croisement » n'ait changé, des modifications du type de croisement de lignées maintenues en laboratoire ont été rapportées par divers auteurs (Sasa *et al.*, 1966 ; Subbaroa *et al.*, 1977a ; Barr, 1980 ; Magnin *et al.*, sous presse).

Magnin *et al.* (sous presse) ont montré qu'un croisement incompatible entre deux souches en 1980 était devenu compatible en 1985.

Barr (1980) a obtenu des individus mutuellement incompatibles à partir d'une lignée isofemelle maintenue en élevage pendant quatre générations.

French (1978), possédant deux souches partiellement compatibles (taux d'éclosions de 3,83 % pour le croisement femelles Thies × mâles Aswan), a pu sélectionner à partir de la souche Aswan (a) une souche dont les mâles sont incompatibles avec les femelles Thies (0,04 % d'éclosions) et (b) une souche partiellement compatible avec les femelles Thies, mais avec 57,09 % d'éclosions.

Enfin, Subbaroa (1982) a pu augmenter significativement le niveau de compatibilité des femelles d'une souche indienne vis-à-vis de mâles européens, avec lesquels elles sont normalement incompatibles.

Il est donc maintenant établi que le phénomène d'incompatibilité cytoplasmique, quel que soit son déterminisme, n'est pas nécessairement un phénomène stable dans le temps. L'évolution conduisant à l'incompatibilité pourrait même être relativement rapide. En outre, à partir d'une même souche, il semble possible, au moins dans certains cas, de sélectionner des « types de croisements » différents incompatibles entre eux.

Dans ce nouveau contexte, il convient d'être

extrêmement prudent quand on compare des résultats obtenus à des époques différentes (cf. Magnin *et al.*, sous presse).

Mécanisme et origine des incompatibilités

CARACTÉRISTIQUES CYTOLOGIQUES

L'étude cytologique comparée du développement embryonnaire chez des œufs issus de croisements compatibles et incompatibles est entièrement due à Jost (1970a, 1970b, 1971).

Dans les croisements normaux (i.e. compatibles), un à deux spermatozoïdes pénètrent dans l'œuf et activent la méiose ; un spermatozoïde fusionne avec le pronucleus femelle (caryogamie) et les divisions cellulaires commencent.

Dans les croisements incompatibles, le spermatozoïde entre dans l'œuf, active la méiose, va à la rencontre du noyau femelle, mais il n'y a pas caryogamie ; le spermatozoïde est alors résorbé par le cytoplasme de l'œuf. Malgré cela, le noyau femelle se divise et donne un embryon haploïde. Dans 99 % des cas, cet embryon meurt avant d'achever son développement. Exceptionnellement, la diploïdie est restaurée par fusion du noyau femelle avec le dernier globule polaire, donnant naissance à des femelles parthénogénétiques viables.

Lorsque la formation du blastoderme commence, les œufs non fécondés se reconnaissent à la dégénérescence du système cytoplasme-vitellus, quelle que soit la nature du croisement. Dans les croisements incompatibles, un certain nombre d'embryons (jusqu'à 50 %) meurent à un stade antérieur à la différenciation histologique. Les autres embryons voient la formation et la segmentation de leur bandelette germinale perturbées. Des malformations de la région céphalique ou une disposition anormale des taches oculaires, pigmentées en rouge et bien visibles, des troubles de la formation des zones thoraciques et abdominales, peuvent être observés. Certains embryons présentant peu de troubles importants sont capables d'effectuer des mouvements de la tête et des contractions musculaires, mais ils ne peuvent cependant pas sortir de l'œuf. On constate donc que souvent la mort de l'embryon se produit peu avant l'accomplissement définitif du développement et que la distinction entre embryons haploïdes des croisements incompatibles et embryons diploïdes des croisements compatibles est tardive.

Des travaux de Jost, deux points sont à retenir pour nos discussions ultérieures.

Tout d'abord, la distinction entre œufs non fécon-

dés et œufs fécondés, mais dont le développement embryonnaire s'est arrêté très tôt, est impossible par un examen au moyen d'une loupe binoculaire comme cela est fait par la plupart des auteurs. Ceci pose un problème d'interprétation des pontes totalement non embryonnées (sont-elles issues de femelles non fécondées ou traduisent-elles un phénomène d'incompatibilité ?), et des œufs sans développement embryonnaire apparent que l'on rencontre parfois en quantité importante dans les pontes de croisements « compatibles » ou « partiellement compatibles » (Magnin, non publié). Ces œufs traduisent-ils l'existence d'un phénomène de stérilité ?

Les croisements incompatibles peuvent donner une descendance dont au moins une partie est composée de femelles parthénogénétiques, donc homozygotes pour la totalité de leurs gènes nucléaires. L'origine parthénogénétique de femelles issues de croisements incompatibles a été vérifiée par des marqueurs génétiques (Laven, 1957, 1967 ; Jost, 1970b ; Raymond *et al.*, 1986a). Le fait que des individus mâles et femelles non parthénogénétiques soient parfois obtenus dans les croisements incompatibles suggère que les facteurs responsables de l'incompatibilité et contenus dans les spermatozoïdes d'un même mâle et/ou dans les ovules d'une femelle (il y a accouplement unique chez les moustiques du complexe *Culex pipiens*), peuvent avoir des degrés d'incompatibilité différents.

EFFET DE VARIATIONS EXPÉRIMENTALES SUR L'EXPRESSION DE L'INCOMPATIBILITÉ

Âge des mâles

Singh *et al.* (1976), Krishnamurthy *et al.* (1977) et nous-même (Magnin, non publié) avons montré que l'utilisation de mâles âgés de plus de cinq jours pouvait rendre partiellement compatible un croisement normalement stérile. Cet effet est accentué lorsque l'âge des mâles augmente et lorsque les mâles ont déjà été accouplés une ou plusieurs fois.

Cet effet serait associé à une différence de qualité du sperme élaboré pendant la vie imaginaire et pendant la vie nymphale (Krishnamurthy *et al.*, 1977).

Action des antibiotiques

Yen (1972, 1975) et Yen et Barr (1973) ont été les premiers à envisager un déterminisme de l'incompatibilité lié à la présence de micro-organismes, un phénomène abondamment décrit chez d'autres insectes (voir Kernaghan et Ehrman, 1970, par exemple). Aussi ont-ils essayé d'éliminer ces micro-organismes en traitant les larves de *Culex pipiens* avec divers antibiotiques (tétra-

cycline, streptomycine, pénicilline et chloromycétine). Seule la tétracycline est capable de supprimer, partiellement ou totalement, l'incompatibilité qui existe dans certains croisements. L'équipe de Barr a montré que conjointement au rétablissement de la compatibilité, il y a disparition de micro-organismes ressemblant à des rickettsies et nommés *Wolbachia pipientis* (cf. paragraphe).

L'action de la tétracycline sur le phénomène d'incompatibilité a été confirmée par d'autres auteurs (Portaro et Barr, 1975 ; Subbarao *et al.*, 1977b ; Suenaga, 1981 ; Magnin et Pasteur, sous presse).

Magnin et Pasteur (sous presse) ont montré, d'une part, que l'action de la tétracycline est progressive en fonction de la concentration utilisée et que cette action ne se fait sentir qu'à partir d'un certain seuil. D'autre part, une même dose de tétracycline peut agir sur une souche et non sur une autre. Ceci pourrait être dû au fait que, soit le seuil de sensibilité à la tétracycline des micro-organismes contenus dans différentes souches est variable, soit que certaines souches ne contiennent pas de symbiontes. Ces résultats peuvent expliquer les grandes différences observées par les auteurs travaillant sur des souches différentes et avec des concentrations de tétracycline variées.

Les principaux résultats sur les modifications des relations de compatibilité par la tétracycline sont les suivants :

— Le traitement des larves peut supprimer l'incompatibilité d'un croisement entre deux souches, mais également induire une incompatibilité entre les mâles et les femelles d'une même souche. Ce phénomène antagoniste de la tétracycline sur les croisements intersouches et intrasouches a été observé par plusieurs auteurs (Yen et Barr, 1973 ; Awahmukalah et Brooks, 1983 ; Magnin et Pasteur, sous presse).

— Les traitements par la tétracycline des mâles seuls ou des femelles seules d'un croisement n'a pas le même effet et il est clair, en particulier, que les mâles traités et non traités ne sont pas équivalents. Ce résultat montre que l'expression des incompatibilités cytoplasmiques n'est pas uniquement d'origine maternelle (Magnin et Pasteur, sous presse).

— La restauration de la compatibilité dans un croisement incompatible est héréditaire : les descendants de parents traités restent compatibles avec les autres souches sans renouvellement du traitement (Yen et Barr, 1973 ; Magnin et Pasteur, sous presse).

Conclusion

Au début de cet article, nous avons défini les incompatibilités cytoplasmiques comme des phénomènes

de stérilité à hérédité strictement maternelle. Les résultats qui viennent d'être présentés montrent qu'en réalité, le mâle joue également un rôle puisque son âge et son état aposymbiotique ou non sont deux éléments conditionnant l'expression de cette stérilité. Cela a amené l'équipe de Barr à proposer l'existence d'une interaction nucléo-cytoplasmique du déterminisme de l'incompatibilité (Yen et Barr, 1971, 1973, 1974).

ÉTILOGIES PROPOSÉES

Les mécanismes proposés avant les travaux du groupe dirigé par Barr impliquaient soit une étiologie strictement nucléaire (gènes nucléaires conditionnant les propriétés du cytoplasme — Smith-White et Woodhill, 1954 ; Mac Clelland *in* Yen, 1972 — ; translocations — Laven *in* French, 1978 —), soit l'existence de facteurs extrachromosomiques, autonomes et s'autorepliquant (ARN — Laven, 1967 — ; facteurs spécifiques portés par les mitochondries — Jost, 1970a — ; plasmagènes — French *in* Yen, 1972 —).

Aujourd'hui, il est admis que des micro-organismes symbiotiques sont impliqués pour une grande part dans le déterminisme des incompatibilités cytoplasmiques chez *C. pipiens*. Yen et Barr (1971), à l'origine de cette hypothèse basée sur les résultats obtenus en traitant les insectes avec de la tétracycline, l'attribuent à *Wolbachia pipientis* dont la présence, ou tout au moins l'abondance, est fortement diminuée par cet antibiotique.

Yen et Barr (1971, 1973, 1974), Yen (1972, 1975), puis Irving Bell (1974), Wright *et al.* (1978), Wright et Wang (1980), Larsson (1983) ont donné une description précise de la morphologie de *Wolbachia pipientis*, décrit par Hertig en 1936 (*in* Yen, 1972). Ces micro-organismes sont présents à tous les stades du développement du moustique. Dans l'œuf, ils sont particulièrement concentrés dans la zone du micropyle et le spermatozoïde doit traverser cette région avant de se diriger vers le noyau femelle. Chez l'embryon, les micro-organismes sont localisés dans les cellules embryonnaires qui donneront les gonades. Ils sont présents en nombre modéré aux deux premiers stades larvaires, mais leur nombre augmente rapidement aux troisièmes et quatrième stades, et quelques effets pathologiques sur les cellules peuvent être observés. Nymphes et adultes sont très infectés, surtout les femelles, mais l'effet pathogène reste réduit. Chez la femelle, les symbiontes sont trouvés en grande quantité dans les oocytes et les cellules nourricières, quelquefois dans les tubes de Malpighi. Récemment, Larsson (1983) les a décrits dans l'épithélium folliculaire des femelles âgées. Chez le mâle on les observe en petite quantité

dans les spermatocytes et les spermatogonies, mais Yen (1972) ne les a pas observés dans les spermatozoïdes. Toutefois, il est possible qu'ils lui aient échappé : une technique améliorée a permis à Hayes *et al.* (1980) de mettre en évidence de tels micro-organismes dans les spermatozoïdes d'acariens.

Yen et Barr (1974) ont retrouvé le symbionte chez tous les membres du complexe *Culex pipiens* qu'ils ont observés. Irving Bell (1974, 1983) l'a observé chez *C. molestus* (Australie), *C. quinquefasciatus* (Australie), *C. pipiens pipiens* (Grande-Bretagne), *C. pipiens pallens* (Japon). Chez *C. globocoxitus* et *C. australicus*, autres membres du complexe présents en Australie, le micro-organisme semble absent ; par contre Irving Bell y a trouvé des particules « virus-like » dans le cytoplasme des oocytes, des cellules nourricières et dans l'épithélium folliculaire.

Il existe d'autres exceptions et certaines souches de *Culex pipiens* ne semblent pas contenir, naturellement, de micro-organismes (Wright *et al.*, 1978 ; Wright et Wang, 1980 ; Subbarao, 1982).

Si l'identification du déterminant extrachromosomique est très importante, la nature de l'interaction entre ce déterminant, le spermatozoïde et l'œuf, est également à élucider. Actuellement seules des hypothèses ont été formulées.

Schumann (1974) suggère qu'il existe une interaction chimique entre le spermatozoïde et l'oocyte catalysée par des réactions enzymatiques pouvant provoquer soit la caryogamie, soit le blocage de celle-ci et la destruction du spermatozoïde ; cette activité enzymatique serait due à une phosphatase alcaline.

Barr (1982) pense que lorsque le spermatozoïde se développe en présence du micro-organisme, il devient porteur d'un matériel caractéristique du symbionte. Si ce spermatozoïde entre dans un oocyte non infecté ou infecté par un type différent de bactérie, il n'est pas reconnu et est pris pour un corps étranger, donc détruit. Le développement embryonnaire est initié, mais s'arrête plus ou moins précocement. Si l'oocyte est infecté par le même type de micro-organisme, le spermatozoïde est reconnu et la fertilisation est normale.

Incompatibilités et flux génique

Les incompatibilités cytoplasmiques, du fait qu'elles entraînent des stérilités, peuvent être une barrière au flux génique, c'est-à-dire limiter, voire interrompre, les échanges géniques entre populations locales primitivement panmictiques.

Cette considération avait amené Laven (1967) à

construire un modèle de spéciation au sein du complexe *Culex pipiens* qui rappelle beaucoup le modèle de spéciation stasipatrique de White (1968) pour les populations robertsoniennes de souris, bien que le mécanisme responsable de l'isolement soit radicalement différent. Dans les deux cas, les auteurs supposent une population panmictique au sein de laquelle apparaît un type mutant (fusion robertsonienne pour White, nouveau cytotype incompatible pour Laven). Les mutants ne pouvant se reproduire qu'entre eux, se propagent en tache d'huile, et remplacent éventuellement le type ancestral.

Quand Laven a proposé ce modèle (1), il ne savait pas que l'agent de l'incompatibilité était un micro-organisme et il supposait l'existence d'un message génétique extrachromosomique propre au moustique ; (2) les souches qu'il avait étudiées provenaient de régions géographiques séparées par plusieurs centaines ou milliers de kilomètres, et il ignorait totalement qu'il pouvait exister une variabilité à une échelle locale très fine ; enfin, (3) pour lui, chaque cytotype était stable dans le temps.

Si l'on doit abandonner l'idée que le phénomène d'incompatibilités cytoplasmiques puisse être un agent, direct ou indirect, de spéciation, il reste important de déterminer si, à l'échelle locale, il peut contribuer à l'adaptation des populations (en la rendant plus facile ou plus rapide, par exemple).

Pour tenter de répondre à cette question, nous ne disposons que de deux études à l'échelle régionale : celle de Magnin *et al.* (sous presse) sur les *C. pipiens* du Languedoc-Roussillon et celle de l'équipe de Barr sur *C. quinquefasciatus* des environs de Los Angeles.

Dans le Languedoc-Roussillon, nous avons vu que Magnin *et al.* (sous presse) avaient identifié huit « types de croisement » au sein des huit souches prélevées pendant une période jugée suffisamment courte pour que les modifications temporelles soient négligeables. Ils ont montré que le taux des incompatibilités entre ces divers « types de croisement » sont d'autant plus importants que la distance séparant les gîtes de prélèvement est grande (à l'échelle étudiée : quelques mètres à une centaine de kilomètres). Cela suggère l'existence d'une structuration dans l'espace qui n'est pas aléatoire, et montre que l'impact des incompatibilités ne pourra être correctement évalué que si l'on a des informations précises sur le pouvoir de migration des adultes. Or, pour le moment, ces données sont inexistantes dans le complexe *Culex pipiens*.

Toutefois, nous pouvons noter que les études réalisées sur la distribution des gènes de résistance aux insecticides organophosphorés en France (Pasteur, 1977 ; Magnin *et al.*, non publié) et en Californie (Raymond *et*

al., 1986b) suggèrent qu'il n'y a pas de barrière stricte au flux génique, puisqu'en quelques années tous les gènes identifiés se sont répandus sur la totalité de ces deux régions.

Incompatibilités cytoplasmiques et lutte génétique

Plusieurs auteurs ont proposé, et parfois essayé, d'utiliser l'incompatibilité cytoplasmique et la stérilité qu'elle entraîne comme méthode de lutte génétique contre *Culex pipiens* s. l. (Roubaud, 1945 ; Laven, 1971 ; Laven et Aslamkhan, 1970 ; Cousserans et Guille, 1974). L'idée de base est simple et séduisante. Dans un pays donné où l'on souhaitait lutter contre ce vecteur, il fallait procéder à des lâchers de mâles incompatibles avec les femelles locales. Afin de rendre ces mâles plus compétitifs, des souches de laboratoire pouvaient être produites en introduisant dans un cytoplasme étranger incompatible, le génome des souches locales adapté aux conditions d'environnement. De telles souches ont été fabriquées (Laven, 1971), mais les essais sur le terrain n'ont pas rempli totalement les espoirs de leurs auteurs (voir la revue réalisée par Subbarao, 1982). La grande quantité de types cytoplasmiques susceptibles d'exister dans une localité et les modifications qu'elles semblent subir dans le temps sont sans doute en grande partie responsables de ces échecs.

Incompatibilités cytoplasmiques chez d'autres espèces

Des phénomènes d'« incompatibilité cytoplasmique », tout à fait comparables à celui trouvé chez *Culex pipiens*, ont été décrits chez deux autres insectes, le moustique *Aedes scutellaris* (Smith White et Woodhill, 1954) et le lépidoptère *Ephestia cautella* (Brower, 1976).

Pour le groupe *Aedes scutellaris* s. l., un symbionte semblable à *Wolbachia pipientis* a été mis en évidence dans différentes espèces du groupe (Wright et Wang, 1980). Cependant, la distribution de ce symbionte au sein du groupe ne reflète pas seul les phénomènes de stérilité observés (Meek, 1984) et il semble que l'incompatibilité cytoplasmique ne soit impliquée que dans certains croisements. Dans ceux-ci, le traitement à la tétracycline permet quelquefois de retrouver une certaine fertilité (Sherron et Rai, 1983).

En ce qui concerne *Ephestia cautella*, Brower (1976) observe une incompatibilité unidirectionnelle en croisant des femelles originaires d'Iran et des mâles américains. L'accouplement est normal, le sperme est transféré, l'oviposition est normale mais les œufs sont

presque tous infertiles. Le croisement réciproque est normal. Il conclut à la transmission d'un facteur de stérilité par le cytoplasme maternel. Kellen et al. (1981) ont observé des symbiontes ressemblant à *Wolbachia pipientis* dans les gonades de ce lépidoptère ; le traitement à la tétracycline permet de restaurer une certaine compatibilité. D'après l'ultrastructure, la présence d'une paroi et le lieu d'infection, ces auteurs classent ce micro-organisme comme « rickettsie-like ». Cependant l'apparence générale est celle d'un organisme « mycoplasme-like », comme celui décrit par Kernaghan et Ehrmann (1970) chez *Drosophila paulistorum*. Il est à noter que Gottlieb et al. (1977) ont réalisé l'injection d'extraits de *Ephestia kuehniella* à *Drosophila paulistorum* et ont reproduit le même système de stérilité que celui qui est observé dans cette espèce. Il est donc possible qu'il y ait une seule famille de micro-organismes « mycoplasme-like » ou « rickettsie-like » responsable de phénomènes de stérilité chez différentes espèces d'insectes. D'après C. Vago (comm. pers.), les mycoplasmes et les rickettsies sont morphologiquement si semblables qu'il est difficile de les distinguer, même au microscope électronique.

Conclusions

L'incompatibilité cytoplasmique est un phénomène de stérilité à hérédité principalement maternelle, se traduisant par l'absence de descendance viable dans les croisements entre certaines souches ou populations du complexe *Culex pipiens*, indépendamment de leurs statuts taxinomiques ou de leurs origines géographiques. L'incompatibilité peut affecter un seul ou les deux sens d'un croisement entre deux souches (incompatibilité uni- ou bidirectionnelle).

Les recherches récemment effectuées sur les populations du sud de la France ont révélé une grande variabilité des « types de croisement » à une échelle géographique très fine. Ces « types de croisement » ne sont pas nécessairement incompatibles, mais ils indiquent une extrême variabilité des facteurs contrôlant le phénomène d'incompatibilité cytoplasmique. Ces résultats sont à rapprocher des observations selon lesquelles le « type de croisement » d'une souche est susceptible d'évoluer, peut être très rapidement (quelques générations) au cours du temps, spontanément ou par sélection. Le vieillissement des mâles, le traitement à la tétracycline, peuvent également modifier artificiellement ce type. Tous ces éléments descriptifs posent le problème du déterminisme de l'incompatibilité et de son mécanisme évolutif car sa caractéristique essentielle est, sans doute, son instabilité quasi constante.

Dans le déterminisme des incompatibilités cytoplasmiques, on peut reconnaître comme probable l'intervention d'un micro-organisme, transmis de génération en génération par l'intermédiaire du cytoplasme maternel. Toutefois, les résultats obtenus après avoir traité les parents d'un croisement avec la tétracycline suggèrent aussi une interaction noyau/cytoplasme dans le déterminisme des incompatibilités.

Le micro-organisme impliqué est très probable-

ment *Wolbachia pipientis*, un symbionte fréquent des espèces du complexe *Culex pipiens*, dont la nature exacte reste à déterminer. Barr (1982) pense que le micro-organisme serait indispensable à la reproduction, probablement au niveau de la méiose, ce qui expliquerait la mauvaise fertilité des femelles traitées à la tétracycline.

Manuscrit accepté par le Comité de Rédaction le 16 février 1987

BIBLIOGRAPHIE

- AWAHMUEALAH (D. S. T.) et BROOKS (M. A.), 1983. — Reproduction of an inbred strain of *Culex pipiens* prevented by loss of *Wolbachia pipientis*. *J. Invert. Path.*, 41 : 184-190.
- BARR (A. R.), 1966. — Cytoplasmic incompatibility as means of eradication of *Culex pipiens* L. *Proc. Calif. Mosq. Control Assoc.*, 34 : 32-35.
- BARR (A. R.), 1980. — Cytoplasmic incompatibility in natural populations of a mosquito, *Culex pipiens* L., *Nature*, 283 (5742) : 71-72.
- BARR (A. R.), 1982. — Symbiot control of reproduction in *Culex pipiens* : 153-158, in *Recent Development in the Genetics of Insect Disease Vectors*, Stipes Publishing, Champaign, I.
- BROWER (J. H.), 1976. — Cytoplasmic incompatibility : occurrence in a stored-product pest *Ephestia cautella*. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 69 : 1011-1015.
- COUSSERANS (J.) et GUILLE (G.), 1974. — Expérience de lutte génétique contre *Culex pipiens* dans la région de Montpellier. Synthèse de quatre années d'observations. *Bull. Biol.*, 108 : 253-257.
- DOBROTOWSKY (N. V.), 1955. — The *Culex pipiens* group in south-eastern Australia. IV. Crossbreeding experiments within the *Culex pipiens* group. *Proc. L. Soc. N.S.W.*, 80 : 33-43.
- DOBROTOWSKY (N. V.), 1967. — Hybridization in the *Culex pipiens* complex. *Bull. Org. mond. Santé*, 37 : 267-270.
- EYRAUD (M.) et MOUCHET (J.), 1970. — Incompatibilités cytoplasmiques entre des souches de *Culex pipiens fatigans* Wied. d'Afrique, d'Asie et d'Amérique. *Cah. ORSTOM, Sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 7, 1 : 69-82.
- FRENCH (W. L.), 1978. — Genetic and phenogenetic studies on the dynamic nature of the cytoplasmic inheritance system in *Culex pipiens*. *Genetics*, 88 : 447-455.
- GHELELOVITCH (S.), 1952. — Sur le déterminisme génétique de la stérilité dans le croisement entre différentes souches de *Culex autogenicus* Roubaud. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 234 : 2386-2388.
- GOTTLIEB (F. J.), GOITEN (R.), EHRLMAN (L.) et INOCENCIO (B.), 1977. — Interorder transfer of mycoplasma-like microorganisms between *Drosophila paulistorum* and *Ephestia kuehniella* : issues, dosages and effects. *J. Invert. Path.*, 30 : 140-150.
- HAYES (S. F.), BURGDORFER (W.) et AESCHLIMANN (A.), 1980. — Sexual transmission of spotted fever group rickettsiae by infected male ticks : detection of rickettsiae in immature spermatozoa of *Ixodes ricinus*. *Infect. Immun.*, 27 : 638-642.
- IRVING BELL (R. J.), 1974. — Cytoplasmic factors in the gonads of *Culex pipiens* complex mosquitoes. *Life Sciences*, 14 : 1149-1151.
- IRVING BELL (R. J.), 1983. — Cytoplasmic incompatibility within and between *Culex molestus* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera : Culicidae). *J. Med. Entomol.*, 20, 1 : 44-48.
- JOST (E.), 1970a. — Untersuchungen zur Kreuzungssterilität im *Culex pipiens* Komplex. *Wilhelm Roux Arch. Entwickl. Org.*, 166 : 173-188.
- JOST (E.), 1970b. — Genetische Untersuchungen zur Inkompatibilität im *Culex pipiens* Komplex. *Theor. Appl. Genetics*, 40 : 251-256.
- JOST (E.), 1971. — Meiosis in the male of *Culex pipiens* and *Aedes albopictus* and fertilization in the *Culex pipiens* complex. *Can. J. Gen. Cytol.*, 13 : 237-250.
- KELLEN (W. R.), HOFFMANN (D. F.) et KWOCK (R. A.), 1981. — *Wolbachia* sp. (Rickettsiales : Rickettsiaceae), a symbiont of the almond moth, *Ephestia cautella* : ultrastructure and influence on host fertility. *J. Invert. Path.*, 37 : 273-283.
- KERNAGHAN (R. P.) et EHRLMAN (L.), 1970. — Antimycoplasmal antibiotics and hybrid sterility in *Drosophila paulistorum*. *Science*, 169 : 63-64.
- KRISHNAMURTHY (B. S.), CURTIS (C. F.), SUBBARAO (S. K.), SINGH (K. R. P.), CHANDRAHAS (R. K.) et ADAK (T.), 1977. — Further studies on the effect of aging and mating history of males on cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens fatigans*. *Genetics*, 63 : 31-37.
- LARSSON (R.), 1983. — A rickettsia-like microorganism similar to *Wolbachia pipientis* and its occurrence in *Culex* mosquitoes. *J. Invert. Path.*, 41 : 387-390.
- LAVEN (H.), 1951. — Crossing experiments with *Culex* strains. *Evolution*, 5 : 370-375.
- LAVEN (H.), 1957. — Induzierte Parthenogenese bei *Culex pipiens*. *Die Naturwissenschaft*, 43 : 116-117.
- LAVEN (H.), 1967. — Speciation and evolution in *Culex pipiens* : 251-275, in *Genetics of Insect Vectors of Disease* (J. W. WRIGHT et R. PAL, eds.). Elsevier Press, North Holland.
- LAVEN (H.), 1969. — Incompatibility tests in the *Culex pipiens* complex. Part 1 : African strains ; part 2 : Egyptian strains. *Mosq. News*, 29 : 70-83.
- LAVEN (H.), 1971. — Une expérience de lutte génétique contre *Culex pipiens fatigans* Wied., 1828. *Ann. Parasit. hum. comp.*, 46 : 117-148.
- LAVEN (H.) et ASLAMKHAN (M.), 1970. — Control of *Culex pipiens pipiens* and *Culex pipiens fatigans* with integrated genetical systems. *Pakistan J. Science*, 22 : 303-312.
- MAGNIN (M.), et PASTEUR (N.), 1987. — Phénomènes d'incompatibilité cytoplasmiques chez le moustique *Culex pipiens* L. du sud de la France. Effet de la tétracycline. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XXV, n° 1 : 21-25.
- MAGNIN (M.), PASTEUR (N.), et RAYMOND (M.), sous presse. — Multiple incompatibilities within populations of *Culex pipiens* in southern France. *Genetica*.
- MEEK (S. R.), 1984. — Occurrence of rickettsia-like symbionts among species of the *Aedes scutellaris* group (Diptera : Culicidae). *Ann. trop. Med. Parasit.*, 78 : 377-381.
- PASTEUR (N.), 1977. — Recherches de génétique chez *Culex pipiens pipiens* L. Polymorphisme enzymatique, autogénèse et résistance aux insecticides organophosphates. Thèse de Doctorat d'État, Université de Montpellier II.

- PORTARO (J. K.) et BARR (A. R.), 1975. — "Curing" *Wolbachia* infections in *Culex pipiens*. *J. Med. Entomol.*, 12 : 265.
- RAYMOND (M.), MAGNIN (M.), PASTEUR (G.) et SINEGRE (G.), 1986a. — Cytoplasmic incompatibilities in the mosquito *Culex pipiens* L. from southern France. Their implications in the selection and dispersal of insecticide resistance genes in natural populations. *Genetica*, 70 : 113-118.
- RAYMOND (M.), PASTEUR (N.), GEORGIU (G. P.), MELLON (R. B.), WIRTH (M. C.) et HAWLEY (M. K.), 1986b. — New detoxification esterases in organophosphate-resistant *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera : Culicidae) from California. *J. Med. Entomol.*, sous presse.
- ROUBAUD (E.), 1945. — L'hybridation, facteur régulateur naturel des populations culicidiennes chez le moustique commun. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 220 : 219-231.
- ROUBAUD (E.), 1956. — Phénomènes d'amixie dans les intercroisements de souches géographiques, indifférenciées extérieurement, du moustique commun tropical, *Culex fatigans* Wied. *C. R. Hebd. Séan. Acad. Sci. Paris*, 242 : 1557-1559.
- SASA (M.), SHIRASAKA (A.) et KURIHARA (J.), 1966. — Crossing experiments between *fatigans*, *pallens* and *molestus* colonies of the mosquito *Culex pipiens* s. l. from Japan and Southern Asia, with special reference to hatchability of hybrid eggs. *Appl. Exp. Med.*, 36 : 187-210.
- SCHUMAN (W.), 1974. — Comparative studies with *Culex pipiens* egg-rafts. Immunogenetic, electrophoretic and enzymatic analysis of unfertilized, compatible and incompatible fertilized eggs. *Theor. Appl. Genetics*, 44 : 160-166.
- SHERRON (D. A.) et RAI (K. S.), 1983. — Genetics of speciation in the *Aedes (Stegomyia) scutellaris* group (Diptera : Culicidae). 2. Crossing relationships of *Aedes cooki* with six sibling species. *J. Med. Entomol.*, 20 : 520-525.
- SINGH (K. R. P.), CURTIS (C. F.) et KRISHNAMURTHY (B. S.), 1976. — Partial loss of cytoplasmic incompatibility with age in males of *Culex fatigans*. *Ann. trop. Med. Parasitol.*, 70 : 463-465.
- SMITH-WHITE (S.) et WOODHILL (A. R.), 1954. — The nature and significance of non reciprocal fertility in *Aedes scutellaris* and other mosquitoes. *Proc. L. Soc. N.S.W.*, 79 : 163-176.
- SUBBARAO (S. K.), 1982. — Cytoplasmic incompatibility in mosquitoes : 313-342, in *Recent Development in the Genetics of Insect Disease Vectors*, Stipes Publishing Company, Champaign, Il.
- SUBBARAO (S. K.), CURTIS (C. F.), SINGH (K. R. P.) et KRISHNAMURTHY (B. S.), 1974. — Variation in cytoplasmic crossing type in populations of *Culex pipiens fatigans* Wied. from the Delhi area. *J. Com. Dis.*, 6 : 80-82.
- SUBBARAO (S. K.), KRISHNAMURTHY (B. S.), CURTIS (C. F.), SINGH (K. R. P.), ADAK (T.) et CHANDRAHAS (R. K.), 1977a. — Further studies on variation of cytoplasmic incompatibility in the *Culex pipiens* complex. *Indian J. Med. Res.*, 65 (suppl.) : 21-33.
- SUBBARAO (S. K.), KRISHNAMURTHY (B. S.), CURTIS (C. F.), ADAK (T.) et CHANDRAHAS (R. K.), 1977b. — Segregation of cytoplasmic incompatibility/compatibility properties in *Culex pipiens fatigans*. *Genetics*, 87 : 381-390.
- SUBRA (R.), ACCROMBESSI (R.) et OUEDRAOGO (V. K.), 1968. — Incompatibilités cytoplasmiques chez des souches ouest-africaines de *Culex pipiens fatigans* Wiedemann. WHO/VBC/68-92.
- SUENAGA (O.), 1981. — [Cytoplasmic incompatibility and the role of *Wolbachia pipientis* in *Culex pipiens* complex.] *AKAIEKA Newsletter*, 5 : 16-29.
- WHITE (M. J. D.), 1968. — New concept suggest that classical sympatric and allopatric models are not the only alternative. *Science*, 15 : 1065-1070.
- WRIGHT (J. D.), SJOSTRAND (F. S.), PORTARO (J. K.) et BARR (A. R.), 1978. — The ultrastructure of the *Rickettsia*-like microorganism *Wolbachia pipientis* and associated virus-like bodies in the mosquito *Culex pipiens*. *J. Ultrastructure Res.*, 63 : 79-85.
- WRIGHT (J. D.) et WANG (B. T.), 1980. — Observations on *Wolbachiae* in mosquitoes. *J. Invert. Path.*, 35 : 200-208.
- YEN (J. H.), 1972. — The microorganismal basis of cytoplasmic incompatibility in the *Culex pipiens* complex. PhD dissertation, University of California, Los Angeles, 133 p.
- YEN (J. H.), 1975. — Transovarial transmission of *Rickettsia* like microorganisms in mosquitoes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 266 : 152-161.
- YEN (J. H.) et BARR (A. R.), 1971. — New hypothesis of the cause of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens* L. *Nature*, 232 : 657-658.
- YEN (J. H.) et BARR (A. R.), 1973. — The etiological agent of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens*. *J. Invert. Path.*, 22 : 242-250.
- YEN (J. H.) et BARR (A. R.), 1974. — Incompatibility in *Culex pipiens* : 97-118, in *Use of Genetics in Insect Control* (R. PAL et M. J. WHITTEN, eds.). Elsevier, North Holland.