

UNIVERSITE DE MONTPELLIER II
SCIENCES ET TECHNIQUE DU LANGUEDOC

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE MONTPELLIER II

Discipline: Biologie de la Santé

Ecole Doctorale: Sciences Chimiques et Biologiques pour la Santé

présentée par:

Harling CARO RIAÑO

soutenue le 16 décembre de 2008

Changements phénotypiques du milieu sylvestre au milieu domestique chez les
vecteurs de la maladie de Chagas

JURY

| | |
|--|--------------------|
| M. Paul ALIBERT , Maître de conférence Université de Bourgogne, Dijon-France | Rapporteur |
| M. Christopher John SCHOFIELD , Lecturer Université de Londres, Londres-UK | Rapporteur |
| M. Jean-Christophe AUFFRAY , Directeur de Recherche Université de Montpellier II, Montpellier-France | Examineur |
| M. Nicolas JARAMILLO , Professeur Université d'Antioquia, Medellin-Colombia | Co-directeur |
| M. Francois NOIREAU , Directeur de Recherche IRD, La Paz-Bolivie | Co-directeur |
| M. Jean-Pierre DUJARDIN , Directeur de Recherche IRD, Bangkok-Thaïlande | Directeur de These |

**UNIVERSITE MONTPELLIER II
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC**

THESE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE MONTPELLIER II

Discipline: Biologie de la Santé

Ecole Doctorale: Sciences Chimiques et Biologiques pour la
Santé

présentée par

Harling CARO RIAÑO

soutenue le 16 décembre de 2008

Changements phénotypiques du milieu sylvestre au milieu
domestique chez les vecteurs de la maladie de Chagas

JURY

M. Paul ALIBERT, Maître de conférence
Université de Bourgogne, (Dijon - France), Rapporteur
M. Christopher John SCHOFIELD, Lecturer
Université de Londres, (Londres - UK), Rapporteur
M. Jean-Christophe AUFFRAY, Directeur de Recherche
Université de Montpellier, (Montpellier - France), Examineur
M. Nicolás JARAMILLO, Professeur
Université d'Antioquia, (Medellin - Colombie), Co-directeur
M. François NOIREAU, Directeur de Recherche
IRD, (La Paz - Bolivie), Co-directeur
M. Jean-Pierre DUJARDIN, Directeur de Recherche
IRD, (Bangkok - Thaïlande), Directeur de Thèse

TITRE: Changements phénotypiques du milieu sylvestre au milieu domestique chez les vecteurs de la maladie de Chagas.

RESUME

La transmission à l'homme du parasite de la maladie de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, est due principalement à l'activité de quelques espèces de grandes punaises hématophages, les Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). Ces quelques espèces sont très répandues et sont importantes dans le maintien de l'endémie car elles vivent en étroite association avec l'homme. C'est leur anthropisation, qui fait l'essentiel de leur signification épidémiologique, de leur capacité vectorielle. Pourtant, il est d'observation courante de voir des espèces sylvestres, dont certaines sont peu connues, tenter d'établir des colonies intradomiciliaires. A ce jour, aucun critère, ni génétique ni environnemental, n'existe pour juger du danger (de domestication) représenté par telle ou telle espèce.

Nous avons examiné l'espèce qui dans notre pays, la Colombie, est considérée comme une menace potentielle, *Rhodnius pallescens*. En Colombie, cette espèce reste confinée aux palmiers et semble échouer dans ses tentatives de colonisation domiciliaires. Est-elle inapte à s'adapter?

Nous nous sommes intéressés aux paramètres métriques de la plasticité phénotypique déjà recensés chez les vecteurs avérés de la maladie de Chagas: principalement une diminution de taille en milieu domestique.

Pour examiner non seulement la moyenne mais aussi la variance de la taille, nous mettons à disposition un logiciel développant des tests non-paramétriques adaptés. Chez *R. pallescens*, nous confirmons que la diminution de taille semble **typique** du passage d'un milieu stressant, instable, de faible valeur nutritive, à un milieu stable et riche en source de sang, et qu'elle paraît **systématique**, valable d'une espèce à une autre, d'un genre (*Rhodnius*) à un autre (*Panstrongylus*). Nous mettons en évidence l'importance de l'**interaction** entre la densité des populations et la fréquence d'alimentation: c'est cette interaction qui rend compte de la diminution de taille, et non l'un de ces facteurs pris séparément.

Les expérimentations réalisées sur des lignées isofemelles soulignent l'influence du génotype sur la réponse plastique de l'insecte, et suggèrent que la domestication pourrait ne pas être un attribut de l'espèce, mais plutôt d'un ou de plusieurs génotypes. Ainsi, la domestication serait en fait une af-

faire de chance, une rencontre entre un génotype, un milieu et des conditions favorables. Ces dernières sont liées au coût de la plasticité phénotypique. Les génotypes les plus aptes à la domestication seraient ceux qui assurent le mieux un équilibre entre les avantages adaptatifs et les coûts de la plasticité en réponse à des changements de milieu.

Nos modèles de laboratoires nous permettent de suggérer qu'en Colombie, le poulailler est une porte d'entrée pour *R. pallescens* en milieu domestique. Dans les villages colombiens, si l'on veut détecter une domestication rampante, le poulailler doit être examiné au même titre que le domicile. C'est la recommandation que cette thèse peut nous amener à faire au Ministère de la Santé en Colombie.

TITLE: Phenotypical changes in Triatominae associated with environmental stress

ABSTRACT

Transmission to humans of the parasite inducing Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, is due mainly to a few species of hematophagous bugs of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). Although not numerous, these species are widespread and efficient vectors because of their close association with humans. However, it is relatively common to report also sylvatic, poorly known species invading human dwellings or peridomestic structures. Most of them seem to fail establishing domestic colonies, but, as far, neither genetic nor environmental criteria exist able to predict the final outcome.

We studied the species which is considered as a potential threat in my country, Colombia. In this region, the species seems confined to palm trees, sporadically intruding human dwellings but failing to establish durable intradomiliary colonies. Is it unable to accomplish domestication ?

We examined some aspects of phenotypic plasticity already described in the literature for well known Chagas vectors: mainly their size reduction in domestic conditions of life.

To consider not only the mean size but also its variance, we developed a specialized software based on non-parametric tests. In *R. pallescens*, we confirmed that size reduction was typical of the transition from a stressing, poor and unstable environment to a stable and nutritive one, and that this size reduction was a systematic change, found for different species, different

genera (*Panstrongylus*, *Rhodnius*). We highlighted the importance of the interaction between population density and feeding frequency: it is this interaction which drives the main changes in size, and not any of the factors separately.

Experiences on isofemale lines indicate the influence of the genotype on plastic response, suggesting that ability to domesticate could be not a species but a genotype specific trait. Thus, domestication would be actually a matter of chance, an encounter between one or a few genotypes, a given environment and favorable conditions. The latter is linked to the cost represented by the plastic response. The genotypes able to be domesticated would be the ones enjoying the best balance between adaptive value and cost of their plastic response to environmental changes.

Our laboratory observations suggest that in Colombia, hen houses would be the back door for *R. pallescens* durable access to the domestic environment. In Colombian villages, to avoid undetected but true domestication process, not only human dwellings but also hen houses are priority targets to be investigated for the presence of triatomine bugs. Based on the data obtained in our thesis, it is the recommendation we feel authorized to address to the Health Ministry of Colombia.

MOTS-CLÉS: Maladie de Chagas, Plasticité phénotypique, Morphométrie géométrique

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE: GEMI-IRD. 911, Avenue Agropolis. 34394 Montpellier. Cedex 5, France.

REMERCIEMENTS

Monsieur Paul ALIBERT et Monsieur Christopher John SCHOFIELD ont accepté d'être les rapporteurs de cette thèse: je les remercie d'avoir accordé du temps et toute leur attention à ce travail.

Monsieur Jean-Christophe AUFFRAY a accepté de rejoindre le jury de cette thèse, je l'en remercie de l'aide qu'il m'a toujours apportée quand je l'ai sollicitée.

Monsieur Nicolas JARAMILLO et Monsieur François NOIREAU, mes co-directeurs l'un en Colombie, l'autre en Bolivie, ont été toujours disponibles malgré la distance.

Le Docteur Jean-Pierre DUJARDIN a dirigé ce travail avec dynamisme et professionnalisme. Je tiens à lui exprimer toute ma gratitude pour avoir cru en moi et m'avoir acceptée dans son équipe.

Deux personnes m'ont aussi apporté une aide, directement ou indirectement, déterminante dans cette thèse et je tiens à les remercier ici, l'une américaine, Dean ADAMS (Université de l'Etat d'Iowa), et l'autre française, Michel BAYLAC (Museum d'Histoire Naturelle, Paris).

C'est grâce à l'Institut de Recherche pour le Développement, l'IRD, que ces trois années de thèse ont été possible, car j'ai eu l'avantage de bénéficier d'une bourse doctorale attribuée par au Département Soutien et Formation (DSF). Cette bourse m'a permis de suivre le travail de laboratoire en Colombie pendant huit mois, de vivre en France pour m'initier au Français, au TeX, au latex, au Linux et puis de passer quelques mois en Thaïlande pour terminer la rédaction de la thèse en présence de mon directeur de thèse.

Je veux remercier ici encore certaines personnes rencontrées pendant la réalisation de cette thèse en Colombie, en France et en Thaïlande.

En Colombie. Je remercie Monsieur Omar TRIANA et je me réjouis de l'aide précieuse de celles et ceux de ses collaborateurs qui ont accepté de travailler avec moi sur les expérimentations de laboratoire liées à ma thèse. Je souhaite exprimer particulièrement ma gratitude à Duverney CHAVERRA. Je remercie dans ce laboratoire tous les amis: Sair, Genes, Ana, Andres, Edna pour l'accueil et les agréables moments passés ensemble pendant mes séjours là-bas.

En France. Je remercie Monsieur François RENAUD et toutes les personnes de son laboratoire, le GEMI. Je le remercie aussi pour l'aide qu'il n'a pas hésité à m'apporter dans les difficultés. Ma gratitude va aussi aux personnes qui m'ont soutenu pendant les premiers jours de mon arrivée en France alors que je ne parlais pas encore le Français, en particulier Nadine MAURY et Audray RAVAT, ainsi qu'à François CHEVENET, mon voisin de bureau.

En Thaïlande. Je remercie Madame Pattamaporn KITTAYAPONG qui dirige le "Center of Excellence for Vectors and Vector-Borne Disease" (Faculté des Sciences, Université de Mahidol, Bangkok) pour m'avoir permis de travailler dans son laboratoire pendant toute la rédaction de cette thèse. Je tiens à exprimer spécialement toute ma gratitude à Ronald MORALES pour sa gentillesse dès mon arrivée à Bangkok.

Ma reconnaissance va aussi à tous ces amis rencontrés pendant mes années de "thésarde": Ana, Juan, Mauro, Mila, Phil, Andrea, Afiwa, Marta, Diego, Johana, Alvaro, Edgardo, Luis, Claudine, Jenny, Alex, Erika, Paula, Nubia, Balee pour les très chaleureux moments passés ensemble. Merci Yadira infiniment pour toute ta disponibilité et ton soutien avec moi.

Merci à **ma famille** pour sa compréhension pendant ces longues années de distance. Merci de m'avoir toujours soutenu pendant les moments plus durs. **Nacho** j'ai tout plein de mercis pour toi, sans toi la réalisation de cette thèse n'aurait pu être possible. Cette thèse est dédiée à la mémoire de mon père, Gonzalo CARO CALLE, qui ... "vuela encima de nosotros y nos cuida y vuela donde la tia Harling y la tia Pato porque tambien las cuida"... Maria.

Contents

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUCTION | 11 |
| 1.1 La maladie de Chagas | 11 |
| 1.1.1 Le parasite | 13 |
| 1.1.2 Le réservoir animal | 13 |
| 1.2 Les insectes vecteurs | 14 |
| 1.2.1 L'habitat domestique et sylvestre | 16 |
| 1.2.2 Lutte antivectorielle | 18 |
| 1.3 Espèces de Triatominae étudiées dans cette thèse | 19 |
| 1.3.1 <i>Rhodnius prolixus</i> | 19 |
| 1.3.2 <i>Rhodnius pallescens</i> | 22 |
| 1.3.3 <i>Panstrongylus geniculatus</i> | 28 |
| 1.4 Morphométrie géométrique | 31 |
| 1.4.1 Collecte des points repères (PR) | 31 |
| 1.4.2 Élimination des artéfacts de variation | 32 |
| 1.4.3 Ajustement à une taille unitaire | 33 |
| 1.4.4 Perte des degrés de libertés | 34 |
| 1.4.5 Erreur de mesure | 36 |
| 1.4.6 Dimensionnalité | 38 |
| 2 Changements phénotypiques en fonction du milieu chez quelques vecteurs de la maladie de Chagas: ETAT DE LA QUESTION | 39 |
| 2.1 Milieu sylvestre, milieu domestique et environnement de laboratoire | 40 |
| 2.1.1 Plasticité phénotypique | 41 |
| 2.1.2 Canalisation | 43 |
| 2.1.3 Instabilité de développement | 44 |
| 2.1.4 Mécanismes moléculaires de la canalisation - Epigénétique | 44 |
| 2.1.5 Importance évolutive de la plasticité phénotypique | 46 |
| 3 OBJECTIFS de notre étude | 48 |
| 4 HYPOTHESE de travail | 49 |
| 5 METHODOLOGIE | 50 |
| 5.1 Structure des données | 50 |
| 5.1.1 Taille et conformation | 51 |
| 5.1.2 Temps de développement | 51 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 5.1.3 | Mortalité | 52 |
| 5.2 | Mesures de la plasticité phénotypique | 52 |
| 5.2.1 | Taille (Figure 15) | 53 |
| 5.2.2 | Conformation (Figure 16) | 55 |
| | Analyse de certains paramètres de la conformation | 55 |
| 5.3 | Analyse des données | 58 |
| 5.3.1 | ANOVA | 58 |
| 5.3.2 | ANOVA non paramétrique | 58 |
| 5.3.3 | MANOVA | 59 |
| 5.3.4 | MANCOVA | 59 |
| 5.4 | Logiciels | 60 |
| 5.4.1 | Collecte des données, COO | 60 |
| 5.4.2 | Paramètres morphométriques, MOG | 61 |
| 5.4.3 | Analyses de la taille, VAR | 61 |
| 5.4.4 | Analyses de la conformation, PAD | 61 |
| 5.4.5 | Analyses de la conformation, COV | 62 |
| 5.4.6 | ANOVA à deux facteurs, graphiques, JMP | 62 |
| 5.5 | Programmation du module VAR | 63 |
| 5.5.1 | Permutations, Dx et Dy | 63 |
| 5.5.2 | “Bootstraps”, Dx-Dy | 63 |
| 6 | RESULTATS | 65 |
| 6.1 | Mesures de la plasticité phénotypique de la taille et comparaisons: le script VAR | 65 |
| 6.2 | Etude de la transition d’un milieu à l’autre entre générations | 70 |
| 6.2.1 | Protocole expérimental | 70 |
| | Provenance des insectes | 70 |
| | Mesures morphométriques | 70 |
| 6.2.2 | Résultats | 72 |
| | Taille | 72 |
| | Conformation | 75 |
| 6.3 | Densité des populations, et régime alimentaire. | 79 |
| 6.3.1 | Protocole expérimental | 79 |
| | Formation des traitements | 79 |
| | Mesures morphométriques | 80 |
| | Temps de développement | 81 |
| | Mortalité | 81 |
| 6.3.2 | Bref rappel des traitement statistiques | 81 |
| 6.3.3 | Résultats | 82 |
| | Temps de développement | 82 |
| | Mortalité | 82 |

| | | |
|----------|---|------------|
| | Taille | 84 |
| | Conformation | 89 |
| 6.4 | Transition d'un hôte à un autre | 92 |
| 6.4.1 | Protocole expérimental | 92 |
| | Formation des parents | 92 |
| | Lignées isofemelles (1 mâle, 1 femelle), ou lignées mono- parentales | 93 |
| | Lignées de groupes, ou lignées multiparentales | 94 |
| | Origine des colonies | 94 |
| | Mesures morphométriques | 95 |
| | Temps de développemnt | 95 |
| | Mortalité | 96 |
| 6.4.2 | Résultats | 96 |
| | Mortalité dans chaque espèce | 96 |
| | <u>Temps de développement dans chaque espèce</u> | 101 |
| | <u>Plasticité phénotypique chez <i>Rhodnius prolixus</i></u> | 103 |
| | <u>Plasticité phénotypique chez <i>Rhodnius pallescens</i></u> | 115 |
| | <u>Comparaisons interspécifiques basées sur les couples</u> | 119 |
| | <u>Couples, groupes, moyennes</u> | 129 |
| 7 | DISCUSSION | 135 |
| 7.1 | Concepts et Statistiques | 135 |
| 7.2 | Mesure de la plasticité phénotypique | 137 |
| 7.3 | Couples et groupes | 139 |
| 7.4 | Populations naturelles et domestiques, et le laboratoire | 140 |
| 7.5 | Exemple d'une modélisation en laboratoire | 143 |
| | | 144 |
| | | 144 |
| | | 144 |
| | | 144 |
| 7.6 | Coût de la plasticité phénotypique | 144 |
| | Mortalité | 144 |
| | Temps de développement | 146 |
| 7.7 | Le "bon" génotype au "bon" endroit | 146 |
| 7.8 | Plasticité et domestication | 148 |
| | Intrusion | 149 |
| | Domiciliation | 149 |
| | Domestication | 149 |
| 8 | CONCLUSIONS | 150 |

1 INTRODUCTION

1.1 La maladie de Chagas

La Maladie de Chagas est due à l'infection par le protozoaire flagellé *Trypanosoma cruzi*. Ce parasite est transmis par des insectes de la sous-famille Triatominae (Chagas, 1909; Lent & Wygodzinsky, 1979). La distribution géographique de la maladie recouvre celle des vecteurs. Ainsi, la maladie est présente dans presque toute l'Amérique, du sud des États-Unis au sud de l'Argentine (Figure 1), la plupart du temps dans des zones rurales pauvres où les Triatominae peuvent se multiplier et trouver leur nourriture sur un réservoir naturel abondant. Ce réservoir comprend presque tous les animaux, à l'exception notable des oiseaux et des batraciens (Wéry et al., 1995).



Figure 1: Distribution géographique de la maladie de Chagas et ses vecteurs. En rouge les zones d'endémie humaine et en gris distribution des vecteurs.

La maladie de Chagas se développe en trois phases:

1. Phase aiguë: Elle est reconnaissable par la présence du parasite dans le sang. Après une étape de multiplication dans les cellules du système réticulo-endothélial, le parasite envahit en effet la circulation et pénètre dans les cellules de l'organisme, en particulier les cellules musculaires cardiaques et les cellules musculaires lisses (tube digestif).
Les symptômes sont le plus souvent discrets, évoquant à ce stade une forme grippale. Cependant, des formes aiguës graves existent, provoquant une myocardite parasitaire mortelle, ou plus exceptionnellement des formes nerveuses. Il est possible rencontrer à des degrés très variables les signes cliniques suivants: signe de Romana, chagome d'inoculation, œdème sous-cutané, ganglions lymphatiques, hépatomégalie et splénomégalie. Cette phase peut durer en moyenne de un à deux mois.
2. Phase indéterminée: Aucune pathologie n'est apparente pendant la phase dite "indéterminée". Il s'agit déjà de la phase chronique mais sans symptômes particuliers. Cette phase peut durer une vingtaine d'années.
3. Phase chronique: Par définition le parasite, en phase chronique, n'est plus détectable dans le sang. Des lésions irréversibles peuvent toucher le cœur, l'œsophage, le colon, et le système nerveux périphérique : 27% des personnes infectées souffrent de symptômes cardiaques (cardiopathies chroniques), qui peuvent conduire à la mort subite; 6% des individus sont atteints de lésions chroniques de l'appareil digestif; 3% des personnes infectées ont des atteintes du système nerveux périphérique (troubles neurologiques) (Dujardin et al., 2000).

L'infection peut conduire à une maladie dans la moitié des cas environ. La maladie est parfois létale, parfois invalidante, et représente une des toutes premières priorités de santé publique en Amérique Latine, où 28 millions de personnes représentent aujourd'hui la population à risque (Guhl & Lazdins-Helds, 2007) (Tableau 1).

| Paramètres épidémiologiques | Années | | |
|--------------------------------|--------------|-------------|-------------|
| | 1990 | 2000 | 2006 |
| Décès annuels | > 45000 | 21000 | 12500 |
| Infections humaines | 30 millions | 18 millions | 15 millions |
| Nouveaux cas par an | 700000 | 200000 | 41200 |
| Population à risque | 100 millions | 40 millions | 28 millions |
| Nombre de pays | 21 | 21 | 21 |

Table 1: Changements des paramètres épidémiologiques et diminution de l'incidence de la maladie de Chagas due à l'interruption de la transmission vectorielle. (Guhl & Lazdins-Helds, 2007)

1.1.1 Le parasite

T. cruzi, est caractérisé par la présence d'une membrane ondulatoire et d'une mitochondrie unique située dans le kinétoplaste, une organelle spécialisée contenant de l'ADN.

Le parasite présente trois stades morphologiquement différenciés: amastigote, épimastigote et trypomastigote.

1. Le stade amastigote est le responsable direct de la pathologie de la maladie de Chagas, il se multiplie dans les macrophages de l'organisme infecté. C'est sous sa forme trypomastigote (voir ci-dessous) qu'il les détruit, envahit la circulation sanguine, puis pénètre d'autres cellules dans lesquelles il redevient amastigote.
2. Le stade épimastigote est extracellulaire, c'est un stade de multiplication dans l'intestin moyen des insectes vecteurs.
3. Finalement, le stade trypomastigote représente la forme parasitaire de transit, circulant dans le sang du patient pour envahir ses cellules musculaires, ou passant de l'intestin postérieur de l'insecte aux tissus sous-cutanés de l'hôte vertébré où il est alors capturé par des macrophages. Le trypomastigote est extracellulaire et ne se multiplie pas (Dujardin et al., 2000).

1.1.2 Le réservoir animal

Le réservoir animal du parasite est immense. On peut dire que tous les animaux peuvent héberger le parasite et assurer son cycle complet, à l'exception

des oiseaux et des amphibiens (Wéry et al., 1995). Cela ne signifie pas nécessairement que tous les animaux représentent le même risques d'infection du vecteur, car la présence du parasite dans le sang est fugace pour certaines espèces (cheval, bovins, etc.), alors qu'elle est plus durable dans d'autres (marsupiaux).

Le rôle des animaux dans la circulation du parasite vers l'homme, en particulier celui des animaux domestiques (chèvres, cochons, chiens, poules, etc), est plutôt d'assurer aux insectes vecteurs une ressource alimentaire importante près des habitations humaines.

1.2 Les insectes vecteurs

La maladie de Chagas est principalement transmise à l'homme par de grosses punaises hématophages appelées "triatomes", ou "réduves", de la sous-famille des Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). Le parasite est aussi transmis par d'autres voies, moins fréquentes: les transfusions de sang, la greffe d'organes, la transmission congénitale, la voie orale et finalement les accidents de laboratoire.

Développement des Triatominae.

Le temps de développement des Triatominae est généralement assez long, allant de quelques mois à plus de deux ans selon les espèces. Comme pour d'autres insectes, les facteurs abiotiques tels que la température et l'humidité affectent le développement, mais d'autres facteurs sont peut-être plus importants encore, comme la source d'alimentation, la fréquence d'alimentation et la densité des populations de l'insecte.

Il y a cinq stades larvaires, L1, L2, L3, L4, et L5. Les mues sont de type hémimétabole. Chaque stade est un "petit adulte": il en a l'apparence générale et le comportement, hormis celui du vol et de la reproduction. Les larves n'ont pas d'ailes ni d'organes reproducteurs. Il est toutefois possible de distinguer les sexes sur le dernier stade larvaire (L5) (Da Rosa et al., 1992; Rodríguez-Sánchez et al., 2003).

Les larves ne peuvent pas muer sans alimentation (quel que soit le contenu du repas): elles doivent s'alimenter au moins une fois à réplétion pour atteindre l'étape suivante, et c'est la réplétion qui importe. L'étirement du mur abdominal fournit le stimulus qui cause la sécrétion de l'hormone de la mue. Ce stimulus est nerveux, conduit par des nerfs au cerveau, et peut être

produit par un repas d'eau si cette eau gonfle l'abdomen suffisamment.

La mue se produit à un intervalle défini après la prise de sang, et seulement un repas (complet) est nécessaire dans chaque stade larvaire. Environ 7 jours après l'alimentation de la larve de cinquième stade (environ 4 jours pour les autres larves), l'hémolymphe contient une hormone (ecdysone) qui induira la mue, et les divisions mitotiques dans l'épiderme commencent (Riddiford, 2007).

La mue imaginale se produit normalement à la fin du cinquième instar. Si les autres stades reçoivent (expérimentalement) le sang des larves muantes de cinquième stade, elles peuvent initier une métamorphose précoce et développer des caractères adultes; si une larve de cinquième stade décapitée reçoit le sang d'une larve muante de quatrième stade elle peut développer un stade présentant les caractères d'une larve plutôt que d'un adulte (Wigglesworth, 1934).

Versatilité et opportunisme alimentaires.

La caractéristique biologique principale de la majorité des espèces de Triatominae est leur condition d'hématophagie stricte dans les cinq stades larvaires et les deux sexes adultes. L'importance de la transmission du parasite à l'homme ne repose pas seulement sur cette **hématophagie** de tous les stades de développement des triatomes, elle est liée aussi et surtout à l'aptitude des rédues à **coloniser les habitations humaines** (Schofield et al., 1999; Pereira et al., 2006).

Les Triatominae peuvent donc se nourrir du sang de très nombreux hôtes différents. Ils peuvent même aller le chercher sur leur congénères (Ryckman, 1951) (Figure 2). Toutefois, les oiseaux et les petits mammifères semblent être la source principale de sang (Viana SantAnna et al., 2001). Les oiseaux et les mammifères ont pourtant des caractéristiques hématologiques très différentes. Les oiseaux, par exemple, ont des thrombocytes. Ceux-ci jouent la même fonction que les plaquettes mammifères, mais sont moins efficaces. Les oiseaux semblent également manquer de quelques facteurs de coagulation.

En plus des repas de sang, les triatomes "retrouvent" parfois (ou n'auraient jamais "perdu") un comportement prédateur qui leur permet de se nourrir de l'hémolymphe d'autres arthropodes. Ainsi, l'étonnante "plasticité" d'adaptation alimentaire qui semble caractériser les triatomes leur permet d'adopter, à côté de l'hématophagie considérée peut-être à tort comme "obli-

gatoire”, un comportement alimentaire alternatif (hémolymphe) qui leur assure la survie et le développement en l’absence de source de sang (Carbajal de la Fuente et al., 2008) (Figure 2).

En matière de comportement alimentaire, l’opportunisme semble être le maître-mot, ce qui n’empêche pas certaines espèces de développer une véritable stratégie alimentaire: les femelles de *T. pseudomaculata* en milieu sylvestre et en état de souffrance nutritionnelle, multiplient les sites de pontes où elles ne déposent, à chaque fois, qu’un petit nombre d’œufs afin d’accroître les chances de rencontrer un hôte nourricier susceptible d’assurer le développement des larves (Carbajal de la Fuente et al., 2008).



Figure 2: Hémolymphe: Comportement alimentaire alternatif chez les Triatominae.

1.2.1 L’habitat domestique et sylvestre

En milieu sylvestre, les Triatominae occupent principalement les nids d’oiseaux, les feuilles englobantes, les troncs de palmiers, les terriers de pierre de

petits rongeurs et de marsupiaux, mais certaines espèces ont colonisé l'habitat de l'homme et des animaux domestiques.

Les insectes, qui développent un comportement principalement domiciliaire et anthropophile une fois qu'ils ont infesté une maison (Grijalva et al., 2005), sont habituellement cachés pendant le jour dans les crevasses des murs et/ou dans la toiture des maisons construites avec des matériaux précaires. Plus rarement, les maisons mieux construites peuvent héberger l'insecte vecteur, en raison de l'utilisation des matériaux de mieux qualité pour faire des toits.

Les insectes se nichent dans les crevasses des murs, et ne sortent que la nuit pour s'alimenter sur les personnes endormies, ainsi que sur les animaux domestiques. Les déjections rejetées sur l'hôte pendant le repas sanguin permettent la transmission du parasite qui pénètre activement à travers la peau lésée ou la muqueuse. En plus de ces effets directs sur la santé, le nombre d'insectes venant s'alimenter sur les occupants représente une nuisance inacceptable. Les grandes quantités de sang que les triatomes sont capables d'ingérer peuvent même contribuer au développement d'anémies ferriprives (paragraphe 1.3.1) (Schofield, 1981).

C'est grâce à la domesticité que ces insectes deviennent des vecteurs importants, mais c'est aussi grâce à la domesticité que la lutte anti-vectorielle de la dernière décade a obtenu des résultats majeurs dans la réduction de cette endémie continentale (Dias & Schofield, 2004; Guhl & Lazdins-Helds, 2007).

Réinfestations

Même lorsque les colonies d'insectes sont éradiquées d'une maison et des abris environnants pour les animaux domestiques, les insectes peuvent revenir à partir des plantes ou des animaux qui font partie du cycle antique d'infection sylvestre naturelle, souvent attirés par la lumière (Schofield et al., 1999; Zeledón et al., 2001; Calzada et al., 2006; Zeledón et al., 2006) et produire alors des réinfestations (Rojas de Arias, 2001; Schofield et al., 2006; Dujardin et al., 2007).

Domestication

Le fait entomologique le plus observé aujourd'hui est la tendance à coloniser l'habitat de l'homme par de nombreuses espèces (Noireau et al., 1994;

Dujardin et al., 1998a; Schofield et al., 1999; Abad Franch et al., 2002; Wolff & Castillo, 2002). De multiples candidats s'y "essaient" ("candidats vecteurs", "vecteurs secondaires"), obligeant à une vigilance accrue.

Selon (Dujardin et al., 2000), ce processus peut être subdivisé en plusieurs étapes: l'**intrusion**, la **domiciliation**, et la **domestication**.

1. L'**intrusion** ne serait que la présence d'adultes occasionnellement attirés par les lumières; les stades immatures ne seraient pas rencontrés, à moins d'une ponte locale en cas d'intrusion par une femelle gravide.
2. La **domiciliation** surviendrait quand les adultes entrés par intrusion dans le domicile y déposeraient des œufs, que les larves pourraient alors survivre et une colonie s'établir. Cette étape ne correspond pas à une véritable domestication, car cette dernière suppose un lien entre l'animal et l'homme. Un lien tel que l'animal domestique devient dépendant de l'homme et l'accompagne dans ses transhumances.
3. Une **domestication** se définirait donc par une extension géographique de la domiciliation en accord avec les migrations humaines connues. Seules quelques espèces répondent aujourd'hui à ces critères: *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus*, *Triatoma dimidiata* (Dujardin et al., 2000) et *Triatoma brasiliensis* (Borges et al., 2000).

Comme pour les réinfestations, l'état du paysage et d'autres facteurs externes, non identifiés, peuvent initier ou aider le processus de domestication. Ainsi, on constate qu'à l'intérieur d'une espèce domestique donnée, certaines populations géographiques restent sylvestres, d'autres s'adaptent aux structures artificielles. Une composante environnementale est donc probable.

Mais puisque certaines espèces sont plus aptes que d'autres à coloniser l'habitat domestique, à commencer par les vecteurs principaux, le déterminisme de cette adaptation a sans doute aussi une base génétique.

1.2.2 Lutte antivectorielle

Les Triatominae "domestiques" sont très bien adaptés aux conditions stables qu'offre l'habitat humain. Comme les populations domestiques de ces triatomes ont probablement été fondées récemment elles n'affichent pas de variabilité génétique importante (Dujardin & Tibayrenc, 1985; Garcia et al.,

1995; Brenière et al., 1998; Ramsey & Schofield, 2003) et semblent très vulnérables aux techniques modernes de lutte (Dujardin et al., 2000).

Pour que la lutte antivectorielle soit pleinement effective, elle doit couvrir tout le territoire de l'espèce cible, et toutes les maisons de ce territoire. Un unique traitement à base de pyréthroides de synthèse est capable de les éliminer. Une vigilance post-traitement est requise pour faire face à d'éventuelles réinfestations.

Acceptant ce défi, les gouvernements d'Amérique Latine ont décidé plusieurs campagnes internationales de contrôle, coordonnées par l'OPS ("Organización Panamericana de Salud") et un comité intergouvernemental ("Comité Intergubernamental") composé des responsables nationaux de lutte et de scientifiques, campagnes audacieusement orientées vers l'éradication complète des populations domestiques des principaux vecteurs (Schofield & Dias, 1999): *Triatoma infestans* dans le "Cône Sud" de l'Amérique du Sud, et *Rhodnius prolixus* dans les régions du Pacte Andin et d'Amérique Centrale.

1.3 Espèces de Triatominae étudiées dans cette thèse

Il existe au moins 137 espèces de Triatominae (Galvão et al., 2003), dont à peu près une douzaine représente un risque pour l'homme. Les trois espèces considérées dans ce travail comptent un vecteur majeur, *Rhodnius prolixus*, un candidat vecteur, *Panstrongylus geniculatus* et un vecteur d'importance locale au Panama, *R. pallescens*, lui-même candidat vecteur en Colombie. Ce dernier est cependant notre centre d'intérêt principal, car dans notre pays, la Colombie, il représente une menace mal définie.

1.3.1 *Rhodnius prolixus*

R. prolixus (Figure 3) est considéré comme le principal vecteur de la maladie de Chagas en Colombie, au Venezuela et dans certains pays d'Amérique Centrale. Il est absent au Panama et au Costa Rica.



Figure 3: *Rhodnius prolixus*, principal vecteur de la maladie de Chagas en Colombie.

Développement

La durée de cycle de vie chez *R. prolixus* depuis le stade d'œuf jusqu'au stade adulte a été estimée entre 73 et 206 jours, en moyenne 117,7 jours (Arevalo et al., 2007) quand ils ont été nourris sur la poule à 28 ± 1 degrés centigrades (C) et entre 75 et 80 % d'humidité relative (HR). D'autres auteurs ont trouvé un temps de développement similaire, de 114 jours, quand les insectes ont été nourris sur la souris à 25 ± 1 C et entre 75 et 80 % HR (Lent & Valderrama, 1977).

Comportement alimentaire

La prise de sang par *R. prolixus* est plus ou moins efficace selon que l'hôte animal est un oiseau (pigeon) ou un mammifère (souris) (Table 2) (Viana SantAnna et al., 2001). Le cycle de développement est possible sur

les deux hôtes.

| Espèce | Alimentation Artificielle | Pigeon | Souris |
|---------------------|---------------------------|--------------|--------------|
| <i>R. prolixus</i> | 24.1 +/- 7.4 | 19.5 +/- 5.0 | 11.9 +/- 3.8 |
| <i>R. robustus</i> | 16.9 +/- 2.0 | 13.3 +/- 6.2 | 7.4 +/- 4.2 |
| <i>R. nasutus</i> | 11.9 +/- 1.1 | 8.3 +/- 3.9 | 8.5 +/- 3.5 |
| <i>R. neglectus</i> | 8.3 +/- 1.9 | 5.7 +/- 1.8 | 3.1 +/- 1.6 |

Table 2: Taux moyen +/- déviation standard d'ingestion de sang (mg/min) chez quatre espèces du genre *Rhodnius* nourris sur différents sources de sang. (Viana SantAnna et al., 2001)

Ce qui surprend, c'est la quantité de sang ingéré: *R. prolixus* est capable d'ingérer 300 mg de sang en 15 minutes. De telles performances semblent être une caractéristique des espèces domestiques, de celles qui sont capables d'avoir de hautes densités dans les maisons.

Le temps requis pour un repas de sang à réplétion a été lié à la taille du spécimen et à l'activité de l'hôte (Zeledón et al., 1977). Une étude comparative de l'ingestion de sang chez *T. infestans* et *R. prolixus* suggère que la prise de repas sur souris chez *T. infestans* est plus efficace que chez *R. prolixus* quand les souris sont actives (Pereira et al., 1998). D'autres études ont montré aussi une corrélation négative entre l'irritation de l'hôte et le nombre d'insectes qui s'alimentent avec succès (Schofield et al., 1986).

Domesticité

R. prolixus est une espèce très bien adaptée aux domiciles (Schofield & Dujardin, 1999). En Amérique Centrale, elle est exclusivement "domestique" (Dujardin, 1998; Dujardin et al., 1998b; Schofield et al., 1999). Cependant, des populations sylvestres de cette espèce ont été trouvés à Casanare (Colombie) (López et al., 2007) et à Barinas (Venezuela) (Felicangeli et al., 2007).

Comme toute espèce domestique bien adaptée, *R. prolixus* peut développer des colonies très denses. En Colombie, jusqu'à 11403 insectes ont pu être collectés dans une maison (Sandoval et al., 2000), et 7934 au Venezuela (Rabinovich et al., 1979). De telles densités peuvent causer une perte importante de sang aux habitants, entraînant des anémies ferriprives (Schofield, 1981), et bien sûr le risque permanent d'une infection par *T. cruzi*.

Morphométrie géométrique appliquée à *R. prolixus*

Des analyses morphométriques de la taille moyenne entre populations domestiques, péri-domestiques et de palmier de trois villages au Venezuela ont montré des similitudes entre les environnements et les villages. La variance de la taille a été plus petite dans le milieu silvestre (Feliciangeli et al., 2007).

L'analyse de la forme a montré que des individus provenant des palmiers ont la même conformation que des individus des milieux péri-domestiques et domestiques. L'absence de différenciation des formes peut être attribuable à la migration des individus de palmier vers les milieux péri et domestique. Ce résultat, confirmé ensuite par l'étude des microsatellites (Fitzpatrick et al., 2008), incrimine les populations silvestres comme une source de reinfestation (Feliciangeli et al., 2007).

1.3.2 *Rhodnius pallescens*

Des 137 espèces de triatomés décrites à ce jour, une quarantaine d'entre elles, appelées candidats vecteurs, possèdent un potentiel invasif pour l'habitat humain. *R. pallescens* (Figure 5) est le principal vecteur de la maladie de Chagas au Panama, mais avec une particularité importante: il ne coloniserait pas, ou peu, les maisons. Il ferait la navette entre les palmiers et les maisons. La capacité de *R. pallescens* à coloniser l'habitat humain reste un sujet peu documenté. En Colombie, cette espèce n'est pas responsable de la transmission à l'homme de *T. cruzi*, elle n'est pas rencontrée en milieu domestique, ni même ou rarement en milieu péri-domestique.



Figure 4: *Rhodnius pallescens*, candidat vecteur de la maladie de Chagas en Colombie.

Développement

Chez *R. pallescens* le temps de développement, sur la souris ou sur le pigeon, a été estimé à 126 et 212 jours, respectivement, à 25 +/- 3 degrés C et 80 +/- 3 % d'humidité relative (HR) (Jurberg & Rangel, 1984). Dans des conditions similaires (25 +/- 1 degrés C et entre 75 et 80 % HR), d'autres auteurs ont trouvé un temps de développement plus bas (111 jours) mais pour les insectes nourris sur la poule plutôt que le pigeon ou la souris (Moreno-Mejia et al., 1992).

Comportement alimentaire

1. Panama.

R. pallescens a un habitat sylvestre connu, le palmier, en particulier *Attalea butyracea* (Jaramillo et al., 2000). Ce triatome est zoophile mais semble-t-il avec une préférence pour les mammifères sauvages, principalement l'opossum. Il a été trouvé également nourri sur la souris, la poule et l'homme (Christensen et al., 1980; De Vasquez et al., 2004).

Il y a 40 ans, Pipkin (1968) rapportait une tendance à la domiciliation chez cette espèce dans certaines localités rurales, près du canal de Panama. Les plus de 3200 spécimens récoltés étaient trouvés en différents endroits du milieu domestique: à l'intérieur des maisons (tous stades de développement), mais aussi dans les poulaillers et les porcheries. Des spécimens étaient aussi collectés dans les refuges de certains animaux sauvages comme l'opossum. Ces observations, sauf pour l'opossum, n'ont pas été confirmées depuis par d'autres auteurs (Calzada et al., 2006).

Calzada et al. (2006) a détecté récemment la présence de *R. pallescens* à l'intérieur des domiciles, avec dans les tests d'identification du contenu intestinal une grande prévalence d'origine humaine pour les spécimens adultes de l'insecte (68.0%). Mais ces auteurs ne confirment pas un cycle de vie intradomiciliaire de *R. pallescens*, mais suggèrent que les caractéristiques des maisons dans ces secteurs ruraux conviennent à une adaptation progressive de *R. pallescens* à l'habitat humain. La proximité entre les palmiers et les maisons dans cette région est un facteur de risque évident. La découverte d'une larve infectée par *T. cruzi* à l'intérieur d'une maison implique, selon les auteurs, l'acquisition du parasite par l'alimentation sur l'homme infecté ou sur tout autre animal domestique infecté. En effet, une larve ne vole pas et sa source d'infection doit être toute proche. Il est néanmoins surprenant de ne rencontrer qu'une seule larve infectée sur l'ensemble des individus étudiés.

D'autres auteurs ont analysé le tractus digestif de 200 larves provenant des palmiers et ils ont confirmé que, dans cet habitat, l'opossum est la source de sang la plus fréquente (Christensen et al., 1980). Un an après

les mêmes auteurs ont étudié le contenu intestinal des insectes domestiques, peri-domestiques et sylvestres, ils ont trouvé du sang d'origine humaine dans plus de la moitié des 1300 individus analysées. La deuxième et troisième sources d'alimentation importantes ont été l'opossum et les oiseaux. Les auteurs ont proposé un comportement migrateur bi-directionnel des larves et des adultes entre palmiers et maisons humaines (Christensen & De Vasquez, 1981).

Après 40 ans de recherches (sporadiques), des colonies intradomiciliaires durables de *R. pallescens* n'ont pas été clairement confirmées.

2. Colombie.

En Colombie, *R. pallescens* est un candidat vecteur. Après 19 années de collectes sur terrain par le groupe de Chagas de l'Université d'Antioquia (Medellin, Colombia), seuls 1766 spécimens ont été capturés dans les villages et leurs abords: 3% intradomiciliaires, 8% peridomiciliaires et 89% dans les palmiers.

Les insectes collectés à l'intérieur des domiciles colombiens (la majorité adultes, mais des larves ont aussi été collectées) ne l'ont été qu'une seule fois, car dans des visites postérieures aux mêmes endroits ces collectes ont toutes été négatives malgré l'absence de lutte antivectorielle (Dujardin et al., 2000). Cela donne à penser que les résultats positifs étaient accidentels: des "intrusions" ou même des cas de "domiciliation" (paragraphe 1.2.1), sans lendemain.

Ce contraste entre les quelques recherches menées dans les deux pays interrogent l'homogénéité comportementale de *R. pallescens*. Parmi les différences notables signalons déjà le nombre de spécimens capturés par rapport à la durée des recherches: 1766 spécimens colombiens en 19 ans, 3600 spécimens panaméens en 3 ans, remarquons aussi le contraste des taux d'infection par *T. cruzi*: jusqu'à 72.2% au Panama (Calzada et al., 2006), 26% en Colombie (comm. pers Dr. Jaramillo du Laboratoire de Chagas, Université d'Antioquia, Colombie), et enfin les fréquentes allusions à la présence domiciliaire ou péridomiciliaire de l'insecte au Panama, à son habitat sylvestre préférentiel en Colombie.

Domesticité

Au Panama, Pipkin (1968) a rapporté une tendance à la “domiciliation” (paragraphe 1.2.1) chez cette espèce dans certaines localités rurales, près du canal. Plus récemment, Calzada et al. (2006) a détecté la présence de *R. pallescens* à l’intérieur des domiciles. Mais ces auteurs ne confirment pas un cycle de vie intradomiciliaire ancien, ils suggèrent que la proximité des maisons avec les palmiers dans ces secteurs ruraux conviennent à une adaptation progressive de *R. pallescens* à l’habitat humain.

En Colombie, *R. pallescens* n’a pas atteint comme au Panama le stade de “domiciliation”, c’est un candidat vecteur responsable d’ “intrusions” domiciliaires sporadiques (paragraphe 1.2.1). A ce jour, il reste donc une espèce sylvestre en Colombie, habitant préférentialement les palmiers du genre *Attalea* (Jaramillo et al., 2000).

Morphométrie géométrique appliquée à *R. pallescens*

Cette variabilité régionale s’accompagne d’un polymorphisme considérable de la morphologie de l’insecte (Figure 5)



Figure 5: Gamme de phénotypes de *Rhodnius pallescens* de différents régions géographiques de la Colombie. Variation de la taille moyenne et de la pigmentation.

Des analyses morphométriques ont confirmé de notables différences de conformation de la tête et de l’aile entre populations colombiennes et de Panama (Jaramillo, 2000; Jaramillo et al., 2002a) (Figure 6).

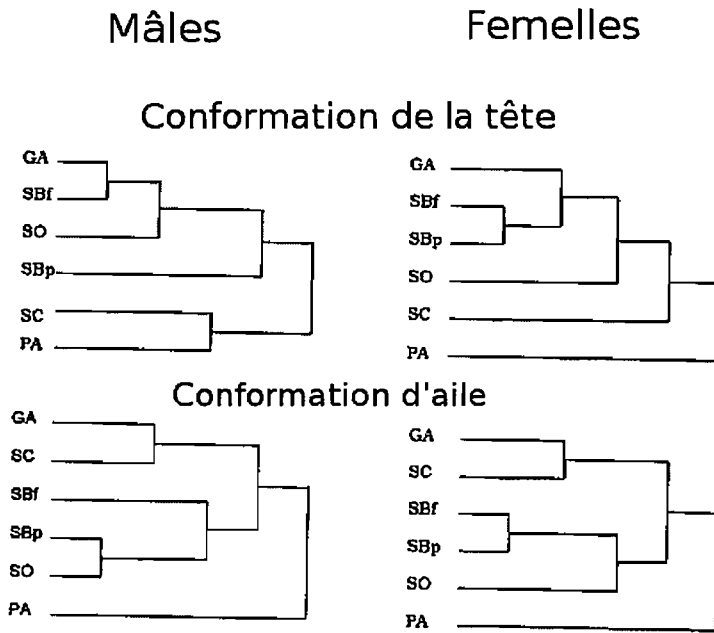


Figure 6: Variation morphométrique de la conformation de la tête et d'aile chez *R. pallescens* de cinq populations colombiennes (GA = Galeras; SBf = San Bernardo descendants; SBp = San Bernardo parents; SO = San Onofre; SC = San Carlos) et une population de Panama. Figure reproduite de la thèse doctorale du prof. N. Jaramillo (Université d'Antioquia, Medellin, Colombie) (Jaramillo, 2000)

Les différences de tailles paraissent corrélées aux différences cytogénétiques (Gómez-Palacio et al., 2008), suggérant l'existence de trois sous-populations génétiquement différentes. La région du **Nord** est classée comme "forêt tropicale sèche" et les insectes de cette région présentent une taille réduite et des différences significatives dans la conformation de l'aile et de la tête (Jaramillo et al., 2002a). Les individus de la région du Nord présentent une petite quantité d'hétérochromatine autosomique (**cytotype A**). La région du **Sud** est classée "forêt tropicale humide" et les insectes de cette région présentent une taille moyenne plus grande et une quantité d'hétérochromatine autosomique plus importante (**cytotype B**). Finalement, la région de l'**Ouest**, également une forêt tropicale humide, présente les deux **cytotypes, A et B**. Les populations de cette région apparaissent comme un mélange hétérogène des formes du Nord et du Sud (Figure 7) (Gómez-Palacio et al., 2008).

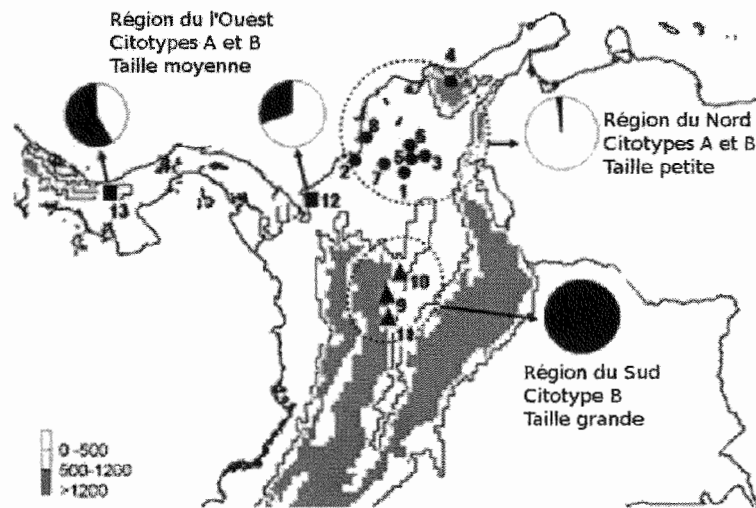


Figure 7: Variation morphométrique de la taille et variation citogénétique chez *R. pallescens*. Cercles: populations de la région du Nord; carrés: populations de la région du l'Ouest; triangles: populations de la région du Sud. Les fréquences des cytotypes dans chaque région a été représenté par des "camemberts" graphiques (Blanc= Citotype A; Noire= Citotype B). Figure modifiée de (Gómez-Palacio et al., 2008).

1.3.3 *Panstrongylus geniculatus*

Panstrongylus geniculatus (Figure 8) est une des espèces de Triatominae les plus largement distribuées (Lent & Wygodzinsky, 1979).



Figure 8: *Panstrongylus geniculatus*, vecteur secondaire de la maladie de Chagas en Colombie.

Développement

Cette espèce a besoin d'une humidité relative élevée pour se développer (> 90%) (Miles et al., 1981). Pour cette raison elle est difficile à maintenir dans les conditions de laboratoire, et il n'y a pas beaucoup d'études sur sa biologie. On connaît néanmoins son temps de développement: chez *P. geniculatus* nourri sur la poule, élevé à 26 +/- 3 degrés C et 90 +/- 10 % HR, il a été estimé à 274.8 jours (Cabello & Galindez, 1998).

Cette étude (Cabello & Galindez, 1998) a aussi montré que *P. geniculatus* a une longévité moyenne qui oscille entre 33.7 et 39.8 semaines, ce qui est considéré élevé, une faible capacité de dispersion (c'est une généralité chez les Triatominae, sauf quelques exceptions), et une résistance au jeûne

de quelques deux à trois mois, plus courte que celle par exemple d'un *T. infestans* jusqu'à 7 mois, (Borda, 1972).

Domesticité

Selon Cabello & Galindez (1998), les caractéristiques biologiques de *P. geniculatus* en font une espèce présentant moins de risques que d'autres de coloniser des maisons humaines. Malgré cela, plusieurs auteurs observent que cette espèce affiche un réel potentiel de domiciliation (Valente et al., 1998; Valente, 1999; Reyes-Lugo & Rodriguez-Acosta, 2000; Wolff & Castillo, 2000).

Au Brésil, elle a été associée aux enclos des porcs, très proches des maisons. Les porcs ont été trouvés infectés par *T. cruzi* (Valente et al., 1998; Valente, 1999). Au Venezuela elle a été trouvée associée aux rats (Reyes-Lugo & Rodriguez-Acosta, 2000). Plus récemment, elle a été trouvée dans les maisons, où il lui arrive même de partager l'espace de *R. prolixus*; elle s'y trouve néanmoins en très petites quantités (Feliciangeli et al., 2004). En Colombie aussi, elle a pu être collectée à l'intérieur des maisons (Wolff & Castillo, 2000).

Morphométrie géométrique appliquée à *P. geniculatus*.

Des études morphométriques de spécimens colombiens de *P. geniculatus* ont montré une diminution de la taille de la tête et des ailes en passant du milieu naturel au laboratoire. Ces changements phénotypiques évoquent ceux décrits pour les populations domestiques des grands vecteurs (Jaramillo et al., 2002b).

1.4 Morphométrie géométrique

La morphométrie géométrique s'est développée à partir de données décrivant mieux la forme des objets, soit des coordonnées de points anatomiques, soit des coordonnées décrivant des contours. Les méthodes de morphométrie géométrique permettent donc, en plus de l'étude de la taille des organismes, l'étude de leur forme, de leur "géométrie". Ces méthodes offrent des outils analytiques et graphiques puissants pour quantifier et visualiser les variations morphologiques entre individus (Rohlf & Marcus, 1993).

Plusieurs approches permettent de quantifier la forme des organismes (Rohlf, 1986), nous avons utilisé l'approche appelé "Generalized Procrustes Analysis" (GPA) basée sur la configuration de points de repères (PR, ou "*Landmarks*" en anglais) répartis sur un organe, en général l'aile quand il s'agit d'insectes.

Quelle que soit l'approche utilisée, la forme des individus est décrite à partir de fonctions mathématiques qui décomposent les variations de formes en paramètres utilisables par les analyses statistiques classiques. En ce qui concerne la morphométrie géométrique basée sur les PR, la comparaison des formes est basée sur l'idée simple d'une **superposition**: en cas d'identité, et à condition d'éliminer les différences de taille, deux formes superposées n'en feraient plus qu'une (Rohlf, 1999; Slice, 2001; Klingenberg, 2002; Adams et al., 2004). Les étapes principales sont donc les suivantes:

1.4.1 Collecte des points repères (PR)

Chaque PR d'un organe est représenté par deux coordonnées dans un système d'axes arbitraire (en ce qui nous concerne, il a été celui de l'écran de l'ordinateur). Pour chaque individu (chaque aile ou tête) le même nombre de PR est collecté, et dans le même ordre. C'est l'étape de digitalisation, aidée par des programmes informatiques spécialisés (Figure 9).

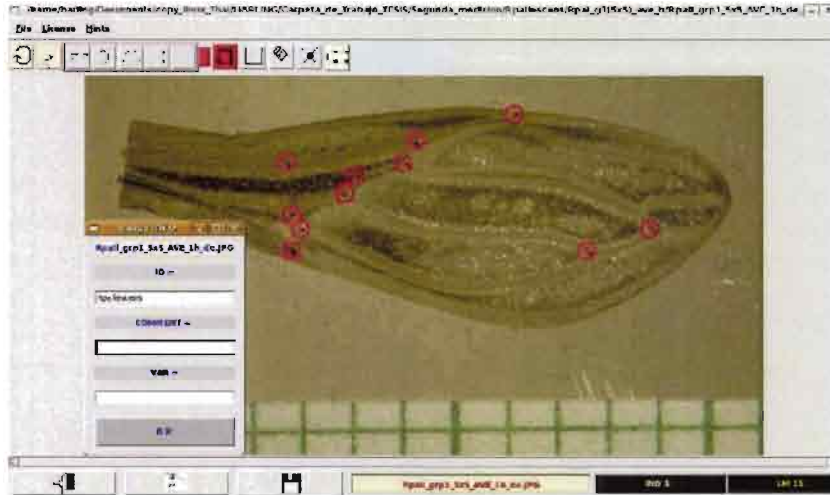


Figure 9: Capture d'écran du module COO (<http://www.mpl.ird.fr/morphometrics>) utilisé pour digitaliser une image, à savoir pour enregistrer les coordonnées de différents points repères.

1.4.2 Élimination des artéfacts de variation

Une fois tous les individus digitalisés, les coordonnées affichent des différences de position qui ne sont pas entièrement attribuables à des variations naturelles. En effet, les configurations de PR n'ont pas été enregistrées pour chaque individu au même endroit de l'écran, ni dans la même orientation. Il faut donc éliminer ces variations artéfactuelles, avant de tenter une superposition des formes. La **position** de chaque configuration est rapportée en un point unique de l'espace par une simple translation sur les deux axes, l'abscisse et l'ordonnée. L'**orientation** est calculée selon l'angle qui sépare chaque configuration d'une configuration moyenne, dite configuration consensus (Rohlf & Slice, 1990). Différents critères d'optimalité peuvent être utilisés pour "décider" d'une superposition correcte, nous avons choisi d'utiliser le critère le plus fréquemment utilisé, celui des moindres carrés. La superposition est supposée optimale quand la somme des distances entre les PR homologues est la plus petite. Cette approche peut engendrer des artéfacts visuels (effet "Pinocchio"¹).

¹Lorsque le critère des moindres carrés est utilisé pour superposer les PR homologues de deux objets, les différences de position à chaque PR sont répercutés sur l'ensemble des PR.

1.4.3 Ajustement à une taille unitaire

Il faut aussi bien sûr éliminer les différences de taille entre les formes, sans quoi une superposition correcte serait de toutes façons impossible. Cette étape correspond à une division de chaque coordonnée par la taille centroïde (TC) de la configuration (Bookstein, 1986) (Figure 10). L'estimateur de taille isométrique en morphométrie géométrique est appelé "taille centroïde" car il utilise le centre de la configuration des PR. Ce centre a pour coordonnées la moyenne des coordonnées sur l'abscisse et la moyenne des coordonnées sur l'ordonnée. La TC se calcule comme la racine carrée de la somme des distances au carré entre le centre géométrique de la configuration de points (centroïde) et chaque PR.

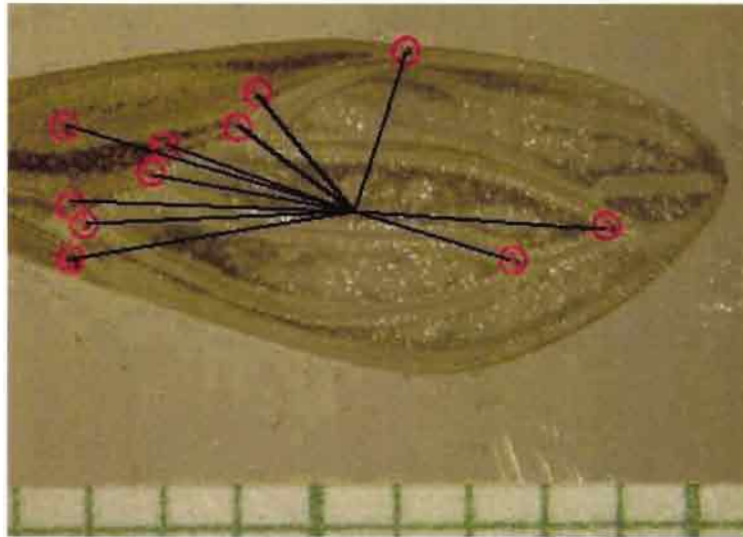


Figure 10: La taille centroïde est calculé comme la racine carrée de la somme des distances au carré entre le centre géométrique (centroïde) de la configuration de points et chaque points repère.

Ces opérations menées sur les coordonnées initiales aboutissent à des coordonnées dites "résiduelles" (Figure 11).

- R. pallescens_poule
- R. pallescens_rat



Figure 11: Coordonnées résiduelles. Il est déjà possible de repérer visuellement les régions de l'organe qui ne se superposent pas bien, c'est-à-dire celles qui montrent des différences de conformation. Il faut toutefois tempérer cette affirmation lorsque la superposition de Procrustes utilise le critère des moindres carrés pour optimiser la superposition (effet "Pinocchio" paragraphe 1.4.2).

1.4.4 Perte des degrés de libertés

Les coordonnées dites "résiduelles" (Figure 11) décrivent les formes naturelles dans un espace non-euclidien, et cela au prix d'une perte de degrés de libertés² limitant les possibilités d'analyse statistiques classiques. De plus, comme ces coordonnées ont été orientées dans la direction de la configuration consensus, cette dernière doit être utilisée comme référence pour le calcul des écarts à la moyenne. Ces écarts deviendront les variables de conformation: il s'agit des distances entre chaque PR et le point homologue de la configuration consensus. De nouvelles coordonnées doivent donc être calculées.

C'est une étape plus complexe d'un point de vue mathématique. Il n'est pas nécessaire de la décrire ici, nous en offrons cependant un bref résumé car de ces opérations est né un jargon abondant et parfois obscur pour les non spécialistes.

²Quatre degrés de liberté (ddl) sont perdus. La translation signifie la perte de deux ddl car il y a deux coordonnées à changer, la rotation fait perdre un seul ddl (un angle change), et l'ajustement à une taille unitaire représente la perte d'un quatrième ddl

On peut se contenter d'une analyse en composantes principales (ACP) des différences entre chaque PR et le PR correspondant de la configuration de référence (appelées "résidus procrustéens"). Cela permet de décomposer la variation des écarts en ses composantes principales afin de visualiser les changements principaux et de connaître leur contribution à la variation totale (Zelditch et al., 2004).

On peut aussi choisir de générer des variables de conformation en utilisant l'équation des plaques minces ("Thin Plate Spline analysis" en anglais) issues de l'analogie avec la physique des plaques métalliques infiniment minces. Une déformation localisée demande plus d'énergie qu'une déformation globale. Cette analyse décompose l'énergie (la "bending energy matrix" en anglais, (Figure 12)) à la façon d'une analyse en composante principale, et les "résidus procrustéens" sont projetés dans l'espace des axes principaux en utilisant les vecteurs propres correspondantes (appelées "principal warps" en anglais).

Ainsi sont produites dans un espace **euclidien** les valeurs des "**déformations partielles**" (appelées "**partial warps (PW)**" en anglais). Nous les appelleront **PW** dans le présent travail.

Ces variables permettent de générer des grilles de déformation dont on peut gérer les valeurs d'amplification, et qui permettent de visualiser les déformations d'un individu à l'autre, d'une population à l'autre, d'une espèce à l'autre, etc.

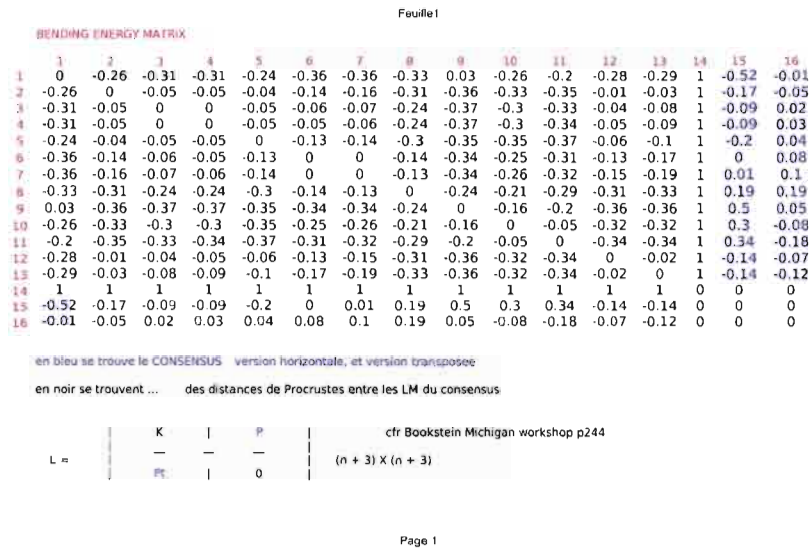


Figure 12: Exemple de la matrice dite “bending energy”: elle est entièrement construite à partir de la configuration **consensus**. Cette dernière y est reproduite deux fois, verticalement et horizontalement (bleu), et on y trouve aussi toutes les distances (élevées au carré) entre ses propres points repères. Cette matrice permet la production des déformations partielles (“**Partial Warps**”, ou **PW**) par la projection des valeurs observées (après superposition de Procrustes, paragraphe 1.4.2) d’un espace non-euclidien vers un espace euclidien, lequel passe tangentiellement par la configuration moyenne (consensus).

Les différences de formes entre individus ou échantillons sont alors analysées par le biais des méthodes statistiques multivariées classiques réalisées sur les paramètres obtenus à partir des fonctions d’ajustement.

1.4.5 Erreur de mesure

En morphométrie géométrique, comme en morphométrie traditionnelle, l’erreur de mesure existe à plusieurs niveaux. On peut recenser les principales sources d’erreur comme suit:

1. Erreur méthodologique.

La préparation du matériel biologique. Dans notre cas, par exemple, le montage des ailes utilisant tel ou tel milieu de montage, ou aucun milieu. Dans ce travail, les conditions ont été comparables pour tous les groupes comparés.

2. Erreur instrumentale.

La technique de prise d'image, par chambre claire, par scanner, ou par photographie digitale. Les images peuvent avoir des résolutions différentes, les objectifs peuvent présenter des distorsions optiques en périphérie, etc. Dans les trois expériences de cette thèse nous avons utilisé le même appareil photo numérique (Nikon 990 Coolpix) fixé à une loupe binoculaire Nikon SMS 800.

3. Erreur personnelle.

La collecte des points repères, en une session ou plusieurs, par la même personne ou par des personnes différentes, etc. Dans les trois expériences de cette thèse, la même personne a collecté les PR.

Arnqvist & Mårtensson (1998) proposent une estimation de l'erreur de mesure (EM) par le rapport entre la variance interindividuelle et cette variance plus la variance intraindividuelle, étant entendu qu'une telle variance existe dès lors que l'analyse considère les mêmes individus mesurés (au moins) deux fois. Cette estimation porte le nom de "répétabilité" (Arnqvist & Mårtensson, 1998). Ces auteurs constatent que l'EM est volontiers plus importante pour la conformation que pour la taille, et qu'elle n'est pas répartie uniformément sur toutes les variables de conformation. En particulier, ils notent que cette erreur est nettement plus importante sur les dernières composantes principales ("relative warps", RW), et semble minimisée sur les tout premiers axes.

Nous avons vérifié cette constatation sur un échantillon de notre propre matériel.

1. **Erreur personnelle.** Sur une vingtaine d'ailes, la "répétabilité" entre deux sessions de mesure par la même personne a été de 0.99 pour la taille, de 0.99 pour le RW1, 0.88 pour le RW2 puis, de façon décroissante, jusqu'à 0.010 pour le dernier RW.
2. **Erreur instrumentale.** Sur une trentaine d'ailes, la "répétabilité" entre deux sessions de photographie a donné des résultats presque parfaits pour la taille ($R = 0.99$) et les trois premiers RW (0.99, 0.89, 0.78), nettement moins bons sur les derniers RW (0.38, 0.65, 0.03).
3. **Erreur méthodologique** Nous avons estimé la "répétabilité" (R) des mesures prises sur des ailes montées entre lame et lamelles sans milieu de montage, puis avec un milieu de montage (Entellan). Les trois

premiers RW ont donné un “R” de 0.88, 0.82 et 0.32, les trois derniers RW 0.23, 0.15 et 0.42. Ces valeurs ne sont pas très satisfaisantes, celles de la taille l’a été encore moins: $R = 0.32$! En fait, la taille grandit quand l’aile est fixée dans un milieu de montage.

1.4.6 Dimensionnalité

L’usage des quelques premiers RW plutôt que de l’ensemble des PW aurait donc pour effet bénéfique de réduire l’impact de l’EM (Arnqvist & Mårtensson, 1998). En outre, cette pratique permettrait de réduire le nombre de variables.

Si l’on adopte cette pratique, il reste à décider du nombre pertinent de RW à utiliser dans les analyses. A ce sujet, les règles sont subjectives et se basent en général sur la contribution des RW à la variation totale (les “RW” sont des composantes principales).

Récemment, Baylac & Friessß (2005) ont proposé un critère quantitatif basé sur la reclassification des individus. Le choix du nombre de RW dépend des performances de reclassification après analyse discriminante. On peut être conduit ainsi à choisir un nombre de RW plus grand que prévu par leur simple représentativité (Baylac & Friessß, 2005).

Nous avons utilisé ce critère pour choisir le nombre optimum de RW dans les analyses comparant le milieu naturel et le laboratoire (paragraphe 6.2), celles comparant des colonies élevées dans des conditions différentes de densité et de régime alimentaire (paragraphe 6.3), et dans certains cas pour les analyses comparant les sources d’alimentation (paragraphe 6.4).

2 Changements phénotypiques en fonction du milieu chez quelques vecteurs de la maladie de Chagas: ETAT DE LA QUESTION

La question est globalement la suivante:

Quelle signification donner aux changements métriques observés chez les espèces de Triatominae étudiées entre leur milieu naturel et le milieu domestique ?

Cette question en contient en fait beaucoup d'autres, comme par exemple:

1. S'agit-il de changements semblables quelle que soit l'espèce ?
2. Sont-ils systématiquement observés ?
3. Quels sont les facteurs qui les déterminent ?
4. Sont-ils réversibles ?
5. Ont-ils une signification épidémiologique ?
6. Ont-ils une signification évolutive ?

Nous ne pouvons pas prétendre répondre à l'ensemble des questions, mais notre travail apporte des éléments de réponse et des nouvelles pistes pour élucider de telles variations morphologiques, plusieurs fois reportées dans la littérature. En effet, des études antérieures ont mis en évidence une tendance qui semble assez générale chez un Triatominae soit déplacé en laboratoire, soit comparé entre ses foyers sylvestres et domestiques: sa taille diminue (Dujardin et al., 1997b; Soares, 1997; Dujardin et al., 1998a, 1999a; Schofield et al., 1999; Jaramillo et al., 2002b), la variance de ses dimensions augmente (Dujardin & Casini, 1996; Feliciangeli et al., 2007), des phénodéviantes apparaissent (mais survivent) et il y a des changements dans la couverture antennaire (Catalá et al., 2004).

Ces mêmes études ont montré que ces modifications ne surviennent pas avec la même intensité, ou la même chronologie dans les deux sexes (Dujardin et al., 1999b). Nous pensons qu'ils pourraient aussi présenter des différences de degré selon les espèces.

2.1 Milieu sylvestre, milieu domestique et environnement de laboratoire

Du fait de la variabilité phénotypique existante, l'hétérogénéité du milieu peut opérer une sélection des phénotypes les plus adaptés. Cette hétérogénéité de l'environnement peut avoir des effets considérables à tous les niveaux de l'organisation biologique, depuis le comportement des individus jusqu'à la dynamique des populations.

Mais quels sont les facteurs environnementaux agissant sur le phénotype (comportement, morphologie, etc.) et qui diffèrent typiquement entre le milieu sylvestre et le milieu domestique ? Ils sont sans doute nombreux, mais parmi les premiers qui viennent à l'esprit, nous pouvons certainement citer les suivants: la multiplicité et la nature des sources de sang, la fréquence des repas de sang, la densité des populations (toujours plus élevée en milieu domestique), la présence de prédateurs, les écarts de température.

Nous en retiendrons trois qui sont contrôlables à peu de frais en conditions expérimentales: la source d'alimentation, la fréquence d'alimentation et la densité des populations.

1. Densité des populations.

En milieu sylvestre, la densité des populations d'une espèce est toujours basse relativement aux populations domestiques. La raison principale tient aux caractéristiques de la source de sang: les hôtes sauvages sont moins casaniers que l'homme, ils représentent également une source de sang moins abondante par nid. En outre, les hôtes eux-mêmes sont volontiers des prédateurs (Ryckman, 1962).

2. Sources d'alimentation.

En milieu sylvestre cette source est certainement plus variée et moins stable qu'en milieu domestique. Un nid ou un terrier est moins durable qu'une maison, et il arrive que les triatomes d'un nid restent en place alors que le nid est désoccupé. Bien souvent, le triatome est alors à l'affût, et se nourrit d'hôtes de passage (petits rongeurs, oiseaux, etc.). Les individus qui ont eu moins de chance et se trouvent en état de détresse nutritionnelle vont déclencher les préparatifs du vol et se déplacer, apparemment au hasard, à la recherche d'un endroit plus favorable.

3. Fréquence d'alimentation.

Ce qui est dit plus haut permet de comprendre que le triatome en conditions sylvestres doit pouvoir supporter de longues périodes de jeûne. En laboratoire, un adulte peut rester sans nourriture pendant plusieurs mois (Dr. Jean-Pierre Dujardin, comm pers). C'est certainement un stress non négligeable en conditions sylvestres, et qui a été invoqué pour expliquer la taille plus grande des individus sylvestres relativement aux individus domestiques (Jaramillo et al., 2002b; Rodríguez et al., 2007).

2.1.1 Plasticité phénotypique

La plasticité phénotypique est la capacité d'un même génotype à exprimer différents phénotypes en fonction de l'environnement (Gordon, 1992; Scheiner, 1993; Via et al., 1995; Futuyma, 1998; Agrawal, 2001; Pigliucci, 2005; Garland & Kelly, 2006; Pigliucci et al., 2006).

La gamme des phénotypes qu'un génotype donné peut produire une fois exposé à des conditions environnementales nouvelles est appelé sa **norme de la réaction**.

Elle est peut être adaptative ou non (Pigliucci et al., 2006), exprimée aux niveaux comportementaux, biochimiques, physiologiques ou morphologiques (Garland & Kelly, 2006). Elle peut être labile, transitoire, réversible ou irréversible (West-Eberhard, 1989; Scheiner, 1993; Gabriel, 2005).

La plasticité phénotypique est reconnue comme un moyen d'adaptation important à des changements écologiques à court terme. Elle peut être évaluée pour certains caractères morphologiques (e.g. ailes, têtes) et pour des caractères plus directement associés à la valeur sélective, comme le temps de développement ou la survie.

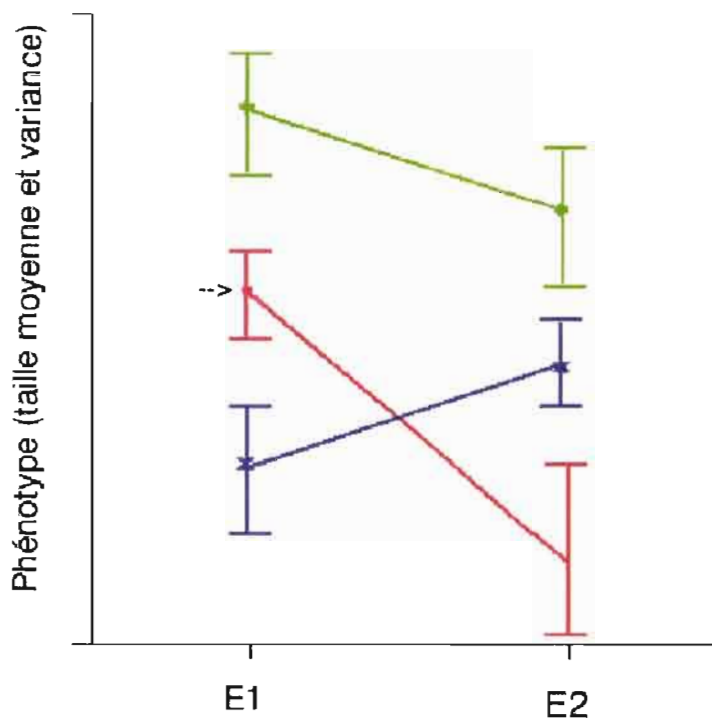


Figure 13: Présentation graphique type de la norme de réaction. On voit ici différents scénarios de changement phénotypique dans la transition d'un environnement (E1) à un autre (E2). La norme placée au milieu (de couleur rouge, voir flèche) représente ce qui a été observé en général du milieu sylvestre (E1) au milieu domestique (E2): une diminution de taille, une augmentation de la variance.

Comme nous le vérifierons dans cette thèse, des normes de réaction peuvent être non-parallèles entre génotypes: elles se présentent un peu comme sur la Figure 13 si les trois exemples sont trois lignées isofemelles. Cette interaction génotype / environnement suggère l'influence du génotype sur la réponse plastique. Il apparaît ainsi que la **norme de réaction** peut différer selon le génotype. Dans la nature, l'une ou l'autre pourra être sélectionnée, selon le milieu. A long terme, la plasticité constitue donc un caractère en tant que tel, susceptible d'être sélectionné s'il est bénéfique.

C'est le cas lorsqu'il est avantageux pour une espèce de produire des individus au développement très flexible, capable de s'ajuster aux conditions de

l'environnement. Au niveau de population, la plasticité phénotypique dans le comportement et d'autres traits peuvent faciliter la colonisation de nouveaux habitats (Price et al., 2003; Price, 2006).

C'est la question ouverte et abordée par notre thèse: **l'habitat domestique** a-t-il été conquis par les **espèces les plus plastiques** ? A-t-il ensuite sélectionné la plasticité phénotypique des insectes qui ont réussi cette conquête? Dans l'hypothèse de Pigliucci (2005), la plasticité phénotypique qui a permis à certains génotypes de s'adapter à un nouvel environnement est ensuite soumise elle-même à une **contre-sélection** du fait des son **coût** souvent trop élevé pour certains génotypes (Schlichting & Pigliucci, 1998) (paragraphe 2.1.5). En d'autres mots, la sélection devient "stabilisante" (au sens de Schmalhausen), les organismes "canalisent" (voir ci-dessous) leur développement vers un phénotype optimum.

2.1.2 Canalisation

La canalisation est la propriété des voies de développement à produire les mêmes phénotypes malgré des perturbations génétiques et environnementales (Figure 14). C'est Waddington qui, dans les années 1940, avait proposée le terme de "**canalisation**" (Waddington, 1942, 1955), et il aura été nécessaire d'attendre plusieurs décades pour en révéler certains mécanismes moléculaires (Paragraphe 2.1.4).

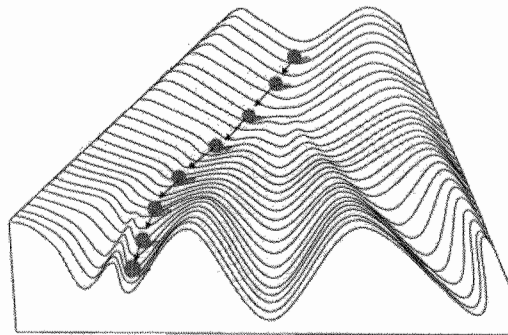


Figure 14: Paysage épigénétique de Waddington (1942). La topographie du paysage génétique représente une prédétermination de suivre une voie de développement particulier.

La canalisation réduit la variabilité inter-individuelle en dépit des vari-
ances génétiques et environnementales sous-jacentes, elle est en général ap-
préciée par la variance morphologique au sein d'un échantillon.

Intuitivement, elle pourrait être considérée comme le pendant de la plas-
ticité phénotypique, voire relever des mêmes mécanismes physiologiques ou
moléculaires. Il est toutefois clairement établi que "canalisation" et "plasti-
cité" sont deux phénomènes indépendants (Debat et al., 2000).

2.1.3 Instabilité de développement

Ce concept fait référence à un ensemble d'événements indépendants, aléa-
toires qui peuvent perturber la trajectoire normale du développement et
mener à des variations stochastiques dans la croissance. L'instabilité de
développement est mesurée par l'asymétrie fluctuante. Nous n'avons pas
mesuré l'asymétrie fluctuante parce que nous nous sommes intéressés aux
modifications qui surviennent **entre deux environnements**, le **milieu**
sylvestre et le **milieu domestique** (paragraphe 7.4).

La **stabilité de développement** fait donc, elle, référence aux processus
qui résistent aux perturbations du développement. Il ne faut pas confondre la
stabilité de développement et la **canalisation**: la première agit **au sein**
d'un environnement donné, la seconde intervient **entre deux environ-**
nements. La canalisation (paragraphe 2.1.2) et la stabilité du développe-
ment sont considérées comme les deux composantes de l'homéostasie du
développement, c'est-à-dire du contrôle général de la variabilité phénotypique
(Debat & David, 2001).

2.1.4 Mécanismes moléculaires de la canalisation - Epigénétique

Nous citerons principalement deux publications importantes apportant une
démonstration de mécanismes génétiques expliquant comment en apparence
des variations phénotypiques induites par le milieu deviennent héréditaires.

1. Hsp90

La protéine chaperone Hsp90 est proposée comme un agent molécu-
laire de canalisation (Rutherford & Lindquist, 1998). Une réduction de
la fonction de cette protéine de choc thermique, conduit à l'apparition

d'une série de défauts liés au développement dus à des mutations qui préexistaient dans le génome mais étaient silencieuses (c'est-à-dire ne produisaient pas d'altérations visibles).

Rutherford & Lindquist (1998) ont remarqué que, dans des lignées de drosophiles hétérozygotes, contenant une copie mutée et une copie sauvage de Hsp90, et dont le taux de Hsp90 est réduit de moitié, un certain nombre d'anomalies (yeux et ailes mal formés par exemple) apparaissent dans un faible pourcentage de cas (moins de 5 %). Ces défauts sont liés à la Hsp90: ils peuvent aussi être induits chez des mouches "sauvages" (contenant deux copies fonctionnelles de Hsp90) si on inclut dans leur nourriture de la geldanamycine, une molécule connue pour être un inhibiteur puissant de Hsp90.

Rutherford et Lindquist montrent ensuite, par une analyse génétique rigoureuse, que des altérations bien particulières (par exemple, les yeux mal formés) deviennent transmissibles après quelques générations même en l'absence du stimulus (fonction réduite de la protéine Hsp). Les auteurs montrent ainsi que la Hsp90 n'est pas la cause directe de ces altérations morphologiques, mais que la réduction de son taux a permis l'expression de mutations préexistant dans le génome, préexistante mais jusqu'alors silencieuses.

Une diminution de fonction de la Hsp90 révèle des mutations cryptiques. La fonction normale de Hsp90 est donc l'inverse, c'est-à-dire de rendre silencieuses des mutations qui ne demanderaient qu'à s'exprimer (Vervoort, 1999).

Le rôle de la Hsp90 éclaire ainsi deux concepts phares de Waddington: la **canalisation** et l'**assimilation génétique**.

2. Hormone juvénile.

D'autres chercheurs (Susuki & Nijhout, 2006) ont mis en évidence l'existence d'un autre agent de canalisation chez des chenilles de papillons. Il s'agit de l'hormone juvénile, une hormone du développement, impliquée entre autres dans la pigmentation.

La chenille du papillon de nuit *Manduca sexta* est typiquement verte, mais il en existe un mutant noir. La mutation en question est caractérisée par une diminution du taux de l'hormone juvénile.

Les chenilles mutantes, noires, présentent une certaine variation de coloration quand elles sont soumises à des chocs thermiques: parmi les noires, des formes plus ou moins vertes apparaissent parfois. Ces chercheurs ont croisé entre eux, d'un côté les individus devenus très verts après le choc thermique, de l'autre, ceux restés très noirs.

Au bout d'un certain nombre de générations, les descendants des noirs restent noirs même lorsqu'on leur inflige un choc thermique (“**assimilation génétique**”). Les descendants de ceux qui tendaient à devenir verts après le choc sont, quant à eux, de plus en plus sensibles à la température, et de plus en plus verts quand il fait chaud. Chez ces mutants, la “**canalisation**” a été levée. Et comme la mutation a pour effet de diminuer le taux d'hormone juvénile, on en déduit que cette hormone est un agent de canalisation.

2.1.5 Importance évolutive de la plasticité phénotypique

La plasticité phénotypique est typiquement induite par hétérogénéité environnementale, ou “stress” environnemental, qu'il soit biotique (par exemple la présence d'un prédateur) ou abiotique (par exemple la température) (Harshman et al., 1999; Wilson & Franklin, 2002; Berrigan & Scheiner, 2004; Gabriel, 2005). Elle peut aussi être induite par des changements internes. Son importance évolutive ne se comprend que si l'on admet qu'un génotype n'exprime qu'une partie de son patrimoine, et qu'il est capable d'en exprimer d'autres en fonction de signaux extérieurs, ou intérieurs. La séquence d'opérations impliquées inclut à peu près les étapes suivantes:

1. Quelque chose dans l'environnement change, ou un nouvel environnement est rencontré (cfr. E2 Figure 13).
2. L'organisme perçoit ce changement, parfois même il l'anticipe (Tauber et al., 1986).
3. L'organisme change l'expression d'une variation génétique “cachée”, il adopte une autre option de développement parmi celles que son génotype contient (Figure14).

4. L'expression modifiée produit des phénotypes additionnels ou alternatifs mieux adaptés (ou non) au changement environnemental (Garland & Kelly, 2006)
5. Après un certain nombre de générations dans le nouvel environnement - et Waddington avait déjà montré que cela peut être rapide, tous les individus ont un profil génétique issus des premiers individus modifiés, et leur phénotype peut persister même si l'on revient aux conditions environnementales antérieures. Il y a "**assimilation génétique**".
6. L'histoire ne s'arrête pas là. Selon Pigliucci (2005), il faut s'attendre à ce que les nouveaux phénotypes, c'est-à-dire les options de développement sélectionnées, perdent progressivement de leur plasticité car cette dernière a un coût. La sélection à long terme s'opèrera dans ce sens: les phénotypes qui persisteront seront ceux qui jouiront du meilleur **équilibre entre la valeur adaptative et le coût de la plasticité.**

3 OBJECTIFS de notre étude

Notre objectif à long terme est de trouver dans la variation morphologique des indicateurs susceptibles d'évaluer le potentiel adaptatif des triatomés à l'habitat domestique.

Nous les cherchons dans l'aptitude de l'insecte à modifier sa morphologie en fonction de l'environnement. Nous tenterons donc

1. de mesurer ces modifications,
2. de les comparer d'une population ou d'une espèce à l'autre,
3. d'identifier les facteurs environnementaux actifs,
4. et de mettre en parallèles les changements observés avec ceux connus chez les vecteurs importants.

Nous nous concentrerons sur une espèce importante en Colombie, *R. pallenscens*, qui s'approche de l'habitat sans réussir à le coloniser ("**intrusion**"), tandis qu'au Panama elle semble déjà engagée dans la voie de la domestication ("**domiciliation**").

Nous tenterons certaines comparaisons avec *R. prolixus*, une espèce domestique avérée, ainsi qu'avec *P. geniculatus*, une espèce classiquement sylvestre dont certaines populations afficheraient une tendance à la domestication (intrusion, domiciliation).

4 HYPOTHESE de travail

L'acquisition d'un rôle vectoriel suppose une certaine plasticité phénotypique car l'insecte sylvestre doit s'adapter à des conditions environnementales assez différentes. Dans la littérature, les modifications morphologiques associées à la domestication seraient de même nature d'une espèce à l'autre, à savoir une réduction de la taille générale de l'insecte (Zeledón et al., 1977; Dujardin et al., 1997a; Jaramillo, 2000; Jaramillo et al., 2002b; Catalá et al., 2004) .

Selon notre hypothèse, la réaction plastique au milieu domestique irait toujours dans le même sens (réduction de la taille) mais pourrait être d'amplitude différente en fonction des espèces.

5 METHODOLOGIE

Après une brève mise au point sur les techniques statistiques d'analyse de la plasticité phénotypique, pour une partie de laquelle nous développerons ici un logiciel propre, nous appliquerons nos capacités de mesure à des changements environnementaux affectant plusieurs espèces de Triatominae.

Nous progresserons en trois étapes, de l'observation simple à l'expérimentation de laboratoire. Les trois étapes impliqueront *R. pallescens*.

1. Dans la première étape, nous vérifierons, sur *R. pallescens* et sur *Panstrongylus geniculatus*, les observations faites dans la littérature. Dans cette analyse, nous comparerons ces deux genres entre leur **foyer naturel** et la première génération d'adultes obtenue en **laboratoire**. L'idée est de vérifier par nous-même les rapports d'autres auteurs sur le caractère systématique du changement morphologique quelle que soit l'espèce: une diminution de la taille, une perturbation de la variance. Nous ne maîtriserons ici qu'un seul paramètre, celui de l'habitat en général, sylvestre ou artificiel (laboratoire), sans savoir à quels changements précis les espèces ont été soumises, ni dans quelles conditions.
2. L'étape suivante simulera en laboratoire des paramètres typiques des habitats sylvestres et domestiques (paragraphe 2.1): la **fréquence d'alimentation** (hebdomadaire et mensuelle) et la **densité des populations** (40 et 120 individus par flacon). L'expérimentation portera sur une source de sang unique, la poule, entre des lignées consanguines de *R. pallescens*
3. Dans la dernière étape, nous examinerons en laboratoire les changements survenant sur l'insecte nourri sur la **poule** ou sur le **rat**. Dans cette expérimentation, nous contrôlerons non seulement la source de sang, mais aussi la variabilité génétique des insectes en utilisant des lignées isofemelles. Deux espèces seront examinées, l'une "candidat vecteur" en Colombie, *R. pallescens* et l'autre une espèce domestique avérée, *R. prolixus*.

5.1 Structure des données

Nos mesures et comparaisons seront faites principalement sur des critères métriques, mais incluront parfois aussi le temps de développement et la mortalité.

5.1.1 Taille et conformation

La **taille** des ailes ou de la tête sera estimée par la “taille centroïde”. Cette estimation présente l’intérêt d’être “multiaxiale”: des changements de taille peuvent être détectés dans plusieurs directions, autant de directions que de PR (Figure 10). Selon Bookstein (1991), c’est la seule mesure de la taille non corrélée à la conformation en cas d’absence d’allométrie. Ces qualités n’effacent pas cependant le défaut d’un manque de lisibilité: il est difficile en effet de s’imaginer une taille centroïde sur la seule base de sa valeur. L’unité de mesure est le pixel puisque les coordonnées des PR sont des pixels, mais ces valeurs ont été converties en mm dans certaines comparaisons pour garantir un étalonnage unique.

Les variables de **conformation** utilisées dans nos comparaisons seront les **composantes principales** des “déformations partielles” appelées “*Partial Warps*” en anglais (PW), composantes appelés “*Relative Warps*” en anglais (RW). Nous utiliserons soit la totalité des RW, soit une partie afin de diminuer l’erreur de mesure (paragraphe 1.4.5) et de trouver un compromis entre le nombre de variables et la taille des échantillons (Arnqvist & Mårtensson, 1998; Baylac & Friessß, 2005). Parce que certains échantillons étaient de petite taille par rapport au nombre des variables de conformation (PW), nous avons calculé leurs composantes principales (RW) et nous avons utilisé les premières composantes (RW) sans perte d’information importante. Le critère appliqué pour le choix de ce nombre a suivi les recommandations de Baylac & Friessß (2005).

Dans certaines expériences comparant des groupes, nous avons fait les analyses de la conformation en “retirant” les effets allométriques de la variation de taille. Pour ce faire, nous avons suivi les recommandations du logiciel *TPSregr* de Rohlf: les variables de conformation exemptes d’effets allométriques sont prédites sur la base du modèle linéaire généralisé (MANCOVA) en fixant la taille à une valeur unique (la moyenne totale). Cette opération suppose un modèle allométrique commun aux différents groupes comparés (voir l’aide du *TPSregr*: “More complex designs”); modèle commun qui a été vérifié à chaque fois (Rohlf, 1993).

5.1.2 Temps de développement

Le temps de développement est calculé en jours depuis la première ponte jusqu’au premier adulte comme cela a été fait par d’autres auteurs pour

plusieurs espèces de triatomes (Lent & Valderrama, 1977; Jurberg & Rangel, 1984; Moreno-Mejia et al., 1992; Cabello & Galindez, 1998; Wolff et al., 2004; Arevalo et al., 2007).

5.1.3 Mortalité

Pour l'expérience intra-générationnelle de l'effet de la densité et de la fréquence d'alimentation sur le phénotype (paragraphe 6.3), la mortalité a été estimée comme (i) le rapport entre le nombre de larves mortes et le nombre d'adultes obtenus à un moment donné de l'expérience, et (ii) le nombre de larves mortes en fonction du nombre de individus au début de l'expérience.

Pour l'expérience intra-générationnelle de l'effet de différents sources d'alimentation sur le phénotype (paragraphe 6.4), la mortalité a été calculée comme le point (i) ci-dessus: le rapport entre le nombre de larves mortes et le nombre d'adultes obtenus à un moment donné de l'expérience. Cet index de mortalité est rendu nécessaire par le protocole expérimental: un groupe était constitué quand il atteignait une trentaine d'individus adultes. Les lignées n'ont pas produit ce nombre d'individus en même temps, et certaines ne sont pas arrivées à ce nombre de descendants malgré une attente de plusieurs mois. Ce sont ces lignées là qui ont été utilisées pour le calcul de la mortalité.

5.2 Mesures de la plasticité phénotypique

D'un milieu **E1** à un milieu **E2**, des individus génétiquement identiques ou très proches adaptent leur morphologie, et ce changement retentit sur la moyenne et la variance de leurs dimensions. La plasticité phénotypique peut donc être mesurée par une différence de moyennes entre deux milieux, ainsi que par une différence de variances. Ces différences dans nos résultats reçoivent le symbole **D_x** ou **D_y**, selon qu'elles sont mesurées sur une espèce ou une autre (**X** ou **Y**). **X** et **Y** peuvent représenter aussi soit une lignée ou une autre, soit un traitement ou un autre. Dans notre étude, au sein de chaque espèce, lignée ou traitement, les deux environnements comparés (**E1** et **E2**) ont été:

1. deux générations élevées dans des milieux différents (spécimens sylvestres adultes ramenés en laboratoire).
2. au sein d'une génération, deux groupes élevés dans des environnements différant par le régime alimentaire, par la densité populationnelle, ou

par la source de sang.

Toutes choses égales par ailleurs l'ampleur de ces changements devrait être plus importante en cas de plus grande plasticité ou en cas de "canalisation" plus faible.

5.2.1 Taille (Figure 15)

La signification statistique des déplacements de tailles **moyennes** (D_x , ou D_y) entre deux milieux peut être approchée par une analyse classique comme l'ANOVA.

Nous y avons ajouté la possibilité de tests non paramétriques basés sur la permutation aléatoire d'individus entre groupes (paragraphe 5.5). Ces mêmes tests ont pu être appliqués pour tester les différences éventuelles de **variances** entre les milieux (aussi symbolisées par D_x , ou D_y , dans nos tables).

Pour comparer la plasticité phénotypique des génotypes **X** et **Y**, il faut inclure dans l'analyse deux niveaux de comparaisons

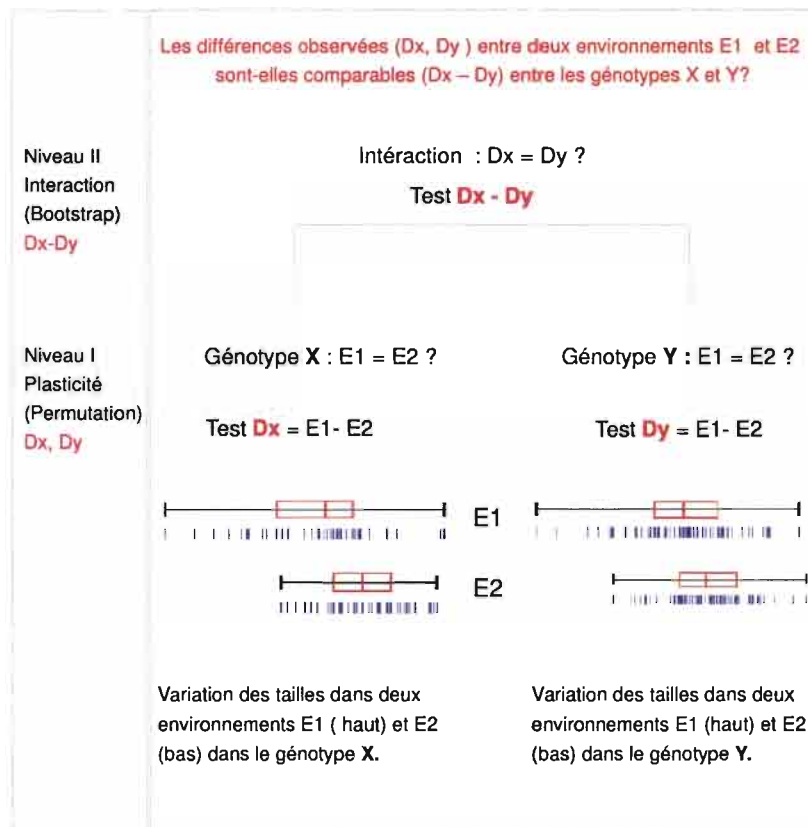


Figure 15: Mesures de la plasticité phénotypique de la taille. Variation de la moyenne et la variance d'un environnement à l'autre à l'intérieur de chaque génotype et différences de changement de moyenne et variance de la taille d'un génotype à l'autre.

Dans le cas où deux génotypes, **X** et **Y**, ont été comparées quant à leur plasticité phénotypique, c'est la signification statistique de l'**interaction** entre le génotype (X ou Y) et le milieu (E1 ou E2) qui a fourni, éventuellement, l'évidence d'un comportement différent selon le génotype.

Cette interaction est trouvée dans les résultats d'une ANOVA à deux facteurs. Nos **tests non-paramétriques** ont également testé cette interaction en examinant les différences arithmétiques ($D_x - D_y$) entre espèces.

Pour évaluer cette différence ($D_x - D_y$) - elle-même une différence de deux différences ! - nous avons fait usage de ré-échantillonnages avec remplacement ("bootstrap", paragraphe 5.5), programmés à cet usage (paragraphe 5.4.3). Ce test non-paramétrique examine la signification statistique de l'**interaction** entre l'espèce et le milieu, et présente l'avantage de pouvoir tester les moyennes et les variances.

5.2.2 Conformation (Figure 16)

Pour la variation de la conformation, laquelle est décrite par un ensemble de variables (et non une seule comme dans le cas de la taille), nous utiliserons des mesures récemment suggérées et justifiées par (Adams & Collyer, 2007; Collyer & Adams, 2007) (Figure 16).

Analyse de certains paramètres de la conformation

1. Importance d'un changement de conformation entre deux environnements (Collyer & Adams, 2007).

Si un changement de forme en rapport avec un changement de milieu diffère d'un génotype à l'autre, deux composantes de ce changement peuvent être examinées et comparées: (i) l'**ampleur** du changement (**distance** euclidienne), et (ii) sa **direction** dans l'espace morphologique (**angle** de Collyer & Adams) (Figure 16).

Cette analyse fait intervenir

- (a) Une MANCOVA à deux facteurs, avec le test paramétrique d'une interaction entre le génotype et le milieu,
- (b) Une distance euclidienne (la longueur d'un vecteur) entre deux milieux, soit D_x ou D_y selon le génotype (X ou Y). La distance est calculée entre les moyennes des milieux (E_1 et E_2) définis par leurs RW, soit la totalité des RW soit une partie d'entre eux (paragraphe 1.4.5 et 5.1.1)
- (c) Une direction prise par le vecteur entre E_1 et E_2 (dont la longueur est la distance calculée ci-dessus) dans l'espace morphologique d'une ACP. Il y a deux directions puisque deux groupes, "X" et "Y".
- (d) Un angle entre ces deux directions, appelé "A" dans les tables qui suivent.

- (e) Une différence entre les distances D_x et D_y , soit $D_x - D_y$, qui teste en fait l'interaction entre les groupes considérés ("x" et "y") et les milieux testés (E1 et E2).

La signification statistique des distances euclidiennes D_x et D_y , la signification de la différence ($D_x - D_y$) entre ces distances et celle de l'angle A entre les espèces sera appréciée sur la base de tests non-paramétriques utilisant des permutations. Il ne s'agit pas de permutation des individus entre les groupes, mais celle des **résidus** (erreurs) individuels après prédiction des valeurs de conformation sur la base d'une matrice (variables indépendantes) excluant l'"interaction". Cette matrice contient l'**appartenance** de chaque individu à l'espèce ou une autre, à un environnement ou un autre, mais pas à leurs possibles combinaisons; elle contient également la **taille centroïde** de chaque individu. (Collyer & Adams, 2007).

2. La disparité métrique

La disparité métrique (DM) d'un groupe de n objets mesure la variété de leurs formes, leur diversité dans un groupe. Chaque objet est comparé à l'objet moyen en mesurant une distance, et ces distances élevées au carré sont additionnées. Comme dans une formule de "variance", la somme totale est divisée par $(n-1)$ (Zelditch et al., 2004) (Figure 16). Sous la dénomination de "disparité métrique", c'est souvent la diversité des espèces qui est mesurée, mais la formule elle-même évalue bel et bien la variation des formes à l'intérieur d'un groupe, c'est une mesure de la variance: "*The metric (or formula) for measuring disparity among species is the same as that used to measure variation within a species.*" (La métrique (ou formule) qui mesure la disparité métrique entre espèces est la même que celle qui mesure la variation à l'intérieur d'une espèce) (Zelditch et al., 2004).

La signification statistique des différences de DM entre **E1** et **E2** (soit D_x , ou D_y selon l'espèce) sera estimée selon le protocole recommandé par Zelditch et al. (2004), basé sur la technique du "bootstrap".

Nous n'avons pas estimé l'interaction ($D_x - D_y$). Nous sommes donc en mesure de dire si la dispersion des formes change de façon significative entre E1 et E2 dans chaque espèce (soit D_x , et D_y), mais nous n'avons pas testé la signification statistique de l'interaction entre l'espèce et le milieu ($D_x - D_y$).

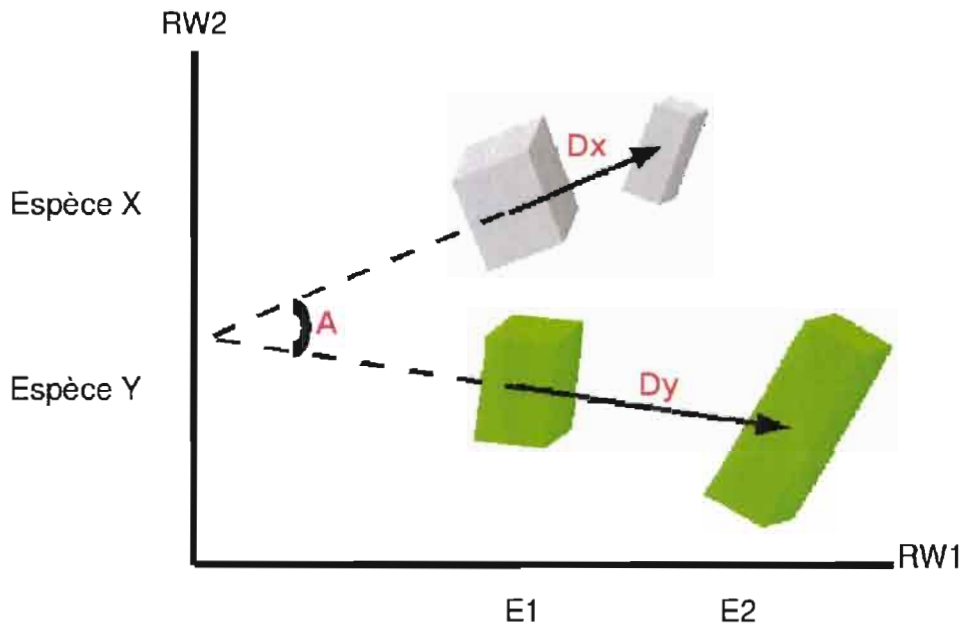


Figure 16: Illustration de trois estimateurs du changement phénotypique: la disparité métrique (**DM**), la distance euclidienne (**Dx**, **Dy**) et l'angle de Collyer & Adams (**A**). Le graphique ci-dessus peut être considéré comme une carte factorielle des deux premières composantes principales (**RW**, ou "Relative Warps") dérivées des variables de conformation (**PW**, ou "Partial Warps"). Le volume des boîtes illustre la DM d'un groupe. On peut dans ce cas imaginer que la DM est proportionnelle au volume de la boîte. Ainsi, la DM de l'espèce **X** dans l'environnement **E1** serait plus grande que dans l'environnement **E2**, et celle de l'espèce **Y** serait plus petite dans l'environnement **E1**. Si les **RW1** et **RW2** représentent toute la diversité des formes, l'importance du changement de conformation entre milieux est une distance euclidienne (**Dx**, **Dy**) entre eux. Elle est illustrée par la longueur de la flèche, dont la valeur (scalaire) est plus grande entre les deux environnements pour l'espèce **Y** que pour l'espèce **X**. **La différence entre ces distances ($Dx - Dy$) quantifie la différence de réaction à l'environnement selon l'espèce.** L'angle entre ces flèches quantifie aussi cette différence, mais appréciée par l'écart entre les directions respectives des changements. Cet écart, cet angle est nommé ici "angle de Collyer & Adams" (Collyer & Adams, 2007).

5.3 Analyse des données

5.3.1 ANOVA

L'analyse de variance (ANOVA) compare des moyennes. Une variance est la somme des carrés des écarts des individus par rapport à leur moyenne (SSY pour “*sum of squares of Y*” en anglais), somme qui est alors divisée par le nombre d'individus moins le nombre de degrés de liberté (df pour “*degrees of freedom*” en anglais).

Le nombre de degrés de liberté correspond au nombre de paramètres utilisés pour le calcul d'un autre paramètre de la même distribution de données. Pour le calcul d'une variance, on utilise un seul paramètre de la distribution des données, à savoir: la moyenne.

Si deux groupes sont comparés pour leurs moyennes, et si ces moyennes sont les mêmes, dans ce cas la somme des carrés des écarts des individus par rapport à leur moyennes respectives dans chaque groupe (SSE) ne sera pas différente de la somme des carrés des écarts de tous les individus par rapport à la moyenne totale (SSY). Si les moyennes ne sont pas exactement les mêmes, il existe alors une différence

$$SSA = SSY - SSE,$$

et sa signification statistique est testée par la distribution F des variances.

5.3.2 ANOVA non paramétrique

Une analyse de variance (ANOVA) suppose une distribution normale des données et des variances égales dans chaque groupe, ce qui n'est pas souvent rencontré. Néanmoins, l'analyse est robuste et admet quelques écarts aux conditions d'application. Mais une ANOVA compare des moyennes, et des tests statistiques différents sont requis pour comparer des variances.

Or, la plasticité phénotypique peut être considérée non seulement comme un déplacement de valeurs moyennes entre deux milieux, mais aussi comme une modification, le cas échéant, de la variabilité inter-individuelle d'un milieu à l'autre (Dworkin, 2005) (Figure 13).

Nous avons donc programmé un module “VAR” permettant d'appliquer des tests non-paramétriques utilisables pour la comparaison des moyennes et des variances entre deux groupes, ainsi que leur interaction avec un deuxième facteur (voir plus bas).

5.3.3 MANOVA

Cette analyse est un analyse de variance (ANOVA) multivariée, c'est-à-dire qu'elle s'applique lorsque chaque individu est défini par plusieurs variables, comme c'est le cas pour la mesure de la forme. La forme, ou conformation, ou géométrie de chaque individu est en effet quantifiée par ses écarts relatifs à une forme consensus, écarts qui se calculent à chaque point anatomique différent (paragraphe 1.4). Il devrait y avoir autant de variables par individu que de coordonnées (deux fois "k", le nombre de points repères utilisés), mais comme la superposition de Procrustes fait perdre des 4 degrés de liberté, le nombre de variables de conformation est de $2k-4$.

Dans la MANOVA, les variables de conformation sont les variables "dépendantes", les groupes sont les variables "indépendantes" (ou encore "prédicatives"). S'il n'y a qu'une seule variable indépendante, la MANOVA obtenue est une **analyse discriminante** (Rohlf et al., 1996). S'il y a plus d'une seule variable indépendante, il est alors possible aussi de tester l'effet de leur **interaction**.

Cette analyse a été utilisée pour évaluer l'importance des différences de conformation entre groupes ou sous-groupes, et pour tester l'interaction de facteurs tels que la densité et la fréquence d'alimentation. Elle a aussi été utilisée pour fournir un modèle de classification des individus sur la base des fonctions discriminantes lors de la recherche de la meilleure combinaison des premières composantes principales (paragraphe 1.4.5).

5.3.4 MANCOVA

La MANCOVA est une analyse de covariance multivariée: aux variables indépendantes nominales (appartenance ou non à un groupe) s'associe(nt) une (ou plusieurs) variable(s) continue(s). Dans le cas de la morphométrie géométrique, cette variable continue est bien entendu la taille centroïde. Il existe une relation dite "allométrique" entre la taille et la conformation puisqu'en fait les dimensions d'un organisme ne croissent pas au même rythme, induisant ainsi des "déformations", des changements de proportions.

Dans la MANCOVA, les variables de conformation sont les variables "dépendantes", les groupes et la taille sont les variables "indépendantes" (ou encore "prédicatives").

Il est possible de construire la matrice des variables indépendantes avec

des colonnes d'interaction taille X groupes et de tester ainsi le modèle allométrique commun.

Dans la situation d'un modèle allométrique commun, il est alors possible de fixer la taille à une valeur unique (la moyenne générale, par exemple) et de calculer alors les variables de conformations selon les groupes sans aucune variation de taille, donc en "retirant" les effets allométriques des changements de taille.

Nous avons appliqué cette analyse pour connaître les divergences de forme entre groupes telles qu'elles subsistent encore lorsque l'on fixe la taille à une valeur unique. Par exemple, dans le tableau 13, on peut voir les valeurs obtenues des distances Euclidiennes entre les conformations moyennes des groupes en retirant (Ec, Table 13) ou en ne retirant pas (E, Table 13) les effets de taille.

5.4 Logiciels

La collecte de "landmarks" anatomiques, la superposition de Procrustes et la plupart des analyses multivariées ont été réalisées en utilisant des programmes disponibles sous licence GPL à l'adresse <http://www.mpl.ird.fr/morphometrics>. Ces modules ont été développés par mon directeur de thèse, Jean-Pierre Dujardin (IRD, France).

Tous les logiciels utilisés dans cette thèse fonctionnent indifféremment sur les systèmes Linux et Windows, et peuvent être aisément adaptables au système MacOSX.

Le module d'analyse univariée dédié à l'analyse de la taille, le module VAR, est développé par Jean-Pierre Dujardin et moi-même.

Pour l'ANOVA à deux facteurs et certains graphiques, nous avons utilisé aussi le logiciel commercial JMP (version 3.1) (SAS., 1997).

5.4.1 Collecte des données, COO

COO est un programme de collecte (numérisation) de points repères anatomiques (PR) à partir des images numériques (photos). L'image peut être modifiée (zoom avant, zoom arrière, rotations, etc) avant prendre les PR. Le fichier de sortie a un format ASCII (.txt) dont la configuration est proche d'autres programmes de morphométrie (TPS par exemple, voir ci-dessous).

5.4.2 Paramètres morphométriques, MOG

MOG permet visualiser les étapes de la superposition de Procrustes, à savoir: 1. Translation, 2. Ajustement à une taille unitaire, et 3. Rotation. Les coordonnées résiduelles (coordonnées de Procrustes) peuvent être visualisées pour chaque individu, ou pour la moyenne de chaque groupe s'il y a plusieurs groupes. Ces derniers apparaissent alors dans des couleurs différentes.

MOG génère plusieurs fichiers parmi lesquels ceux contenant la taille centroïde et les déformations partielles ("Partial Warps" avec les composantes uniformes des déformations).

5.4.3 Analyses de la taille, VAR

VAR permet d'examiner s'il y a des différences de moyennes et de variances entre les tailles des groupes soumis à différents traitements ou appartenant à différentes catégories. Sa particularité est de proposer des tests de signification qui reposent sur des techniques non paramétriques: la permutation et le "bootstrap" (échantillonnage avec remplacement)³. Il n'est donc pas requis, comme pour l'ANOVA, que la distribution des variables soit normale ni que les variances des groupes soient similaires.

En outre, VAR permet de tester l'interaction entre deux facteurs de façon non-paramétrique.

Les tests non-paramétriques sont décrits plus bas (paragraphe 5.5).

5.4.4 Analyses de la conformation, PAD

PAD est un module permettant de réaliser une analyse discriminante linéaire multivariée, et peut être utilisé pour reclasser les individus sur la base des fonctions discriminantes obtenues. Généralement, les données entrées sont des variables de conformation, comme les "Partial Warps" (PW) ou leurs composantes principales, les "relative Warps" (RW).

Nous avons utilisé ce logiciel pour trouver le meilleur assemblage de (premiers) RW à utiliser pour des analyses où il était nécessaire de réduire le nombre de variables par rapport à la taille des échantillons de certains groupes. Ce choix se fait sur la base des performances de reclassification. PAD propose deux types de classification, tous deux basés sur l'usage des fonctions discriminantes et des distances de Mahalanobis (distances euclidiennes entre fonctions discriminantes): soit chaque individu reclassé a fait partie des échantillons utilisés pour générer les fonctions discriminantes, soit il n'en a

³Le *t* de Student est calculé pour permettre à qui veut une comparaison entre les résultats de tests paramétriques et non paramétriques.

pas fait partie. On parle alors de reclassification “validée”; cette dernière est bien entendu beaucoup plus exigeante sur la qualité du modèle discriminant.

5.4.5 Analyses de la conformation, COV

COV est un module reprenant des nombreuses analyses faites dans d’autres modules, y compris la superposition de Procruste et le calcul des déformations partielles (“Partial Warps”, PW).

Il a été utilisé ici pour réaliser les analyses suivantes:

1. COV peut calculer les **composante principales** des “partial warps” (PW); on appelle ces composantes les “**Relative Warps**” (RW).
2. Une instruction spéciale est dédiée au test multivarié d’un **modèle allométrique commun**, test basé sur une MANCOVA. Plusieurs groupes présentent-ils un modèle allométrique comparable ? Cette question peut être pertinente dans certaines situations car en cas de rejet d’un modèle commun, on ne peut pas éliminer les effets de taille sur les variables de conformation.
3. COV permet de réaliser l’analyse recommandée par Collyer & Adams (2007) et Adams & Collyer (2007), celle qui mesure et teste la signification statistique des **distances euclidiennes entre groupes** définis par leur **RW**, la **direction** de ces distances et l’**angle** qu’elles forment entre catégories ou espèces différentes. Ce module permet de faire cette même analyse sur des **RW exempts de l’influence de la taille**, il s’agit alors des RW prédits par une matrice d’appartenance aux différents groupes contenant aussi une colonne des tailles, tailles ayant la même valeur pour tous les individus. Cette opération suppose un **modèle allométrique commun** aux différents groupes.
4. COV est également utilisé pour calculer la **disparité métrique** (DM) d’un groupe, et la différence de DM entre deux groupes.

5.4.6 ANOVA à deux facteurs, graphiques, JMP

L’analyse de variance à deux facteurs permet de tester l’hypothèse que les moyennes des groupes sont toutes égales et, en cas de différence, de tester le facteur déterminant et l’interaction entre les facteurs. Elle a été utilisée pour étudier la variation des tailles.

5.5 Programmation du module VAR

Le langage de programmation utilisé pour créer le “script” VAR ainsi que tous les modules statistiques utilisés dans cette thèse est le Tcl/Tk. Il a été créé en 1988 par John Ousterhout, professeur à l’Université de Berkeley (Californie). Tcl est un langage interprété, et Tk une extension graphique. L’ensemble est multiplateformes (Linux, Windows, MacOSX, etc.) et sous licence GPL (General Public License), c’est-à-dire globalement sans royalties, sans interdiction d’ouvrir et de modifier le code, et sans interdiction de le vendre, même s’il est gratuit.

Le script VAR implémente essentiellement des tests non paramétriques basés soit sur des permutations, soit sur des tirages au hasard avec remplacement (“*bootstraps*”, en anglais). Le principe de ces tests est indiqué ci-après.

5.5.1 Permutations, Dx et Dy

Les permutations sont utilisées pour tester la signification statistique de **différences de moyennes ou de variances**. Le principe des permutations peut s’expliquer comme suit.

Si les différences **Dx** de moyennes (ou **Dx** de variances) qui sont observées dans l’espèce ou la catégorie **X** sont importantes entre deux milieux **E1** et **E2**, il sera difficile de les reproduire ou de les dépasser en échangeant au hasard les individus d’un milieu à l’autre. En effet, intervertir les individus de groupes différents ne ferait qu’affaiblir leurs différences.

Si cependant on y parvient souvent (dans plus de 5% des cas), c’est qu’en fait les individus se ressemblent entre les milieux, ils peuvent être échangés sans perturber les différences observées; dans ce cas, le hasard de ces permutations peut même générer des différences entre groupes encore plus importantes que celles qui ont été observées. Dans cette situation, les différences sont sans signification statistique. Nous avons suivi l’algorithme décrit par (Knuth, 1981; Manly, 1994) pour calculer les permutations.

5.5.2 “Bootstraps”, Dx-Dy

Le principe du test basé sur les “*bootstraps*” est directement inspiré de la procédure décrite par Zelditch et al. (2004) pour la comparaison des disparités métriques, et permet de tester l’**interaction** entre deux facteurs. Il est le suivant.

La différence Dx observée entre les moyennes (ou les variances) de deux environnements $E1$ et $E2$ dans l'espèce ou la catégorie X , et la différence Dy correspondante dans l'espèce ou le groupe Y , deviennent les termes d'une soustraction ($Dx-Dy$). Il s'agit donc ici d'une soustraction entre deux différences.

C'est cette soustraction, dont le résultat est positif ou négatif, qui sera testée par la création de sous-groupes aléatoires ($E1'$ et $E2'$ dans l'espèce X , $E1'$ et $E2'$ dans l'espèce Y). Ainsi, à chaque cycle, chaque sous-groupe est reconstitué de façon aléatoire à partir de ses éléments propres, dans un processus d'échantillonnage au hasard avec remplacement (*bootstrap*). A chaque cycle, la différence est (re)calculée entre les pseudo sous-groupes de chaque groupe (Dx' et Dy'), et la soustraction de ces différences ($Dx' - Dy'$) est opérée de la même manière que pour les données réelles.

Si la soustraction initiale, observée, est positive, et que toutes les (pseudo) soustractions (ou plus de 95% d'entre elles) sont également positives, cela signifie que le hasard ne peut pas inverser la tendance d'une différence plus grande que l'autre, cette tendance est donc significative.

Si par contre les soustractions sont parfois nulles, voire de signe inverse, cela veut dire que les données observées n'ont pas fourni un résultat robuste, et que leur structure interne autorise d'autres situations.

On examine en fait l'intervalle de confiance à 95% des 1000 soustractions ou plus qui sont réalisées: si cet intervalle de confiance contient zéro, c'est que l'interaction entre les groupes et les sous-groupes n'est pas significative. Pour plus d'utilité, trois intervalles de confiance sont proposés: 950/1000, 990/1000 et 999/1000.

6 RESULTATS

6.1 Mesures de la plasticité phénotypique de la taille et comparaisons: le script VAR

Le script VAR conçu pour examiner les variations de taille entre groupes soumis à différents traitements présente l'intérêt de permettre en une seule analyse les comparaisons des moyennes et des variances.

Il repose sur des techniques non paramétriques, la permutation et l'échantillonnage avec remplacement ("*bootstrap*"). Il n'est donc pas requis, comme pour l'ANOVA, que la distribution des variables soit normale ni que les variances des groupes soient similaires⁴.

1. script VAR: ouverture

Lors de l'ouverture du script VAR, l'utilisateur doit d'abord sélectionner dans son disque dur le fichier qui contient les tailles des individus (Figure 17).

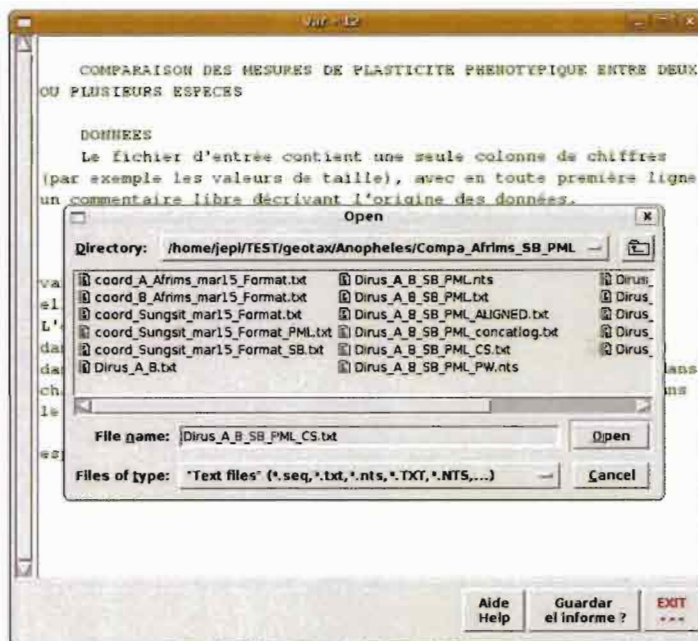


Figure 17: L'ouverture du script VAR

⁴Le t de Student est calculé pour permettre à qui veut une comparaison entre les résultats de tests paramétriques et non paramétriques.

2. script VAR: effectifs des groupes

L'utilisateur doit ensuite entrer les effectifs des différents groupes ou "traitements" (Figure 18).

Si ce nombre est pair, VAR interprètera les groupes comme paires de sous-groupes (**E1** et **E2**), chaque paire constituant un groupe différent (**X** et **Y**). Par exemple, les sous-groupes seront deux milieux, ou deux traitements, comme "nourris sur le rat" et "nourris sur la poule", et les deux groupes seront deux espèces, ou deux sexes de la même espèce, ou deux génotypes, etc.

Si le nombre de groupes est impair, le script VAR permettra les comparaisons entre chaque groupe, mais refusera d'examiner une interaction entre groupes et sous-groupes (cfr. comparaisons de niveau II, voir plus bas).

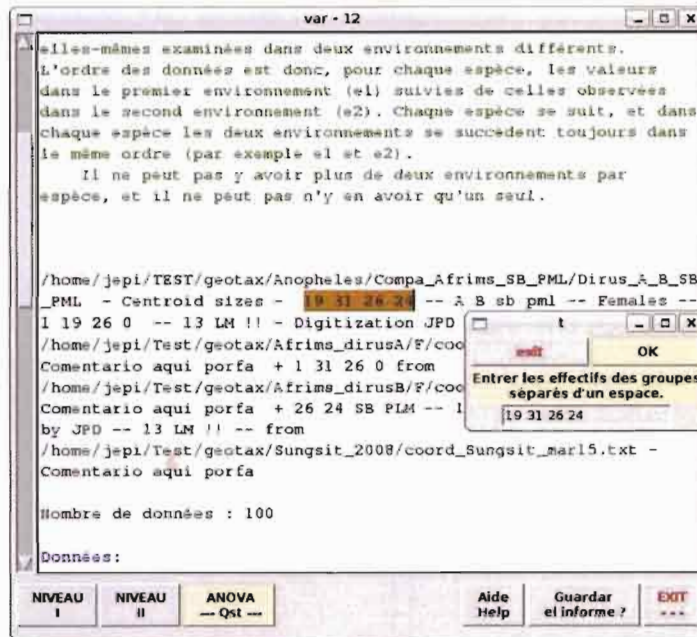


Figure 18: Entrer les effectifs des différents groupes

Son interface fait apparaître deux niveaux d'analyse, correspondant à deux boutons appelés "Niveau I" (différences entre (sous-)groupes) et "Niveau II" (interaction entre groupes et sous-groupes).

3. script VAR: Niveau I, permutations

Le premier niveau s'occupe des comparaisons inter-groupes par paires. Si ce bouton est cliqué, une entrée rectangulaire blanche apparaît dans le bas de la fenêtre où l'utilisateur doit entrer le nombre de permutations désirées avant d'appuyer sur la touche "ENTER" ou "RETURN" de son clavier (Figure 19)

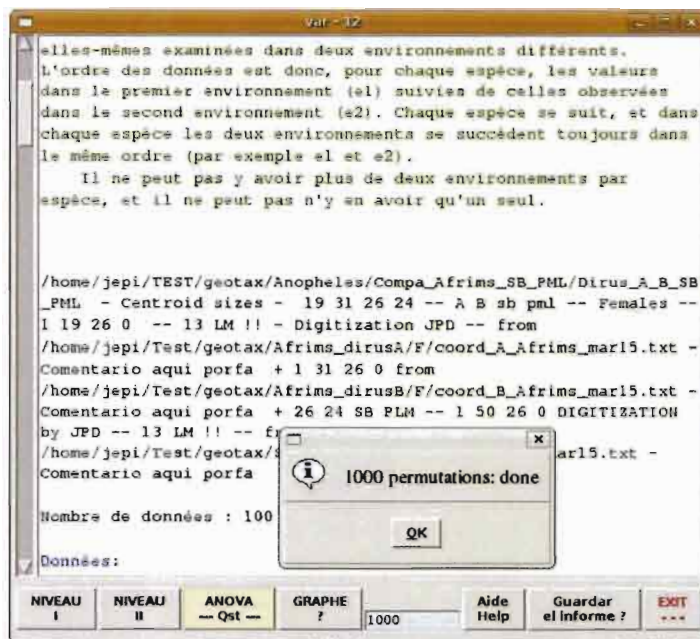


Figure 19: Demander faire les permutations

Les différences Dx de moyennes sont donc testées en utilisant des permutations d'individus entre groupes. L'algorithme du script VAR est le suivant. A chaque cycle de permutations, les individus sont répartis au hasard entre les groupes (en préservant la taille des groupes), les moyennes sont recalculées - elles sont appelées "pseudo-moyennes" - ainsi que leurs différences Dx' .

A chaque cycle, les différences Dx' entre pseudo-moyennes sont comparées à celles qui avaient été observées (Dx). On compte toutes celles qui sont égales ou supérieures aux différences observées. C'est ce compte divisé par le nombre de cycles qui donnera ou non un caractère significatif aux observations. Pour que ce genre de test soit fiable, il vaut mieux utiliser un grand nombre de cycles, égal ou supérieur à 1000.

Le raisonnement est identique pour ce qui concerne la comparaison non

paramétrique des **variances**.

4. script VAR: Niveau II, échantillonnage avec remplacement (*bootstraps*)

Ensuite, si le fichier coïncide en paires de traitement dans deux groupes (ou plus), le bouton “Niveau II” peut être enclenché, il lancera un cycle de *bootstraps* selon le nombre voulu par l'utilisateur. Ce dernier doit inscrire ce nombre dans une entrée qui apparaît juste au-dessus de la précédente (Figure 20)

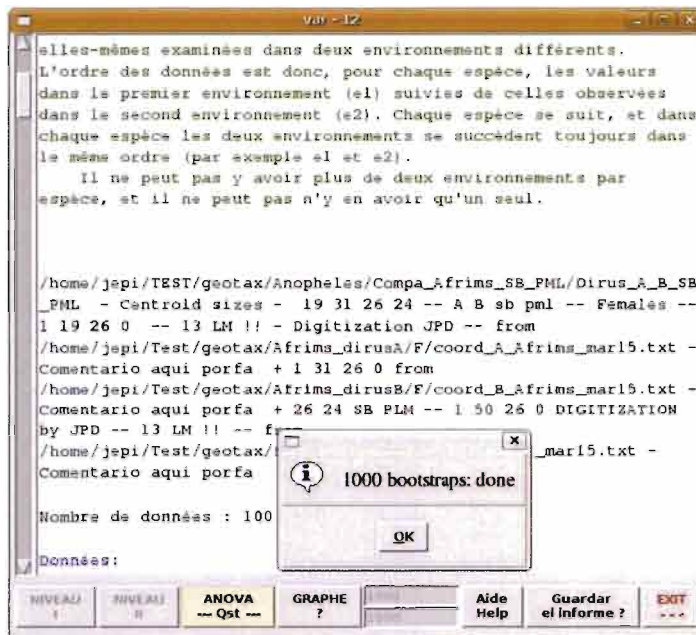


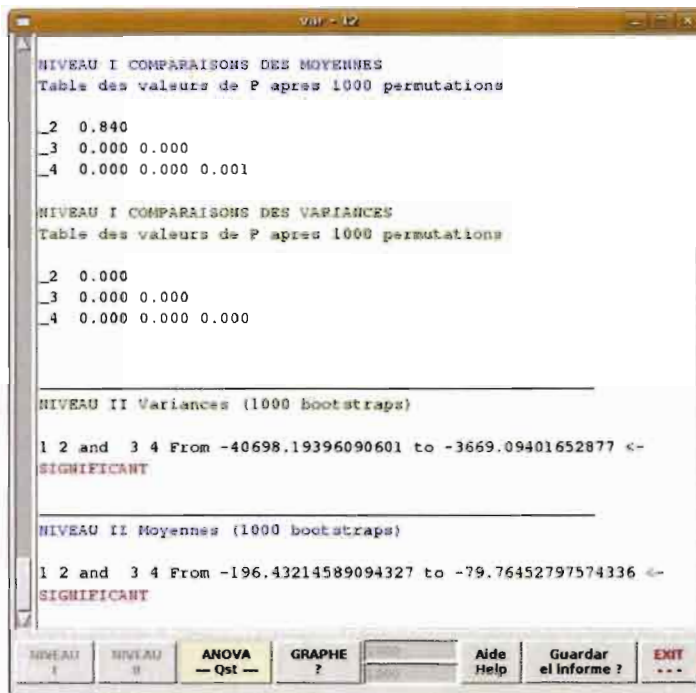
Figure 20: Demander faire les bootstraps

Ce qui est testé par les *bootstraps* est l'interaction entre les groupes, facteurs ou traitements choisis. Dans l'exemple cité plus haut, on testerait si les différences de taille entre individus nourris sur rat (**E1**) et sur poule (**E2**) dans une espèce **X**, soit **D_x**, et celles mesurées pour une autre espèce **Y**, **D_y**, présenteraient entre elles une différence (**D_x-D_y**) significative. Dans le cas d'une différence significative, on admettrait l'existence d'une **interaction** entre espèce et milieux.

L'intérêt des test non paramétriques est de permettre le même test d'**interaction** pour les moyennes et pour les **variances** (paragraphe 5.5).

5. script VAR: rapport

Le rapport détaille les résultats un par un, successivement, mais une synthèse est affichée en fin de rapport sous la forme de tableaux (Figure 21).



```
var - 12
NIVEAU I COMPARAISONS DES MOYENNES
Table des valeurs de P apres 1000 permutations
 _2 0.840
 _3 0.000 0.000
 _4 0.000 0.000 0.001

NIVEAU I COMPARAISONS DES VARIANCES
Table des valeurs de P apres 1000 permutations
 _2 0.000
 _3 0.000 0.000
 _4 0.000 0.000 0.000

NIVEAU II Variances (1000 Bootstraps)
1 2 and 3 4 From -40698.19396090601 to -3669.09401652877 <-
SIGNIFICANT

NIVEAU II Moyennes (1000 bootstraps)
1 2 and 3 4 From -196.43214589094327 to -79.76452797574336 <-
SIGNIFICANT

NIVEAU 1 NIVEAU 2 ANOVA -- Qst -- GRAPHE ? Aide Guardar el Informe ? EXIT Help
```

Figure 21: Rapport des résultats

6.2 Etude de la transition d'un milieu à l'autre entre générations

Transition du milieu naturel au laboratoire

Nous avons utilisé des groupes collectés en milieu naturel et nous les avons comparés avec leurs descendants de première génération en laboratoire. Il s'agit donc de comparer des changements phénotypiques entre milieux naturels et artificiels, mais aussi entre générations.

Cette partie de notre approche a pour objectif de vérifier que nous pouvons reproduire les observations reportées dans la littérature, d'observer leur constance entre espèces pourtant très différentes (nous allons comparer deux genres), et de comparer la plasticité de ces espèces de manière quantitative.

Les deux espèces examinées sont *R. pallescens* et *P. geniculatus*.

6.2.1 Protocole expérimental

Provenance des insectes

1. Cinq femelles et neuf mâles de *R. pallescens* ont été collectés dans les palmiers *Attalea butyracea* de la municipalité de Norcasia, Province de Caldas, en Colombie (5 34' 41,3 " N, 74 49' 21" W). Ces insectes ont été élevés en laboratoire dans des conditions contrôlées de température (25 +/- 2 C) et d'humidité relative (80 +/- 5%), et nourris de façon hebdomadaire sur la poule. Les parents, issus du milieu naturel, ainsi que 13 femelles et 14 mâles de la première génération (F1) en laboratoire ont été utilisés pour les analyses morphométriques.
2. Dix femelles et 24 mâles de *P. geniculatus* ont été récoltés à l'intérieur des maisons de la localité de Montebello, Municipalité d'Amalfi, Province d'Antioquia, Colombie (6 55' 58" N, 75 05' 30" W). Ces insectes ont été élevés en laboratoire dans des conditions contrôlées de température (28 +/- 2 C) et d'humidité relative (90 +/- 5%), et nourris de façon hebdomadaire sur la poule. Les parents, ainsi que 25 femelles et 26 mâles de la génération F1 ont été utilisés pour les analyses morphométriques.

Mesures morphométriques Nous avons pris 10 points repères anatomiques (Figure 22) sur les ailes droite et gauche de chaque individu. Nous avons calculé une matrice de coordonnées moyennes des deux côtés et nous

l'avons utilisée pour obtenir les variables de taille centroïde et les variables de conformation.

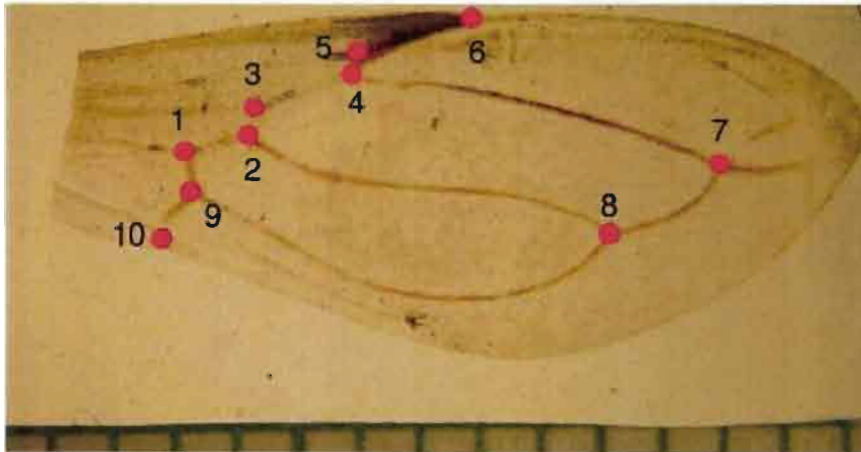


Figure 22: Points repères anatomiques (PR) collectés chez *R. pallescens* et chez *P. geniculatus* (dans la figure). Tous les PR sont définis de “type I”, à savoir une jonction ponctuelle de deux tissus différents (Bookstein, 1991).

Après superposition de Procrustes, les résidus ont été transformés en déformations partielles (“partial warps”, ou PW) par rapport au consensus total des groupes destinés à être comparés (Figure 12).

Les “relative warps”, à savoir les composantes principales des PW, ont été testées dans chaque sexe par groupes de 4 premiers RW, 6 premiers RW et 8 premiers RW dans des analyses discriminantes permettant de reclasser les individus. La meilleure classification a été notre critère de choix pour décider du groupe de premiers RW préférable (paragraphe 1.4.5) (Baylac & Friessß, 2005). Il s'agit de reclassifications dites “validées”, où chaque individu est classé selon sa valeur sur les fonctions discriminantes qui ont été calculées cependant sans lui (paragraphe 5.4.4).

Le minimum d'erreur de classification a été obtenu avec les 6 premiers RW. Notre analyse de la plasticité de la conformation s'est donc limitée aux mâles (9 géniteurs mâles), les effectifs des femelles (5 géniteurs femelles) étant trop bas, en utilisant comme variables de conformation les 6 premiers RW.

Pour rappel, l'usage de quelques premiers RW au lieu de leur totalité, s'il peut faire perdre quelques éléments de conformation, permet d'adapter le nombre de variables aux échantillons et présente aussi l'avantage non négligeable de réduire l'effet de l'erreur de digitalisation (paragraphe 1.4.5) (Arnqvist & Mårtensson, 1998).

6.2.2 Résultats

Nous avons mesuré et testé la signification statistique des différences de taille et de conformation entre milieux chez *R. pallescens* et chez *P. geniculatus*, ainsi que l'interaction possible entre espèces et milieux.

Taille

Comparaisons entre milieu naturel et laboratoire

1. La **moyenne** des tailles diminue en passant du milieu naturel au laboratoire. Cette diminution est significative dans les deux sexes de *P. geniculatus*, elle ne l'est pas chez *R. pallescens* (Tableaux 3 et 5 et Figure 23).
2. Chez *R. pallescens*, la **variance** des tailles augmentent significativement en laboratoire chez les femelles, elle diminue significativement chez les mâles (Tables 3 et 5, figure 23). Il n'y a pas de changement significatif de variance des tailles chez *P. geniculatus*.

Interaction entre espèces et milieux

1. La variation des moyennes des tailles est significativement plus importante dans les deux sexes de *P. geniculatus* (Tableau 5 et Figure 23).
2. *P. geniculatus* et *R. pallescens* ne diffèrent pas entre elles en ce qui concerne les différences des variances (Tableau 5 et Figure 23).

| Espèce | Femelle | | Mâle | | |
|-----------------------|---------|-------|-------|-------|------|
| | Pa | F1 | P | F1 | |
| <i>R. pallescens</i> | n | 5 | 13 | 9 | 14 |
| | m | 9.70 | 9.50 | 8.90 | 8.80 |
| | sd | 0.06 | 0.26 | 0.35 | 0.14 |
| <i>P. geniculatus</i> | n | 10 | 25 | 24 | 26 |
| | m | 11.80 | 10.60 | 11.00 | 9.90 |
| | sd | 0.50 | 0.45 | 0.44 | 0.39 |

Table 3: Taille d'échantillon (n), taille moyenne en millimètre (m) et standard deviation (sd) de chaque espèce et génération. Pa, parentale; F1, première génération de descendants du laboratoire chez *R. pallescens* et *P. geniculatus*.

| Sexe | Espèce | Génération | Interaction |
|------|--------|------------|-------------|
| F | 0.000* | 0.000* | 0.002* |
| M | 0.000* | 0.000* | 0.000* |

Table 4: Valeurs de P pour l'analyse de variance (ANOVA) de la taille centroïde selon deux facteurs: l'espèce et la génération (ou le milieu, puisque chaque génération est dans un milieu différent). Tout est significatif: **les spécimens changent de taille en laboratoire, et l'ampleur de ce changement dépend de l'espèce.** F = femelle; M = mâle; * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05)

| Moyenne des tailles | | | |
|----------------------|----------------------|-----------------------|-------------|
| Sex | <i>R. pallescens</i> | <i>P. geniculatus</i> | Interaction |
| | Dx | Dy | Dx-Dy |
| F | 0.20 | 1.20* | -1.00* |
| M | 0.10 | 1.10* | -1.00* |
| Variance des tailles | | | |
| Sex | <i>R. pallescens</i> | <i>P. geniculatus</i> | Interaction |
| | Dx | Dy | Dx-Dy |
| F | -0.20* | 0.05 | -0.25 |
| M | 0.21* | 0.05 | 0.16 |

Table 5: Valeurs de Dx, Dy et Dx-Dy. Plasticité phénotypique comparée de la taille entre le milieu naturel et le laboratoire chez *R. pallescens* (Dx) et *P. geniculatus* (Dy). Partie haute de la table: Dx et Dy, variations de la taille centroïde moyenne entre parents et descendants de laboratoire chez *R. pallescens* (Dx) et *P. geniculatus* (Dy). Partie basse de la table: Dx et Dy, variations de la variance des taille entre parents et descendants de laboratoire chez *R. pallescens* (Dx) et *P. geniculatus* (Dy). Tant pour les changements de moyennes (haut) que pour ceux des variances (bas), Dx-Dy est un test non paramétrique de l'interaction entre les générations et les espèces; on voit que **les changements de moyennes entre milieux** ne sont pas les mêmes selon les espèces: ils sont **plus importants chez *P. geniculatus***. F, femelles; M, Mâles; * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05).

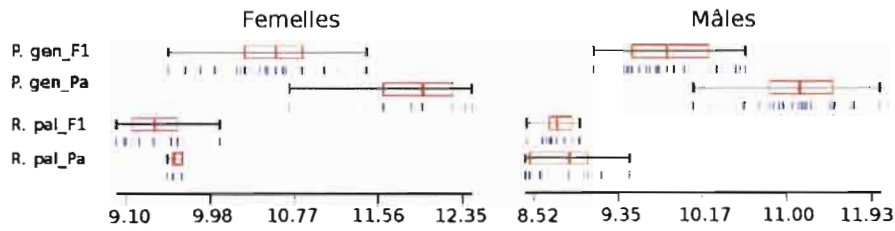


Figure 23: Visualisation de la taille **médiane** et de la **dispersion des tailles** entre deux environnements: parents (Pa) et descendants de laboratoire (F1) et chez *P. geniculatus* (*P. gen*) et chez *R. pallescens* (*R. pal*). Chaque boîte montre la médiane de groupe séparant les quartiles 25 et 75, avec les quartiles 10 et 90 de chaque côté de la ligne traversant la boîte. La **plus grande ampleur des variations de taille chez *P. geniculatus*** est très apparente.

Conformation

1. Des différences significatives entre espèces sont observées chez les mâles de *P. geniculatus*, pour l'orientation du changement conformationnel ⁵. On voit que la distance euclidienne qui sépare les milieux est deux fois plus importante chez *P. geniculatus*. (Tableau 6).

A titre d'illustration, on montre la qualité de superposition entre les milieux naturel et de laboratoire chez les mâles des deux espèces (Figure 24).

⁵Cette analyse a été faite après avoir choisi les 6 premiers RW, paragraphe 6.2.1

Mâles

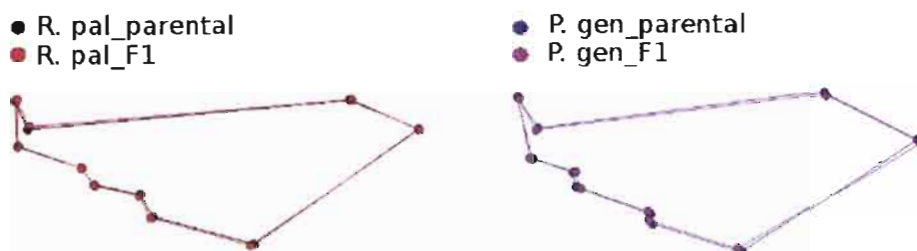


Figure 24: Superposition des points repères des ailes des parents (Parental) mâles et de leur descendance (F1), chez *R. palleescens* (à gauche, R. pal) et *P. geniculatus* (à droite, P. gen). La superposition n'est pas montrée chez les femelles puisque rien n'est significatif de ce côté.

| | | <i>R. palleescens</i> | | <i>P. geniculatus</i> | | | | | |
|---|-------|-----------------------|-------|-----------------------|------|--------|-------|----|--------|
| S | I | Dx | P | Dy | P | Dx-Dy | P | A | P |
| M | 0.00* | 0.012 | 0.836 | 0.027 | 0.04 | -0.015 | 0.039 | 90 | 0.002* |

Table 6: Approche de Collyer & Adams (2007) pour tester la plasticité de la conformation entre générations et la comparer entre *R. palleescens* et *P. geniculatus*. S, sex; I, signification statistique de l'interaction "espèce X génération" selon la MANOVA; **Dx**, distance euclidienne entre générations de *R. palleescens*, **Dy**, même distance pour *P. geniculatus*; **Dx-Dy**, Interaction non paramétrique entre les générations et les espèces; **A**, Angle de Collyer & Adams; P, valeur de signification statistique; M, mâle; * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05). On voit que la **distance euclidienne** qui sépare les milieux est **deux fois plus importante chez P. geniculatus** (Dy = 0.027), et que la direction du changement diffère entre les espèces (A = 90).

2. L'analyse en composantes principales (Figure 25) veut illustrer d'éventuelles différences apparentes entre les deux générations chez les femelles (ACP). C'est évidemment la différence interspécifique qui domine le tableau (la première composante vaut 80%), laissant peu d'espace à l'expression des variations de milieu dans chaque espèce (la deuxième composante vaut 7%). Les distances euclidiennes entre générations sont semblables dans les deux espèces (0.018 et 0.015 chez *R. palleescens* et *P. geniculatus*, respectivement).

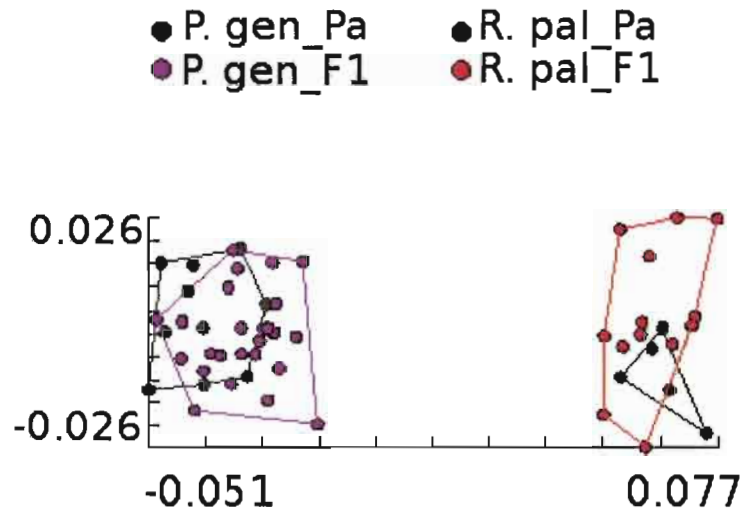


Figure 25: L'analyse en composantes principales montrent les variations en conformation chez *P. geniculatus* (*P. gen*) et *R. pallescens* (*R. pal*) et à l'intérieur des parents (*Pa*) et descendants de laboratoire (*F1*).

3. La disparité métrique (*DM*) est plus petite dans la descendance de *P. geniculatus*: réduction significative chez les femelles, non significative ($P = 0.055$) chez les mâles (Table 7). La *DM* ne montre pas de changement significatif chez les mâles de *R. pallescens*. Les résultats concernant les femelles de *R. pallescens* ne sont pas affichés car les effectifs sont trop bas.

| Sex | Espèce | Génération | | |
|----------|-----------------------|------------|---------|--------|
| | | Parent | F1 | P |
| Femelles | <i>R. pallescens</i> | / | / | / |
| | <i>P. geniculatus</i> | 0.00072 | 0.00049 | 0.001* |
| Mâles | <i>R. pallescens</i> | 0.00056 | 0.00044 | 0.149 |
| | <i>P. geniculatus</i> | 0.00088 | 0.00054 | 0.055 |

Table 7: Disparité métrique (diversité des formes) entre générations chez *R. pallescens* et *P. geniculatus*. F1, descendants de première génération; P, signification statistique de la comparaison non paramétrique des DM entre générations. Il n'y a pas ici de comparaisons statistique entre les espèces, seulement entre les générations à l'intérieur d'une espèce (voir "P"). * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05).

6.3 Densité des populations, et régime alimentaire.

Dans cette seconde phase de nos expérimentations, nous avons utilisé des groupes créés expérimentalement pour comparer entre eux des individus exposés à différentes conditions de maintien dans les colonies de laboratoire, en l'occurrence deux densités de population et deux fréquences d'alimentation.

Cette partie de nos expériences est une tentative d'identification de facteurs environnementaux actifs parmi les facteurs principaux soupçonnés d'influer sur la morphologie de l'insecte dans la transition entre milieux sylvestre et domestique (paragraphe 2.1).

Ainsi, nous avons soumis *R. pallescens* à des conditions pouvant ressembler à celles du milieu sylvestre (faibles densités de population, repas peu fréquents), à celles du milieu domestique (fortes densités, repas fréquents), et à des situations intermédiaires.

6.3.1 Protocole expérimental

Formation des traitements

320 larves de premier instar de *R. pallescens* ont été choisies au hasard à partir des colonies de laboratoire qui avaient été maintenues pendant plus de 10 générations dans des conditions stables de température (25 ± 2 C), d'humidité relative (80 ± 5 %) et soumises à une alimentation bi-hebdomadaire sur la poule.

Les 320 larves ont été alors distribuées aléatoirement dans quatre flacons plastiques de même dimensions (15.6 x 15 x 18.3 cm).

Deux flacons ont reçu chacun 40 larves, et les deux autres 120 larves. Chacun de deux récipients de 40 et 120 larves a été alimenté de façon hebdomadaire (**40_H** et **120_H**), l'autre paire a été alimentée de façon mensuelle (**40_M** et **120_M**).

Quel que soit le flacon, chaque repas s'est déroulé pendant le même laps de temps : 35 minutes. Les larves ont été alimentées ainsi jusqu'à ce qu'elles aient atteint la maturité sexuelle.

Mesures morphométriques

Nous avons quantifié la variation morphologique de l'aile droite sur sept points repères anatomiques (PR) tandis que six points PR ont été choisis couvrant la moitié droite de la tête. (Figure 26).

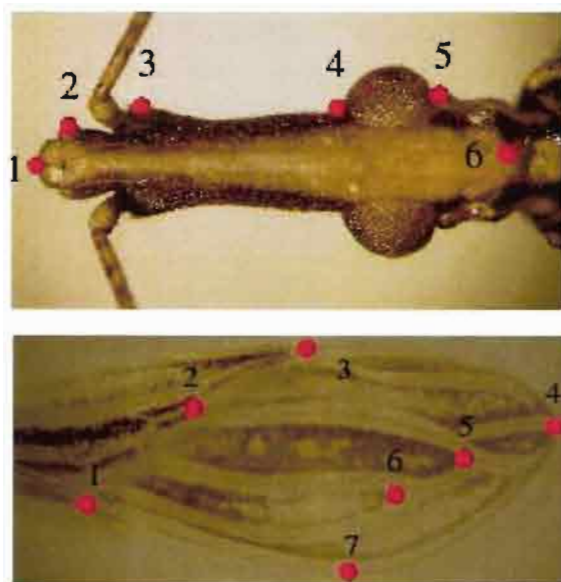


Figure 26: Points repères anatomiques (LM) collectés de la tête (haut) et de l'aile droite (bas). Les LM sont définies comme type II (tous de la tête et le LM 4 et 7 de l'aile) et type I (les restent LM de l'aile) (Bookstein, 1991).

Après superposition de Procrustes, les résidus ont été transformés en déformations partielles ("partial warps", ou PW) par rapport au consensus total des groupes destinés à être comparés (Figure 12). Les "relative warps", à savoir les composantes principales des PW, ont été testées par groupes de 4, 5, 6, 7, 8 premiers RW pour les ailes, de 4, 5, 6 premiers RW pour les têtes, dans une analyse discriminante permettant de reclasser les individus, et la meilleure classification nous a permis de choisir le nombre optimum de RW (paragraphe 1.4.5) (Baylac & Friessß, 2005).

Pour les ailes, le minimum d'erreur de classification a été obtenu avec les 5 premiers RW pour les mâles, et avec les 8 premiers RW chez les femelles. Pour les têtes, les 6 premiers RW ont donné les meilleures reclassifications

tant chez les mâles que chez les femelles. Il s'agit de reclassifications dites "validées", où chaque individu est classé selon sa valeur sur les fonctions discriminantes qui ont été calculées cependant sans lui (paragraphe 5.4.4).

Temps de développement

Le "temps" de développement a été estimé par un nombre d'individus obtenus après un certain délai. Nous avons compté le nombre d'adultes obtenus après les 7 premiers mois dans chaque traitement, puis ceux obtenus après les 7 mois suivant. En effet, certains traitements ont connu un temps de développement assez rapide et ont produit la totalité ou la presque totalité des adultes avant le septième mois, d'autres ont nécessité jusqu'à sept mois de plus.

Mortalité

La mortalité a été estimée de deux façon différentes (paragraphe 5.1.3):

1. Par le rapport entre le nombre de larves mortes (quel qu'en soit le stade) et le nombre total de larves de premier stade au départ de l'expérimentation. Le nombre de larves mortes peut être estimé par la différence entre le nombre d'adultes obtenus dans un groupe et le nombre initial de larves. Ce dernier nombre est connu puisque contrôlé expérimentalement : 40 ou 120, selon les groupes.
2. Par le rapport entre le nombre de larves mortes dans un groupe et le nombre d'adultes obtenus dans ce groupe au moment de l'arrêt de l'expérimentation. Cette deuxième modalité représente le nombre de larves mortes que coûte l'obtention d'un adulte viable. Elle permet de comparer la mortalité dans cette expérience avec celle calculée dans l'expérience suivante (au paragraphe 6.4).

6.3.2 Bref rappel des traitement statistiques

La **taille** centroïde a été traitée par une analyse de variance à deux facteurs (ANOVA), ainsi que par les tests non-paramétriques implémentés dans le script VAR (pour plus d'explications, voir paragraphes 5.4.3 et 5.5).

Les normes de réaction ont été illustrées par les graphiques classiques (Figures 27, 28) expliqués au paragraphe 2.1.1.

Pour mieux illustrer les changements de variances entre groupes, des graphiques montrant la dispersion des valeurs autour des médianes ont été utilisés (Figures 29 et 30).

Les analyses de la conformation sont basées sur l'approche de Collyer & Adams (2007) décrites au paragraphe 5.2.2.

6.3.3 Résultats

En général, les insectes soumis à une plus forte densité de population et une plus grande fréquence d'alimentation, des conditions que l'on suppose proches des conditions domestiques, ont montré un temps de développement plus rapide et une taille moindre. Les cycles les plus lents et les plus grandes tailles ont été observés dans les conditions opposées: basses densités de population et moindre fréquence des repas, soit en fait ce que l'on suppose pour un habitat sylvestre.

Temps de développement

Après 7 mois, toutes les larves nourries à une fréquence hebdomadaire avaient déjà subi la mue imaginale. A ce stade, seulement 42% des larves nourries mensuellement avaient produit des adultes. Dans le groupe des larves nourries mensuellement, il a fallu attendre encore 7 mois pour que toutes les mues imaginale soient terminées. Ces différences sont statistiquement significatives (X^2 , $P < 0.001$).

Mortalité

Le rapport indiquant combien de larves "doivent" mourir pour qu'un adulte soit produit (paragraphe 5.1.3) est montré dans la colonne "mortalité (i)" de la table 8.

Le pourcentage de larves mortes (à l'exclusion des adultes donc, puisque ces derniers ont été sacrifiés aussitôt formés) a montré une nette différence selon la fréquence d'alimentation, quelle que soit la densité: entre 10 et 22% dans les groupes nourris de façon hebdomadaire, et entre 49 et 50% dans les groupes nourris mensuellement (colonne "mortalité (ii)" de la table 8).

| n initial | Fréquence d'alimentation | Adultes survivants | Larves mortes | Mortalité (i) | Mortalité (ii) |
|-----------|--------------------------|--------------------|---------------|---------------|----------------|
| 40 | H | 36 | 4 | 0.11 | 0.10 |
| 40 | M | 20 | 20 | 1.00 | 0.50 |
| 120 | H | 94 | 26 | 0.28 | 0.22 |
| 120 | M | 61 | 59 | 0.97 | 0.49 |

Table 8: Deux façons de quantifier la mortalité: (i) et (ii) (paragraphe 5.1.3). On voit que la mortalité est la plus élevée à basse fréquence d'alimentation (M), et cela quelle que soit la densité (40 ou 120). n, nombre de larves de premier stade au début de l'expérience, H, alimentation hebdomadaire; M, alimentation mensuelle.

Dans le tableau des échantillons mesurés (Table 9), on voit que les plus petits effectifs se trouvent bien dans le groupe peu dense nourri mensuellement, c'est-à-dire le milieu qui simule les conditions sylvestres. C'est le groupe où la mortalité est la plus grande (Table 8))

| Treatment | | Femelle | | Mâle | |
|-----------|----|---------|---------|--------|---------|
| | | Aile | Tête | Aile | Tête |
| 40H | n | 15 | 17 | 19 | 19 |
| | m | 947.20 | 1218.70 | 893.10 | 1171.90 |
| | sd | 46.60 | 51.10 | 51.10 | 50.10 |
| 40M | n | 8 | 11 | 9 | 9 |
| | m | 1046.00 | 1234.50 | 966.30 | 1180.80 |
| | sd | 56.50 | 39.90 | 52.80 | 49.80 |
| 120H | n | 42 | 48 | 46 | 43 |
| | m | 933.30 | 1217.10 | 865.30 | 1159.80 |
| | sd | 50.20 | 47.10 | 61.10 | 61.60 |
| 120M | n | 26 | 26 | 35 | 35 |
| | m | 913.70 | 1212.20 | 840.20 | 1154.70 |
| | sd | 27.10 | 27.20 | 25.90 | 25.40 |

Table 9: Taille d'échantillon (n), taille moyenne en pixels (m) et déviation standard (sd) de chaque groupe: 40H, densité 40 et alimentation hebdomadaire; 40M, densité 40 et alimentation mensuelle; 120H, densité 120 et alimentation hebdomadaire; 120M, densité 120 et alimentation mensuelle.

Taille

1. Les changements métriques ont suivi environ les mêmes tendances chez les mâles et les femelles, tant pour les ailes que pour les têtes (Figures 27-28).
2. Les variations ont été similaires entre les ailes et les têtes, mais plus accusées pour les ailes (Figures 27-28).

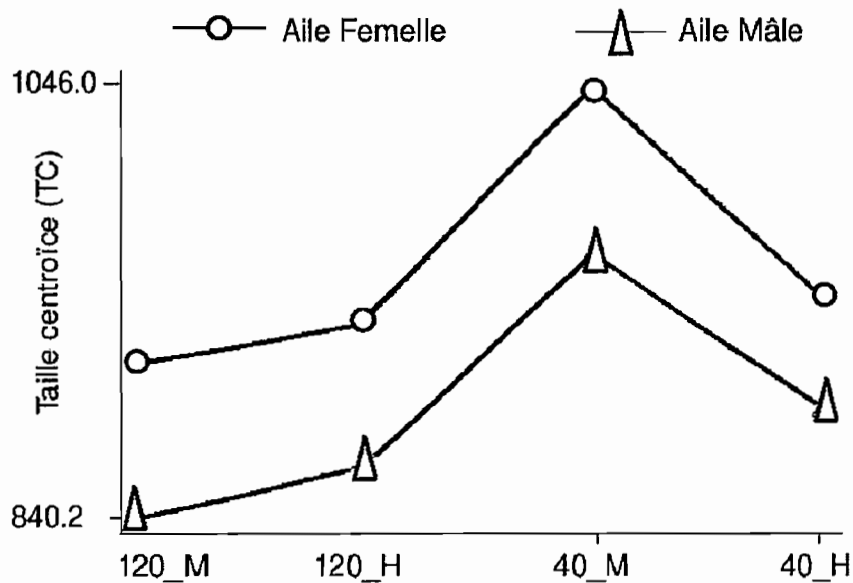


Figure 27: Normes de réaction de la taille des ailes chez les mâles et les femelles. 40_H, densité 40 et alimentation hebdomadaire; 40_M, densité 40 et alimentation mensuelle; 120_H, densité 120 et alimentation hebdomadaire; 120_M, densité 120 et alimentation mensuelle. On voit que **les grandes tailles n'apparaissent que lors de la combinaison d'une faible densité (40) et d'une alimentation moins fréquente (M)**. Il est curieux d'observer qu'une alimentation plus généreuse (H) ne génère pas de grandes tailles, même quand la densité est basse (40).

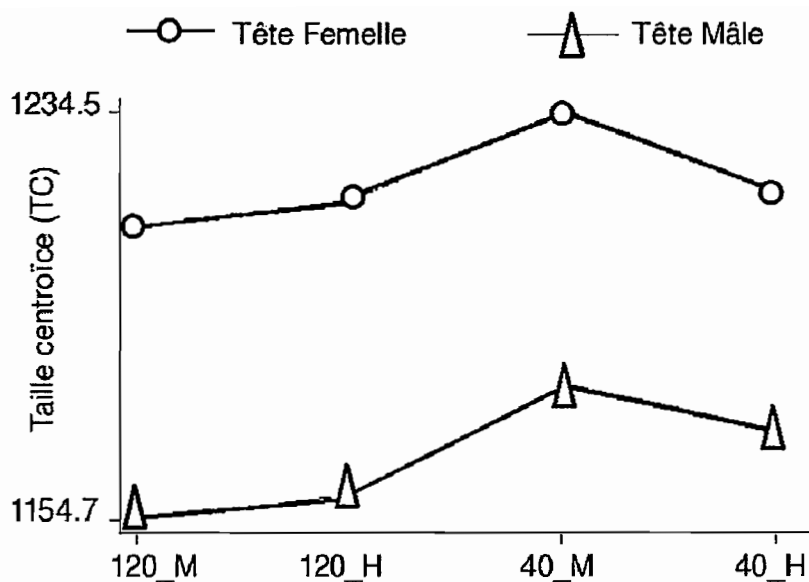


Figure 28: Normes de réaction de la taille des têtes chez les mâles et les femelles. 40_H, densité 40 et alimentation hebdomadaire; 40_M, densité 40 et alimentation mensuelle; 120_H, densité 120 et alimentation hebdomadaire; 120_M, densité 120 et alimentation mensuelle. La tendance générale est celle observée sur les ailes (Figure 27), mais elle est moins accusée.

3. En général, les insectes soumis à une haute densité de population ont montré une taille plus petite (Table 9, Figures 27, 28). Les changements n'ont été significatifs que pour les ailes (Tables 10 et 11).
4. Entre densité et fréquence d'alimentation existe une interaction significative en ce qui concerne la taille des ailes (Table 10, voir colonne Dx-Dy de la table 11).

| Sexe | Trait | Densité | Alimentation | Interaction |
|------|-------|---------|--------------|-------------|
| F | A | 0.000* | 0.001* | 0.000* |
| | T | 0.227 | 0.580 | 0.293 |
| M | A | 0.000* | 0.039 | 0.000* |
| | T | 0.093 | 0.853 | 0.555 |

Table 10: Valeurs de P après analyse de variance (ANOVA) de la taille centroïde de l'aile (A) et de la tête (T) de *R. pallescens* selon deux facteurs : la densité de population et la fréquence d'alimentation. F, femelle; M, mâle; A, Aile; T, Tête; Densité: 40 ou 120; Alimentation: hebdomadaire ou mensuelle; * signification statistique significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05). Pour l'aile seulement, la densité et l'alimentation peuvent entraîner des modification significatives, de même que leur interaction.

| | | Taille moyenne | | | | |
|------|-------|--------------------|---------|---------|--------|---------------------|
| Sexe | Trait | Alimentation | | Densité | | Différence Dx-Dy |
| | | Dx_40 | Dy_120 | Dx_H | Dy_M | |
| F | A | -98.8* | 19.7 | 13.9 | 132.4* | -118.5* |
| | T | -15.8 | 4.9 | 1.6 | 22.3 | -20.7 |
| M | A | -73.3* | 25.1 | 27.7 | 126.1* | -98.4* |
| | T | -8.9 | 4.6 | 12.5 | 26.0 | -13.5 |
| | | Variance de taille | | | | |
| Sexe | Trait | Alimentation | | Densité | | Différence Dx-Dy |
| | | Dx_40 | Dy_120 | Dx_H | Dy_M | |
| F | A | -1027.6 | 1787.5 | -352.2 | 2462.8 | -2815.1 |
| | T | 1017.0 | 1483.1 | 393.3 | 859.4 | -466.1 |
| M | A | -172.7 | 3057.2* | -1115.1 | 2114.8 | -3229.9* |
| | T | 31.2 | 3141.9* | -1276.7 | 1834.1 | -3110.8 |

Table 11: Test non paramétriques de la moyenne et variance de la taille. Dx_40, différence de moyennes et / ou variances entre les rythmes de alimentation à la densité 40; Dy_120, la même différence à la densité 120; Dx_H, différence de moyennes et / ou variances entre les densités quand l'alimentation est hebdomadaire; Dy_M, la même différence quand l'alimentation est mensuelle; Dx-Dy, (Dx_40 - Dy_120 = Dx_H - Dy_M), interaction non paramétrique entre densités ou alimentations. Comme pour l'ANOVA paramétrique (Table 10), l'interaction n'est significative que pour les ailes. La variance de la taille de l'aile est affectée chez les mâles. F, femelle; M, mâle; A, Aile; T, Tête; * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05).

- La partie inférieure de la Table 11 présente les résultats relatifs à la norme de réaction des variances de taille. La variance des tailles est restée relativement similaire entre les groupes, seul les mâles élevés dans des conditions de densité plus élevée (120) et nourris **hebdomadairement** (H) ont montré un changement significatif: une variance moindre, tant pour l'aile que pour la tête. Cette tendance est observée chez les femelles aussi, mais dans ce sexe elle n'est pas significative (Figures 29 and 30, Table 11).
- L'examen visuel de la dispersion des valeurs autour de la médiane (Figure 29, 30) fait apparaître un profil particulier, plus apparent pour l'aile que pour la tête: lorsque le régime alimentaire est mensuel, les grandes tailles semblent avoir disparu aux densités élevées (120_M), les petites tailles aux densités plus basses (40_M).

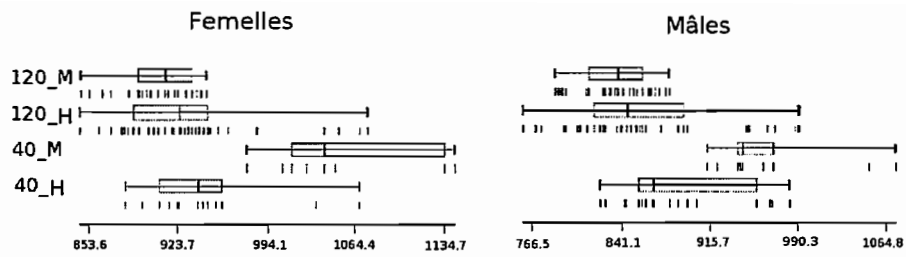


Figure 29: Médiane et dispersion de la variable de taille des ailes dans chaque traitement. Chaque boîte montre la médiane de groupe séparant les quartiles 25 et 75, avec les quartiles 10 et 90 de chaque côté de la ligne traversant la boîte. 40_H, densité 40 quand l'alimentation est hebdomadaire; 40_M, densité 40 quand l'alimentation est mensuelle; 120_H, densité 120 quand l'alimentation est hebdomadaire; 120_M, densité 120 quand l'alimentation est mensuelle.

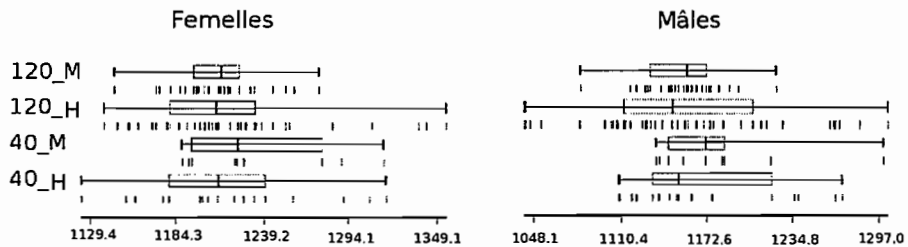


Figure 30: Médiane et dispersion de la variable de taille de la tête dans chaque traitement. Chaque boîte montre la médiane de groupe séparant les quartiles 25 et 75, avec les quartiles 10 et 90 de chaque côté de la ligne traversant la boîte. 40_H, densité 40 quand l'alimentation est hebdomadaire; 40_M, densité 40 quand l'alimentation est mensuelle; 120_H, densité 120 quand l'alimentation est hebdomadaire; 120_M, densité 120 quand l'alimentation est mensuelle.

7. Interactions. La colonne Dx-Dy de la Table 11 correspond à un test non-paramétrique de l'interaction entre densité et alimentation. Elle indique comment (significativement ou non) la taille entre insectes soumis à différents régimes alimentaires dépend de la densité, ou inversement, comment les effets de la densité sur la taille dépendent du régime alimentaire.

Dans notre expérience, et dans les deux sexes, une fréquence d'alimentation relativement basse n'a produit une augmentation significative de la taille des ailes que lorsque la densité était relativement basse. Ou inversement, puisque nous ne pouvons pas préjuger des relations de cause à effet, mais c'est donc bien la combinaison des deux facteurs qui est nécessaire pour produire un effet déterminé.

Il en va de même pour la variance des tailles: chez les mâles, le changement de variance observé entre deux fréquences d'alimentation est plus important à densité plus élevée.

Conformation

1. Aucune différence significative n'a été trouvée pour la variation de la conformation (Table 12). Cependant, les changements apparents de conformation dans les deux sexes ont suivi la même tendance générale que ceux de la taille: plus importants pour l'aile que pour la tête.

| | | Aile | P | Tête | P |
|-----------------|--------|--------|-------|--------|-------|
| Femelles | | | | | |
| Interaction | | | 0.470 | | 0.010 |
| Alimentation | Dx_40 | 0.021 | 0.314 | 0.012 | 0.052 |
| | Dy_120 | 0.012 | 0.724 | 0.005 | 0.890 |
| | Dx-Dy | 0.009 | 0.261 | 0.007 | 0.020 |
| Angle | | 81 | 0.150 | 49 | 0.304 |
| Densité | Dx_H | 0.015 | 0.938 | 0.008 | 0.155 |
| | Dy_M | 0.027 | 0.143 | 0.006 | 0.775 |
| | Dx-Dy | -0.012 | 0.220 | 0.002 | 0.435 |
| Angle | | 58 | 0.277 | 86 | 0.020 |
| Mâles | | | | | |
| Interaction | | | 0.011 | | 0.602 |
| Alimentation | Dx_40 | 0.026 | 0.142 | 0.007 | 0.671 |
| | Dy_120 | 0.017 | 0.683 | 0.007 | 0.551 |
| | Dx-Dy | 0.009 | 0.134 | 0.00 | 0.995 |
| Angle | | 56 | 0.118 | 45 | 0.316 |
| Densité | Dx_H | 0.016 | 0.500 | 0.002 | 0.955 |
| | Dy_M | 0.020 | 0.400 | 0.006 | 0.394 |
| | Dx-Dy | 0.004 | 0.470 | -0.004 | 0.147 |
| Angle | | 74 | 0.030 | 65 | 0.468 |

Table 12: Importance et direction des changements de la conformation de l'aile et de la tête chez *Rhodnius pallescens*. Dx_40, distances euclidiennes entre les rythmes d'alimentation à la densité 40; Dy_120, la même distance à la densité 120; Dx_H, distances euclidiennes entre densités quand l'alimentation est hebdomadaire; Dy_M, la même distance quand l'alimentation est mensuelle; Dx-Dy, valeur de (Dx_40 - Dy_120) ou (Dx_H - Dy_M); Angle, direction de changement phénotypique. Dans ce tableau, **les distances euclidiennes ont été corrigées pour la taille**: elles ont été calculées entre des variables prédites en fonction des groupes et d'une taille unique (cfr. MANCOVA, paragraphes 5.3.4 et 5.4.5). Pour connaître la valeur des distances non corrigées, voir la table suivante (Table 13).

| | | Aile | | | Tête | | |
|-----------------|--------|--------------|-------|-------|--------------|-------|-------|
| | | Pro | E | Ec | Proc | E | Ec |
| Femelles | | | | | | | |
| Feeding | Dx_40 | <i>0.014</i> | 0.013 | 0.021 | <i>0.012</i> | 0.011 | 0.012 |
| | Dy_120 | <i>0.014</i> | 0.013 | 0.120 | <i>0.005</i> | 0.004 | 0.005 |
| Density | Dx_H | <i>0.015</i> | 0.013 | 0.015 | <i>0.008</i> | 0.006 | 0.008 |
| | Dy_M | <i>0.023</i> | 0.022 | 0.027 | <i>0.006</i> | 0.005 | 0.006 |
| Mâles | | | | | | | |
| Feeding | Dx_40 | <i>0.021</i> | 0.019 | 0.026 | <i>0.007</i> | 0.007 | 0.007 |
| | Dy_120 | <i>0.025</i> | 0.020 | 0.017 | <i>0.007</i> | 0.008 | 0.007 |
| Density | Dx_H | <i>0.017</i> | 0.012 | 0.016 | <i>0.003</i> | 0.002 | 0.002 |
| | Dy_M | <i>0.020</i> | 0.019 | 0.020 | <i>0.005</i> | 0.005 | 0.006 |

Table 13: Distances métriques qui mesurent l'ampleur des changements de la conformation de l'aile et de la tête chez *R. pallescens* en fonction de la densité de population (40, 120) et du rythme des apports alimentaires (H, M). Les distances entre traitements reprennent les valeurs des distances euclidiennes (Ec) du tableau précédent (Table 12) et les comparent aux mêmes **distances non corrigées pour la taille** (E), ainsi qu'aux **distances (non-euclidiennes) de Procrustes** (Pro). Ces dernières sont montrées à titre informatif: elles restent à l'évidence très corrélées aux distances euclidiennes. Dx_H, distances euclidiennes entre densités quand l'alimentation est hebdomadaire; Dy_M, la même distance quand l'alimentation est mensuelle; Dx_40, distances euclidiennes entre les rythmes de alimentation à la densité 40; Dy_120, la même distance à la densité 120. F, femelle; M, mâle; A, aile; T, tête.

6.4 Transition d'un hôte à un autre

Dans cette troisième série d'expériences, nous avons utilisé des groupes créés expérimentalement pour comparer les changements phénotypiques qui seraient produits en l'espace d'une génération suite à des sources de sang différentes (sang d'oiseau, sang de rongeur).

Cette partie de nos expérimentations a pour objectif de quantifier les changements phénotypiques que pourraient présenter deux espèces de Triatominae, *R. prolixus* et *R. pallenscens*, exposées aux mêmes conditions de maintien dans les colonies de laboratoire hormis le type d'alimentation (sang de poule, sang de rat).

Pour rappel, *R. prolixus* est une espèce parfaitement adaptée au milieu domestique, tandis que *R. pallenscens* en Colombie vit dans les palmiers sans jamais parvenir à coloniser les habitations voisines.

6.4.1 Protocole expérimental

Formation des parents

1. Pour éviter de former des couples avec des femelles déjà fécondées, les adultes destinés à former des couples ont été séparés au stade pré-imaginal. Donc, 50 larves de cinquième stade de *R. pallenscens* et 50 larves de même stade de *R. prolixus* ont été préparées.
2. Elles ont été individualisées dans de petits flacons, leur génitalia ont été photographiés et une première tentative d'identification du sexe a été faite sur la base de ces photographies (Figure 31). Chaque flacon a été étiqueté avec les données relatives à la colonie (localité, nombre de fondateurs, année de collection, etc.).
3. Après la mue, les couples ont été formés.



Figure 31: Identification du sexe au stade de larve de cinquième stade

Lignées isofemelles (1 mâle, 1 femelle), ou lignées monoparentales

1. Les couples formés sont soit issus des larves préparées à cette fin, soit constitués d'une femelle issue des larves (paragraphe précédent) et d'un mâle choisi dans la colonie du laboratoire. Les larves L1 descendant des couples sont séparées dans des proportions approximativement égales dans deux flacons, l'un destiné à l'alimentation sur le mammifère (rat) et l'autre sur l'oiseau (poule). Ces lots resteront séparés jusqu'à l'âge adulte.
Le nombre de larves varie selon les couples entre plusieurs dizaines d'individus et plus de cent, selon la fertilité de chaque couple.
2. Les lots sont nourris hebdomadairement, chaque repas d'une durée limitée à une heure.
3. Les paramètres suivants sont relevés: la date de début de la ponte, les éclosions et le nombre d'œufs (chaque semaine), la date d'éclosion des larves de premier stade, tout en continuant d'introduire des œufs dans les mêmes proportions selon le type d'alimentation.
4. Pour réaliser les analyses statistiques, nous nous sommes limités à 30 mâles et 30 femelles (F1) par couple dans chaque type d'alimentation (rat et/ou poule). Dès cette limite atteinte, le flacon a cessé d'être suivi; ce n'est qu'à l'arrêt final de toute l'expérimentation que ces lots ont été alors sacrifiés.
5. Les adultes (F1) retenus pour analyses sont rassemblés dans un sac en plastique en attente de leur dissection, le montage de leurs ailes, la photographie et les analyses.

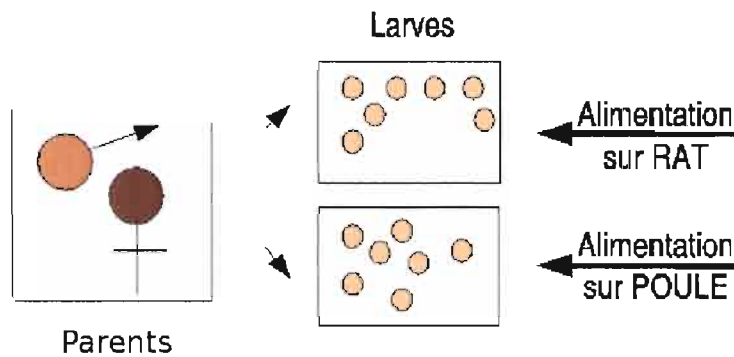


Figure 32: Couple de *R. prolixus* ou de *R. pallens*. Subdivision des descendants pour l'alimentation sur le rat ou la poule.

Lignées de groupes, ou lignées multiparentales Chez les Triatominae, il est rare de rencontrer dans la nature un seul couple et sa descendance. Plusieurs auteurs ont observé que ces insectes ne restent pas appariés longtemps après la copulation, un comportement qui permet des accouplements successifs. Ces derniers sont facilités par le fait que les copulations émettent apparemment une phéromone qui favorise l'agrégation des mâles autour des couples (Baldwin et al., 1971; Manrique & Lazzari, 1994, 1995; Pires et al., 2002, 2004).

Pour vérifier que nous n'avons pas introduit une pression sélective inhabituelle (négative) sur la fécondité ou la fertilité, nous avons tenté de répéter le protocole dans des conditions un peu plus comparables aux conditions naturelles, en perdant toutefois l'avantage d'une homogénéité génotypique entre individus de chaque lignée.

1. Les groupes multiparentaux "5x5" (5 femelles et 5 mâles) sont préparés à partir des larves ou des mues imaginales (voir plus haut).
2. Le reste des opérations, sur leur descendance, suit le même protocole que pour les lignées isofemelles (voir ci-dessus).

Origine des colonies

R. pallens La colonie mère de *R. pallens* utilisée ici est au laboratoire depuis 1999, elle provient de palmiers *Attalea butyracea* de la localité

de Galeras (Province de Sucre, Colombie). Elle a été fondée à partir de 152 larves L1 obtenues en laboratoire des spécimens de palmier.

R. prolixus La colonie mère de *R. prolixus* utilisée dans cette expérimentation est au laboratoire depuis 1993, donnée par le Département d'Entomologie de l'institut O. Cruz de Rio de Janeiro (Brésil). La provenance initiale est celle d'une population domestique au Venezuela (Etat de Guarico, Localité Ortiz).

Mesures morphométriques L'aile seule a été examinée, sur 11 points repères (PR) (Figure 33). Etant donné les très faibles effectifs obtenus chez *R. pallescens*, les ailes ont été comparées plutôt que les individus. Cela permet de doubler les effectifs, mais ajoute une variabilité intra-individuelle dans les comparaisons entre individus ou groupes. Comme la variabilité intra-individuelle est très faible par rapport à la variabilité inter-individuelle, le biais peut être considéré comme modéré voire négligeable.

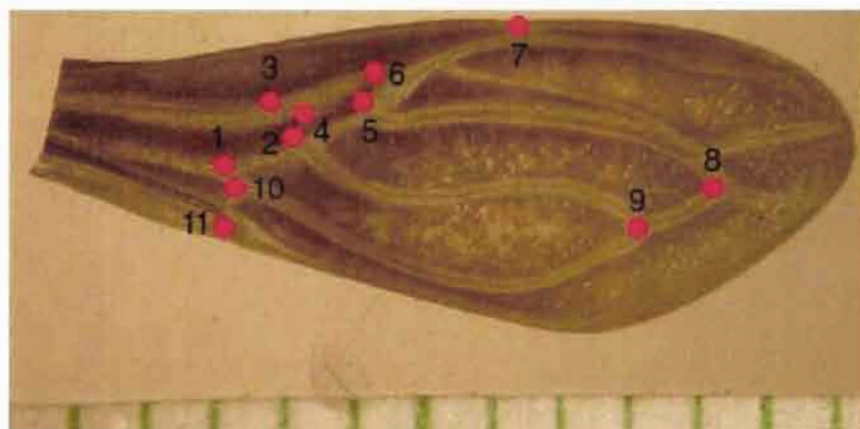


Figure 33: Points repères anatomiques (LM) collectés chez *R. pallescens* et chez *R. prolixus* (dans l'exemple). Tous les LM sont définies comme type I. (Bookstein, 1991)

Temps de développement Le temps de développement est évalué pour chaque lot, il est compté en jours depuis la première ponte jusqu'au premier adulte.

Mortalité La mortalité est ici le rapport entre le nombre de larves mortes et le nombre d'adultes obtenus à un moment donné de l'expérience (paragraphe 5.1.3). Il s'agit ici en quelque sorte du coût représenté par tel ou tel nombre d'adultes produits. Cet index de mortalité n'a été calculé que sur les lignées qui n'avaient pas encore produit 30 mâles et 30 femelles au moment de l'arrêt final de l'expérience. Pour rappel, dans notre protocole expérimental une lignée cessait d'être suivie quand elle avait produit une trentaine d'individus adultes. Les lignées n'ont pas produit ce nombre d'individus en même temps, et certaines ne sont pas arrivées à ce nombre de descendants malgré une attente de plusieurs mois. Ce sont ces lignées là qui ont été utilisées pour le calcul de la mortalité. Ce calcul n'a pas été retenu pour les lots qui avaient produit leur quota d'adultes avant la fin des expérimentations, puisqu'ils avaient cessé d'être suivis.

Calculée ainsi, la mortalité est donnée par une proportion de larves mortes dans chaque stade larvaire (Figure 35), ou pour la totalité des stades larvaires (Figure 34). Les figures ont été construites pour la mortalité calculée dans l'ensemble des couples.

6.4.2 Résultats

Les différentes lignées constituées ont été comparées quant à leur mortalité, leur temps de développement et leurs propriétés métriques.

Mortalité dans chaque espèce

R. pallescens a montré une très mauvaise adaptation à l'alimentation sur le rat (Tables 14 et 15, et Figure 34). Les effectifs adultes ainsi obtenus dans les lignées alimentées sur le rat ont été nuls ou très faibles, handicapant sérieusement nos possibilités de comparaisons statistiques.

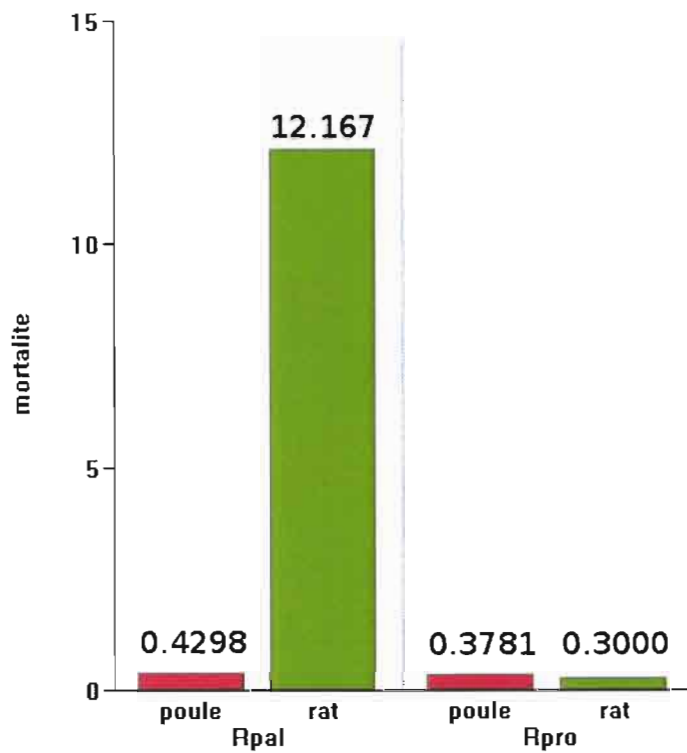


Figure 34: Mortalité globale (sans distinguer les stades larvaires) dans l'ensemble des couples chez *R. pallescens* et *R. prolixus*, selon qu'ils ont été alimentés sur la poule ou sur le rat.

La mortalité chez *R. pallescens* a toujours été plus importante dans le **stade larvaire L3**. Chez *R. prolixus*, la mortalité a été légèrement plus élevée sur la poule (Figure 35), plus particulièrement dans le **stade larvaire L5**.

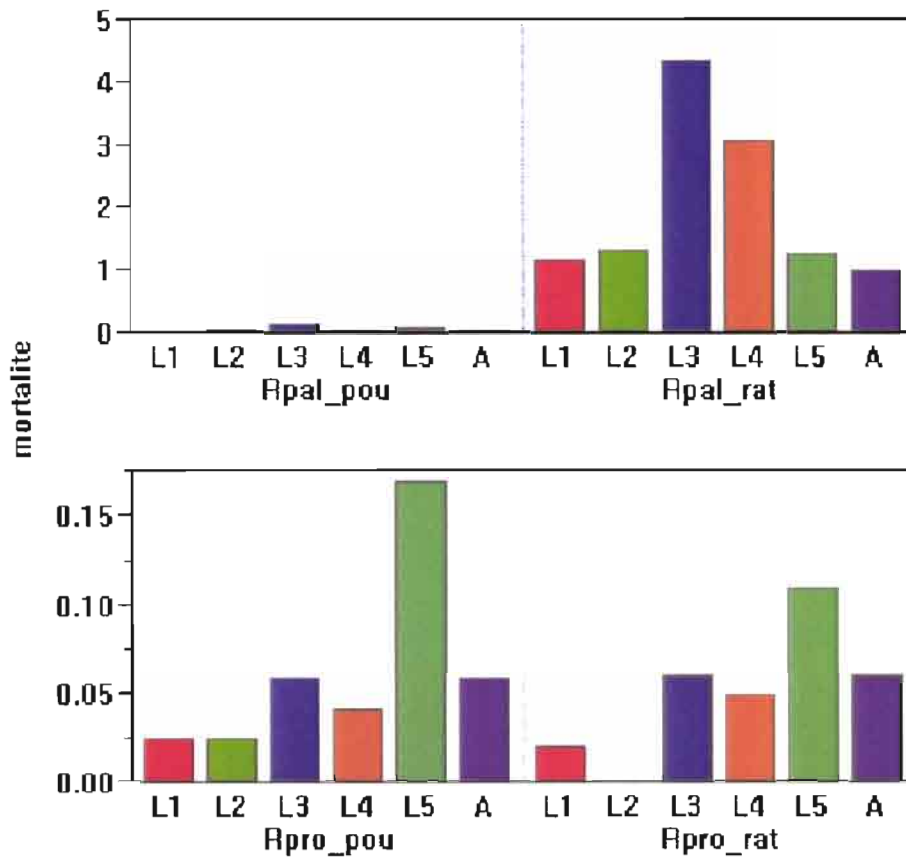


Figure 35: Mortalité larvaire chez *R. pallescens* (Rpal) et *R. prolixus* (Rpro) alimentés sur la poule (pou) ou le rat. Ces valeurs ont été calculées sur l'ensemble des couples (lignées monoparentales). A, adultoide (adulte mort pendant la mue, pas extrait de son exuvie), L1, L2, L3, L4, L5, stades larvaires 1 à 5.

| Catégorie | | Individus Femelles | | | |
|--------------------|----|----------------------|------|--------------------|------|
| | | <i>R. pallescens</i> | | <i>R. prolixus</i> | |
| | | Poule | Rat | Poule | Rat |
| Couple 1 | n | 8 | 1 | 21 | 10 |
| | m | 8.83 | 8.37 | 8.33 | 7.94 |
| | sd | 0.25 | 0.06 | 0.16 | 0.38 |
| Couple 2 | n | 30 | 1 | 13 | 17 |
| | m | 8.92 | 9.19 | 8.55 | 8.43 |
| | sd | 0.31 | 0.06 | 0.22 | 0.23 |
| Couple 3 | n | 7 | 0 | 13 | 21 |
| | m | 8.95 | - | 8.12 | 8.23 |
| | sd | 0.53 | - | 0.27 | 0.24 |
| Couple 5 | n | 25 | 3 | 31 | 33 |
| | m | 8.19 | 8.72 | 8.08 | 7.92 |
| | sd | 0.30 | 0.07 | 0.19 | 0.22 |
| Couple 6 | n | 3 | 0 | 30 | 30 |
| | m | 9.12 | - | 8.31 | 8.24 |
| | sd | 0.25 | - | 0.20 | 0.20 |
| Total (couples) | n | 73 | 5 | 108 | 111 |
| | m | 8.62 | 8.74 | 8.25 | 8.14 |
| | sd | 0.46 | 0.28 | 0.25 | 0.30 |
| Gp1 (5x5) | n | 32 | 12 | 30 | 26 |
| | m | 8.48 | 8.72 | 7.71 | 7.74 |
| | sd | 0.29 | 0.48 | 0.33 | 0.29 |
| Gp2 (5x5) | n | 30 | 4 | 30 | 32 |
| | m | 8.60 | 8.44 | 7.66 | 7.35 |
| | sd | 0.36 | 0.35 | 0.48 | 0.39 |
| Total (5x5) | n | 62 | 16 | 60 | 58 |
| | m | 8.54 | 8.65 | 7.69 | 7.53 |
| | sd | 0.33 | 0.46 | 0.41 | 0.40 |

Table 14: Taille d'échantillon (n), taille centroïde moyenne en millimètre (m) et deviation standard (sd) dans chaque catégorie de traitements: **couples** (lignées isofemelles, ou monoparentales) et **groupes** ou lignées multiparentales (Gp 5x5), ainsi que sur le total de chaque catégorie, chez les **femelles** de *R. pallescens* et *R. prolixus*

| Catégorie | Individus Mâles | | | | |
|--------------------|----------------------|------|--------------------|------|------|
| | <i>R. pallescens</i> | | <i>R. prolixus</i> | | |
| | Poule | Rat | Poule | Rat | |
| Couple 1 | n | 8 | 1 | 16 | 11 |
| | m | 8.16 | 8.12 | 7.56 | 7.27 |
| | sd | 0.18 | 0.09 | 0.10 | 0.21 |
| Couple 2 | n | 20 | 1 | 23 | 20 |
| | m | 8.12 | 8.25 | 7.68 | 7.63 |
| | sd | 0.22 | 0.01 | 0.15 | 0.19 |
| Couple 3 | n | 9 | 0 | 32 | 21 |
| | m | 8.09 | - | 7.41 | 7.32 |
| | sd | 0.32 | - | 0.29 | 0.22 |
| Couple 5 | n | 20 | 4 | 30 | 29 |
| | m | 7.64 | 8.04 | 7.32 | 7.20 |
| | sd | 0.37 | 0.35 | 0.22 | 0.20 |
| Couple 6 | n | 4 | 0 | 30 | 34 |
| | m | 8.54 | - | 7.62 | 7.32 |
| | sd | 0.18 | - | 0.20 | 0.19 |
| Total (couples) | n | 61 | 6 | 131 | 115 |
| | m | 7.93 | 8.09 | 7.50 | 7.34 |
| | sd | 0.37 | 0.30 | 0.25 | 0.24 |
| Gp1 (5x5) | n | 22 | 14 | 30 | 22 |
| | m | 7.91 | 8.03 | 6.90 | 7.05 |
| | sd | 0.29 | 0.32 | 0.24 | 0.29 |
| Gp2 (5x5) | n | 30 | 13 | 30 | 30 |
| | m | 7.82 | 7.92 | 7.13 | 6.72 |
| | sd | 0.32 | 0.27 | 0.30 | 0.29 |
| Total (5x5) 5x5 | n | 52 | 27 | 60 | 52 |
| | m | 7.86 | 7.96 | 7.01 | 6.86 |
| | sd | 0.31 | 0.31 | 0.29 | 0.33 |

Table 15: Taille d'échantillon (n), taille centroïde moyenne en millimètre (m) et deviation standard (sd) dans chaque catégorie de traitements: **couples** (lignées isofemelles, ou monoparentales) et **groupes** ou lignées multiparentales (Gp 5x5), ainsi que sur le total de chaque catégorie, chez les mâles de *R. pallescens* et *R. prolixus*

Temps de développement dans chaque espèce

R. prolixus s'est développé plus rapidement que *R. pallescens* quelle que soit la source d'alimentation. Les deux espèces ont eu un temps de développement plus court élevées sur la poule (Figure 36).

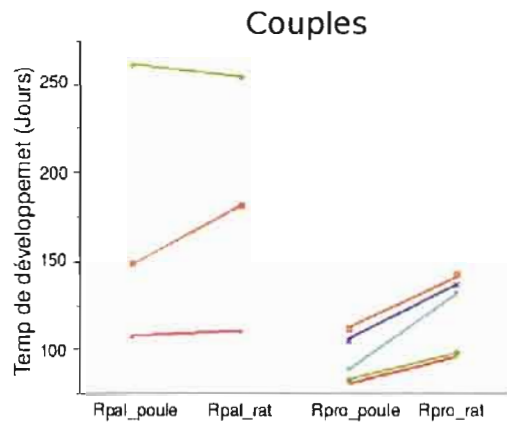


Figure 36: Descendances de **couples** (lignées isofemelles ou monoparentales). Norme de réaction du temps de développement chez *R. pallescens* (R. pal, à gauche) et chez *R. prolixus* (R. pro, à droite) en fonction de la source d'alimentation: sang de poule ou de rat. Couple 1 = Rouge, Couple 2 = Vert, Couple 3 = Bleu foncé, Couple 5 = Orange et Couple 6 = Bleu clair.

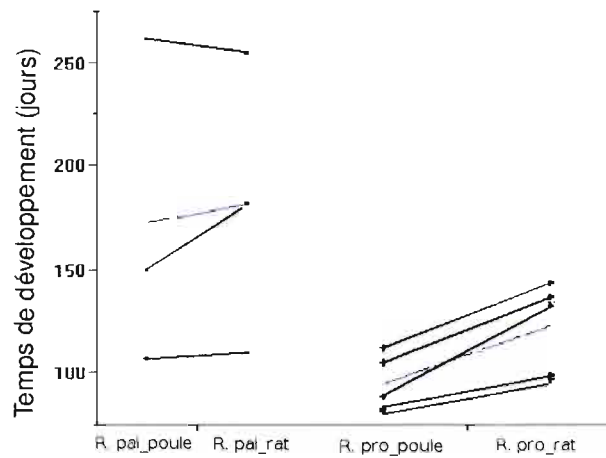


Figure 37: Même graphique que le précédent sur le temps de développement (Figure 36), sur lequel la moyenne des couples est indiquée (bleu). Il s'agit de la norme de réaction moyenne des **couples** (lignées isofemelles ou monoparentales) entre la poule et le rat dans les deux espèces: *R. pallescens* (R. pal, à gauche) et *R. prolixus* (R. pro, à droite).

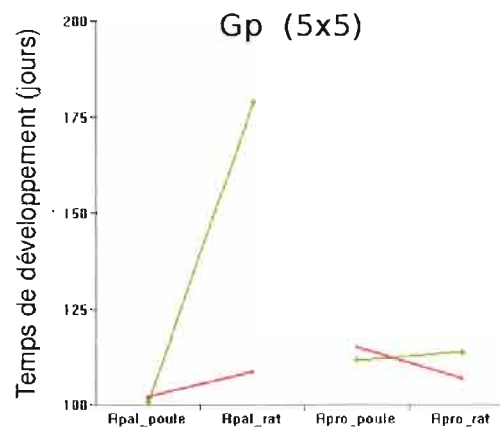


Figure 38: Descendances de **groupes** (lignées multiparentales). Norme de réaction du temps de développement chez *R. pallescens* (R. pal, à gauche) et chez *R. prolixus* (R. pro, à droite) en fonction de la source d'alimentation: sang de poule ou de rat. Groupe 1 = Rouge, Groupe 2 = Vert.

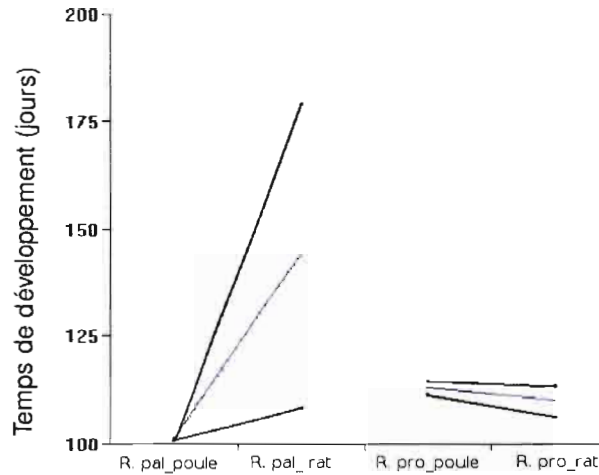


Figure 39: Même graphique que le précédent sur le temps de développement (Figure 37), sur lequel la **moyenne des groupes** est indiquée (bleu). Il s'agit de la norme de réaction moyenne des **groupes** (lignées multiparentales) entre la poule et le rat dans les deux espèces: *R. pallescens* (R. pal, à gauche) et *R. prolixus* (R. pro, à droite). En noir les différents groupes (5x5) et en bleu leur moyenne.

Plasticité phénotypique chez *Rhodnius prolixus*

Avant de comparer les deux espèces quant à leur plasticité morphologique, nous avons examiné cette plasticité à l'intérieur de chacune d'entre elles, c'est-à-dire d'un hôte à l'autre dans chaque lignée d'une espèce, puis entre les lignées de cette même espèce. Voici donc les analyses de la variation de la taille et de la conformation chez *R. prolixus*.

1. Comparaisons de la taille selon le milieu, chez *R. prolixus*

Dx, Dy

Pour rappel, Dx ou Dy désignent une différence de taille, de variance ou de conformation d'un milieu à l'autre, tandis que l'indice "x" ou "y" désigne la catégorie considérée: tel ou tel couple, groupe ou espèce (paragraphe 5.2).

Dans les deux sexes de *R. prolixus*, il y a une tendance générale à la réduction de la taille moyenne et à l'augmentation de la variance chez les couples alimentés sur le rat (Figures 40, 41 et 42).

Dx-Dy

Pour rappel, la différence Dx-Dy teste l'interaction entre le milieu et la catégorie "x" ou "y" (couple, groupe, espèce) (paragraphe 5.2.1).

La plasticité peut différer significativement entre couples (génotypes), comme il apparaît dans la colonne Dx-Dy des Tables 16 et 17, donc tant pour la moyenne des tailles (Table 16) que pour leur variance (Table 16).

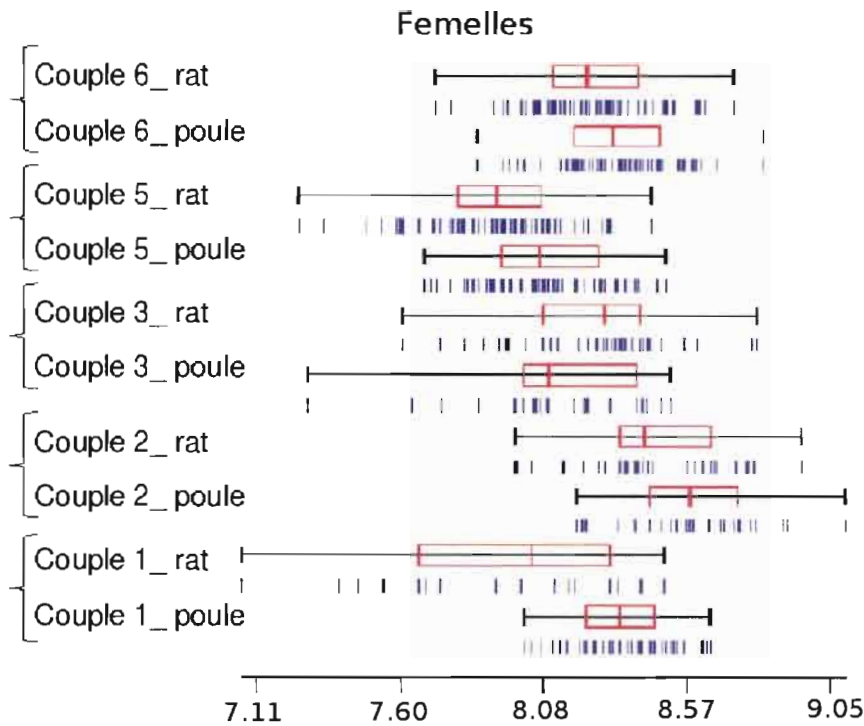


Figure 40: Norme de réaction des **femelles** des divers couples de *R. prolixus*. Chaque boîte montre la médiane de groupe séparant les quartiles 25 et 75, avec les quartiles 10 et 90 de chaque côté de la ligne traversant la boîte. Cette présentation graphique permet de visualiser les déplacements de moyennes et les changements apparents de variance de la taille. Un graphique plus dépouillé, mais n'informant que sur les moyennes, est aussi présenté. (Figure 42).

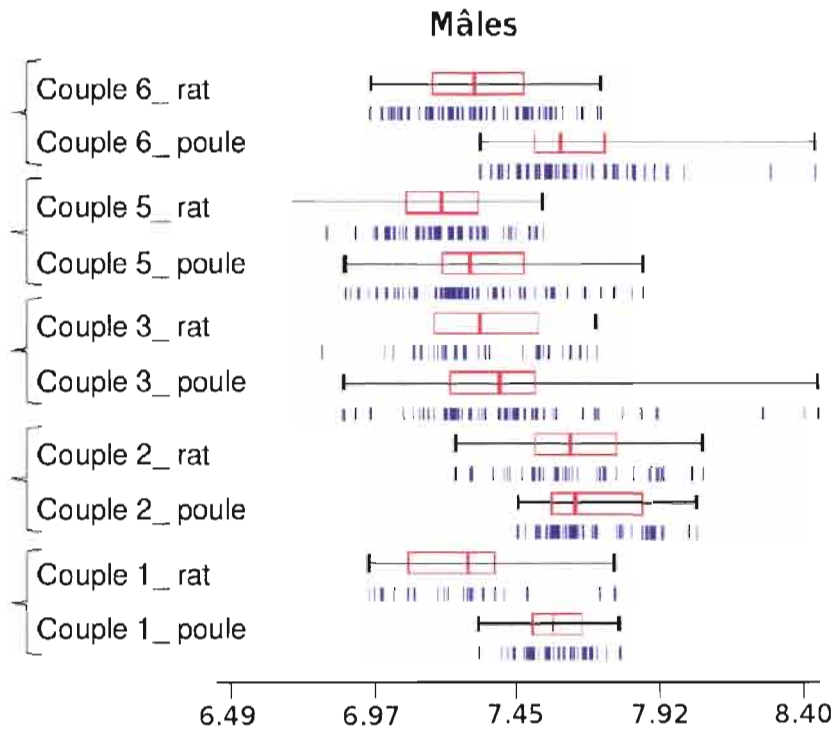


Figure 41: Norme de réaction des **mâles** des divers couples de *R. prolixus*. Chaque boîte montre la médiane de groupe séparant les quartiles 25 et 75, avec les quartiles 10 et 90 de chaque côté de la ligne traversant la boîte. Cette présentation graphique permet de visualiser les déplacements de moyennes et les changements apparents de variance de la taille. Un graphique plus classique, mais n'informant que sur les moyennes, est aussi présenté. (Figure 42).

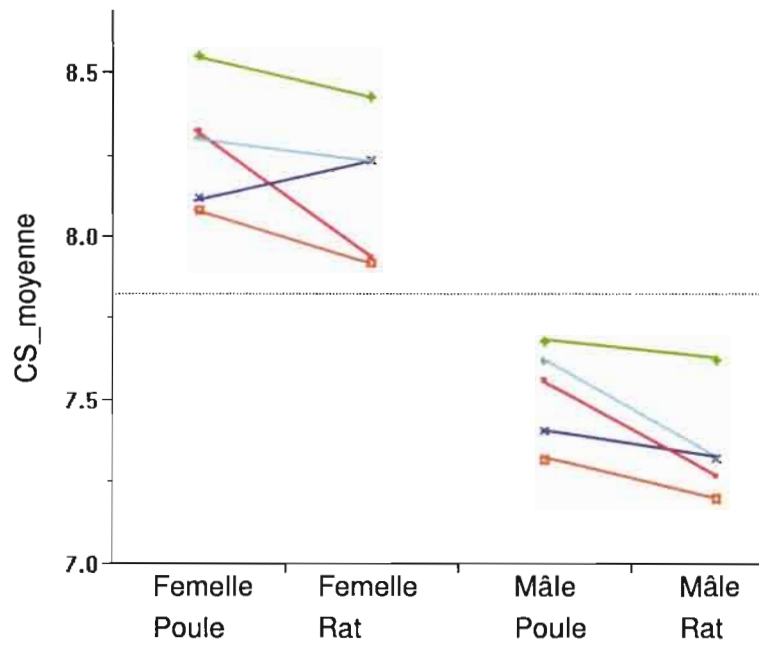


Figure 42: Norme de réaction de la taille des insectes descendant de couples monoparentaux de *R. prolixus*. Les femelles sont à gauche, les mâles à droite. Couple 1 = Rouge, Couple 2 = Vert, Couple 3 = Bleu foncé, Couple 5 = Orange et Couple 6 = Bleu clair.

| Changement de la taille moyenne des couples de <i>R. prolixus</i> | | | | | | |
|--|--------|--------------------------|--------|--------------------------|-------------------------------|-------|
| Sex | Couple | Dx (Poule-Rat) | Couple | Dy (Poule-Rat) | Dx-Dy (Interaction) | |
| F | 1 | 0.39* | 2 | 0.12 | 0.27* | |
| | 1 | 0.39* | 3 | -0.12 | 0.51* | |
| | 1 | 0.39* | 5 | 0.16* | 0.23* | |
| | 1 | 0.39* | 6 | 0.07 | 0.32* | |
| | 2 | 0.12 | 3 | -0.12 | 0.24* | |
| | 2 | 0.12 | 5 | 0.16* | -0.04 | |
| | 2 | 0.12 | 6 | 0.07 | 0.05 | |
| | 3 | -0.12 | 5 | 0.16* | -0.28* | |
| | 3 | -0.12 | 6 | 0.07 | -0.19* | |
| | 5 | 0.16* | 6 | 0.07 | 0.09 | |
| | M | 1 | 0.29* | 2 | 0.05 | 0.24* |
| | | 1 | 0.29* | 3 | 0.08 | 0.21* |
| 1 | | 0.29* | 5 | 0.12* | 0.17* | |
| 1 | | 0.29* | 6 | 0.30* | -0.01 | |
| 2 | | 0.05 | 3 | 0.08 | -0.03 | |
| 2 | | 0.05 | 5 | 0.12* | -0.07 | |
| 2 | | 0.05 | 6 | 0.30* | -0.25* | |
| 3 | | 0.08 | 5 | 0.12* | -0.04 | |
| 3 | | 0.08 | 6 | 0.30* | -0.22* | |
| 5 | | 0.12* | 6 | 0.30* | -0.18* | |

Table 16: **Dx**, **Dy** et **Dx-Dy**, tests non-parametriques sur les variations de tailles moyennes. **Dx** et **Dy** = différences de moyennes entre l'alimentation sur la poule et le rat dans un couple (**x** ou **y**) de *R. prolixus*; **Dx-Dy** = interaction entre couple (**x/y**) et alimentation (rat/poule). F = femelles; M = mâles; * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05)

| Changement de variance des tailles des couples de <i>R. prolixus</i> | | | | | |
|---|--------|-------------------|--------|-------------------|----------------------|
| Sex | Couple | Dx (Poule-Rat) | Couple | Dy (Poule-Rat) | Dx-Dy Interaction |
| F | 1 | -0.12* | 2 | -0.004 | -0.12* |
| | 1 | -0.12* | 3 | 0.01 | -0.13* |
| | 1 | -0.12* | 5 | -0.01 | -0.11* |
| | 1 | -0.12* | 6 | -0.002 | -0.12* |
| | 2 | -0.004 | 3 | 0.01 | -0.01 |
| | 2 | -0.004 | 5 | -0.01 | 0.006 |
| | 2 | -0.004 | 6 | -0.002 | -0.002 |
| | 3 | 0.01 | 5 | -0.01 | 0.02 |
| | 3 | 0.01 | 6 | -0.002 | 0.01 |
| | 5 | -0.01 | 6 | -0.002 | -0.008 |
| M | 1 | -0.03* | 2 | -0.01 | -0.02 |
| | 1 | -0.03* | 3 | 0.03 | -0.06* |
| | 1 | -0.03* | 5 | 0.01 | -0.04* |
| | 1 | -0.03* | 6 | 0.00 | -0.03* |
| | 2 | -0.01 | 3 | 0.03 | -0.04 |
| | 2 | -0.01 | 5 | 0.01 | -0.02 |
| | 2 | -0.01 | 6 | 0.00 | -0.01 |
| | 3 | 0.03 | 5 | 0.01 | 0.02 |
| | 3 | 0.03 | 6 | 0.00 | 0.03 |
| | 5 | 0.01 | 6 | 0.00 | 0.01 |

Table 17: **Dx**, **Dy** et **Dx-Dy**, tests non-parametriques sur les changements de **variances** de tailles. **Dx** et **Dy** = différences de moyennes entre l'alimentation sur la poule et le rat dans un couple (**x** ou **y**) de *R. prolixus*; **Dx-Dy** = interaction entre couple (**x/y**) et alimentation (rat/poule). F = femelles; M = mâles; * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05)

2. Changements de la conformation selon le milieu chez *R. prolixus*

Superpositions de Procrustes

Visualisation de la superposition "procrustéenne" des deux envi-

ronnements, poule et rat. La conformation moyenne de l'aile dans un environnement est superposée à celle de l'autre environnement. Cette superposition est montrée dans chaque couple, pour chaque sexe.

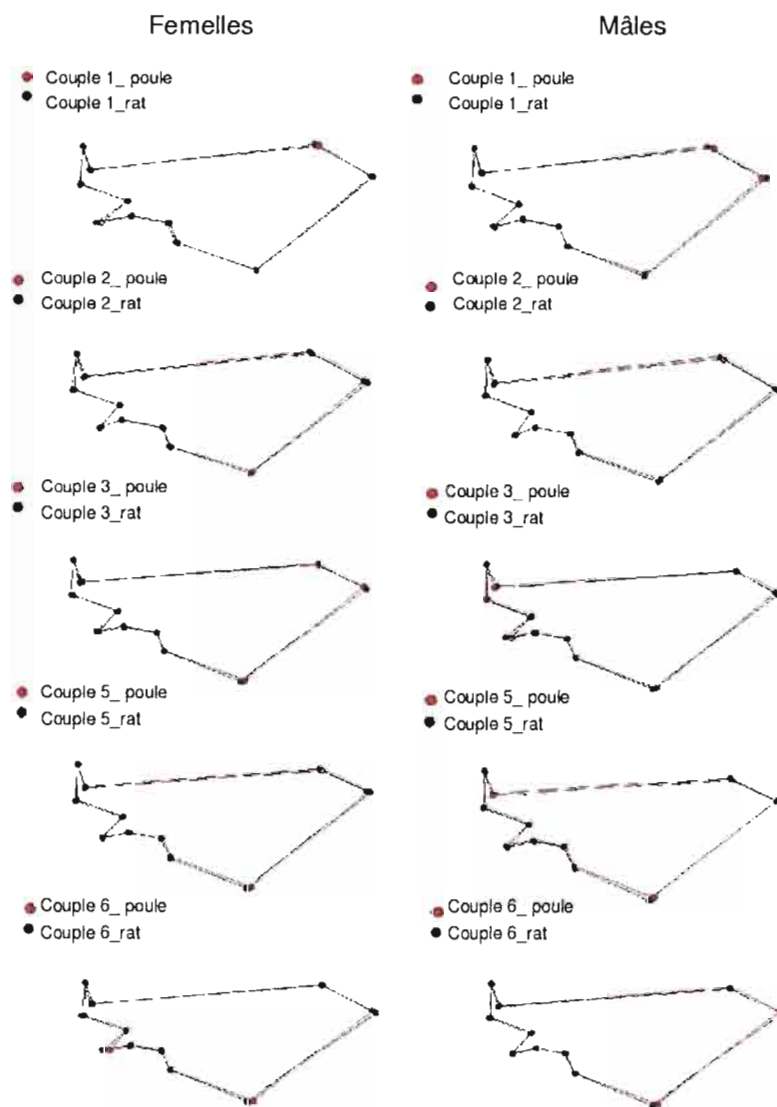


Figure 43: Superpositions de Procrustes chez *R. prolixus*. Visualisation (sans amplification) des changements de conformation de l'aile (11 points repères) entre deux environnements (poule -rat) à l'intérieur de chaque couple, dans les deux sexes.

Disparité métrique

Les mâles des couples 3 et 5 ont montré une modification de leur disparité métrique (DM). Il s'agit de changements contraires, une augmentation de la DM dans un couple, une diminution dans l'autre (Table 18).

| Disparité métrique chez <i>R. prolixus</i> | | | | |
|--|--------|---------|---------|--------|
| Sex | Couple | Poule | Rat | P |
| Femelle | c_1 | 0.00131 | 0.00184 | 0.057 |
| | c_2 | 0.00077 | 0.00091 | 0.2 |
| | c_3 | 0.00145 | 0.00146 | 0.038 |
| | c_5 | 0.00126 | 0.00121 | 0.354 |
| | c_6 | 0.00094 | 0.00090 | 0.377 |
| Mâle | c_1 | 0.00114 | 0.00130 | 0.244 |
| | c_2 | 0.00112 | 0.00103 | 0.325 |
| | c_3 | 0.00096 | 0.00146 | 0.001* |
| | c_5 | 0.00166 | 0.00123 | 0.013* |
| | c_6 | 0.00117 | 0.00129 | 0.174 |

Table 18: Disparité métrique (diversité des formes) entre différentes sources d'alimentation pour cinq couples de *R. prolixus*. P; signification statistique de la comparaison entre milieux (poule, rat). Il n'y a pas ici de comparaisons entre les lignées. * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05). Les valeurs semblent relativement moins stables chez les mâles

Conformation: Dx, Dy

Pour rappel de la signification de Dx, Dy et de Dx-Dy, en ce qui concerne la conformation, se référer au paragraphe 5.2.2, ou à la Figure 16.

La conformation a été définie par les 7 ou 9 premiers RW (composantes principales des PW) selon les comparaisons chez les mâles, et les 9 premiers RW chez les femelles. Le choix de ces nombres de composantes principales est basé sur le critère de classification (validée) après analyses discriminantes (paragraphe 1.4.5) (Baylac & Friessß, 2005).

Analyse taille incluse

La conformation reste relativement stable chez *R. prolixus* entre deux types d'alimentation, et cela dans les deux sexes. Un couple sur cinq montre cependant un changement conformationnel significatif (le couple 6 chez les femelles) (voir la colonne **Dy** de la Table 19).

Analyse taille exclue

Après la vérification d'un modèle allométrique commun, la taille a été fixée à une valeur unique. Il n'y a alors plus de variation de taille, et les différences observées sont des différences de conformation sans effets allométriques (paragraphe 5.3.4). Le couple 6 chez les femelles continue de montrer des variations de la conformation significatives entre deux milieux. (voir le colonne **Dy** de la Table 20).

Conformation: Dx-Dy

Analyse taille incluse

L'ampleur des changements de conformation d'un milieu à l'autre ne diffère pas entre couples, mais il y a des différences dans la direction des changements (voir les colonnes **Dx-Dy** et **A** de la Table 19).

Analyse taille exclue

Après vérification d'un modèle allométrique commun, et puis fixation de la taille à une valeur unique, l'ampleur des changements de conformation sans effet allométrique diffère entre les couple 3 et 6, et entre les couples 5 et 6 chez les femelles (voir la colonne **Dx -Dy** de la Table 20).

| <i>R. prolixus</i> femelles: changement de la conformation de l'aile | | | | | | | | | | |
|--|---|------|------|---|------|-------|-------|------|----|-------|
| M | C | Dx | P | C | Dy | P | Dx-Dy | P | A | P |
| 0.00* | 1 | 0.02 | 0.08 | 2 | 0.02 | 0.59 | 0.00 | 0.45 | 65 | 0.03 |
| 0.00* | 1 | 0.02 | 0.15 | 3 | 0.02 | 0.63 | 0.00 | 0.44 | 66 | 0.09 |
| 0.00* | 1 | 0.02 | 0.21 | 5 | 0.02 | 0.10 | 0.00 | 0.64 | 76 | 0.00* |
| 0.00* | 1 | 0.02 | 0.48 | 6 | 0.03 | 0.30 | -0.01 | 0.42 | 48 | 0.01 |
| 0.26 | 2 | 0.02 | 0.50 | 3 | 0.02 | 0.67 | 0.00 | 0.95 | 37 | 0.24 |
| 0.06 | 2 | 0.02 | 0.74 | 5 | 0.02 | 0.35 | 0.00 | 0.55 | 35 | 0.10 |
| 0.00* | 2 | 0.02 | 0.96 | 6 | 0.03 | 0.03 | -0.01 | 0.01 | 48 | 0.00* |
| 0.00* | 3 | 0.02 | 0.68 | 5 | 0.02 | 0.26 | 0.00 | 0.39 | 52 | 0.06 |
| 0.01 | 3 | 0.02 | 0.99 | 6 | 0.03 | 0.05 | -0.01 | 0.02 | 28 | 0.08 |
| 0.00* | 5 | 0.02 | 0.72 | 6 | 0.03 | 0.00* | -0.01 | 0.01 | 56 | 0.00* |
| <i>R. prolixus</i> mâles: changement de la conformation de l'aile | | | | | | | | | | |
| M | C | Dx | P | C | Dy | P | Dx-Dy | P | A | P |
| 0.07 | 1 | 0.03 | 0.44 | 2 | 0.02 | 0.59 | 0.01 | 0.40 | 36 | 0.25 |
| 0.00* | 1 | 0.03 | 0.10 | 3 | 0.02 | 0.11 | 0.01 | 0.61 | 76 | 0.00* |
| 0.00* | 1 | 0.03 | 0.20 | 5 | 0.02 | 0.50 | 0.01 | 0.21 | 62 | 0.02 |
| 0.00* | 1 | 0.03 | 0.07 | 6 | 0.02 | 0.49 | 0.01 | 0.16 | 55 | 0.00* |
| 0.00* | 2 | 0.02 | 0.53 | 3 | 0.02 | 0.15 | 0.00 | 0.45 | 50 | 0.00* |
| 0.00* | 2 | 0.02 | 0.15 | 5 | 0.02 | 0.48 | 0.00 | 0.48 | 54 | 0.01 |
| 0.00* | 2 | 0.02 | 0.46 | 6 | 0.02 | 0.39 | 0.00 | 0.85 | 43 | 0.05 |
| 0.00* | 3 | 0.02 | 0.01 | 5 | 0.02 | 0.25 | 0.00 | 0.12 | 78 | 0.00* |
| 0.00* | 3 | 0.02 | 0.06 | 6 | 0.02 | 0.40 | 0.00 | 0.22 | 58 | 0.00* |
| 0.00* | 5 | 0.02 | 0.48 | 6 | 0.02 | 0.42 | 0.00 | 0.53 | 42 | 0.08 |

Table 19: Conformation de l'aile. MANOVA (M) et distances euclidiennes (Dx ou Dy) entre sources d'alimentation poule ou rat pour cinq couples (C) de *R. prolixus*. Dx-Dy = Interaction entre couples et hôtes. Comparaison des changements de conformation (Dx, Dy) entre couples mesuré par Dx-Dy, et par A, l'angle de Collyer & Adams; P, valeur de signification statistique. * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05). Cette analyse a été faite sans fixer la taille.

| <i>R. prolixus</i> femelles: conformation sans effets allométriques | | | | | | | | | | | |
|---|---|------|------|----|------|-------|---------|-------|----|-------|--|
| M | C | Dx | P | C | Dy | P | Dx-Dy | P | A | P | |
| 0.00 | 1 | 0.03 | 0.06 | 2 | 0.02 | 0.6 | 0.0112 | 0.07 | 63 | 0.01 | |
| 0.00 | 1 | 0.03 | 0.13 | 3 | 0.02 | 0.6 | 0.0085 | 0.21 | 64 | 0.05 | |
| 0.00 | 1 | 0.03 | 0.01 | 5 | 0.02 | 0.4 | 0.0111 | 0.02 | 78 | 0.00* | |
| 0.00 | 1 | 0.03 | 0.45 | 6 | 0.02 | 0.4 | 0.0111 | 0.96 | 44 | 0.00* | |
| 0.00 | 3 | 0.02 | 0.79 | C5 | 0.02 | 0.5 | -0.0022 | 0.49 | 38 | 0.13 | |
| 0.01 | 3 | 0.02 | 0.99 | C6 | 0.03 | 0.04* | -0.0108 | 0.00* | 30 | 0.05 | |
| 0.00 | 5 | 0.02 | 0.92 | C6 | 0.03 | 0.00* | -0.0102 | 0.00* | 58 | 0.00* | |
| <i>R. prolixus</i> mâles: conformation sans effets allométriques | | | | | | | | | | | |
| M | C | Dx | P | C | Dy | P | Dx-Dy | P | A | P | |
| 0.12 | 1 | 0.02 | 0.48 | 2 | 0.02 | 0.6 | 0.0015 | 0.73 | 30 | 0.29 | |
| 0.00 | 1 | 0.02 | 0.22 | 3 | 0.02 | 0.1 | 0.0006 | 0.87 | 76 | 0.00* | |
| 0.00 | 2 | 0.02 | 0.55 | 3 | 0.02 | 0.1 | -0.0033 | 0.40 | 51 | 0.00* | |
| 0.00 | 2 | 0.02 | 0.44 | 6 | 0.02 | 0.4 | 0.0005 | 0.87 | 43 | 0.05 | |
| 0.00 | 3 | 0.02 | 0.05 | 6 | 0.02 | 0.6 | 0.0044 | 0.19 | 55 | 0.00* | |

Table 20: Conformation de l'aile libre d'allométrie. MANOVA (M) et distances euclidiennes (Dx ou Dy) entre sources d'alimentation poule ou rat pour cinq couples (C) de *R. prolixus*. Dx-Dy = Interaction entre couples et hôtes. Comparaison des changements de conformation (Dx, Dy) entre couples mesuré par **Dx-Dy**, et par **A**, l'angle de Collyer & Adams; P, valeur de signification statistique. * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05). L'analyse a été faite en excluant la variation de taille après vérification d'un modèle allométrique commun entre couples.

Plasticité phénotypique chez *Rhodnius pallescens*

1. Comparaisons de la taille selon le milieu, chez *R. pallescens*

Taille: Dx

Chez *R. pallescens* alimenté sur le rat, la taille moyenne tend à augmenter dans les deux sexes. La variance a diminué sur le rat chez les femelles. (Figures 44, et 45). Ces résultats ont été significatifs pour le couple 5, le seul avec une taille d'échantillon admettant une tentative d'examen statistique non paramétrique (voir colonne Dx de la Table 22). Il est risqué de parler de changements significatifs car les échantillons sont très bas, il y a trois femelles et quatre mâles, mais ils sont les seuls à notre disposition, et nous ferons ici le pari d'un changement significatif, afin de permettre des premières comparaisons avec l'autre espèce, *R. prolixus*

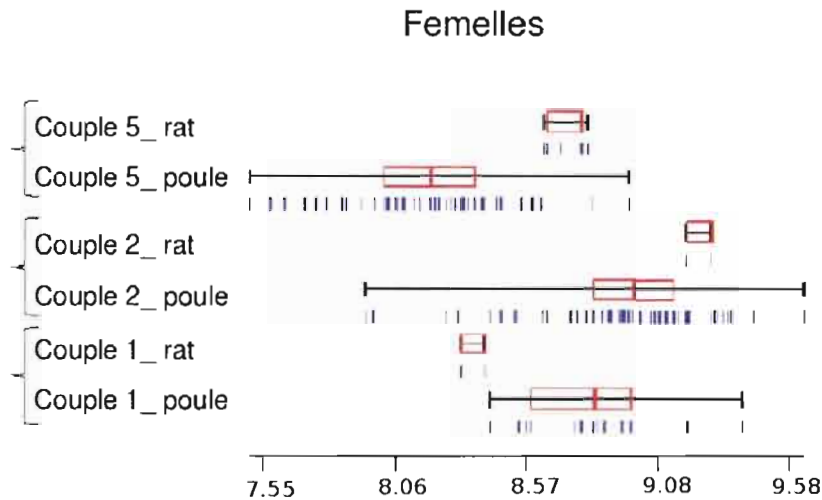


Figure 44: Descendants des trois couples de *R. pallescens* ayant produit des adultes. Dispersion des valeurs de tailles des ailes autour de la médiane. Le couple 1 et le couple 2 n'ont produit qu'une seule femelle.

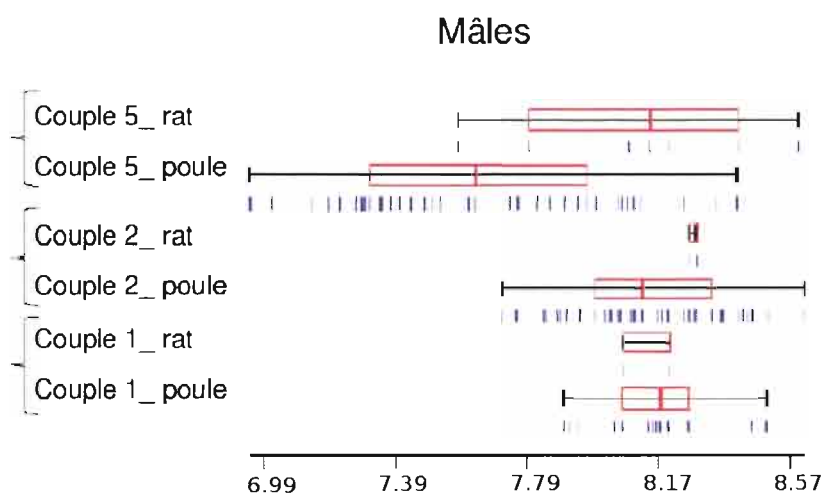


Figure 45: Descendants des trois couples de *R. palleescens* ayant produit des adultes. Dispersion des valeurs de tailles des ailes autour de la médiane. Le couple 1 et le couple 2 n'ont produit qu'un seul mâle.

2. Comparaisons de la conformation selon le milieu, chez *R. palleescens*

Etant donné les faibles effectifs en jeu, nous n'avons pas appliqué de MAN(C)OVA, exigeante en termes d'échantillons dans chaque groupe, mais une simple ACP sur la variance totale. En outre, nous montrons les images des superpositions "procrustéennes" entre les ailes des individus élevés sur la poule et sur le rat.

Analyse en composantes principales

L'analyse en composantes principales est faite sur la variance totale de l'échantillon, à partir des variables de conformation. Tous les individus sont frères et sœurs issus d'un même père et d'une même mère. On voit cependant que les ressemblances sont accentuées entre les individus ayant partagé le même hôte pendant la vie pré-imaginale (Figure 46).

- R. pal_ Femelle_poule ● R. pal_ Mâle_poule
- R. pal_ Femelle_rat ● R. pal_ Mâle_rat

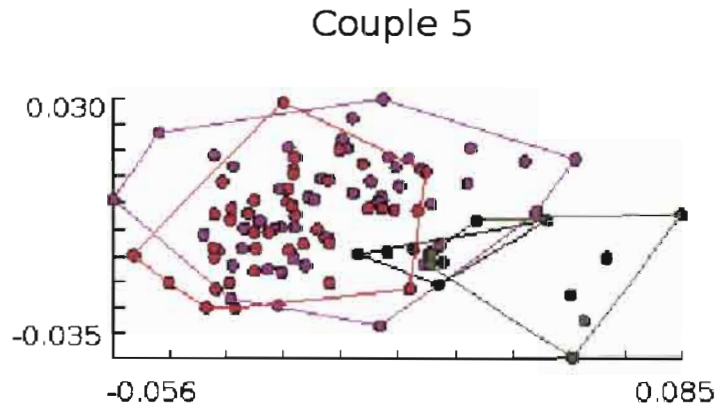


Figure 46: Carte factorielle des deux premières composantes principales (soit 67% de la variance totale de l'échantillon), à partir des variables de conformation ("PW"). La première composante ("RW") est l'abscisse, la seconde l'ordonnée. Les points sont les ailes des descendants mâles et femelles du couple 5 de *R. pallescens* (Rpal), alimentés sur la poule ou le rat. On voit que **les ressemblances sont accentuées entre les individus ayant partagé le même hôte pendant la vie larvaire.**

Superpositions de Procrustes

Visualisation de la superposition "procrustéenne" des ailes dans les deux environnements, poule et rat. La conformation moyenne de l'aile dans un environnement est superposée à celle de l'autre environnement. Cette superposition est montrée pour les deux sexes du couple 5 de *R. pallescens* (Figure 47).

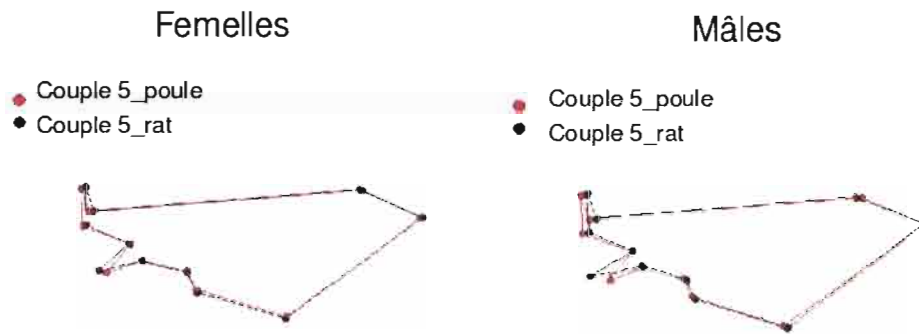


Figure 47: Superpositions de Procrustes chez *R. pallescens*. Visualisation (sans amplification) des changements de conformation entre deux environnements (poule -rat) à l'intérieur du couple 5, dans les deux sexes. .

Disparité métrique

La disparité métrique des femelles du couple 5 de *R. pallescens* nourries sur le rat fut significativement moindre que celle développée sur la poule. Tendance inverse, quoique non significative, chez les mâles (Table 21).

| Sex | Espèce | couple | Disparité métrique | | |
|----------|----------------------|--------|--------------------|---------|--------|
| | | | Poule | Rat | P |
| Femelles | <i>R. pallescens</i> | c_5 | 0.00117 | 0.00066 | 0.000* |
| Mâles | <i>R. pallescens</i> | c_5 | 0.00081 | 0.00103 | 0.079 |

Table 21: *R. pallescens*: disparité métrique (DM), soit la diversité des formes alaires, dans le couple 5 (c_5) alimenté sur la poule ou sur le rat; P, signification statistique de la comparaison des DM entre les deux conditions. * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05).

Comparaisons interspécifiques basées sur les couples

Pour toutes les comparaisons entre espèces, nous n'utiliserons que le couple 5 de *R. pallescens*, nous le comparerons successivement aux cinq couples disponibles de *R. prolixus*. Etant donné les effectifs insuffisants du côté de *pallescens* (nourri sur le rat), nous ne réaliserons pas toutes les analyses statistiques disponibles, et nous nous limiterons à des tests non paramétriques. Il est entendu que même significatifs, les résultats sont obtenus sur des échantillons probablement peu représentatifs.

1. Taille: Dx, Dy, Dx-Dy

Couples étudiés séparément

La différence des tailles moyennes entre les insectes alimentés sur la poule et ceux alimentés sur le rat est toujours plus importante chez *R. pallescens* (couple 5), quel que soit le couple de *R. prolixus* comparé (Table 22 et Figure 48).

| Variation de la taille moyenne | | | | | |
|--------------------------------|-----------|----------------------------|-----------|--------------------------|----------------------|
| Sex | Catégorie | <i>R. pallescens</i> Dx | Catégorie | <i>R. prolixus</i> Dy | Interaction Dx-Dy |
| F | Couple5 | -0.52* | Couple1 | 0.39* | -0.91* |
| | Couple5 | -0.52* | Couple2 | 0.12 | -0.64* |
| | Couple5 | -0.52* | Couple3 | -0.12 | -0.4* |
| | Couple5 | -0.52* | Couple5 | 0.16* | -0.68* |
| | Couple5 | -0.52* | Couple6 | 0.07 | -0.59* |
| M | Couple5 | -0.39* | Couple1 | 0.29* | -0.68* |
| | Couple5 | -0.39* | Couple2 | 0.05 | -0.44* |
| | Couple5 | -0.39* | Couple3 | 0.08 | -0.47* |
| | Couple5 | -0.39* | Couple5 | 0.12* | -0.51* |
| | Couple5 | -0.39* | Couple6 | 0.29* | -0.68* |

| Modification de la variance de la taille | | | | | |
|--|-----------|----------------------------|-----------|--------------------------|----------------------|
| Sex | Catégorie | <i>R. pallescens</i> Dx | Catégorie | <i>R. prolixus</i> Dy | Interaction Dx-Dy |
| F | Couple5 | 0.09* | Couple1 | -0.12* | 0.21* |
| | Couple5 | 0.09* | Couple2 | 0.00 | 0.09* |
| | Couple5 | 0.09* | Couple3 | 0.01 | 0.08* |
| | Couple5 | 0.09* | Couple5 | -0.01 | 0.10* |
| | Couple5 | 0.09* | Couple6 | 0.00 | 0.09* |
| M | Couple5 | 0.01 | Couple1 | -0.03* | 0.04 |
| | Couple5 | 0.01 | Couple2 | -0.01 | 0.02 |
| | Couple5 | 0.01 | Couple3 | 0.03 | -0.02 |
| | Couple5 | 0.01 | Couple5 | 0.01 | 0.00 |
| | Couple5 | 0.01 | Couple6 | 0.01 | 0.00 |

Table 22: Test non parametrique de la taille (moyenne et variance). Dx ou Dy = différence de moyennes ou variances entre les insectes alimentés sur la poule et ceux alimentés sur le rat, chez *R. pallescens* (Dx) et chez *R. prolixus* (Dy); Dx-Dy est un test non-parametrique de l'interaction entre espèce et source de sang; F = femelle; M = mâle; * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05)

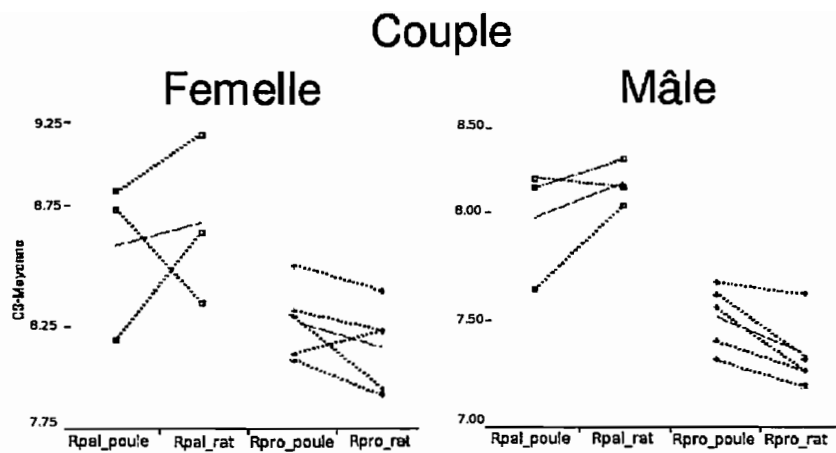


Figure 48: Normes de réaction de la taille parmi les couples de *R. pallescens* (R. pal) et de *R. prolixus* (R. pro), selon la source de sang (poule ou rat). En noir, la réponse de chaque couple, en bleu la réponse moyenne.

La dispersion des tailles chez *R. pallescens* entre les deux alimentations est toujours plus importante que celle de chacun des couples de *R. prolixus*, même si ces derniers présentent des échantillons beaucoup plus nombreux (Table 22 et Figure 48).

Couples étudiés ensemble

La réponse moyenne des couples étudiés séparément a été testée comme telle par l'analyse non-paramétrique des tailles (Table 23). On y voit que les deux espèces réagissent différemment tant pour les moyennes que pour les variances, et que les résultats significatifs s'observent chez *R. prolixus* uniquement. Ce dernier point pourrait s'expliquer par le manque de puissance statistique en raison des faibles effectifs chez *R. pallescens* nourri sur le rat.

| Sex | C125 (Rpal) | C12356 (Rpro) | Dx-Dy |
|-----------------------|-------------|---------------|--------|
| Moyenne de la Taille | | | |
| | Dx | Dy | Dx-Dy |
| F | -0.12 | 0.11* | -0.23* |
| M | -0.15 | 0.17* | -0.32* |
| Variance de la Taille | | | |
| | Dx | Dy | Dx-Dy |
| F | 0.13 | -0.03* | -0.10* |
| M | 0.05 | 0.01 | 0.04 |

Table 23: Comparaisons de la “plasticité moyenne” de la taille centroïde entre deux espèces, *R. pallescens* (Rpal) et *R. prolixus* (Rpro). Chaque espèce est ici représentée par les descendants de l’ensemble des couples : 1, 2 et 5 chez *R. pallescens* (C125) et 1, 2, 3, 5, et 6 chez *R. prolixus* (C12356). Dx = Poule - Rat chez *R. pallescens*, c’est-à-dire la différence de taille moyenne entre les insectes élevés sur la poule et ceux élevés sur le rat; Dy = Poule - Rat chez *R. prolixus*. Dx-Dy, mesure de l’interaction espèce et milieu (source de sang). F, femelles; M, mâles. * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05). On voit que **les deux espèces réagissent différemment** tant pour les moyennes que pour les variances, et que les **résultats significatifs s’observent chez *R. prolixus* uniquement**

2. Conformation

Les couples monoparentaux de *pallescens* ont produit des effectifs adultes très faibles quand les larves ont été alimentées sur le rat. Ces effectifs ne permettent pas de tester la signification statistique des changements de conformation entre deux milieux par l’approche de Collyer & Adams (2007). On se trouve dans la situation où il y a plus de variables que d’individus, et les analyses basées sur les matrices de variance-covariance deviennent sujettes à caution.

Analyse en composantes principales

Aux fins de visualiser de possibles divergences de formes entre milieux, nous pouvons cependant réaliser une analyse en composantes principales sur les variables de conformation. En effet, dans une telle analyse, c’est la matrice totale de variances-covariances qui est utilisée, c’est l’échantillon total qui est concerné et non ses possibles subdivisions. Nous présentons donc la carte factorielle des deux premières

composantes principales des variables de conformation : ces deux composantes ou “relative warps (RW)” représentent 58% de la variation totale entre les individus mâles des couples 5 (*R. pallescens*) et 6 (*R. prolixus*) (Figure 49).

Cette carte factorielle suggère une **divergence de conformation des ailes chez *R. pallescens*** entre les deux types d'alimentation **plus importante que chez *R. prolixus***.

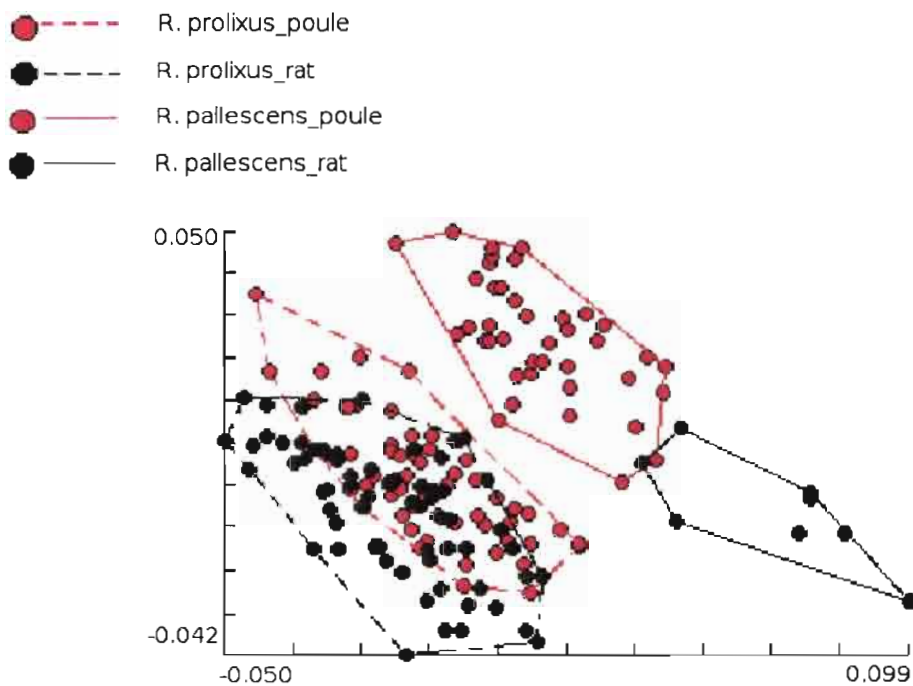


Figure 49: Carte factorielle d'une analyse en composantes principales (ACP) des “partial warps” (PW) chez les mâles du couple 5 de *R. pallescens* et du couple 6 de *R. prolixus*. Les deux composantes ou “relative warps” (RW1 en abscisse, RW2 en ordonnée) représentent 58% de la variation totale.

Superpositions de Procrustes

Nous nous contenterons par ailleurs de montrer l'aspect des configurations de PR au terme de la superposition de Procrustes, c'est-à-dire sur la base des coordonnées résiduelles après élimination de la

variation artéfactuelle (position de l'aile dans l'espace, son orientation) et ajustement à une taille unitaire. Dix comparaisons visuelles sont ainsi disponibles, chacune incluant la descendance du couple 5 de *R. pallescens* et un couple différent de *R. prolixus*. Il y a cinq comparaisons entre femelles (Figures 50, 51, 52, 53, 54) et cinq comparaisons entre mâles (Figures 55, 56, 57, 58).

Dans chaque comparaison, il apparaît que la superposition des ailes est moins satisfaisante chez *R. pallescens* que chez *R. prolixus*. Qui plus est, les régions de l'aile mal superposées dans chaque espèce sont à peu près constantes, suggérant une modification systématique de l'aile en fonction de l'alimentation des larves.

Femelles

R. pallescens couple 5

● poule
● rat



R. prolixus couple 1

● poule
● rat



Figure 50: Visualisation (sans amplification) des changements de conformation entre deux environnements (poule -rat) chez les femelles du couple 5 de *R. pallescens* et du couple 1 de *R. prolixus*.

Femelles

R. pallescens couple 5

R. prolixus couple 2

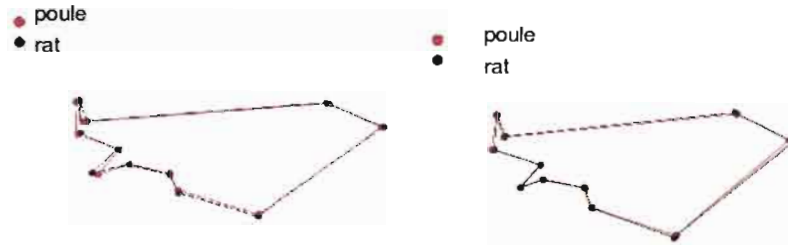


Figure 51: Visualisation (sans amplification) des changements de conformation entre deux environnements (poule -rat) chez les femelles du couple 5 de *R. pallescens* et du couple 2 de *R. prolixus*.

Femelles

R. pallescens couple 5

R. prolixus couple 3

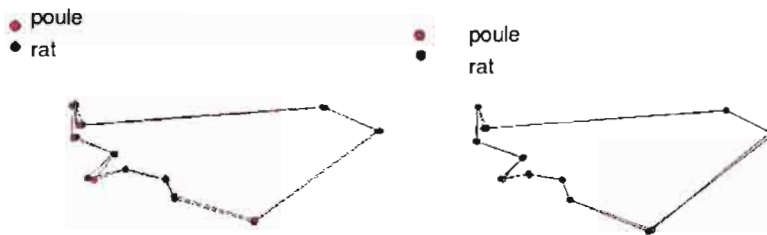


Figure 52: Visualisation (sans amplification) des changements de conformation entre deux environnements (poule -rat) chez les femelles du couple 5 de *R. pallescens* et du couple 3 de *R. prolixus*.

Femelles

R. pallescens couple 5

R. prolixus couple 5

● poule
● rat

● poule
● rat



Figure 53: Visualisation (sans amplification) des changements de conformation entre deux environnements (poule -rat) chez les femelles du couple 5 de *R. pallescens* et du couple 5 de *R. prolixus*.

Femelles

R. pallescens couple 5

R. prolixus couple 6

● poule
● rat

● poule
● rat



Figure 54: Visualisation (sans amplification) des changements de conformation entre deux environnements (poule -rat) pour les femelles du couple 5 de *R. pallescens* et du couple 6 de *R. prolixus*.

Mâles

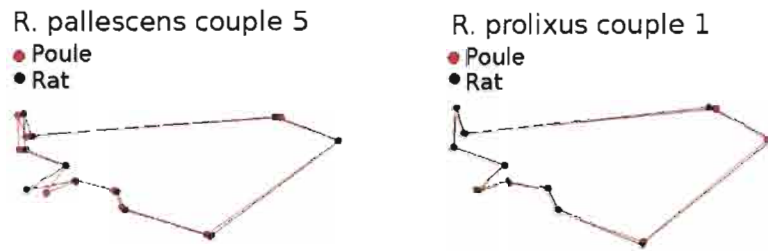


Figure 55: Visualisation (sans amplification) des changements de conformation entre deux environnements (poule -rat) pour les mâles du couple 5 de *R. pallescens* et du couple 1 de *R. prolixus*.

Mâles

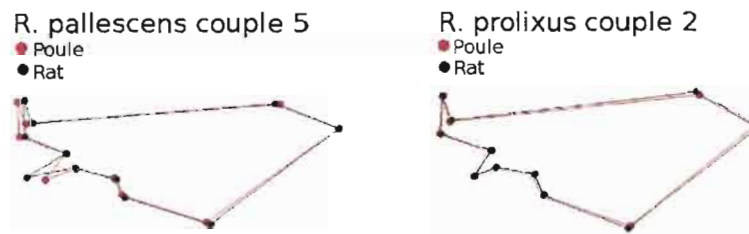


Figure 56: Visualisation (sans amplification) des changements de conformation entre deux environnements (poule -rat) pour les mâles du couple 5 de *R. pallescens* et du couple 2 de *R. prolixus*.

Mâles

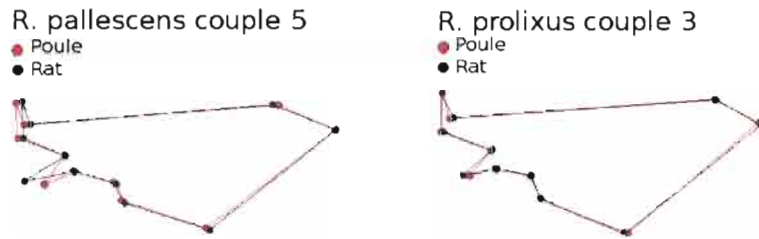


Figure 57: Visualisation (sans amplification) des changements de conformation entre deux environnements (poule -rat) pour les mâles du couple 5 de *R. pallescens* et du couple 3 de *R. prolifixus*.

Mâles

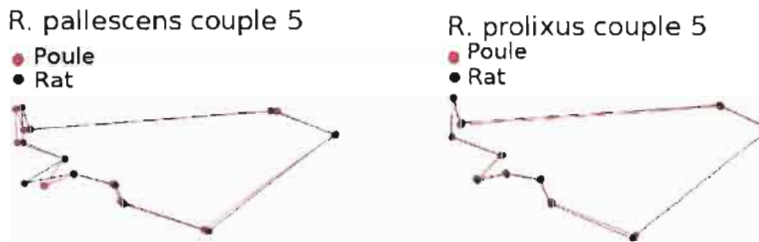


Figure 58: Visualisation (sans amplification) des changements de conformation entre deux environnements (poule -rat) pour les mâles du couple 5 de *R. pallescens* et du couple 5 de *R. prolifixus*.

Mâles

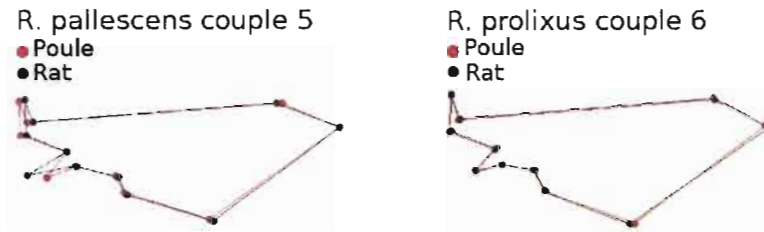


Figure 59: Visualisation (sans amplification) des changements de conformation entre deux environnements (poule -rat) pour les mâles du couple 5 de *R. pallescens* et du couple 6 de *R. prolixus*.

Couples, groupes, moyennes

Dans notre protocole expérimental, en tentant de contourner de possibles effets artéfactuels sur la plasticité phénotypique, nous avons créés des conditions moins éloignées de la réalité du terrain en comparant des générations issues d'un groupe de géniteurs, plutôt que d'un couple monoparental.

“Couple” signifie donc “lignée isofemelle” ou “monoparentale”, et “groupe” se réfère à une “lignée multiparentale”

Nous comparons ici les réponses moyennes entre les deux protocoles: la réponse plastique **moyenne** des couples et celle des groupes.

1. Taille, comparaison d'une plasticité “moyenne” entre lignées monoparentales et multiparentales

Visuellement, et en ce qui concerne la taille, les normes de réaction moyennes des lignées isofemelles (Figure 60 et 62) et des lignées de groupes montrent assez fidèlement les mêmes tendances (Figure 61 et 63). Il faut toutefois faire la moyenne des lignées de groupes pour trouver cet accord: les groupes séparément ne reproduisent pas bien les moyennes des lignées isofemelles.

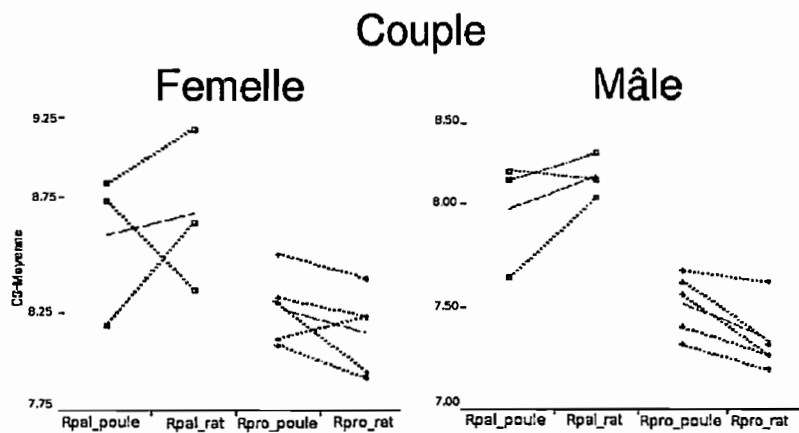


Figure 60: Tailles. A titre de comparaison avec les moyennes des groupes, on voit ici les moyennes des lignées isofemelles (voir aussi la figure 48). Normes de réaction de la taille parmi les couples de *R. pallescens* (R. pal) et de *R. prolixus* (R. pro), selon la source de sang (poule ou rat). En noir, la réponse de chaque couple (lignée isofemelle), en bleu la réponse moyenne.

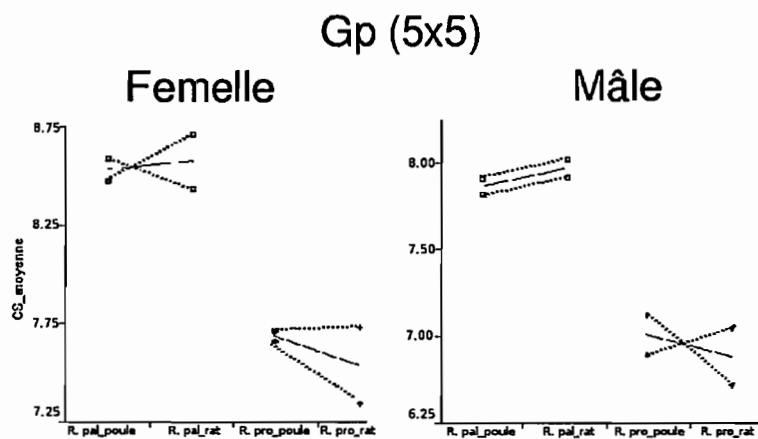


Figure 61: Tailles. Normes de réaction de la taille de la catégorie de groupes (5x5) chez *R. pallescens* (R. pal) et chez *R. prolixus* (R. pro) en fonction d'un changement de source d'alimentation (poule ou rat). En noir, la réponse phénotypique de chaque groupe, en bleu la réponse phénotypique moyenne

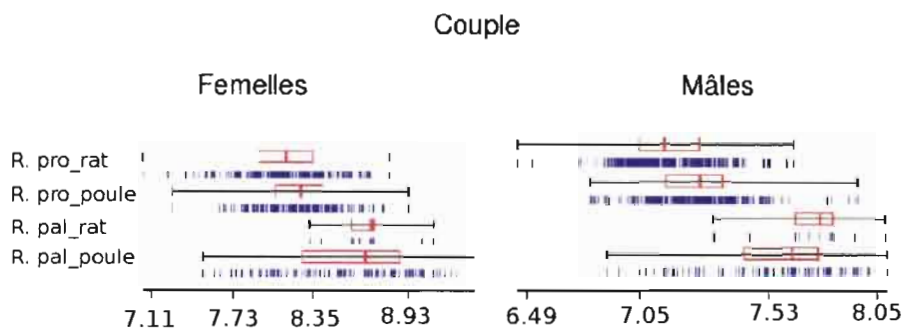


Figure 62: Tailles. A titre de comparaison avec les résultats issus des lignées de groupes, on voit ici la dispersion des valeurs pour l'ensemble des trois couples chez *R. pallescens* et des cinq couples chez *R. prolixus*. Médiane et dispersion de la variable de taille dans chaque traitement (poule or rat). Chaque boîte montre la médiane de groupe séparant les quartiles 25 et 75, avec les quartiles 10 et 90 aux extrémités de la ligne traversant la boîte.

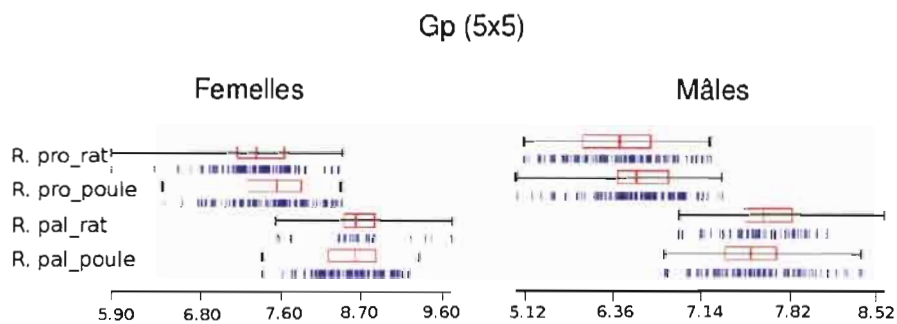


Figure 63: Tailles. Normes de réaction de la taille pour l'ensemble des lignées de groupes chez *R. pallescens* et chez *R. prolixus*. On voit la dispersion de la variable de taille autour de la médiane dans chaque traitement (poule or rat). Chaque boîte montre la médiane de groupe séparant les quartiles 25 et 75, avec les quartiles 10 et 90 aux extrémités de la ligne traversant la boîte.

2. Taille: Comparaisons statistiques des groupes et des couples chez *R. prolixus*

Les analyses statistiques comparant les réponses “plastiques” moyennes des lignées isofemelles et des lignées de groupe concordent avec l'examen visuel et ne détectent pas de différences significatives entre les protocoles (Table 24).

| Sex | Couples 12356 | Groupes 1 et 2 (5x5) | Interaction |
|---|---------------|----------------------|-------------|
| Taille Moyenne chez <i>R. prolixus</i> | | | |
| | Dx | Dy | Dx-Dy |
| F | 0.10* | 0.16* | -0.06 |
| M | 0.16* | 0.15* | 0.01 |
| Variance de la Taille chez <i>R. prolixus</i> | | | |
| | Dx | Dy | Dx-Dy |
| F | -0.03* | 0.00 | -0.03 |
| M | 0.00 | -0.02 | 0.02 |

Table 24: Différences de taille moyenne ou variance entre les insectes nourris sur la poule et le rat pour l'ensemble des couples (Dx) ou des groupes (Dy) de *R. prolixus*. Dx-Dy est un test non-paramétrique de l'interaction entre les lignées et la source d'alimentation. F, femelles; M, Mâles. * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05). On voit qu'il y a **accord entre les protocoles**.

3. Tailles: plasticités “moyennes” des lignées multiparentales pour comparer des espèces ?

Les valeurs moyennes des changements de taille entre milieux donnent des informations similaires que les moyennes soient tirées des groupes (génotypes mélangés) ou des couples (génotypes étudiés séparément). Soit il s'agit d'une heureuse coïncidence, soit, pour la taille, il se pourrait que des comparaisons de groupes puissent être informatives.

A titre de curiosité, le tableau ci-dessous compare deux espèces à partir de l'étude des groupes. On y voit que les résultats sont toujours significatifs chez *R. prolixus*, et non chez *R. pallescens* malgré l'augmentation des effectifs (de 5 et 6 pour les moyennes des couples à 16 et 27 pour

les moyennes femelles et mâles des groupes). Néanmoins, une modification significative de la variance des tailles apparaît chez *R. pallescens* femelles. Par ailleurs, les différences interspécifiques ont cessé d'être significatives.

| Sex | gp5x5 (Rpal) | gp5x5 (Rpro) | Dx-Dy |
|-----------------------|--------------|--------------|-------|
| Moyenne de la Taille | | | |
| | Dx | Dy | Dx-Dy |
| F | -0.11 | 0.16* | -0.27 |
| M | -0.01 | 0.15* | -0.16 |
| Variance de la Taille | | | |
| | Dx | Dy | Dx-Dy |
| F | -0.10* | 0.00 | -0.10 |
| M | 0.00 | -0.02 | 0.02 |

Table 25: Comparaisons de la plasticité de la taille centroïde entre deux espèces, *R. pallescens* (Rpal) et *R. prolixus* (Rpro). Chaque espèce est ici représentée par les descendants des lignées multiparentales (gp5x5). Dx = Poule - Rat chez *R. pallescens*, c'est-à-dire la différence de taille moyenne entre les insectes élevés sur la poule et ceux élevés sur le rat; Dy = Poule - Rat chez *R. prolixus*. Dx-Dy, mesure de l'interaction espèce et milieu (source de sang). F, femelles; M, mâles. * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05)

4. Conformation: comparaison d'une plasticité "moyenne" entre lignées monoparentales et multiparentales

Les mêmes comparaisons entre les "plasticités moyennes" (poule, rat) des lignées monoparentales et celles des lignées multiparentales ont pu être réalisées pour la réponse de la conformation à un changement de milieu.

| Sex | M | Dx (12345) | P | Dy (5x5) | P | Dx - Dy | P | Angle C&A | P |
|-----|-------|---------------|-----|-------------|-------|---------|-------|--------------|--------|
| F | 0.00* | 0.02 | 0.8 | 0.02 | 0.04 | 0.00 | 0.05 | 33 | 0.013* |
| M | 0.00* | 0.02 | 0.8 | 0.03 | 0.00* | -0.01 | 0.00* | 48 | 0.001* |

Table 26: MANOVA (M) et distances euclidiennes (Dx, Dy) chez *R. prolixus* entre sources d'alimentation (poule, rat) dans l'ensemble des couples (12356) et des groupes 1 et 2 (5x5). Les indices "x" et "y" se réfèrent à ces catégories: couples, ou groupes. A, Angle de Collyer & Adams; P, valeur de signification statistique; F, femelle; M, mâle. * valeur significative après correction de Bonferroni (alpha 0.05). Tant chez les mâles que chez les femelles, **il n'y a pas d'accord entre les deux protocoles** (moyennes des génotypes étudiés séparément, ou moyennes des groupes).

5. Conformation: plasticités "moyennes" pour comparer des espèces ?

Contrairement à la taille, la conformation semble plus sensible à la variation génétique (groupes composés de génotypes légèrement différents, ou identiques mais à des fréquences différentes). Par conséquent, en particulier pour la conformation, la prudence veut que la comparaison de deux espèces se limite au protocole examinant les génotypes séparément.

7 DISCUSSION

7.1 Concepts et Statistiques

Dans le langage courant, la plasticité d'un objet se réfère à sa malléabilité, son élasticité sous l'effet d'une force extérieure. Pour une espèce d'insecte, la plasticité pourrait ainsi se référer à la variété des formes observables dans des environnements différents. Les entomologistes décrivent certaines espèces plus variables que d'autres par les couleurs, les tailles, les formes. Chez les Triatominae cette observation est d'ailleurs fréquente, en particulier dans les espèces domestiques et celles en contact avec le milieu domestique.

Toutefois, dans cette utilisation, la plasticité observée peut avoir des causes génétiques en plus des causes environnementales. La question qui se pose est de savoir si une modification phénotypique serait apparente aussi entre deux milieux en l'absence de variation génétique. On définirait ainsi plus strictement la plasticité phénotypique: elle se mesurerait entre deux milieux différents occupés par un même génotype.

La question qui suit immédiatement serait la suivante: cette réponse phénotypique à la variation environnementale à l'intérieur d'un génotype est-elle toujours la même quel que soit le génotype envisagé? Y a-t-il **interaction** entre le génotype et la réponse plastique au milieu?

Comprise ainsi, la mesure de la plasticité phénotypique exige un protocole expérimental adéquat (voir plus bas) et des statistiques adaptées. Pour attester d'une réaction plastique, il faut pouvoir mesurer et détecter des différences significatives entre deux milieux, et pour tester son interaction avec le génotype, il faut pouvoir comparer ces différences d'un génotype à l'autre. C'est pourquoi des techniques statistiques telles que l'ANOVA à deux facteurs (la MANOVA en cas de caractères multivariés) sont bien adaptées: elles comparent statistiquement des valeurs moyennes en fonction du milieu et du génotype, et peuvent tester l'interaction entre ces facteurs.

Nous avons utilisé ces techniques, avec des variantes adaptées spécifiquement aux caractères comparés (taille, conformation). En particulier, nous avons proposé des paramètres analogues, D_x , D_y et D_x-D_y , tant pour l'analyse de la taille que pour celle de la conformation. Il s'agit de différences arithmétiques ou de distances euclidiennes mesurant la **quantité du changement** (D_x , D_y), et de tests d'interaction basés sur ces valeurs (D_x-D_y). La **direction du changement** en ce qui concerne la taille est donnée par le

signe de la différence arithmétique, par un angle pour ce qui est de la conformation.

Avant de poursuivre cette discussion, il est nécessaire de rappeler encore quelques définitions qui complètent la perception du concept de plasticité et pour lesquels une réelle confusion règne encore parfois dans la littérature. Nos définitions dérivent des mises au point faites par (Debat & David, 2001).

1. **Norme de réaction** C'est l'ensemble des phénotypes produits par un génotype en réponse à différentes conditions environnementales.
2. **Canalisation** Une réponse plastique moins ample pour un caractère relativement à un autre peut être décrite en termes de "canalisation" plus poussée. C'est ce que nous avons observé entre les dimensions de l'aile et de la tête chez *R. pallelescens*. Ainsi, "plasticité phénotypique" et "canalisation" décrivent les opposés d'un même phénomène même s'il est difficile de dire si les processus impliqués sont identiques ou différents. Dans cette acception, on préfère parler de canalisation "**environnementale**" plutôt que de canalisation tout court. En effet, une distinction additionnelle est faite d'une canalisation "**génétique**", processus qui réduit la sensibilité d'une structure ou d'un organisme aux variations alléliques.
3. **Instabilité de développement** Ce concept fait référence à un ensemble d'événements indépendants, aléatoires qui peuvent perturber la trajectoire normale du développement et mener à des variations stochastiques dans la croissance. L'instabilité de développement est mesurée par l'asymétrie fluctuante. La **stabilité de développement** fait donc, elle, référence aux processus qui résistent aux perturbations du développement. Il ne faut pas confondre la **stabilité de développement** et la **canalisation**: la première agit au sein d'un environnement donné, la seconde intervient entre deux environnements.

Nous n'avons pas mesuré l'asymétrie fluctuante parce que nous nous sommes intéressés aux modifications qui surviennent **entre deux environnements**, le **milieu sylvestre** et le **milieu domestique** (paragraphe 7.4). Par ailleurs, les faibles effectifs obtenus dans certaines lignées excluent l'idée même d'un tel projet: l'asymétrie est un signal subtil, facilement noyé dans le bruit si les précautions statistiques sont insuffisantes.

7.2 Mesure de la plasticité phénotypique

D'un point de vue opérationnel, on veut **comparer des espèces**. Notre objectif raisonne en termes d'espèces, à tout le moins de populations, et souhaite trouver dans leur plasticité des indications sur leur capacité d'adaptation aux domiciles humains. On voudrait avoir dans chaque espèce une "mesure" de la plasticité phénotypique, et voir quel rapport il pourrait y avoir entre le niveau de plasticité ainsi mesuré et la capacité d'adaptation à un autre milieu, en particulier donc le milieu domestique.

Pour y parvenir, il faut non seulement définir quantitativement un milieu "sylvestre" et un milieu "domestique" (voir plus bas), disposer d'espèces représentatives de ces milieux (ici *R. pallescens*, et *R. prolixus*, respectivement), il faut aussi disposer d'une **mesure** de la plasticité phénotypique qui soit **valable pour une population**.

Mais si l'on s'en tient strictement à la définition de la plasticité phénotypique, on ne peut la mesurer qu'**entre génotypes identiques**. Or, une espèce est composée d'un très grand nombre de génotypes différents. Nous avons vu que d'un génotype à l'autre, même au sein d'une colonie de laboratoire probablement très consanguine, des réponses parfois opposées peuvent apparaître en cas d'exposition aux mêmes perturbations. C'est un obstacle sérieux à notre projet, et le protocole expérimental qui peut lever l'obstacle semble très lourd. Il faut en effet échantillonner dans une population un grand nombre de génotypes, en mesurer la plasticité entre deux milieux, puis examiner la tendance générale en estimant la moyenne des réponses séparées. Statistiquement, il faudrait disposer d'une trentaine de lignées isofemelles échantillonnées au hasard dans la population. Nous n'en avons testé qu'un petit nombre (5), de sorte que notre estimation moyenne dans chaque espèce n'est qu'une estimation préliminaire.

A notre avis, l'étude de lignées multiparentales ne représente pas une alternative valable. Voir plus bas: "**Couples et groupes**".

Le deuxième obstacle à notre projet est celui du choix d'un caractère dont on veut connaître la plasticité. Car en effet la plasticité phénotypique n'est pas une caractéristique générale de l'ensemble d'un individu, c'est un trait lié à tel ou tel caractère séparément. Et rien ne s'oppose à l'idée qu'entre deux espèces un caractère puisse être plus plastique et un autre moins plastique.

Donc, non seulement il est difficile de comparer deux espèces pour leur

“plasticité”, il est également difficile de parler de plasticité “en général” au niveau du génotype individuel. Strictement parlant, il faudrait mesurer la plasticité d’un trait particulier entre deux milieux pour le même génotype.

Ce deuxième obstacle, le choix d’un caractère plutôt qu’un autre, est moins difficile à gérer que le précédent. Comme nous nous plaçons du point de vue épidémiologique,

1. c’est la transition du milieu sylvestre au domestique qui nous intéresse,
2. et ce sont les caractères connus pour en être affectés que nous retenons.

La littérature sur le sujet observe à plusieurs reprises des variations de tailles qui vont toutes dans le même sens, quelle que soit l’espèce: une diminution de taille dans le milieu domestique. Elle observe, moins souvent, une modification de la variance. Dans ce travail, nous avons donc exploré **les dimensions de l’insecte**, et les protocoles mis en place nous ont permis d’examiner aussi **le cycle de développement et la mortalité** (paragraphe 7.6).

Nous avons exploré les changements entre les individus au niveau de l’aile et de la tête, et nous avons montré qu’en cas de changements de densité populationnelle et de régime alimentaire, l’aile semble plus réactive, moins canalisée que la tête. Cette observation concorde avec ce que l’on sait de la biologie de ces insectes, et va, une fois encore, dans le sens d’une grande variabilité de l’aile chez les Triatominae (relativement à celle des moustiques par exemple): les Triatominae peuvent survivre sans activité de vol, sans muscles alaires - que ce soit en conditions de laboratoire (Diotaiuti, Centro Rene Rachou, Belo Horizonte, Brasil, comm. pers.) ou en conditions naturelles (Gürtler, Universidad de Buenos Aires, comm. pers.), voire même sans ailes du tout comme c’est le cas dans l’espèce *Triatoma spinolai*. La conformation de la tête par contre est primordiale pour assurer un repas efficace.

Sur l’aile (ou sur la tête), nous avons mené une étude séparée de la taille et de la conformation. Cela pourrait être pris pour deux caractères séparés, ce qu’ils ne sont pas tout-à-fait: taille et conformation sont liés, et leur relation porte un nom: **l’allométrie**. Toutefois, la corrélation statistique entre ces caractères est très variable selon les circonstances, souvent très en dessous de la corrélation qu’on peut trouver entre les dimensions des différentes parties d’un organisme. Cette séparation entre caractères pourtant corrélés est rendue nécessaire d’un point de vue opérationnel, statistique, plus que d’un point de vue biologique. Comme le dit très bien West-Eberhart, la Sélection

reconnaît des formes, mais elle est indifférente aux mécanismes qui ont conduit à ces formes (West-Eberhard, 1989). Si nous avons tenté dans certaines analyses de retirer de possibles effets allométriques, c'est surtout par curiosité intellectuelle.

Nous pourrions donc dire que le caractère dont nous avons étudié la plasticité pour un génotype donné est la taille globale de l'insecte estimé par la taille centroïde de l'aile (de la tête), ainsi que la forme de l'insecte estimé par la conformation de l'aile (de la tête).

A ce stade de notre discussion, la mesure de la plasticité phénotypique entre espèces de *Triatominae* devrait donc suivre les recommandations minimales suivantes:

1. au moins 30 lignées isofemelles,
2. au moins 30 descendants mâles et 30 descendants femelles par lignées,
3. la géométrie de l'aile (ou/et de la tête), dans un protocole permettant la comparaison du cycle de développement et de la mortalité.

7.3 Couples et groupes

Dans notre protocole expérimental, en tentant de contourner de possibles effets artéfactuels sur la plasticité phénotypique, nous avons créé des conditions moins éloignées de la réalité du terrain en comparant des générations issues d'un groupe de géniteurs, plutôt que d'un couple monoparental. Ce faisant, nous savions qu'il devenait plus spéculatif de parler de plasticité phénotypique pour définir les changements métriques d'un milieu à l'autre. La séparation d'une descendance de multiples parents entre deux régimes alimentaires créait non seulement deux milieux, mais aussi, fort probablement, deux groupes génétiquement différents, même si ces différences devaient être faibles.

Cette approche de l'étude de la plasticité est donc imparfaite, puisqu'elle n'élimine pas un facteur de confusion (la variété génotypique). Mais ce facteur de confusion interfère-t-il de façon notable avec des différences interspécifiques ? Cette approche ne pourrait-elle pas trouver des éléments de justification dans les comparaisons interspécifiques en imaginant l'espèce elle-même comme "génotype" ? Ainsi, on explorerait les réactions d'une espèce (d'un "génotype") en réponse à l'environnement, et cela relativement à une autre espèce. Cette approche est rencontrée dans la littérature d'aujourd'hui (Colyer & Adams, 2007). Il faudrait alors admettre que les variations explorées

ne seraient pas purement “plastiques” (elles seraient aussi génétiques), mais indicatives de la réponse des génotypes les plus fréquents dans chaque espèce.

Cette réponse typique d’une espèce, nous pouvons aller la chercher en examinant la moyenne des réponses des lignées isofemelles (couples) étudiées séparément. Nous avons vu en effet que les lignées monoparentales peuvent réagir différemment entre elles, parfois de façon opposée, et cela dans la même espèce. Il est intéressant alors de dégager la tendance générale de ces réponses, et on pourrait l’estimer par la moyenne.

Nous pouvons peut-être aussi aller chercher cette réponse moyenne dans l’étude des lignées de groupes. En effet, la descendance d’un groupe de parents représente une certaine variété de génotypes, et la réponse combinée de ces génotypes à l’environnement tendrait à correspondre à la moyenne dérivée des réponses séparées de chaque génotype. Ce protocole aurait l’avantage de simplifier considérablement les opérations et les coûts de maintenance en laboratoire. Toutefois, à moins de comparer exactement le même ensemble de génotype entre des milieux différents, nous nous exposerions à confondre des changements purement plastiques avec des différences génétiques.

Qu’en est-il de nos propres données ? Avons-nous observé des désaccords entre les moyennes dérivées des lignées isofemelles et les résultats obtenus sur les lignées de groupes ?

Nos données concernant la taille ont produit des résultats similaires qu’ils proviennent de la moyenne des lignées monoparentales étudiées séparément, ou de celle des lignées multiparentales (Table 24). Par contre, les résultats concernant la conformation divergent dans les deux sexes, et cette divergence est plus complète chez les mâles (Table 26). Nous pensons que les résultats concordant pour la taille pourraient être dus au peu de variation génétique présente dans les lignées de laboratoire étudiées, et que la conformation y serait plus sensible que la taille. Ceci confirme que la plasticité phénotypique doit se penser non seulement en termes de génotypes mais aussi en termes de caractères.

7.4 Populations naturelles et domestiques, et le laboratoire

Nous avons travaillé sur des modèles expérimentaux de populations supposés représentatifs des milieux que nous voulions comparer.

Pour commencer, nous avons utilisé le laboratoire comme équivalent direct du milieu domestique. Nous avons pu y reproduire en effet les changements métriques observés dans la transition des Triatominae de leur milieu

naturel au milieu domestique. Des spécimens collectés dans leur milieu naturel ont été apportés au laboratoire, et la première génération élevée en laboratoire a ensuite été comparée avec les parents qui eux s'étaient développés en milieu sauvage.

Mais le laboratoire ne reproduit que des parcelles du milieu domestique, lequel est beaucoup plus varié et ouvert. Par exemple, les Triatominae en milieu domestique se nourrissent sur plusieurs hôtes, parfois très différents: poules, pigeons, chiens, chats, rongeurs, chèvres, porcs, hommes ... Ils sont en compétition avec d'autres espèces qui convoitent les mêmes hôtes, il sont exposés à la prédation par les animaux domestiques (la poule est friande de triatomes), parfois par des insectes prédateurs, ainsi qu'à des contacts avec de nombreux toxiques utilisés par l'homme dans son activité ménagère ou professionnelle, voire à des insecticides appliqués sporadiquement avec plus ou moins d'efficacité. Enfin, ils sont plus exposés qu'en laboratoire aux conditions climatiques extérieures, en particulier aux variations saisonnières. Leurs populations peuvent donc connaître des fluctuations importantes, très vite corrigées cependant pour revenir à un état d'équilibre entre leur abondance et celle des sources de sang (Schofield, 1982).

Le milieu sylvestre est bien entendu encore beaucoup plus varié que le milieu domestique, il serait long d'en décrire toutes les facettes. Ses différences principales vis-à-vis du milieu domestique se résument pourtant en un mot, le **stress**. Ce dernier est dû principalement à l'instabilité des hôtes, une nutrition souvent à la limite de la disette, et à la dangerosité du milieu. En outre, le milieu sylvestre représente aussi de nouvelles sources de sang.

1. **Instabilité** Les nombreux hôtes sylvestres des Triatominae peuvent être classés en deux grandes catégories: les oiseaux et les petit mammifères. Ni les uns ni les autres ne gardent le nid ou le terrier très longtemps, de sorte que les triatomes qui sont inféodés à ces hôtes doivent souffrir des **périodes de jeûne prolongées**, imprévisibles. Le milieu domestique est par contre beaucoup plus stable, rarement abandonné par ses occupants.
2. **Disette** Les hôtes sylvestres sont généralement petits, la quantité de sang qu'ils représentent ne peut pas se comparer à celles des animaux domestiques et de l'homme. Comme les Triatominae adaptent la taille de leurs populations à la quantité de sang disponible, les populations sont petites en milieu sylvestres. Elles sont plus abondantes, et forcément plus **denses** en milieu domestique.

3. **Vulnérabilité** En laboratoire, un couple de *Triatoma protracta* donne volontiers plus d'une centaine de descendants; pourtant, dans les nids de rongeurs qu'il occupe, on ne trouve jamais que quelques individus. Ryckman a montré que le rongeur dévore les triatomes avec avidité, seuls ne survivent que quelques chanceux (Ryckman, 1962). La vie sylvestre pour un triatome est pleine de dangers, la **mortalité** est élevée: l'hôte dont il se nourrit est dangereux, et son environnement est peuplé de prédateurs. Cela explique aussi pourquoi la **densité** des populations sylvestres n'est jamais comparable à celle rencontrée en milieu domestique où les prédateurs sont nettement plus rares. A basse densité et dans des conditions de disette, nous avons montré que la mortalité (le coût en larves, voir plus bas) est multipliée entre 3 et 9 fois (Table 27).

| | | <i>Rhodnius pallescens</i> | |
|--------|------------------|----------------------------|-----------|
| Milieu | Adultes produits | Larves mortes | Mortalité |
| 40H | 36 | 4 | 0.11 |
| 40M | 20 | 20 | 1.00 |
| 120H | 94 | 26 | 0.28 |
| 120M | 61 | 59 | 0.97 |
| poule | 121 | 52 | 0.43 |
| rat | 12 | 146 | 12.2 |

Table 27: Nombre total de larves mortes chez *Rhodnius pallescens* dans des conditions variables de stress nutritionnel ou de densité, et selon l'alimentation sur la poule ou sur le rat (ces dernières valeurs tirées des données obtenues sur les couples). 40, 120 sont des densités de population; H et M sont des fréquences d'alimentation, hebdomadaire (H) ou mensuelles (M)

4. **Sources de sang** La source de sang est un facteur très important, le plus souvent différant selon le milieu, et représente une manière additionnelle de construire en laboratoire des modèles mimant tel ou tel milieu. Notre protocole a comparé des lignées de *R. pallescens* nourries sur la poule et sur le rat. Avec l'idée que dans son habitat naturel, *R. pallescens* devait sans doute se nourrir d'oiseaux, et que dans le milieu domestique il rencontrerait du sang de mammifère. Cette idée se base sur quelques publications montrant le succès de l'élevage de *R. pallescens* sur pigeon et sur souris (Jurberg & Rangel, 1984), et l'importance de repas pris sur les mammifères en milieu domestique à Panama (Calzada et al., 2006).

On ne peut donc que proposer des modèles simplifiés susceptibles de reproduire certaines conditions typiques de ces milieux, utilisables en laboratoire classique, de préférence sans sophistications coûteuses.

7.5 Exemple d'une modélisation en laboratoire

Nous avons proposé que la **densité des populations** et la **fréquence des repas de sang** pouvaient de façon simple mimer des aspects caractéristiques opposant milieux domestique et sylvestre. Ce modèle nous a permis d'explorer l'une des deux hypothèses expliquant la réduction de taille des insectes adaptés au milieu domestique.

Une réduction générale de la taille a été observée sur plusieurs générations chez la plupart des Triatominae élevés en laboratoire (Zeledón et al., 1970; Szunlewicz, 1976; Zeledón, 1981). Différentes études ont aussi montré que dans l'habitat domestique les insectes avaient tendance à être plus petits qu'en conditions sylvestres (Harry, 1994; Dujardin et al., 1997a,b, 1999b; Jaramillo et al., 2002b). Dans la littérature dédiée aux Triatominae, les hypothèses explicatives peuvent être subdivisées en deux catégories, l'une faisant appel à la **sélection** et l'autre aux conditions de **croissance**.

1. L'hypothèse de la **sélection** a été formulée pour les deux environnements, domestique et sylvestre, et principalement liée aux conditions alimentaires. Les conditions avantageuses du milieu domestique (plus de sang, plus régulièrement, et absence de prédateurs) favorisent la survie des plus petits spécimens de sorte que, en moyenne, la taille décroît (Schofield, 1995). On pourrait ajouter que dans les colonies parfois très denses, une grande taille peut être un handicap pour l'accès physique aux sources de sang. En conditions sylvestres par contre, les individus les plus grands seraient favorisés grâce à leur capacité accrue de résister aux longues période de jeûne (Jaramillo et al., 2002b; Rodríguez et al., 2007).
2. De simples changements dans la **croissance** ont aussi été suggérés. Des auteurs ont émis l'hypothèse que la taille plus grande des individus sylvestres se devait à des temps de développement plus longs ("plus de temps, plus de croissance"); eux-mêmes expliqués par le retard à muer en raisons de repas interrompus (Zeledón et al., 1970; Zeledón, 1981). D'autres ont considérés qu'en milieu domestique les densités plus élevées augmentent la compétition entre les individus qui par conséquent s'alimentent moins (Dujardin et al., 1999b) ("moins de sang, moins de croissance").

Notre étude a examiné l'hypothèse d'un simple changement de croissance en réponse aux apports énergétiques, une hypothèse qu'il était donc possible de vérifier en une seule génération d'insectes (paragraphe 6.3). Elle a montré que cette hypothèse était suffisante pour expliquer la réduction de la taille en milieu domestique, ou son augmentation en milieu sylvestre. Mais elle n'a pas pour autant confirmé les scénarios envisagés par la littérature: la taille n'est pas liée au temps de développement (Zeledón et al., 1970; Zeledón, 1981) et n'est pas liée à l'abondance des ressources (Dujardin et al., 1999b).

Nos données suggèrent en effet qu'un seul facteur n'est pas suffisant pour expliquer les modifications morphométriques d'un milieu à l'autre, c'est l'**interaction** des facteurs qui importe.

“Moins de sang, moins de croissance” ?

Une moindre quantité de sang ingéré pendant la vie larvaire peut aboutir (pourtant) à des insectes plus grands ... si la densité des individus est basse. La seule abondance alimentaire (fréquence des repas) n'explique pas les changements de taille, c'est sa combinaison avec les conditions de densité qui importe. Une moindre fréquence des repas (une forme de disette) induira une taille plus petite si les populations sont denses, elle induira au contraire une taille plus grande si la densité des insectes est basse (paragraphe 6.3).

“Plus de temps, plus de croissance” ?

Par ailleurs, un temps de développement plus long n'est associé à une taille plus grande qu'en cas de faibles densités, c'est l'inverse qui se produit en cas de fortes densités (paragraphe 6.3).

7.6 Coût de la plasticité phénotypique

Dans nos protocoles expérimentaux, deux caractères de l'insecte peuvent être mesurés qui ne sont pas des caractères métriques, mais décrivent son phénotype en termes directs d'adaptation au milieu: la mortalité (survie), et le temps de développement. Ces deux aspects peuvent nous donner une idée du coût pour l'insecte représenté par un changement de milieu.

Mortalité Nous avons estimé la mortalité par le rapport entre le nombre de larves mortes dans une lignée au moment où l'on décidait de cesser son

suivi, c'est-à-dire quand on décidait de recueillir les adultes produits car en quantités suffisantes pour les comparaisons statistiques.

Cette estimation de la mortalité est bien entendu incomplète. Elle ne concerne que les stades pré-imaginaux. Pour connaître la mortalité parmi les adultes produits, il faudrait d'ailleurs ajouter jusqu'à un an, peut-être plus, à un protocole expérimental qui a déjà duré un an et demi.

L'idée sous-jacente était en fait de produire une mesure du coût de la plasticité. Nous avons estimé la mortalité en termes de coût: "*combien de larves doivent-elles mourir pour qu'un adulte soit produit ?*". On peut facilement imaginer en effet que l'adaptation à un milieu plus dense, ou moins dense, plus nutritif ou non, ou que le passage à une source de sang différente, aient un coût pour l'organisme ou la population.

Nous ne pouvions pas nous attendre à l'hécatombe qui a frappé les lignées de *R. pallescens* nourri sur le rongeur. La littérature sur cet insecte nous apprend en effet qu'en laboratoire, la souris est un hôte de choix, plus intéressant que l'oiseau (Jurberg & Rangel, 1984), et que dans les conditions naturelles, au Panama, certes, le sang de mammifères peut être plus fréquemment rencontré dans l'intestin que celui d'oiseaux (Calzada et al., 2006). Il faut observer que le contenu intestinal d'un échantillon de *R. pallescens* ne contient pas une seule source de sang, et que nous avons imposé une alimentation stricte sur le rat. Dans la nature, il se peut que l'insecte se nourrisse de rat sans dommage puisqu'il ne s'en nourrit pas exclusivement.

Quoi qu'il en soit, nos résultats suggèrent que le rat et la souris sont des hôtes très différents pour *R. pallescens*, ou qu'il est imprudent de généraliser à l'espèce des études sur une population donnée, qu'elle soit de laboratoire ou qu'elle provienne directement du terrain. Il est légitime de supposer des différences régionales car il a été montré que les populations d'espèces de Triatominae sont très structurées. En l'occurrence, les lignées de laboratoire de *R. pallescens* nourries avec succès sur le rongeur avait une provenance différente (Jurberg & Rangel, 1984), et les examens du contenu intestinal relatant l'importance du sang de mammifères ont été réalisés au Panama, non en Colombie. Or, nous savons que les populations de Panama diffèrent à plus d'un titre de celles de Colombie: elles diffèrent par la cytogénétique, par la morphométrie et par l'adaptation aux domiciles (Jaramillo et al., 2002a; Calzada et al., 2006; Gómez-Palacio et al., 2008).

Notre propre matériel souffre des mêmes limitations. Nous soupçonnons déjà que nos résultats seraient sans doute différents sur *R. pallescens* provenant de Panama. Et nous ne donnons pas l'exemple en ce qui concerne la lignée de *R. prolixus*, puisque nous devons admettre que l'origine

exacte de cette lignée est inconnue. C'est une colonie de laboratoire entretenue au Brésil depuis 1993, provenant de spécimens domestiques collectés au Venezuela (sans plus de précision).

Donc, non seulement nous avons une vision très limitée de la plasticité phénotypique de la géométrie de l'aile car nous n'avons exploré que quelques génotypes, mais de plus nos résultats valent pour les populations étudiées, et ne sont pas nécessairement généralisables⁶.

Temps de développement Les espèces domestiques comme *R. prolixus*, *T. infestans* ou encore *T. brasiliensis*, ont un cycle de développement relativement court, et il a déjà été suggéré que ce trait de vie est un avantage adaptatif sur la route de la domestication. Un allongement du temps de développement serait donc interprétable comme un coût.

Pour preuve, un stress nutritionnel (disette), qui augmente nettement la mortalité (Table 27), augmente jusqu'à deux fois plus le temps de développement (paragraphe 6.3.3).

Tant chez *R. pallescens* que chez *R. prolixus*, l'allongement du cycle de développement se produit quand l'insecte est nourri sur le rat plutôt que sur la poule (Figures 36, 37, 38 et 39). Il est plausible de penser que pour ces espèces, le mammifère (rat) représenterait un hôte "inhabituel", "nouveau" par rapport à l'hôte natif, ancestral, qui serait l'oiseau. Il serait cohérent que l'inverse soit vrai, et c'est effectivement ce qui a été observé. Chez *Triatoma infestans*, *T. brasiliensis*, et d'autres espèces saxicoles dont l'hôte originel semble bien être le rongeur (Dujardin et al., 2000), et même si le repas de sang se termine plus vite sur l'oiseau, le temps de développement s'allonge notablement (presque deux fois plus) sur l'oiseau comparé à celui de l'insecte nourri sur la souris (Guarneri et al., 2000)

7.7 Le "bon" génotype au "bon" endroit

Si l'on tient à parler en termes de populations, il faut bien décrire des tendances à partir d'un échantillon. Cependant, de telles tendances ou

⁶Nous avons noté cependant une mortalité importante sur le rat pour une autre espèce sylvestre, très proche génétiquement de *R. pallescens*: *R. colombiensis* (seulement 8 femelles adultes, et aucun mâle, dans la descendance de cinq lignées nourries sur le rat, alors que 215 descendants - 112 femelles et 103 mâles - ont été obtenus sur la poule).

moyennes peuvent gommer les performances de certains génotypes, et occulter certaines ressources de l'espèce face aux perturbations de l'environnement.

Nous avons observé par exemple que deux lignées monoparentales (deux "génotypes") de *R. pallescens* avaient augmenté de taille en passant sur le rat. Cette direction du changement ne va pas de pair avec une augmentation des densités typique de l'adaptation aux domiciles, et pourrait donc représenter un obstacle à la domestication si les rongeurs abondent dans le milieu convoité. Nous avons toutefois observé, dans un troisième génotype, que l'inverse pouvait se produire. Les effectifs très bas des lignées de *R. pallescens* pourraient être bien sûr à l'origine de ces désaccords, mais des réponses opposées ont également été observées, avec un support statistique satisfaisant, entre les génotypes de *R. prolixus*. Ainsi, l'étude de quelques lignées monoparentales a suffi à illustrer clairement un point crucial: **la réponse plastique est variable selon les génotypes.**

Notre hypothèse initiale d'une plasticité différente entre espèces en relation avec leur capacité différente d'adaptation au domicile doit être reformulée en termes de génotypes. Donc, une espèce, mieux encore une population géographique déterminée d'une espèce, contiendrait un éventail de génotypes dont la plasticité phénotypique serait plus ou moins variable, parfois divergente. Mais on peut supposer qu'une majorité de génotypes produirait une réponse comparable. C'est à cette condition qu'une comparaison pourrait être possible avec une autre espèce, laquelle contiendrait aussi une majorité de génotypes homogènes entre eux, spécifiques du taxon. Dans cet esprit, une comparaison entre espèces qui serait basée sur la moyenne des réponses de génotypes séparés est toujours une proposition acceptable, mais les mécanismes possibles de la relation entre la plasticité phénotypique et l'adaptation aux domiciles doivent être reformulés.

En effet, on pourrait admettre que **toutes les espèces de Triatominae contiennent quelque part des génotypes dont la plasticité offrirait des possibilités adéquates d'adaptation.** La fréquence de ces génotypes dans une population locale de l'espèce serait déterminante, mais la chance devrait aussi être au rendez-vous. Ce ne serait que si une population "présente" les "bons" génotypes au "bon" endroit, ceux qui conviennent au milieu domestique convoité, qu'une population domiciliaire pourrait se constituer. Si par exemple des villageois colombiens élèvent des poules, les spécimens de *R. pallescens* qui quitteraient leur palmier et arriveraient accidentellement dans un poulailler auraient, selon nos résultats, une chance réelle de survivre. Nous montrons en effet que l'espèce semble adaptée au sang de poule, et qu'en cas de densité populationnelle grandissante dans un milieu plus riche en nourri-

ture elle présente les modifications caractéristiques des espèces domestiques: une taille plus petite, une variance des tailles plus grande. L'adaptation aux domiciles est en rapport non avec un "bon" génotype, mais avec l'interaction entre ce génotype et le milieu, elle est donc bien en rapport avec la plasticité phénotypique.

Mais une population domiciliaire n'est pas encore une domestication (Dujardin et al., 2000), et les obstacles à cette réussite sont nombreux: prédateurs, compétition, abondance et stabilité de l'hôte adéquat, etc. Sur 137 espèces de Triatominae, quelques unes seulement ont eu la chance de franchir avec succès le parcours d'obstacles et occupent le terrain (ces proportions mêmes suggèrent une question de chance). Le poulailler serait la porte d'entrée de *R. pallescens* dans le milieu domestique colombien, mais il faut signaler qu'il n'est pas le seul dans la compétition (Pereira et al., 2006), et dans certaines régions il peut se trouver face à un redoutable compétiteur: *R. prolixus* lui-même. Le succès apparent de *R. pallescens* dans le milieu domestique Panaméen n'est peut-être pas sans rapport avec l'absence, dans ce pays, de *R. prolixus*.

7.8 Plasticité et domestication

Les quelques spécimens de *R. pallescens* ayant survécu sur le rat montrent des changements de taille plus importants que ceux observés sur *R. prolixus* dans les mêmes conditions (Table 22 et Figure 48), et de même semblent montrer une modification plus accentuée de la conformation (Figure 49). Même en l'absence de confirmation statistique fiable, nous sommes amenés à considérer que la réponse plastique de l'espèce "sylvestre" pourrait être plus importante que celle de l'espèce "domestique". Dans ce cas, l'ampleur de la réponse plastique d'une espèce ne serait pas un bon indicateur de ses chances d'adaptation à un autre milieu, en particulier le milieu domestique.

De tels résultats pourraient cependant s'interpréter à la lumière de ce que l'on sait de l'évolution de la plasticité phénotypique, en reprenant les étapes proposées par Pigliucci (2005). Nous suggérons avec lui que, sur un temps évolutif sans doute très bref, les espèces - en fait les génotypes - ayant réussi leur adaptation grâce à leur plasticité, ont ensuite réduit progressivement cette plasticité afin d'en réduire les coûts.

Ce scénario évolutif peut être présenté en suivant les étapes successives de la domestication suggérées par Dujardin et al. (2000): **intrusion, domiciliation, domestication** (paragraphe 1.2.1).

Intrusion C'est à n'en pas douter la première étape dans le processus de domestication. Lors d'une intrusion, des œufs peuvent être déposés dont naissent quelques larves. Ces dernières peuvent mourir après quelques mues, comme nous l'avons vu pour *R. palleescens* nourri sur le rat, voire même donner quelques adultes qui ont peu de chance de survivre car trop peu nombreux.

Domiciliation Une domiciliation est attestée par la présence d'adultes et de larves. Il y a domiciliation si les adultes sont issus de cette population larvaire, non s'ils sont des intrus. Ces adultes pourraient disparaître sans lendemain, ou pourraient avoir la chance de se reproduire. Ils se trouveraient alors dans la situation décrite par Pigliucci (2005): grâce à leur plasticité phénotypique ils ont survécu certes aux nouvelles conditions, mais leur propre réponse plastique représente un coût trop important pour leur assurer un futur. C'est dans la mesure où ils pourront réduire l'ampleur de la réponse plastique qu'ils ont des chances de persister dans le milieu conquis. Si le coût est trop important, la domiciliation avorte.

Cette étape est illustrée par nos résultats sur *R. palleescens*: cette espèce est capable d'une plasticité lui permettant de survivre même à un hôte apparemment très peu prisé, mais le coût à payer réduit considérablement les chances de réussite. Trois adultes survivent en laboratoire, dans la nature ce serait une "population" condamnée.

Cette étape a déjà été franchie de longue date par *R. prolixus*, sans doute par chance.

Domestication Une domestication est attestée par une distribution géographique des populations domestiques en accord avec les transhumances connues. Elle suppose des colonies abondantes, denses. Dans ces cas, on note la petite taille des insectes, et/ou leur variance plus importante par rapport à des milieux sylvestres connus (Felicangeli et al., 2007). De telles populations sont abondantes car elles auraient résorbé le coût de leurs réponses plastiques initiales (Pigliucci, 2005). Ce cas est parfaitement illustré dans notre étude par *R. prolixus*, dont la réponse plastique a toujours été discrète, bien que significative, et dont le coût est à l'évidence bien maîtrisé. Nous imaginons que dans un passé évolutif sans doute peu lointain, *R. prolixus* placé pour la première fois dans des conditions nouvelles a répondu comme *R. palleescens* le fait aujourd'hui: une réaction plastique marquée, des scores de mortalité plus élevés. Mais dans le passé, par chance, quelques génotypes de cette espèce

ont réussi une domiciliation à un endroit donné. Par la suite, le maintien de cette population a requis de réduire les capacités plastiques, le coût en a été maîtrisé, et les colonies intradomiciliaires ont connu des densités de plus en plus élevées.

En résumé, le passé de *R. prolixus* est le présent de *R. pallescens*, et les deux espèces se trouvent à des étapes différentes sur la route qui conduit à l'existence de populations vraiment domestiques.

8 CONCLUSIONS

Notre hypothèse initiale suggérait que la réponse plastique en milieu domestique serait typique, toujours orientée dans le sens d'une réduction de la taille, mais pourrait différer entre espèces. Ces différences pourraient être indicatrices de capacités plus ou moins grande d'adaptation au milieu domestique.

Nous voyons en effet que deux genres différents, collectés dans leur milieu naturel, *Rhodnius* et *Panstrongylus*, montrent une diminution de la taille après une génération passée en laboratoire. Chez *R. pallescens*, la modélisation dans un protocole simple des milieux sylvestre et domestique (paragraphe 6.3) confirme que la taille diminue de façon caractéristique en passant du milieu "sylvestre" (40M) au milieu "domestique" (120H).

Par contre, d'autres aspects des modifications métriques paraissent imprévisibles. Les modifications de la variance des tailles entre milieux ne sont pas constantes selon l'espèce, et vont tantôt dans le sens de l'augmentation, tantôt non. Par ailleurs, dans nos conditions expérimentales, on ne détecte pas ou on ne peut pas confirmer (faute d'effectifs) de changements significatifs de la conformation. Cette observation est vraie chez *R. pallescens*, non chez *P. geniculatus* chez qui on détecte un changement significatif de conformation, en amplitude, et en direction, ainsi que, dans le sexe femelle, une diminution de la disparité métrique en laboratoire.

Notre étude comparée des réponses plastiques de *R. prolixus*, l'espèce la plus adaptée aux domiciles, et de *R. pallescens*, ne nous permet pas d'évaluer statistiquement les possibles différences de plasticité entre elles en raison de problèmes d'échantillonnages. Par contre, elle nous permet de comparer des génotypes différents au sein de *R. prolixus* (paragraphe 7.7), et de tester la faisabilité d'une étude qui serait pratiquée sans séparer les génotypes (paragraphe 7.3).

1. Nous confirmons la tendance principale signalée par diverses observations dans la littérature: une diminution de taille. Nous confirmons que cette modification semble **typique** du passage d'un milieu stressant, instable, de faible valeur nutritionnelle, à un milieu stable et riche en source de sang, et qu'elle paraît **systématique**, valable d'une espèce à une autre, d'un genre à un autre.
2. Notre approche suggère de cerner les tendances d'une population en étudiant séparément des lignées isofemelles, et nous mettons à disposition un logiciel centré sur la variation de la taille centroïde. Notre **protocole expérimental** peut mesurer et comparer la plasticité de la géométrie de l'aile entre espèces.
3. Notre étude nous amène à penser que ce qui détermine les chances d'adaptation au milieu domestique, c'est l'équilibre entre la plasticité phénotypique et le coût qu'elle représente. Il faut de la plasticité, ne fût-ce que celle qui consiste à anticiper une taille plus petite conforme à la survie en hautes densités, mais il faut de hautes densités. Il faut de nombreux descendants dans les espaces domestiques: sans abondance, les populations domiciliées ont peu de chance de survivre sur le long terme, et peu de chance d'accompagner l'homme dans ses pérégrinations.
4. Les perspectives apportées par notre étude renouvellent l'intérêt de comparer des populations géographiques chez les Triatominae plutôt que des espèces. En particulier, en ce qui concerne la plasticité phénotypique, il serait opportun de comparer *R. pallescens* entre la Colombie et le Panama. A cette fin, nous recommandons de caractériser chaque population par l'étude séparée de plusieurs lignées isofemelles. Notre hypothèse de travail repose en effet sur l'idée que le coût d'éventuelles modifications plastiques dans le modèle du milieu domestique sera plus élevé chez le *R. pallescens* colombien.
5. Nos modèles de laboratoires (paragraphe 6.3) nous permettent de suggérer qu'en Colombie, le poulailler est une porte d'entrée pour *R. pallescens* en milieu domestique. Dans les villages colombiens, si l'on veut détecter une domestication rampante, le poulailler doit être examiné au même titre que le domicile. C'est la recommandation que cette thèse peut nous amener à faire au Ministère de la Santé en Colombie.

9 ANNEXES

1. Article: "Growth changes in *Rhodnius pallescens* under selected population density and feeding patterns". **Caro-Riaño, H**; Jaramillo, N and Dujardin, J. P. 2008. Accepté à *Infection, Genetics and Evolution*.
2. Nous avons participé aux analyses morphométriques de l'article: Genetic and morphometric evidence for population isolation of *Glossina palpalis gambiensis* (Diptera: Glossinidae) on the (Loos islands, Guinea). Mamadou, C; **Caro-Riaño, H**; Ravel, S; Dujardin, J. P.; Hervouet, J. P.; De Meuss, T; Kagbadouno, M; Bouyer, J; Solano, P. 2006. *J Med Entomol.* 43: 853-860
3. Tableau résumé des tables et figures des résultats

| | Tables | | Figures | |
|---------------------------------------|------------------------|--------------------|--|--|
| | Taille | Conformation | Taille | Conformation |
| Transition d'une génération à l'autre | 4, 5 | 6, 7 | 23 | 24, 25 |
| Densité et Régime alimentaire | 10, 11 | 12, 13 | 27, 28 | 29, 30 |
| Transition d'un hôte à l'autre | 16, 17, 22, 23, 24, 25 | 18, 19, 20, 21, 26 | 40, 41, 42, 44, 45, 48, 60, 61, 62, 63 | 43, 46, 47, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 |

References

- Abad Franch, F., Aguilar, M., Paucar, C.A., Lorosa, E.S. & Noireau, F. 2002. Observations on the domestic ecology of *Rhodnius ecuadoriensis* (Triatominae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **97**: 199–202.
- Adams, D.C. & Collyer, M.L. 2007. Analysis of character divergence along environmental gradients and other covariates. *Evolution* **1**: 510–515.
- Adams, D.C., Rohlf, J. & Slice, D. 2004. Geometric morphometrics: Ten years of progress following the “revolution”. *Italian Journal of Zoology* **71**: 5–16.
- Agrawal, A.A. 2001. Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science* **294**: 321–326.
- Arevalo, A., Carranza, J., Guhl, F., Clavijo, J. & Vallejo, G. 2007. Comparación del ciclo de vida de *Rhodnius colombiensis* Moreno, Jurberg & Galvão, 1999 y *Rhodnius prolixus* Stal, 1872 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) en condiciones de laboratorio. *Biomedica* **supl I**: 119–129.
- Arnqvist, G. & Mårtensson, T. 1998. Measurement error in geometric morphometrics: empirical strategies to assess and reduce its impact on measures of shape. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* **44**: 73–96.
- Baldwin, W.F., Knight, A. & Lynn, K.R. 1971. A sex pheromone in the insect *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae). *The Canadian Entomologist* **103**: 18–22.
- Baylac, M. & Friessß, M. 2005. Fourier descriptors, Procrustes superimposition, and data dimensionality: an exemple of cranial shape analysis in modern human populations. In *Slice ed. Modern Morphometrics in Physical Anthropology* **6**: 145–165.
- Berrigan, D. & Scheiner, S.M. 2004. Modeling the evolution of phenotypic plasticity. In *Phenotypic Plasticity: Functional and Conceptual Approaches* (ed. Dewitt, T. and Scheiner S.) New York: Oxford University Press **270**: 82–97.
- Bookstein, F.L. 1986. Size and shape spaces for landmark data in two dimensions. *Statistical Science* **1**: 181–222.
- Bookstein, F.L. 1991. Morphometric tools for landmark data: Geometry and Biology. *Cambridge Univ. Press: New York* p. 435.

- Borda, M.R. 1972. Algunos aspectos sobre la biología y ecología de *Triatoma infestans* Klug, 1934, y su enemigo natural *Telenomus farai* Lima, 1927. Breves notas referentes a *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909. In: *Primer Congreso Latinoamericano de Entomología, Cuzco, Peru* p. 35.
- Borges, E.C., Dujardin, J.P., Schofield, C.J., Romanha, A.J. & Diotaiuti, L. 2000. Genetic variability of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) populations. *Journal of Medical Entomology* **37**: 872–877.
- Brenière, S.F., Bosseno, M.F., Vargas, F., Yaksic, N., Noireau, F., Noel, S., Dujardin, J.P. & Tibayrenc, M. 1998. Smallness of the panmictic unit of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Journal of Medical Entomology* **35**: 911–917.
- Cabello, D. & Galindez, I. 1998. Vital statistics of *Panstrongylus genitucalus* (Latreille, 1811) (Hemiptera: Reduviidae) under experimental conditions. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **93**: 257–262.
- Calzada, J., Pineda, V., Montalvo, E., Alvarez, J., Santamaria, A., Samudio, F., Bayard, V., Caceres, L. & Saldaña, A. 2006. Human trypanosome infection and the presence of intradomicile *Rhodnius pallescens* in the western border of the Panama Canal, Panama. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **74**: 762–765.
- Carbajal de la Fuente, A.L., Dias-Lima, A., Macedo Lopes, C., Annie Walter, L.E., Ferreira, A., Sherlock, I. & Noireau, F. 2008. Behavioral plasticity of Triatominae related to habitat selection in Northeast Brazil. *Journal of Medical Entomology* **45**: 14–19.
- Catalá, S., Maida, D., Caro-Riaño, H., Jaramillo, N. & Moreno, J. 2004. Changes associated with laboratory rearing in antennal sensilla patterns of *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* and *Rhodnius pallescens* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **99**: 25–30.
- Chagas, C. 1909. Nova tripanosomiase humana. *Gaceta Medica da Bahia* **40**: 453–440.
- Christensen, H.A. & De Vasquez, A.M. 1981. Host feeding profiles of *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae) in rural villages of Central Panama. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **30**: 278–283.

- Christensen, H.A., Whitlaw, J.T., Chaniotis, B.N. & De Vasquez, A.M. 1980. Sylvatic hosts of *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae) nymphs in the Panama Canal zone. *Journal of Medical Entomology* **17**: 182.
- Collyer, M. & Adams, D.C. 2007. Analysis of two state multivariate phenotypic change in ecological studies. *Ecology* **88**: 683–692.
- Da Rosa, J.A., Soares Barata, J.M., Barelli, N., Ferreira Santos, J.L. & Belda Nieto, F.M. 1992. Sexual distinction between 5th instar nymphs of six species of triatominae (Hemiptera, Reduviidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **87**: 257–264.
- De Vasquez, A.M., Samudio, F.E., Saldaña, A., Paz, H.M. & Calzada, J.E. 2004. Eco-epidemiological aspects of *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma rangeli* and their vector (*Rhodnius pallescens*) in Panama. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* **46**: 217–222.
- Debat, V., Alibert, P., Paradis, E., David, P. & Auffray, J.C. 2000. Independence between developmental and canalisation in the skull of the house mouse. *Proceedings of the Royal Society of London, Biological Sciences* **267**: 423–430.
- Debat, V. & David, P. 2001. Mapping phenotypes : Canalization, plasticity and developmental stability. *Trends in Ecology and Evolution*. **16**: 555–561.
- Dias, J.C. & Schofield, C.J. 2004. Control of Triatominae. In: *The Trypanosomiases*. Eds (Ian Maudlin, Peter H. Holmes and Michael A. Miles) **Chapter 31**: 547–563.
- Dujardin, J., Bermudez, H., Casini, C., Schofield, C. & Tibayrenc, M. 1997a. Metric differences between silvatic and domestic *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) in Bolivia. *Journal of Medical Entomology* **35**: 544–552.
- Dujardin, J.P. 1998. Population genetics and the natural history of domestication in Triatominae. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **93**: 34–36.
- Dujardin, J.P., Beard, C.B. & Ryckman, R. 2007. The relevance of wing geometry in entomological surveillance of Triatominae, vectors of Chagas disease. *Infection Genetics and Evolution* **7**: 161–167.
- Dujardin, J.P., Bermúdez, H. & Schofield, C.J. 1997b. The use of morphometrics in entomological surveillance of silvatic foci of *Triatoma infestans* in Bolivia. *Acta Tropica* **66**: 145–153.

- Dujardin, J.P. & Casini, C. 1996. Morphometry of *Triatoma infestans*. In: *Proceedings of the International Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae, Santo Domingo de los Colorados, Ecuador*. Schofield, C. J. and Dujardin, J. P. and Jurberg, J eds. pp. 53–54.
- Dujardin, J.P., Forgues, G., Torrez, M., Martínez, E., Cordoba, C. & Gianella, A. 1998a. Morphometrics of domestic *Panstrongylus rufotuberculatus* in Bolivia. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **92**: 219–228.
- Dujardin, J.P., Muñoz, M., Chavez, T., Ponce, C., Moreno, J. & Schofield, C.J. 1998b. The origin of *Rhodnius prolixus* in Central America. *Medical and Veterinary Entomology* **12**: 113–115.
- Dujardin, J.P., Panzera, P. & Schofield, C.J. 1999a. Triatominae as a model of morphological plasticity under ecological pressure. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **94**: 223–228.
- Dujardin, J.P., Schofield, C.J. & Panzera, F. 2000. Les vecteurs de la maladie de Chagas. Recherches taxonomiques, biologiques et génétiques. *Académie Royale des Sciences d'Outre-Mer, Classe des Sciences naturelles et médicales*. p. 162.
- Dujardin, J.P., Steindel, M., Chavez, T., Martínez, E. & Schofield, C.J. 1999b. Changes in the sexual dimorphism of Triatominae in the transition from natural to artificial habitats. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **94**: 565–569.
- Dujardin, J.P. & Tibayrenc, M. 1985. Etude de 11 enzymes et données de génétique formelle pour 19 loci enzymatiques chez *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Annales de la Societe Belge de Medecine Tropicale*. **65**: 271–280.
- Dworkin, I. 2005. Canalization, cryptic variation and developmental buffering: A critical examination and analytical perspective. In: *Variation, B. Hallgrímsson and B.K. Hall editors. Academic Press Chapter 8*: 131–158.
- Feliciangeli, D., Carrasco, H., Patterson, J., Suarez, B., Martinez, C. & Medina, M. 2004. Mixed domestic infestation by *Rhodnius prolixus* Stål, 1859 and *Panstrongylus geniculatus* Latreille, 1811, vector incrimination and seroprevalence for *Trypanosoma cruzi* among inhabitants in El Guamito, Lara State, Venezuela. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **71**: 501–505.

- Feliciangeli, D., Sanchez-Martin, M., Marrero, R., Davies, C. & Dujardin, J. 2007. Morphometric evidence for a possible role of *Rhodnius prolixus* from palm trees in house re-infestation in the State of Barinas (Venezuela). *Acta Tropica* **101**: 169–177.
- Fitzpatrick, S., Feliciangeli, M., Sanchez-Martin, M.J., Monteiro, F.A. & Miles, M.A. 2008. Molecular genetics reveal that silvatic *Rhodnius prolixus* do colonise rural houses. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **2**: 210.
- Futuyma, D. 1998. *Evolutionary Biology*. Sunderland M.A: Sinauer associates. (3rd Ed) p. 763.
- Gabriel, W. 2005. How stress selects for reversible phenotypic plasticity. *Journal of Evolutionary Biology* **18**: 873–883.
- Galvão, C., Carcavallo, R.U., Rocha, D.S. & Jurberg, J. 2003. A checklist of the current valid species of the subfamily triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa* **202**: 1–36.
- Garcia, B.A., Soares Barata, J.M. & Blanco, A. 1995. Enzyme polymorphism among *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) colonies. *Journal of Medical Entomology* **32**: 126–137.
- Garland, T. & Kelly, S.A. 2006. Phenotypic plasticity and experimental evolution. *Journal of Experimental Biology* **209**: 2344–2361.
- Gómez-Palacio, A., Jaramillo-Ocampo, N., Triana-Chávez, O., Saldaña, A., Calzada, J., Pérez, R. & Panzera, F. 2008. Chromosome variability in the Chagas disease vector *Rhodnius pallescens* (Hemiptera, Reduviidae, Rhodniini). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **103**: 160–164.
- Gordon, D.M. 1992. Phenotypic plasticity. In: *Keywords in evolutionary biology* (ed Keller, E.F and Loyd, E.A). Cambridge, MA: Harvard University Press pp. 255–262.
- Grijalva, M., Palomeque-Rodríguez, F., Costales, J., Davila, S. & Arcos-Teran, L. 2005. High household infestation rates by synanthropic vectors of Chagas disease in southern Ecuador. *Journal of Medical Entomology*. **42**: 68–74.
- Guarneri, A.A., Pereira, M.H. & Diotaiuti, L. 2000. Influence of the blood meal source on the development of *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma sordida*, and *Triatoma pseudomaculata* (Heteroptera, Reduviidae). *Journal of Medical Entomology* **37**: 373–379.

- Guhl, F. & Lazdins-Helds, J. 2007. Reporte sobre la Enfermedad de Chagas. *World Health Organization* p. 104.
- Harry, M. 1994. Morphometric variability in the Chagas' disease vector *Rhodnius prolixus*. *Japanese Journal of Genetics* **69**: 233–250.
- Harshman, L.G., Hoffmann, A.A. & Clark, A.G. 1999. Selection for starvation resistance in *Drosophila melanogaster*: physiological correlates, enzyme activities and multiple stress responses. *Journal of Evolutionary Biology* **12**: 370–379.
- Jaramillo, N. 2000. Partición en tamaño y forma de los caracteres métricos y su interés en los estudios poblacionales aplicados a los Triatominae. *Tesis Doctoral. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.* p. 125.
- Jaramillo, N., Calle, D., Caro-Riaño, H., Calle, J. & Ortega-Barría, E. 2002a. Diferencias morfométricas asociadas a la distribución geográfica de *Rhodnius pallescens* provenientes de siete localidades de Colombia y Panamá. In *OPS/OMS, Iniciativa de los países de Centro América para la interrupción de la transmisión vectorial y transfusional de la Enfermedad de Chagas* pp. 15–22.
- Jaramillo, N., Castillo, D. & Wolff, M. 2002b. Geometric morphometric differences between *Panstrongylus geniculatus* from field and laboratory. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **97**: 667–673.
- Jaramillo, N., Schofield, C.J., Gorla, D., Caro-Riaño, H., Moreno, J., Mejía, E. & Dujardin, J.P. 2000. The role of *Rhodnius pallescens* as a vector of Chagas disease in Colombia and Panama. *Research and Reviews in Parasitology* **60**: 75–82.
- Jurberg, J. & Rangel, E. 1984. Ciclo biológico de *Rhodnius pallescens* Barber, 1932 Barber, 1932 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae em laboratório. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **79**: 303–308.
- Klingenberg, C.P. 2002. Morphometrics and the role of the phenotype in studies of the evolution of developmental mechanisms. *Gene* **287**: 3–10.
- Knuth, D.E. 1981. The art of computer programming. In: *Semi-Numerical algorithms. Addison-Wesley, Reading. Massachusetts* **2**.
- Lent, H. & Valderrama, A. 1977. Observações em laboratório sobre o ciclo evolutivo de *Rhodnius prolixus* Stal, 1852 e *R. neivai* lent, 1953. *Revista Brasileira de Biologia* **37**: 325–344.

- Lent, H. & Wygodzinsky, P. 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bulletin of the American Museum of Natural History* **163**: 123–520.
- López, D.C., Jaramillo, C. & Guhl, F. 2007. Population structure and genetic variability of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) from different geographic areas of Colombia. *Biomedica Suppl* **1**: 28–39.
- Manly, B.F. 1994. Randomization and Montecarlo methods in Biology. *In: Chapman and Hall. Eds. London, UK* p. 281.
- Manrique, G. & Lazzari, C.R. 1994. Sexual behaviour and stridulation during mating in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **89**: 629–633.
- Manrique, G. & Lazzari, C.R. 1995. Existence of a sex pheromone in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae): I - Behavioural evidence. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **90**: 645–648.
- Miles, M., De Souza, A. & Pova, M. 1981. Chagas disease in the Amazon basin III. ecotopes of ten Triatominae bug species (Hemiptera: Reduviidae) from the vicinity of Belém, Pará State, Brazil. *Journal of Medical Entomology* **94**: 508.
- Moreno-Mejia, J., Valencia, F., Jaramillo, N., Lages-Silva, E. & Ramirez, L. 1992. Biological cycle of *Rhodnius pallescens* in laboratory conditions. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **87**: 217.
- Noireau, F., Bosseno, M.F., Vargas, F. & Brenière, S.F. 1994. Apparent trend to domesticity observed in *Panstrongylus rufotuberculatus* Champion, 1899 (Hemiptera: Reduviidae) in Bolivia. *Research and Reviews in Parasitology* **54**: 263–264.
- Pereira, H., Penido, M., Martins, M. & Diotaiuti, L. 1998. Comparative kinetics of bloodmeal intake by *Triatoma infestans* and *Rhodnius prolixus*, the two principal vectors of Chagas disease. *Medical and Veterinary Entomology* **12**: 84–88.
- Pereira, M.H., Gontijo, N., Guarneri, A., SantAnna, M. & Diotaiuti, L. 2006. Competitive displacement in Triatominae: the *Triatoma infestans* success. *Trends in Parasitology* **22**: 516–520.
- Pigliucci, M. 2005. Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends in Ecology & Evolution* **20**: 481–486.

- Pigliucci, M., Murren, C. & Schlichting, C. 2006. Review: Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology* **209**: 2362–2367.
- Pipkin, A.C. 1968. Domiciliary Reduviid bugs and the epidemiology of Chagas disease in Panama (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Journal of Medical Entomology* **5**: 107–124.
- Pires, H.H., Abrão, D.O., Machado, E.M., Schofield, C.J. & Diotaiuti, L. 2002. Eye colour as a genetic marker for fertility and fecundity of *Triatoma infestans* (Klug, 1834) Hemiptera, Reduviidae, Triatominae. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **97**: 675–678.
- Pires, H.H., Lorenzo, M., Lazzari, C., Diotaiuti, L. & Manrique, G. 2004. The sexual behaviour of *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae): an experimental study. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **99**: 295–300.
- Price, T.D. 2006. Phenotypic plasticity, sexual selection, and the evolution of colour patterns. *Journal of Experimental Biology* **209**: 2368–2376.
- Price, T.D., Qvarnstrom, A. & Irwin, D.E. 2003. The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proceedings of the Royal Society of London, Biological Sciences* **270**: 1433–1440.
- Rabinovich, J.E., Leal, J.A. & Feliciangeli, D. 1979. Domiciliary biting frequency and blood ingestion of the Chagas's disease vector *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera: Reduviidae) in Venezuela. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **73**: 272–283.
- Ramsey, J.M. & Schofield, C.J. 2003. Control of Chagas disease vectors. *Salud Publica de Mexico* **45**: 123–128.
- Reyes-Lugo, M. & Rodriguez-Acosta, A. 2000. Domiciliation of the sylvatic Chagas disease vector *Panstrongylus geniculatus* Latreille, 1811 (Triatominae: Reduviidae) in Venezuela. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **94**: 508.
- Riddiford, L. 2007. The control of metamorphosis in the kissing bugs. *Journal of Experimental Biology*. **210**: 3133–3134.
- Rodríguez, J., González, O., Nodarse, J., Fidalgo, L. & Dujardin, J.P. 2007. Morphometric changes of *Triatoma flavida* Neiva 1911 (Hemiptera: Triatominae) in the transmission from sylvatic to laboratory conditions. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* **49**: 127–130.

- Rodríguez-Sánchez, M., Alejandre-Aguilar, R., Noguera-Torres, B., Camacho, A. & Martín-Frías, E. 2003. Development of genital plates in nymphs of *Triatoma pallidipennis*, stal 1872, (Hemiptera: Reduviidae) and its application as sexing method. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **98**: 777–782.
- Rohlf, F. 1993. TPSregr: A program for regression of partial warps scores. *Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook* .
- Rohlf, F.J. 1986. Relationships among eigenshape analysis, fourier analysis, and analysis of coordinates. *Mathematical Geology* **18**: 845–854.
- Rohlf, F.J. 1999. Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *Journal of Classification* **16**: 197–223.
- Rohlf, F.J., Loy, A. & Corti, M. 1996. Morphometric analysis of Old World Talpidae (Mammalia, Insectivora) using partial-warp scores. *Systematic Biology* **45**: 344–362.
- Rohlf, F.J. & Marcus, L.F. 1993. A revolution in morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution* **8**: 129–133.
- Rohlf, F.J. & Slice, D.E. 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology* **39**: 40–59.
- Rojas de Arias, A. 2001. Chagas disease prevention through improved housing using an ecosystem approach to health. *Cadernos de Saúde Pública* **17**.
- Rutherford, S.L. & Lindquist, S. 1998. Hsp90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature* **396**: 336–342.
- Ryckman, R. 1951. Recent observations of cannibalism in *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae). *The Journal of Parasitology* **37**: 433–434.
- Ryckman, R.E. 1962. Biosystematics and hosts of the *Triatoma protracta* complex in north america (Hemiptera: Reduviidae) (Rodentia: Cricetidae). *University of California Publications in Entomology* **27**: 93–240.
- Sandoval, C., Gutiérrez, R., Luna, S., Amaya, M., Esteban, L., Ariza, H. & Angulo, V.M. 2000. High density of *Rhodnius prolixus* in a rural house in Colombia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **94**: 372–373.

- SAS. 1997. JMP version 3.1 .
- Scheiner, S.M. 1993. Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecological Systems* **24**: 35–68.
- Schlichting, C.D. & Pigliucci, M. 1998. Phenotypic Evolution. A reaction norm perspective. *Sinauer Associates, Inc, USA* p. 388.
- Schofield, C.J. 1981. Chagas disease, triatomine bugs, and blood-loss. *The Lancet* **8233**: 1316.
- Schofield, C.J. 1982. The role of blood intake in density regulation of populations of *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae). *Bulletin of Entomological Research*. **72**: 617–629.
- Schofield, C.J. 1995. Overview - biosystematics of the Reduviidae. *Proceedings of the International Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae Santo Domingo de los Colorados, Ecuador* pp. 37–42.
- Schofield, C.J. & Dias, J.C.P. 1999. The Southern Cone initiative against Chagas disease. *Advances in Parasitology* **42**: 1–27.
- Schofield, C.J., Diotaiuti, L. & Dujardin, J.P. 1999. The process of domestication in Triatominae. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **94**: 375–378.
- Schofield, C.J. & Dujardin, J.P. 1999. Theories on the evolution of *Rhodnius*. *Actualidades Biológicas* **21**: 183–197.
- Schofield, C.J., Jannin, J. & Salvatella, R. 2006. The future of Chagas disease control. *Trends in Parasitology* **22**: 583–588.
- Schofield, C.J., Williams, N.G. & Marshall, T.F. 1986. Density-dependent perception of Triatomine bug bites. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **80**: 1351–358.
- Slice, D.E. 2001. Landmark coordinates aligned by procrustes analysis do not lie in kendall's shape space. *Systematic Biology* **50**: 141–149.
- Soares, R.P. 1997. Aspectos biológicos, bioquímicos e morfológicos relacionados a atividades de vôo das principais espécies vetoras da doença de Chagas no Brasil. *Tesis, Universidad Federal de Minas Gerais* p. 94.
- Susuki, Y. & Nijhout, F. 2006. Evolution of a polyphenism by genetic accommodation. *Science* **311**: 650–652.

- Szumlewicz, A.P. 1976. Laboratory colonies of Triatominae, biology and population dynamics. *In : American Trypanosomiasis Research, PAHO Scientific Publication 318. PAHO Washington, DC* pp. 63–82.
- Tauber, M.J., Tauber, C.A. & Masaki, S. 1986. Seasonal adaptations. *Oxford Univ. press. New York* p. 411.
- Valente, V. 1999. Potential of domestication of *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) (Hemiptera, Reduvidae, Tritominae) in the municipality of Muaná, Marajó Island state of Pará, Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **94**: 399–400.
- Valente, V., Valente, S., Noireau, F., Carrasco, H. & Miles, M. 1998. Chagas disease in the amazon Basin: association of *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduvidae) with domestic pigs. *Journal of Medical Entomology* **35**: 99–103.
- Vervoort, M. 1999. La protéine de choc thermique, Hsp90, un chaperon pour le développement et l'évolution? *Médecine sciences* **15**: 1160–1161.
- Via, S., Gomulkiewicz, R., De Jong, G., Scheiner, S. & Van Tienderen, P.H. 1995. Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. *Trends in Ecology & Evolution* **10**: 212–217.
- Viana SantAnna, M.R., Diotaiuti, L., de Figueiredo Gontijo, A., de Figueiredo Gontijo, N. & Pereira, M.H. 2001. Feeding behaviour of morphologically similar *Rhodnius* species: Influence of mechanical characteristics and salivary function. *Journal of Insect Physiology* **47**: 1459–1465.
- Waddington, C.H. 1942. Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature* **150**: 563–5.
- Waddington, C.H. 1955. Genetic assimilation of the bithorax phenotype. *Evolution* **10**: 1–13.
- Wéry, M., Jansen, P., Paskoff, S. & Gentilin, M. 1995. Protozoologie médicale. *De Boeck Université* p. 273.
- West-Eberhard, M.J. 1989. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annual Review of Ecological Systems* **20**: 249–278.
- Wigglesworth, V.B. 1934. The physiology of ecdysis in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). Factors controlling moulting and metamorphosis. *Quarterly Journal of Microscopical Science* **77**: 191–222.

- Wilson, R.S. & Franklin, C.E. 2002. Testing the beneficial acclimation hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution* **17**: 66–70.
- Wolff, M. & Castillo, D. 2000. Evidencias de domesticación y aspectos biológicos de *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) (Hemiptera, Reduviidae). *Revista Entomologica Chilena* **24**: 77–83.
- Wolff, M. & Castillo, D. 2002. Domiciliation trend of *Panstrongylus rufotuberculatus* in Colombia. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **97**: 297–300.
- Wolff, M., Cuartas, E., Velasquez, C. & Jaramillo, N. 2004. Development cycle of *Panstrongylus rufotuberculatus* (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. *Journal of Medical Entomology* **41**: 1010–1014.
- Zelditch, M.L., Swiderski, D., Sheets, D. & Fink, W. 2004. Geometric Morphometrics for Biologists: A primer. *Elsevier Academic Press* p. 464.
- Zeledón, R. 1981. El *Triatoma dimidiata* (Latreille 1811) y su relación con la enfermedad de Chagas. *Editado por INCIENSA y Editorial EUNED* p. 164.
- Zeledón, R., Alvarado, R. & Jiron, L.F. 1977. Observations on the feeding and defecation patterns of three Triatomine species (Hemiptera: Reduviidae). *Acta Tropica* **34**: 65–77.
- Zeledón, R., Guardia, V., Zuñiga, A. & Swartzwelder, J. 1970. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). I. Life cycle, amount of blood ingested, resistance of starvation, and size of adults. *Journal of Medical Entomology* **7**: 313–319.
- Zeledón, R., Marín, F., Calvo, N., Lugo, E. & Valle, S. 2006. Distribution and ecological aspects of *Rhodnius pallescens* in Costa Rica and Nicaragua and their epidemiological implications. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **101**: 75–79.
- Zeledón, R., Ugalde, J.A. & Paniagua, L.A. 2001. Entomological and ecological aspects of six sylvatic species of triatomines (Hemiptera, Reduviidae) from the collection of the national biodiversity institute of Costa Rica, Central America. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* **96**: 757–764.

Growth changes in *Rhodnius pallescens* under simulated
domestic and sylvatic conditions

Harling Caro Riaño^{1,2}, Nicolás Jaramillo², Jean-Pierre Dujardin^{1*}

October 10, 2008

¹ UMR IRD - CNRS 2724, Agropolis, 911, BP 64501, 34394, Montpellier (France), and CVVD, Faculty of Sciences, University of Mahidol (Thailand). ² Grupo Chagas, Instituto de Biología, Universidad de Antioquia, A.A 1226 Medellin (Colombia)

*Corresponding author: UMR IRD - CNRS 2724, Montpellier, Av. Agropolis, 911, BP 64501, 34394 Montpellier, France, dujardinbe@gmail.com

Abstract

1 *Rhodnius pallescens* Barber 1932 is a silvatic species of Triatominae living in palm trees in
2 Colombia and part of Central America. In Colombia, the species did not adapt to domestic
3 structures and is not considered as an important vector for humans. In Panama, Costa Rica
4 and Nicaragua it is a recognized vector adapting to peridomestic and domestic structures.

5 The main condition required for a Triatominae to be a significant vector of Chagas
6 disease is its ability to colonize human dwellings. The mechanisms of this process are
7 unknown. In this adaptation to domesticity, previous authors have reported a fairly constant
8 reduction in general size and discussed its possible causes in terms of natural selection across
9 various generations or of simple growth changes within one single generation. Some authors
10 suggested that this size change could correspond to the relaxation of a selective pressure in
11 the wild, where larger phenotypes are possibly selected due to their greater capacity to resist
12 temporary food shortages. Others suggested that growth patterns could change quickly in
13 domestic conditions because of faster development time or higher population density.

14 Up to now, these hypotheses have not been explored experimentally. We built a labo-
15 ratory protocol measuring the effects of population density and feeding patterns on the
16 growth of *R. pallescens*. A total of 320 first instar nymphs from a ten generations old
17 laboratory colony were randomly subdivided into four regimes combining density and feed-
18 ing frequency variation. Using geometric morphometric techniques applied to the emerging
19 adults, we evaluated size and shape variation of the heads and the wings across the four ex-
20 perimental designs. The regimes tentatively paralleled changes occurring for a Triatominae
21 in the transition from silvatic (low population density, low feeding frequency) to domestic
22 (higher density, higher feeding frequency) habitats. Density and feeding frequency combined
23 their effect within the span of one single generation to produce similar size changes for wings
24 and heads, but significant only for the wings. No significant variation could be detected for
25 shape variation, neither for the wing nor for the head.

26

27 Our data suggest that selection is not needed to account for observed changes between
28 sylvatic and domestic ecotopes, and they did not agree with an effect of development time
29 on size. They highlighted the importance of the interaction between population density and
30 feeding frequency to produce specific and significant variation in the insect dimensions.

31

32 **Keywords:** Geometric morphometrics, shape, size, domestic habitat, Triatominae

1 Introduction

33 *Rhodnius pallescens* Barber 1932 is a silvatic species of Triatominae living in palm trees (mainly
34 *Attalea butyracea*) in Colombia and part of Central America. In Colombia, the species sometimes
35 is found in human dwellings, but seems to fail in establishing definitive colonies (Dujardin et al.,
36 2002); in this country, *R. pallescens* is not considered as an important vector for humans (Guhl
37 et al., 2007). In Panama, Costa Rica and Nicaragua, it is a recognized vector adapting to
38 peridomestic and domestic structures (Christensen & de Vasquez, 1981; Calzada et al., 2006;
39 Marin et al., 2006; Zeledón et al., 2006) .

40 The process of adaptation to domestic structures by silvatic Triatominae is still largely un-
41 known (Schofield et al., 1999). In various species of Triatominae, morphological and, to a lesser
42 extent, genetic changes have been observed associated with their adaptation from silvatic to
43 domestic or laboratory populations (Dujardin, 1998). The morphological changes generally in-
44 volved a reduction in average size (Zeledón et al., 1970; Zeledón, 1981; Dujardin et al., 1997a,
45 1999; Jaramillo et al., 2002) and a possible increase in size variance (Felicangeli et al., 2007).
46 The present study focusses on the possible mechanisms of this size variation.

47 It has been suggested that natural selection may favor larger phenotypes in less favorable
48 (more unstable or “silvatic”) habitats, possibly due to a greater capacity to resist temporary
49 food shortages (Jaramillo et al., 2002; Rodríguez et al., 2007). Alternatively, smaller individuals
50 apparently survive better under laboratory or domestic conditions where food availability is less
51 restricted: as a passive result, the average size would decrease (Schofield, 1996).

52 Zeledón et al. (1970) and Zeledón (1981) developed the hypothesis that, without necessity of
53 selection, larger size could be attributed to longer development time in silvatic conditions due to
54 delayed moults as produced by incomplete meals. Alternatively, the average size would decrease
55 in domestic conditions because of higher densities altering blood captation due to competition

56 between individuals (Dujardin et al., 1999). In this latter hypothesis, higher densities would be
57 obtained because of the more protected domestic microenvironment relative to the sylvatic one
58 where predators or parasites are more frequent and blood availability less frequent.

59 We explored here the hypothesis of growth changes within a single generation under controlled
60 experimental conditions: the frequency of feeding, which is supposed to affect size in sylvatic
61 conditions, and the crowding, supposed to be an influential factor in domestic conditions.

62 The mean values of metric variations were compared using classical ANOVA for size (Schlicht-
63 ing & Pigliucci, 1998), and MANCOVA for shape and size (Collyer & Adams, 2007). A special
64 software was written to allow non-parametric tests on inter-individual variance of size, in addition
65 to the study of means, also performing non-parametric tests on interaction between effects.

66 2 Materials and Methods

67 2.1 Experimental design

68 A total of 320 first instar nymphs of *R. pallescens* were selected at random from laboratory
69 colonies that had been maintained for more than 10 generations under controlled conditions of
70 lighting, temperature (25 ± 2 °C), relative humidity (80 ± 5 %) and bimonthly feeding on
71 hens. Nymphs were distributed randomly in four plastic containers of dimensions 15.6 x 15 x
72 18.3 cm. in a way that two flasks received each one 40 nymphs, and another two received 120
73 nymphs. Each one of the two containers of 40 and 120 nymphs was fed weekly (40_W and 120_W,
74 respectively), another set of two was fed monthly (40_M and 120_M, respectively). Nymphs were
75 fed on hens by periods of 35 minutes until they reached sexual maturity. Hens were maintained
76 according to the criteria of the Research Ethics Committee, based on resolution No. 008430
77 (1993) of the Colombian Ministry of Health.

78 **2.2 Morphometric measurements**

79 Of these 320 nymphs, 211 adults were produced (Table 1). Their head and right wing, dissected
80 and mounted by standard techniques, were photographed with a Nikon 990 digital camera fitted
81 to a Nikon SMS 800 stereomicroscope. The organs were always put at the center of the visual
82 field to reduce the risk of optical distortion. Six landmarks on each right hemi-head and seven
83 on each right wing were selected (Figure 1). One side only of the body (the right side) was used
84 to avoid interference in the analyses of within individual variation.

85

86 To detect the effects of possible peripheral optical distortion, we compared two sets of pho-
87 tographs taken on the same set of wings located at different positions in the optical field. The
88 measurement error was estimated by the “repeatability” (R) index as described by Amqvist &
89 Mårtensson (1998), i.e. a Model II oneway ANOVA on repeated measures, where “R” is provided
90 by the ratio of the between individual variance and the total variance.

91

92 **2.3 Geometric morphometrics**

93 For comparing overall wing or head size between groups, we used the isometric estimator known
94 as “centroid size” derived from coordinates data: it is defined as the square root of the sum of
95 the squared distances between the center of the configuration of landmarks and each individ-
96 ual landmark (Bookstein, 1991). Shape variables were obtained through Generalized Procrustes
97 Analysis (GPA) superimposition algorithm and thin-plate spline equation to produce the “partial
98 warps” (Rohlf, 1990; Rohlf & Slice, 1990). Both non-uniform (“partial warps”, strictly speaking)
99 and uniform components were used as shape variable.

100 Since some samples were small relative to the number of shape variables, we computed their

101 principal components (called “relative warps”, or RW) and used a subset of them without impor-
102 tant loss of information (from 77% to 85% of total variation, according to the sample examined).
103 The subsets of first RW were those maximizing the correct classification percentages using cross-
104 validation (Baylac & Frieß, 2005). For the wings, best results were obtained for the first 5 RW
105 in males and 8 RW in females; for the heads, the first 6 RW were found to produce the best
106 reclassifications in both sexes.

107 **2.4 Statistical analysis**

108 **2.4.1 Developmental time and mortality**

109 The developmental time was compared between treatments as the number of adults obtained
110 before 7 months, and after 7 months up to a total duration of 15 months. The 2 x 4 table was
111 submitted to a classical chi square analysis. Mortality was computed as the percentage of dead
112 specimens in each group, whatever the developmental stage (excluding adults).

113 **2.4.2 Size**

114 Average sizes according to treatment were plotted to show classical reaction norm graphics
115 (Pigliucci, 2005, 1998). A parametric two-way ANOVA was performed to test for separate and
116 combined effects of population density and feeding frequency (Adams, 2004; Langerhans et al.,
117 2004). A non-parametric approach (see module VAR, <http://www.mpl.ird.fr/morphometrics>)
118 was also applied to allow, in addition to means comparisons, the relevant variances comparisons.
119 This latter estimation of phenotypic plasticity is less frequently considered (Dworkin, 2005), but
120 has been reported for Triatominae (Felicangeli et al., 2007).

121

122 The non-parametric approach performed comparisons of means and variances based on per-
123 mutations (see columns D1 and D2 of Table 3). At each permutation cycle, individuals were

124 randomly exchanged among groups, the random means and variances were computed and the
125 relevant differences between them (random differences) were scored. A difference was considered
126 significant if the 95% of the random differences was lower than the observed one (99% if the
127 significance level is put at 0.01).

128 For both means and variance, the same script (VAR) also compared the pair-wise differences (D1
129 and D2) to test if one pair showed significantly larger or smaller difference than the other one
130 between the same treatments, i.e. the script also tested for interaction between effects (see col-
131 umn D1-D2 of Table 3). To do so, bootstrapping techniques were used as described by Zelditch
132 et al. (2004). At each cycle, each group was sampled with replacement, the pair-wise differences
133 (D1_40 and D2_120, or D1_W and D2_M, see Table 3) were computed again, and their difference
134 (D1-D2, Table 3) was scored. The 95% confidence interval (c.i.) of these scored differences was
135 computed after 1000 cycles (or the 99% c.i. if the significance level is put at 0.01): if containing
136 zero, the difference between pair-wise differences was considered non-significant. This test for
137 interaction is reported column D1-D2 (see Table 3).

138 2.4.3 Shape

139 To examine shape variation (Y), we adopted the general approach¹ for the statistical comparison
140 of multivariate vectors of phenotypic change as described by Collyer & Adams (2007).

141

142 The procedure is described hereafter, for more details see Collyer & Adams (2007). A two-
143 factor (density, diet) MANCOVA was used to test for differences in head or wing shape and
144 two-factor interaction. Independent variables (X) were the feeding frequencies, population den-
145 sities, and the centroid size as a covariate, while dependent variables (Y) were the relative warps

¹ $Y = XB + e$, where X is an $n * k$ design matrix describing the k model effects for n objects, B is a $k * p$ matrix of partial regression coefficients for p response variables, and e is the $n * p$ matrix of residuals

146 (RW, i.e. the principal components of the partial warps). A matrix of partial regression coeffi-
147 cients (B_f) was computed using the full design matrix (X_f , including two-factor interaction), and
148 another one (B_r) using the reduced design matrix (X_r , excluding two-factor interaction). The
149 least-squares means were computed using the full model (B_f). The phenotypic change vectors
150 were estimated from least-squares means as quantities specified by a magnitude (length) and a
151 direction (angle). It was then possible to compare different phenotypic change vectors by their
152 length² differences (D1-D2, see Tables 4 and 5). To evaluate the significance of these values, a
153 residual randomization was performed using the reduced model (X_r). The predicted values (Y_r
154 = $X_r B_r$) and residuals (e) were determined. Residuals were randomized and added to predicted
155 values to produce random values ($Y^* = Y_r + e$) such that non-targeted effects were held con-
156 stant. The full model was then used to calculate predicted values from the random data, and
157 the values (D1, D2, the difference D1-D2 and the angle between D1 and D2, see Tables 4 and 5)
158 were determined. This procedure was repeated 1000 times to compare the observed values to a
159 distribution of random values (Collyer & Adams, 2007; Collyer et al., 2007).

160

161 In a second run, exactly the same analyses were performed but using allometry-free shape
162 variation, i.e. the RW were predicted forcing centroid size to be the same (the grand mean) for
163 all individuals across groups. This procedure was allowed since the common allometric model
164 was not rejected, i.e. the MANCOVA of shape versus size, groups and the corresponding inter-
165 action did not show statistical significance for the interaction “size X groups” (details not shown).

166

²The length is measured as an Euclidean distance between least square means

167 2.4.4 Software

168 The *tpsDig* (Rohlf, 2004) was used for digitizing landmarks, *VAR* was used to perform non-
169 parametric ANOVA, *COV* to compute relative warps and MANCOVA and *PAD* to compute
170 cross-validated classifications. These scripts can be found at <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>
171 and at <http://www.mpl.ird.fr/morphometrics>. The commercial program *STATA* (Hamilton,
172 1993) was used to perform ANOVA and to graph reaction norms.

173 3 Results

174 The individuals grown with higher availability of food and at higher density, a condition which
175 could parallel domestic or laboratory ones, exhibited a faster time of development and a smaller
176 size mean, while those grown with lower availability of food in uncrowded conditions, a condition
177 reflecting what occurs in silvatic habitats, exhibited a slower time of development and a higher
178 size mean.

179 3.1 Repeatability (R)

180 Comparison of two repeated sets of photographs of the same set of wings showed fairly good
181 agreement for the centroid size ($R = 0.99$), as well as for the very first relative warps (RW1,
182 RW2 and RW3, with $R = 0.99, 0.89$ and 0.78 , respectively) representing most of the shape
183 variation. As observed by Arnqvist & Mårtensson (1998) and by us, the measurement error was
184 increasing on the following RW.

185 3.2 Developmental time and mortality

186 The 320 nymphs produced a total of 211 adults. Among the latter, all the weekly fed specimens
187 ($n=130$), versus only 42 (50%) of the monthly fed ones, arrived to adults before the seventh

188 month. The remaining monthly fed nymphs (n=39) required an additional seven months to
189 reach adult stage. These differences were statistically significant ($P < 0.001$, details not shown).
190 The percentage of dead specimens (at various stages of development, excluding adults) ranged
191 from 10 to 22% in the weekly fed groups, while it was 49% and 50% in the monthly fed ones.

192 3.3 Size

193 Sample sizes, means and standard deviations of the four treatments are listed Table 1. In general,
194 the individuals grown at a higher population density exhibited smaller sizes for wings and heads
195 (Figures 3 and 4), but significant changes were observed for wings only (Tables 2 and 3). The
196 metric changes followed approximately the same trends in males and females (Figure 2).

197

198 The analyses on size variation used both parametric (Table 2) and non-parametric (Table
199 3) tests to compare means and test for interaction between effects, while the comparisons of
200 variances used non-parametric tests only (Table 3). Both approaches examining the means
201 produced similar results, and for either the mean or the variance changes, they highlighted the
202 importance of the interaction between population density and feeding frequency. In addition to
203 parallel the classical ANOVA results, the Table 3 showed the observed differences between means
204 according to comparisons.

205 In both sexes, only wings presented significant changes of mean centroid size induced by
206 either density or feeding frequency. There was a significant interaction between these two factors
207 (Table 2, and see column D1-D2 of Table 3). In males only there was a significant change in the
208 variance of size for both wings and heads, with significant interaction for the wing variation (see
209 bottom part of Table 3).

210 The lower feeding frequency produced a significant increase of wing size in males and females
211 only when at low density (Table 3, see column D1_40, and Figure 3); the lower population density

212 produced a significant increase of wing size in both sexes only at a monthly feeding frequency
213 (Table 3, see column D2_M, and Figures 2 or 3). The D1-D2 column of Table 3 corresponds to a
214 non-parametric test of interaction: it indicates that the observed changes of size between insects
215 submitted to different diets were significantly more important at one density (40_W and 40_M)
216 than at the other one (120_W and 120_M); alternatively, it indicates that the observed changes
217 between densities were significantly more important at one feeding frequency (40_M and 120_M)
218 than at the other one (40_W and 120_W).

219

220 Table 3 also produces a similar set of comparisons and presentation for variance of size (see
221 its bottom part). Variance of size was generally similar among treatments. It could change
222 however between feeding frequencies at high population density: the 120_W treatment showed
223 larger range of sizes than the 120_M one (Figures 3 and 4), and this was significant in males
224 for both heads and wings (Table 3). In the changes of size variance for males there was an
225 interaction between density and feeding frequency: the change at high density was significantly
226 more important than at lower density (D1-D2).

227 When looking at the range of sizes exhibited by each group (Figure 3, 4), an interesting
228 visual pattern could be observed: the range of size seemed to be amputated in the area of large-
229 sized individuals at high density (120_M), while only small-sized individuals seemed to have
230 disappeared at low population density (40_M).

231 3.4 Shape

232 No significant difference was disclosed for shape changes, nor was it for allometry-free shape
233 changes, as measured by differences in magnitudes of changes (D1-D2, see Tables 4 and 5)
234 or by the angles, neither for separate factors effects (density, feeding frequency) nor for their
235 interaction (Tables 4 and 5). However, even for allometry-free differences between treatments,

236 shape changes in both sexes followed the same general pattern as size changes, i.e. the distances
237 between treatments disclosed higher values for wings than for head.

238 4 Discussion

239 A general reduction in body size had been noted in the laboratory for Triatominae reared over
240 successive generations (Szumlewicz, 1976; Zeledón, 1981; Zeledón et al., 1970). Various studies
241 also had shown that in the domestic habitat specimens also tended to be smaller than their
242 silvatic conspecifics (Harry, 1994; Dujardin et al., 1997a,b, 1999; Jaramillo et al., 2002). In the
243 literature on Triatominae, the hypotheses raised until now accounting for these differences in
244 size could be subdivided into the “selection hypothesis” and the “growth hypothesis”.

245 The selection hypothesis was formulated for both environments, domestic and silvatic, and
246 mainly related to availability of food. Because domestic conditions are apparently advantageous
247 (higher and more regular feeding frequency, absence of predators), improved survivorship of small
248 specimens could be expected in domestic conditions, and average size would decrease (Schofield,
249 1996). Alternatively, larger specimens should be favored in silvatic conditions of life due to
250 their greater capacity to resist temporary food shortages (Jaramillo et al., 2002; Rodríguez et al.,
251 2007).

252 Simple growth changes were also suggested. Zeledón et al. (1970) and Zeledón (1981) supposed
253 that the larger size of silvatic specimens could be attributed to longer development time in
254 silvatic conditions due to delayed moults as produced by incomplete meals. Dujardin et al.
255 (1999) considered that the average size would decrease in domestic conditions because of higher
256 population densities altering blood captation due to competition between individuals.

257 The present study examines the simple growth change hypothesis. It provides a quantita-
258 tive analysis of metric variation, development time and mortality under controlled changes in

259 population density and feeding frequency.

260 Mortality was related to the feeding frequency, without apparent interaction of density. In-
261 deed, from weekly to monthly frequency of feeding, mortality increased more (or much more) than
262 twice. An obvious relationship was evidenced also between feeding frequency and development
263 time. The more fed, the faster developed, whatever the population density.

264 Our data did not support an explanation involving the effect of longer developmental cycle on
265 size (Zeledón, 1981; Zeledón et al., 1970). In our experiments, there was no detectable correlation
266 of development time with size. Such relationship however is commonly reported for other insects
267 - although not always a positive correlation (Klingenberg & Spence, 1997).

268 Size was always lower at higher densities, whatever the feeding frequency, which suggests
269 the primary importance of population density. However, density and feeding frequency clearly
270 interacted to produce specific and significant changes in the insect dimensions. For instance, the
271 direction of size change from the weekly feeding condition to the monthly one was depending on
272 the population density: an increase at low density, a decrease at high density.

273 In our experiments, two treatments could parallel known conditions of life for silvatic and
274 domestic specimens: 40_M and 120_W, respectively. A low population density and a low feeding
275 frequency is supposed to occur in silvatic habitat (40_M), while a (much) higher population
276 density and feeding frequency are commonly observed in domestic conditions (120_W). The
277 metric changes disclosed between these two treatments (see Figure 3) were indeed similar to
278 those reported by previous authors: a reduction in mean size (Dujardin et al., 1999; Jaramillo
279 et al., 2002; Rodríguez et al., 2007) together with an increase of variance (Felicangeli et al.,
280 2007), although this latter was not constantly reported or significant, depending on the organ
281 (Jaramillo et al., 2002) or the species of Triatominae (Rodríguez et al., 2007). In our results,
282 significant increase of variance was observed in males only (Table 3).

283 According to our data, no other factor is required than the combination of high population

284 density and high feeding frequency to reproduce the observed changes in insect dimensions in their
285 transition from silvatic to domestic habitats. This conclusion supports the “growth hypothesis”,
286 but does not reject the “selection hypothesis”. Selection is likely, but it would need a laboratory
287 protocol conducted over various generations to be detected. Although very speculative, the simple
288 visual inspection of size ranges according to treatments reveals a possible non-random mortality
289 of nymphs. Indeed, there is an apparent lack of small sized individuals at low population density,
290 and an apparent lack of large sized individuals at high density (see Figure 3). This pattern
291 could suggest selective mortality at low feeding conditions, where mortality rate was as high as
292 50%. Thus, not only more individuals would die at low feeding frequency, but actually a defined
293 category of size according to population density.

294 Our study depicted metric changes as they may occur within one single generation only.
295 Characters able to change as fast as the changing environment may be called “labile” charac-
296 ters (Scheiner, 1993), and are considered as important in phenotypic evolution (West-Eberhard,
297 1989). In agreement with the common observation of size being more labile than shape, the sig-
298 nificant changes recorded here were exclusively size modifications. The lack of significant shape
299 or allometry-free shape variation in both wings and heads was in agreement with the common
300 idea of shape as a more stable character (than size) in the face of environmental perturbations. It
301 could however be attributed also to some lack of statistical power since some of our samples were
302 relatively small (ranging from 8 to 48 specimens), restricting the total amount of shape usable
303 for comparison. Nevertheless, results did not change when using the total number of relative
304 warps (RW). The lack of significant differences between rearing conditions on shape alone is not
305 likely to be related to excess of noise as an effect of possible optical distortion, since we used
306 the first RW where high repeatability scores were obtained while we did not use the last ones,
307 where repeatability was consistently decreasing (Arnqvist & Mårtensson, 1998) (see Materials &
308 Methods).

309

310 Significant mean size variation was limited to the wings. There was no such change detected
311 for the head size. Because heads showed similar trends than wings (Figure 2), this lack of sig-
312 nificance was probably due to either low statistical power, lower quality of landmarks (all head
313 landmarks are type II landmarks of see Figure 1), or both. They also could indicate a better
314 canalization for head than for wing dimensions. However, both wings and heads showed signifi-
315 cant changes for the variance of size, limited to males only (Table 3).

316

317 Thus, as long as *R. pallescens* is a representative species of the Triatominae, our results
318 suggest that no additional factor is needed than the two factors (density and feeding) explored
319 here to account for commonly observed differences between silvatic and domestic Triatominae.
320 This is not to say that we can exclude the intervention of possible complementary forces. For
321 instance, selective mortality of small specimens in silvatic conditions could be enhanced by the
322 activity of predators, which are generally absent or less frequent in domestic habitat.

323 5 Acknowledgments

324 To D. Adams (Iowa, USA) and M. Baylac (MNHN, France) for kind help and suggestions.
325 This work benefited from an IRD grant (“Bourse de thèse doctorale”) to HCR, as well as an
326 international collaboration through the ECLAT network.

327 References

- 328 Adams, D.C. 2004. Character displacement via aggressive interference in appalachian salaman-
329 ders. *Ecology* **85**: 2664–2670.
- 330 Arnqvist, G. & Mårtensson, T. 1998. Measurement error in geometric morphometrics: empirical
331 strategies to assess and reduce its impact on measure of shape. *Acta Zoologica Academiae*
332 *Scientiarum Hungaricae*, *44(1-2)*: 73-96 .
- 333 Baylac, M. & Frieß, M. 2005. Fourier descriptors, Procrustes superimposition, and data dimen-
334 sionality: an exemple of cranial shape analysis in modern human populations. *In Slice ed.*
335 *Modern Morphometrics in Physical Anthropology, Chap. 6, p. 145-165* .
- 336 Bookstein, F. 1990. Introduction to methods for landmark data. *pp 216-225. In F. J. Rohlf and*
337 *F. L. Bookstein (eds.), Proceedings, Michigan Morphometrics Workshop, 1988. The University*
338 *of Michigan Museum of Zoology, Special Publication No. 2, Ann Arbor, MI* .
- 339 Bookstein, F.L. 1991. Morphometric tools for landmark data: Geometry and Biology. *Cambridge*
340 *University Press, Cambridge, 435 pp* .
- 341 Calzada, J.E., Pineda, V., Montalvo, E., Alvarez, D., Santamaria, A.M., Samudio, F., Bayard,
342 V., Caceres, L. & Saldaña, A. 2006. Human trypanosome infection and the presence of in-
343 tradomicile *Rhodnius pallescens* in the western border of the Panamá canal, Panamá. *Am. J.*
344 *Trop. Med. Hyg.*, *74(5)*: 762-765 .
- 345 Christensen, H.A. & de Vasquez, A.M. 1981. Host feeding profiles of *Rhodnius pallescens*
346 (Hemiptera: Reduviidae) in rural villages of Central Panamá. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, *30(1)*:
347 *278-283* .

- 348 Collyer, M. & Adams, D.C. 2007. Analysis of two state multivariate phenotypic change in
349 ecological studies. *Ecology* **88**: 683–692.
- 350 Collyer, M., Stockwell, C.A., Adams, D.C. & Hildegard, M. 2007. Phenotypic plasticity and
351 contemporary evolution in introduced populations: evidence from translocated populations of
352 white sands pupfish (*Cyprinodon tularosa*). *Ecol Res* **22**: 902–910.
- 353 Dujardin, J.P. 1998. Population genetics and the natural history of domestication in Triatominae.
354 *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **93**, suppl II: 34-36 .
- 355 Dujardin, J.P., Bermúdez, H., Casini, C., Schofield, C.J. & Tibayrenc, M. 1997a. Metric differ-
356 ences between silvatic and domestic *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) in Bolivia.
357 *Journal of Medical Entomology* **34**(5): 544-552 .
- 358 Dujardin, J.P., Bermúdez, H. & Schofield, C.J. 1997b. The use of morphometrics in entomological
359 surveillance of silvatic foci of *Triatoma infestans* in Bolivia. *Acta Tropica* **66**: 145-153 .
- 360 Dujardin, J.P., Schofield, C.J. & Panzera, F. 2002. Los Vectores de la Enfermedad de Chagas.
361 Investigaciones taxonómicas, biológicas y genéticas. *Académie Royale des Sciences d'Outre-*
362 *Mer, Classe des Sciences naturelles et médicales. Traduction espagnole .*
- 363 Dujardin, J.P., Steindel, M., Chavez, T., Martínez, E. & Schofield, C.J. 1999. Changes in
364 the sexual dimorphism of Triatominae in the transition from natural to artificial habitats.
365 *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **94**: 565-569 .
- 366 Dworkin, I. 2005. Canalization, cryptic variation and developmental buffering: A critical ex-
367 amination and analytical perspective. *In: Variation, B. Hallgrímsson and B.K. Hall editors.*
368 *Academic Press Chapter 8*: 131–158.
- 369 Feliciangeli, M., Sanchez-Martin, M., Marrero, R., Davies, C. & Dujardin, J. 2007. Morphometric

- 370 evidence for a possible role of *Rhodnius prolixus* from palm trees in house re-infestation in the
371 State of Barinas (Venezuela). *Acta Tropica*. 101: 169-177 .
- 372 Guhl, F., Aguilera, G., Pinto, N. & Vergara, D. 2007. Actualización de la distribución geográ-
373 fica y ecoepidemiología de la fauna de triatominos (Reduviidae: Triatominae) en Colombia.
374 *Biomédica*, 27(Supl. 1): 143-62 .
- 375 Hamilton, L.C. 1993. Statistics with Stata 3. *Duxbury Press, Wadsworth, Belmont, CA* .
- 376 Harry, M. 1994. Morphometric variability in the Chagas' disease vector *Rhodnius prolixus*.
377 *Japanese Journal of Genetics* 69: 233-250 .
- 378 Jaranillo, N., Castillo, D. & Wolff, M. 2002. Geometric morphometric differences between
379 *Panstrongylus geniculatus* from field and laboratory. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97
380 (5): 667-673 .
- 381 Klingenberg, C.P. & Spence, J.R. 1997. On the role of body size for life-history evolution.
382 *Ecological Entomology* 22: 55-68.
- 383 Langerhans, R.B., Layman, C.A., Shokrollahi, A.M. & DeWitt, T.J. 2004. Predator-driven
384 phenotypic diversification in *Gambusia affinis*. *Evolution* 58: 2305-2318.
- 385 Marin, F., Lugo, E., Valle, S. & Zeledón, R. 2006. Notes on *Rhodnius pallescens*, *Triatoma*
386 *ryckmani* and four other species of triatomines from Nicaragua. *Annals of Tropical Medicine*
387 *and Parasitology* 100 (6): 181-186.
- 388 Pigliucci, M. 1998. Ecological and evolutionary genetics of *Arabidopsis*. *Trends in plant science*
389 3: 485-489.
- 390 Pigliucci, M. 2005. Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends Ecol.*
391 *Evol* 20: 481-486.

- 392 Rodríguez, J., González, O., Nodarze, J., Fidalgo, L. & Dujardin, J. 2007. Morphometric changes
393 of *Triatoma flavida* Neiva, 1911 (Hemiptera: Triatominae) in the transition from sylvatic to
394 laboratory condition. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 49: 127-130 .
- 395 Rohlf, F.J. 1990. Rotational fit (Procrustes) methods. In: *Proceedings of the Michigan Mor-*
396 *phometrics Workshop. Special Publication Number 2. The University of Michigan Museum of*
397 *Zoology. Ann Arbor, MI, pp380* (F. Rohlf & F. Bookstein, eds), pp. 227–236. University of
398 Michigan Museums, Ann Arbor.
- 399 Rohlf, F.J. 2004. Tpsdig. Department of Ecology and Evolution, State University of New York
400 at Stony Brook, Stony Brook, NY 11794.
- 401 Rohlf, F.J. & Slice, D.E. 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimpo-
402 sition of landmarks. *Syst. Zool.* 39:40 59 .
- 403 Scheiner, S.M. 1993. Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology*
404 *and Systematics*, 24: 35-68 .
- 405 Schlichting, C.D. & Pigliucci, M. 1998. *Phenotypic evolution: a reaction norm perspective*. Sinauer
406 Associates, Inc. Sunderland, MA, 387 pp.
- 407 Schofield, C.J. 1996. Overview - Biosystematics of the Reduviidae. *Proceedings of the Interna-*
408 *tional Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae Santo Domingo de los*
409 *Colorados, Ecuador pp. 37-42* .
- 410 Schofield, C.J., Diotaiuti, L. & Dujardin, J.P. 1999. The process of domestication in Triatominae.
411 *Memorias of Instituto Oswaldo Cruz 94 Suppl I: 375-378* .
- 412 Szumlewicz, A.P. 1976. Laboratory colonies of Triatominae, biology and population dynamics.
413 *Pp. 63-82. In : American Trypanosomiasis Research, PAHO Scientific Publication 318. PAHO*
414 *Washington DC* .

- 415 West-Eberhard, M. 1989. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annual Review of*
416 *Ecology and Systematics*, 20: 249-278 .
- 417 Zelditch, M.L., Swiderski, D.L., D., S.H. & Fink, W.L. 2004. *Geometric morphometrics for*
418 *biologists: A primer*. Elsevier, Academic Press. New-York.
- 419 Zeledón, R. 1981. El *Triatoma dimidiata* (Latreille 1811) y su relación con la enfermedad de
420 Chagas. *Editado por INCIENSA y Editorial EUNED* ,164 pp .
- 421 Zeledón, R., Calvo, N., Marin, F., Lugo, E. & Valle, S. 2006. Distribution and ecological aspects
422 of *Rhodnius pallescens* in Costa Rica and Nicaragua and their epidemiological implications.
423 *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 101(1): 75-79 .
- 424 Zeledón, R., Guardia, V., Zuñiga, A. & Swartzwelder, J. 1970. Biology and ethology of *Triatoma*
425 *dimidiata* (Latreille, 1811). I. Life cycle, amount of blood ingested, resistance of starvation,
426 and size of adults. *J. Med. Entomol.*, 7: 313-319 .

| Treatment | | Female | | Male | |
|-----------|----|--------|--------|-------|--------|
| | | Wing | Head | Wing | Head |
| 40W | n | 15 | 17 | 19 | 19 |
| | m | 947.2 | 1218.7 | 893.1 | 1171.9 |
| | sd | 46.6 | 51.1 | 51.1 | 50.1 |
| 40M | n | 8 | 11 | 9 | 9 |
| | m | 1046.0 | 1234.5 | 966.3 | 1180.8 |
| | sd | 56.5 | 39.9 | 52.8 | 49.8 |
| 120W | n | 42 | 48 | 46 | 43 |
| | m | 933.3 | 1217.1 | 865.3 | 1159.8 |
| | sd | 50.2 | 47.1 | 61.1 | 61.6 |
| 120M | n | 26 | 26 | 35 | 35 |
| | m | 913.7 | 1212.2 | 840.2 | 1154.7 |
| | sd | 27.1 | 27.2 | 25.9 | 25.4 |

Table 1: Sample sizes (n), mean size (m) and standard deviation (sd) of each treatment: 40W = density 40 weekly feeding; 40M = density 40 monthly feeding; 120W = density 120 weekly feeding; 120M = density 120 monthly feeding.

| Sex | Trait | Density | Feeding | Interaction |
|---------|-------|---------|---------|-------------|
| Females | Wings | 0.000* | 0.001* | 0.000* |
| | Heads | 0.227 | 0.580 | 0.293 |
| Males | Wings | 0.000* | 0.039 | 0.000* |
| | Heads | 0.093 | 0.853 | 0.555 |

Table 2: Two-way ANOVA for centroid size, by density and feeding patterns. Density = either 40 or 120; Feeding = either weekly or monthly feeding frequency; * = significant interaction after Bonferroni adjustment at alpha 0.05.

| Mean size | | | | | | |
|-----------|-------|---------|--------|---------|--------|-------------|
| Sex | Trait | Feeding | | Density | | Interaction |
| | | D1_40 | D2_120 | D1_W | D2_M | D1-D2 |
| Females | Wings | -98.8* | 19.7 | 13.9 | 132.4* | -118.5* |
| | Heads | -15.8 | 4.9 | 1.6 | 22.3 | -20.7 |
| Males | Wings | -73.3* | 25.1 | 27.7 | 126.1* | -98.4* |
| | Heads | -8.9 | 4.6 | 12.5 | 26.0 | -13.5 |

| Variance of size | | | | | | |
|------------------|-------|---------|---------|---------|--------|-------------|
| Sex | Trait | Feeding | | Density | | Interaction |
| | | D1_40 | D2_120 | D1_W | D2_M | D1-D2 |
| Females | Wings | -1027.6 | 1787.5 | -352.3 | 2462.8 | -2815.1 |
| | Heads | 1017.0 | 1483.1 | 393.3 | 859.4 | -466.1 |
| Males | Wings | -172.7 | 3057.2* | -1115.1 | 2114.8 | -3229.9* |
| | Heads | 31.1 | 3141.9* | -1276.7 | 1834.1 | -3110.8 |

Table 3: Non-parametric tests for means and variances of size. D1_40 = differences of means between weekly and monthly feeding rhythms, at density 40; D2_120 = the same differences at density 120; D1_W = differences of means between densities when weekly fed; D2_M = the same differences when monthly fed; D1_40 = differences of variances between feeding rhythms, at density 40; D2_120 = the same differences at density 120; D1_W = differences of variances between densities when weekly fed; D2_M = the same differences when monthly fed; D1-D2 = either (D1_40 - D2_120) or (D1_W - D2_M). Interaction = D1-D2. * = significant interaction after Bonferroni adjustment at alpha 0.05.

| | Wing | | Head | | |
|-------------|--------|-----------|---------------|-----------|--------------|
| | E | <i>Ec</i> | E | <i>Ec</i> | |
| Females | | | | | |
| Interaction | NS | <i>NS</i> | NS | <i>NS</i> | |
| Feeding | D1_40 | 0.013 | <i>0.021</i> | 0.012 | <i>0.011</i> |
| | D2_120 | 0.013 | <i>0.012</i> | 0.004 | <i>0.004</i> |
| | D1-D2 | 0.000 | <i>0.009</i> | 0.008 | <i>0.007</i> |
| Angle | | <i>80</i> | | <i>17</i> | |
| Density | D1_W | 0.013 | <i>0.013</i> | 0.007 | <i>0.006</i> |
| | D1_M | 0.022 | <i>0.027</i> | 0.006 | <i>0.005</i> |
| | D1-D2 | -0.009 | <i>-0.014</i> | 0.001 | <i>0.001</i> |
| Angle | | <i>57</i> | | <i>80</i> | |

Table 4: Magnitude and direction of phenotypic changes in female specimens of *R. pallescens*. E = Euclidean distance between relative warps; *Ec* = Euclidean distance between relative warps corrected for size variation; D1_40 = distances E and *Ec* between feeding rhythms at density 40; D2_120 = the same distances at density 120; D1_W = distances between densities when weekly fed; D2_M = the same distances when monthly fed; D1-D2 = (D1_40 - D2_120) or (D1_W - D2_M). Angle = angle between D1 and D2. W = wing; H = head. No angle was significant. All distances and or differences were not significant.

| | | Wing | | Head | |
|-------------|--------|--------|---------------|--------|---------------|
| Males | | E | <i>Ec</i> | E | <i>Ec</i> |
| Interaction | | NS | <i>NS</i> | NS | <i>NS</i> |
| Feeding | D1_40 | 0.019 | <i>0.024</i> | 0.007 | <i>0.007</i> |
| | D2_120 | 0.020 | <i>0.016</i> | 0.007 | <i>0.008</i> |
| | D1-D2 | -0.001 | <i>0.008</i> | 0.000 | <i>-0.001</i> |
| Angle | | | <i>51</i> | | <i>45</i> |
| Density | D1_W | 0.012 | <i>0.014</i> | 0.003 | <i>0.002</i> |
| | D1_M | 0.019 | <i>0.018</i> | 0.005 | <i>0.005</i> |
| | D1-D2 | -0.007 | <i>-0.004</i> | -0.002 | <i>-0.003</i> |
| Angle | | | <i>70</i> | | <i>69</i> |

Table 5: Magnitude and direction of phenotypic changes in male specimens of *R. pallescens*. E = Euclidean distance between relative warps; *Ec* = Euclidean distance between relative warps corrected for size variation; D1_40 = distances E and *Ec* between feeding rhythms at density 40; D2_120 = the same distances at density 120; D1_W = distances between densities when weekly fed; D2_M = the same distance when monthly fed; D1-D2 = (D1_40 - D2_120) or (D1_W - D2_M). Angle = angle between D1 and D2. W = wing; H = head. No angle was significant. All distances and or differences were not significant.

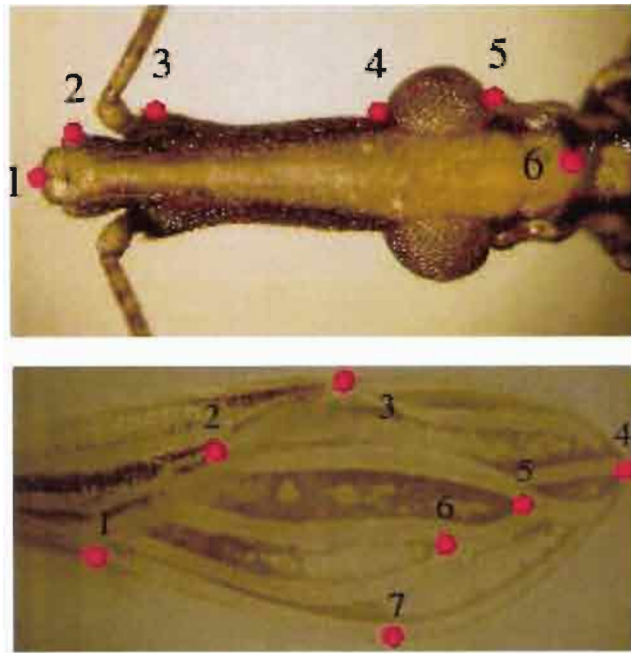


Figure 1: Landmarks collected from heads (top) and wings (bottom). The landmarks (LM) are defined as type II (all head LM, wing LM 4 and 7) and type I (remaining wings LM). See (Bookstein, 1990)

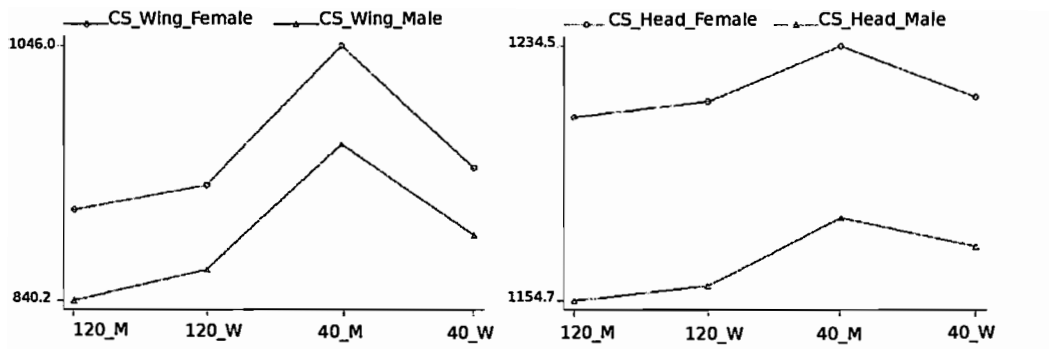


Figure 2: Reaction norms of wings and heads size. 40_W. density 40 when weekly fed; 40_M. density 40 when monthly fed; 120_W. density 120 when weekly fed; 120_M. density 120 when monthly fed

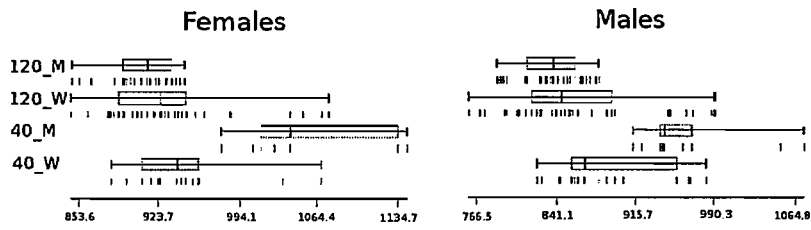


Figure 3: Median and dispersion of wings size in each treatment. Each box shows the group median separating the 25th and 75th quartiles, with the 10th and 90th quartiles shown as lines on each side of the box. 40_W. density 40 when weekly fed; 40_M. density 40 when monthly fed; 120_W. density 120 when weekly fed; 120_M. density 120 when monthly fed

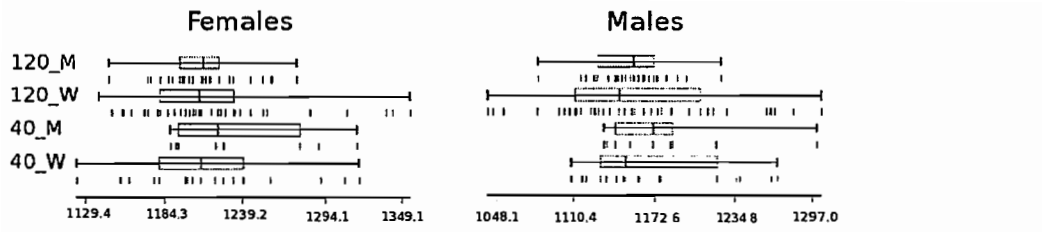


Figure 4: Median and dispersion of head size in each treatment. Each box shows the group median separating the 25th and 75th quartiles, with the 10th and 90th quartiles shown as lines on each side of the box. 40_W. density 40 when weekly fed; 40_M. density 40 when monthly fed; 120_W. density 120 when weekly fed; 120_M. density 120 when monthly fed

Genetic and Morphometric Evidence for Population Isolation of *Glossina palpalis gambiensis* (Diptera: Glossinidae) on the Loos Islands, Guinea

MAMADOU CAMARA,¹ HARLING CARO-RIANO,² SOPHIE RAVEL,³ JEAN-PIERRE DUJARDIN,² JEAN-PIERRE HERVOUET,⁴ THIERRY DE MEEÛS,² MOISE S. KAGBADOUNO,¹ JEREMY BOUYER,⁵ AND PHILIPPE SOLANO⁶

J. Med. Entomol. 43(5): 853–860 (2006)

ABSTRACT Allele frequencies at four microsatellite loci, and morphometric features based on 11 wing landmarks, were compared among three populations of *Glossina palpalis gambiensis* (Diptera: Glossinidae) in Guinea. One population originated from the Loos islands separated from the capital Conakry by 5 km of sea, and the two others originated from the continental mangrove area close to Dubreka, these two groups being separated by ≈ 30 km. Microsatellites and wing geometry data both converged to the idea of a separation of the Loos island population from those of the mangrove area. Although occasional contacts cannot be excluded, our results support the hypothesis of the Loos population of tsetse flies being a completely isolated population. This situation will favor a sequenced intervention against human African trypanosomosis and the possibility of an elimination of tsetse from this island.

KEY WORDS *Glossina palpalis*, microsatellite DNA, geometric morphometrics, wings, Guinea

Human African trypanosomosis (HAT, or sleeping sickness) is showing some signs of declining due to recent efforts on case detection and treatment, notably in Central Africa (Jannin 2005). However the situation in West Africa is much less clear, and Guinea and Côte d'Ivoire are thought to be the two countries most affected by this disease (Camara et al. 2005, Kaba et al. 2006). Guinea has a long history of sleeping sickness, which was particularly prevalent in the years 1930–1940 (Bregues et al. 1964). Current data show prevalences up to 2–5% in villages of the coastal mangrove area (Dubreka focus) (Camara et al. 2005). The Loos islands are completely separated from this mangrove area of the mainland. The situation of HAT in these islands is not currently known, but there are historical reports of the disease: in 1942, a medical survey conducted by Med. Cap. Héricord detected 30 patients. In 1944, out of 1,924 inhabitants who were registered from the islands, 1,627 were visited, and 16 cases were detected (15 on Kassa island and one on Fotoba island). After that, little information has been

available except for seven cases originating from these islands between 1971 and 1987; these cases were passively detected and treated in Dubreka. It is not known whether the disease was autochthonous or was imported from other localities.

In West Africa, HAT is mainly transmitted by the tsetse fly species *Glossina palpalis* Van der Planck (Diptera: Glossinidae). Control of tsetse can be achieved through a variety of techniques, including traps, insecticide impregnated targets, live-baits, sequential aerial spraying, and sterile male release (Cuisance et al. 1980). Generally, however, the tsetse populations then tend to recover, due to either flies surviving the initial interventions, migrant flies coming from untreated regions, or both. To achieve and sustain local elimination of a target fly population, it is therefore preferable to define the area of intervention to include an entire panmictic fly population, such that natural immigration from neighboring localities is of low likelihood. This end is most readily achieved for isolated island populations, as shown by the elimination of *Glossina pallidipes* Austin from the Island of Principe in 1914 (Da Costa et al. 1916), and the elimination of *Glossina austeni* Newstead from Unguja Island of Zanzibar in 1997 (Vreysen et al. 2000). But for most mainland populations of tsetse, the geographical limits of target tsetse populations are less easily definable. Application of population genetics techniques can reveal the existing level of population differentiation in tsetse, providing guidance on the distribution of genetically defined subpopulations. In essence, the

¹ PNLTHA Conakry, BP 851 Guinée.

² GEMI, UMR CNRS IRD 2724, centre IRD Montpellier, 911 avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier cedex 5, France.

³ IRD UR 177, Laboratoire de Recherche et de Coordination sur les Trypanosomoses IRD/CIRAD, Campus de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5, France.

⁴ IRD/IRSAM, UPPA, 64000 Pau, France.

⁵ CIRDES/CIRAD-EMVT, Bobo-Dioulasso, 01 BP 454 Burkina Faso.

⁶ CIRDES/IRD UR 177, Bobo-Dioulasso, 01 BP 171, Burkina Faso. Corresponding author, e-mail: solano@mpl.ird.fr.

population genetics models are used to estimate rates of gene flow between populations, which are taken as a surrogate for the rate of migration of individuals (Patterson and Schofield 2005). Initial studies already showed evidence of strong structuring of *G. palpalis* populations in fragmented landscapes (Solano et al. 2000). With more detailed study, it should therefore be possible to determine key areas where tsetse control interventions can proceed with relatively low risk of reinvasion from neighboring areas.

To examine the population structure of *G. palpalis*, we used two approaches in the current study, one approach based on genetic variation at microsatellite DNA loci and the other approach based on phenetic variation as described by the geometry of the wings. The main objective was to assess whether the tsetse population from Loos islands was isolated from two other populations of the mangrove area of the HAT focus of Dubreka.

Materials and Methods

Study Area. The HAT focus of Dubreka is located ≈ 45 km from Conakry, the capital of Guinea. HAT has shown incidences up to 5% in some of the visited villages from 1997 to 2005. The area is situated among the coastal mangrove, with anthropic Guinean savannah, and permanent or temporary inundated areas. Near the town of Dubreka (25,000 inhabitants), people live in villages of between 300 and 2,000 inhabitants, fragmented in many smaller localities. Main activities include fishing, salt extraction, and agriculture ("vergers" of *Elaeis guineensis*, mangoes, rice, and food crops). Loos islands are separated from the mainland, by 5 km of sea at the shortest distance. But the first mangrove area where tsetse occur are at ≈ 20 km from these islands (Fig. 1).

Entomological Surveys. In May 2005, six Vavoua traps (Laveissière and Grébaud 1990) were placed on Fotoba island (Loos islands), and 23 traps were placed in two mainland localities of the littoral (Magnokhoun) and mangrove (Touguissoury) areas. These two mainland localities are separated by ≈ 15 km, and the shortest distance between them and Loos islands is 30 km. Cages were changed daily during 2 to 4 days, and tsetse were counted and separated by sex. From each dissected tsetse, the wings were removed and put in individual, labeled, dry Eppendorf tubes, and three legs were removed and put in individual, labeled, dry Eppendorf tubes.

Microsatellite Loci. In total, 71 individuals were used for the genetic analyses at microsatellite loci: 23 in Loos islands (14 males [M], nine females [F]), 28 in Magnokhoun (14 M, 14 F), and 21 in Touguissoury (10 M, 10 F).

Four microsatellite loci were analyzed: Gpg55,3 (Solano et al. 1997); pgp11 and pgp1 (Luna et al. 2001), and B104 (kindly provided by A. S. Robinson, IAEA, Vienna, Austria). Locus Gpg55,3 has been reported to be located on the X chromosome (Solano et al. 1997, Gooding et al. 2004), and given an absence of heterozygotes on a subsample of males (data not shown),

B104 and pgp11 also were interpreted to be located on the X chromosome.

To each tube containing the legs of the tsetse, 200 μ l of 5% Chelex chelating resin was added (Walsh et al. 1991, Solano et al. 2000). After incubation at 56°C for 1 h, DNA was denatured at 95°C for 30 min. The tubes were then centrifuged at 12,000 $\times g$ for 2 min and frozen for later analysis.

The polymerase chain reaction (PCR) reactions were carried out in a thermocycler (MJ Research, Cambridge, United Kingdom) in 10- μ l final volume, by using 1 μ l of the supernatant from the extraction step. After PCR amplification, allele bands were routinely resolved on a 4,300 DNA Analysis System from LI-COR (Lincoln, NE) after migration in 96-lane reloadable (3 \times) 6.5% denaturing polyacrylamide gels. This method allows a multiplex by the use of two infrared dyes (IRDye), separated by 100 nm (700 and 800 nm), and read by a two-channel detection system that uses two separate lasers and detectors to eliminate errors due to fluorescence overlap. To determine the different allele sizes, a large panel of ≈ 30 size markers was used. These size markers had been previously generated by cloning alleles from individual tsetse flies into pGEM-T Easy Vector (Promega, Madison, WI). Three clones of each allele were sequenced using the T7 primer and the Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction kit (Applied Biosystems, Foster City, CA). Sequences were analyzed on an Applied Biosystems 310 automatic DNA sequencer, and the exact size of each cloned allele was determined. PCR products from these cloned alleles were run in the same acrylamide gel as the samples, allowing the allele size of the samples to be determined accurately.

Microsatellite Data Analysis. For the total sample subdivided into the three localities, Wright's F_{is} (within sample heterozygote deficiency, a measure of deviation from panmixia) and F_{st} (measure of population differentiation) were estimated using Weir and Cockerham's unbiased estimators (f for F_{is} , θ for F_{st}) (Weir and Cockerham 1984). For random mating (within samples) or random distribution of individuals (between samples), F values are expected to be zero. When F_{st} was measured, it was compared with $F_{st\ max} = 1 - H_s$ (Hedrick 1999, 2005).

The significance of F_{is} (deviation from panmixia) at each locus, and over all loci, also was tested separately within each sample by using 10,000 permutations of alleles between individuals. Males were hemizygous at loci on the X chromosome. For these loci, measure of F_{is} and its significance were conducted only on females. The significance of F_{st} (population differentiation) was assessed using 10,000 permutations of genotypes among samples. To evaluate significance when multiple tests were performed, the sequential Bonferroni procedure was applied (Rice 1989).

An unweighted pair-group method with arithmetic average (unweighted pair group method with arithmetic mean) dendrogram was built based on Cavalli-Sforza and Edwards (1967) chord distance between the three populations. This distance is indeed the most

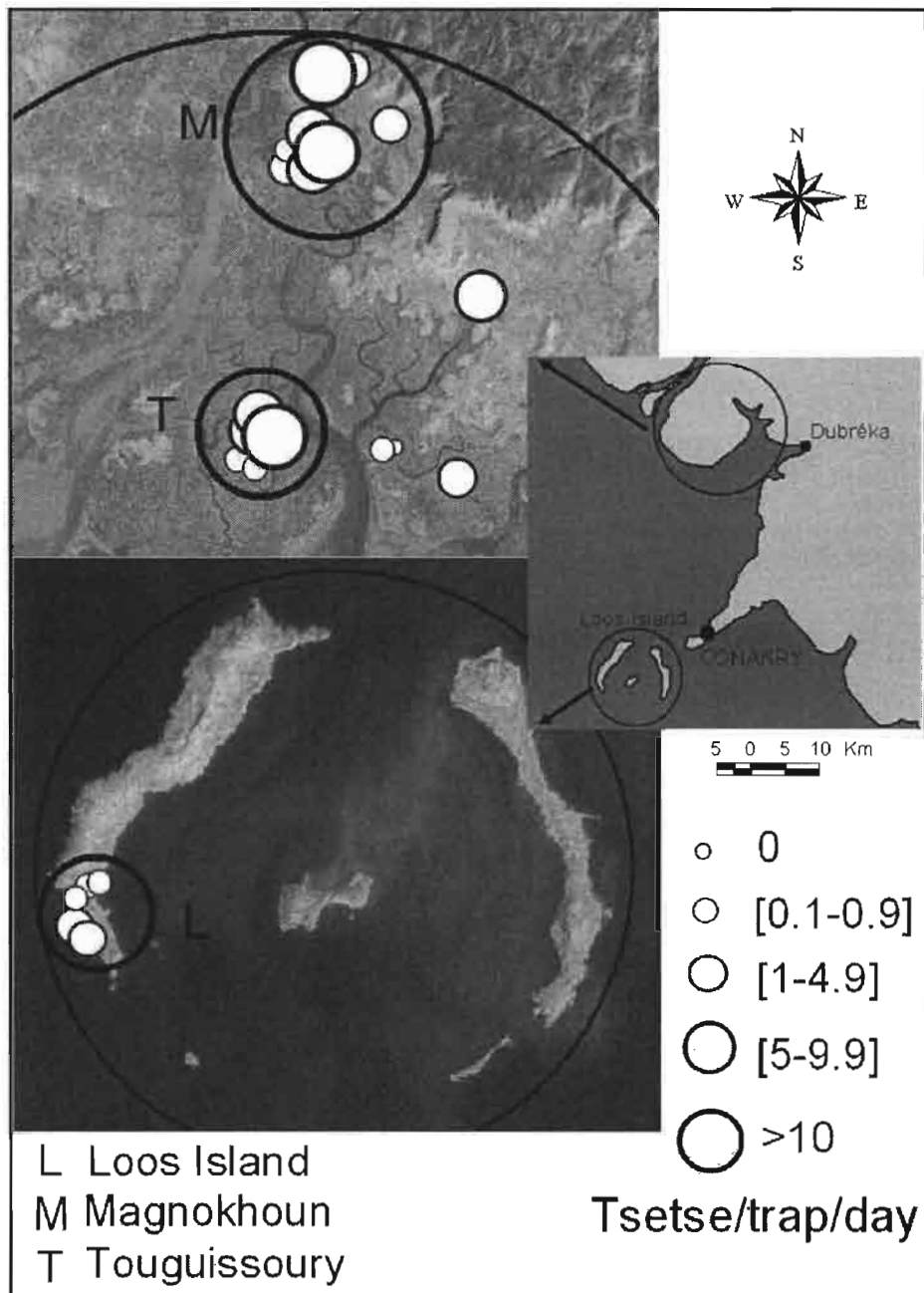


Fig. 1. Geographic location of study area. The circles correspond to the three localities of the tsetse samples. L, Loos islands; M, Magnokhoun; and T, Touguissoury.

appropriate for tree construction (Takezaki and Nei 1996).

Morphometrics. Out of the 71 individuals submitted to microsatellite analyses, 64 showed wings in good state for morphometric studies. Wings were dry-mounted between two microscope slides and scanned at 3,200 dpi. On this image, 11 landmarks defined by vein intersections were recorded (Fig. 2). Their coordinates were subjected to generalized Procrustes analysis (GPA) (Rohlf 1990, 1996). Centroid size (Bookstein 1991) was used to describe size changes among sexes and localities (Fig. 3).

For geographic comparisons, 18 “partial warps” (PW), corresponding to 11 landmarks (Fig. 2) were computed from the right wings by using the total

sample, mixing males and females: 18 individuals from Loos islands (10 M, 8 F), 24 from Magnokhoun (13 M, 11 F), and 22 from Touguissoury (13 M, 9 F). To circumvent the problem of small sample sizes relative to the large number of variables (18 PW), the 11 first “relative warps” (principal components of the PW) were used instead, representing >95% of the total shape variation. The residual allometry was estimated by multivariate regression of PW on size, on the total sample and separately in each sex, and statistical significance estimated by 1,000-runs permutation tests (Good 2000). To estimate the contribution of size variation to the geographic distinction provided by the discriminant functions, each of these was regressed on size variation (Fig. 4). The Mahalanobis distances were

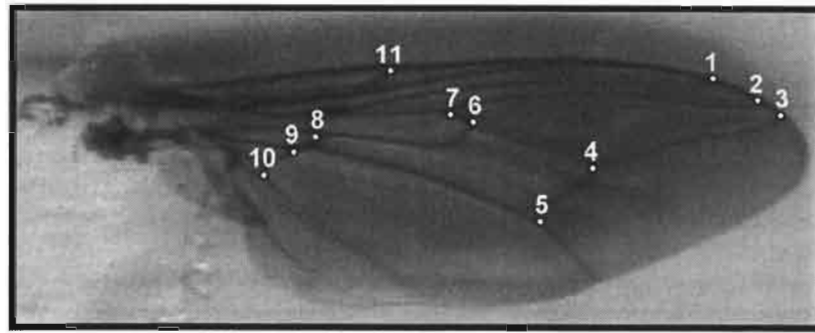


Fig. 2. Location of the 11 landmarks that were recorded for each tsetse wing.

examined for significance by permutation tests (1,000 runs) and used to construct an unweighted pair-group method with arithmetic average dendrogram. Based on these distances, the percentage of correctly assigned individuals was also computed for each locality.

For bilateral differences, only a subset of the total sample was used (9 M, 6 F from Loos, 8 M and 5 F from Magnokhoun, and 11 M and 7 F from Touguissoury). Five landmarks could be retained (Fig. 2, see landmarks 1, 3, 5, 10, and 11). To provide a better estimate of digitizing error, both wings of each individual were recorded three times (Møller and Swaddle 1997).

Size asymmetry was estimated on the basis of centroid size and followed the analysis of variance (ANOVA) procedure recommended by Palmer and Strobeck (1986). In the absence of significant directional asymmetry, the distribution of signed differences was examined for kurtosis to assess the existence of fluctuating asymmetry (or reject the existence of antisymmetry).

Software. The F_{is} and F_{st} estimators were calculated with FSTAT version 2.9.3 software (Goudet 1995). Cavalli-Sforza and Edwards (1967) chord distances were computed by the GENETIX version 4 software package (Laboratoire Génome et Populations, Centre National de la Recherche Scientifique Unité Propre de Recherche 9060, Université de Montpellier II, Montpellier, France).

Collection of anatomical landmarks, GPA, multivariate analyses as well as asymmetry detection and measurement were performed using software freely available at <http://www.mpl.ird.fr/morphometrics> (developed by J.P.D.).

PHYLIP package (by J. Felsenstein, <http://evolution.genetics.washington.edu/phylic.html>) was used to construct the unweighted pair-group method with arithmetic average tree, and NJPLOT (<http://pbil.univ-lyon1.fr>) was used for tree edition (Perrière and Gouy 1996).

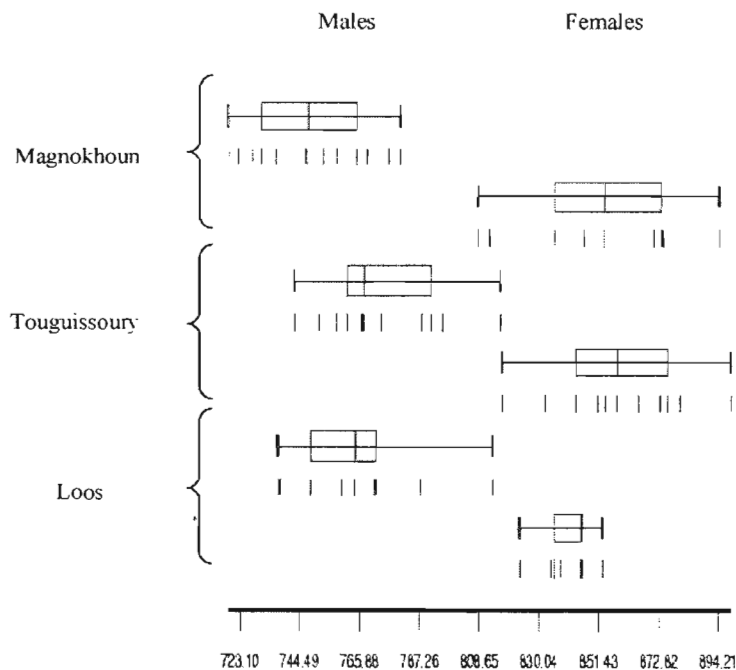


Fig. 3. Quantile plots showing in each sex the distribution of individuals along the isometric estimator of size (centroid size). Each box shows the group median separating the 25th and 75th quartiles, with the 10th and 90th quartiles shown as lines on the right and left sides of the box.

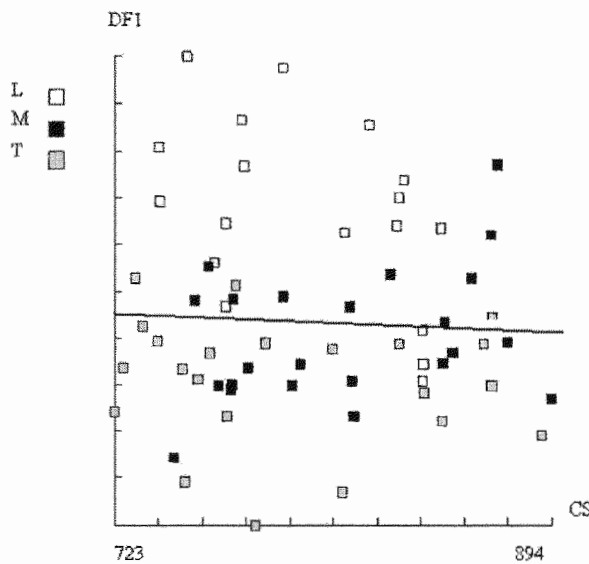


Fig. 4. Regression of first discriminant factor on centroid size. Vertical axis is the DF1, representing 84% of the total discrimination. Horizontal axis is the centroid size of the wing, in pixels. White squares, Loos (L); black squares, Magnokhoun (M); and gray squares, Touguissoury (T). Regression line is shown.

Results

Entomological Surveys. Of 421 tsetse (240 M, 181 F) that were trapped during the survey, all were *G. p. gambiensis* based on morphological characters and on geographical distribution. The apparent density (AD) averaged 4.53 tsetse per trap per day. On Loos islands, 26 tsetse in total were caught (AD of 1.44 tsetse per trap per d), 277 were caught at Magnokhoun (AD of 6.15 tsetse per trap per d), and 118 at Touguissoury (AD of 4.07 tsetse per trap per d).

Genetics. From the 71 individuals analyzed, the number of alleles at each locus was 18, 13, 16, and 14 for loci B104, Pgp11, Pgp1, and Gpg55,3 respectively (Table 1). The Loos sample had the lowest number of alleles. Weir and Cockerham (1984) estimators indicated an overall F_{is} of 0.15 ($P < 0.001$) and an averaged F_{is} per population of 0.18, 0.16, and 0.13, respectively, for Loos, Magnokhoun, and Touguissoury, none of these values being significant (Table 2).

Overall F_{st} averaged +0.032 ($P < 0.0001$), indicating genetic differentiation between the three populations. When measured among the three populations taken by pairs, pairwise F_{st} were 0.014 between Magnokhoun

and Touguissoury, 0.032 between Loos and Magnokhoun, and 0.062 between Loos and Touguissoury.

Because F_{st} between Magnokhoun and Touguissoury was low and nonsignificant, these two samples were mixed into one population and compared with Loos. The resulting F_{st} was 0.057 (highly significant, $P < 0.0001$).

Because H_s was 0.832, $F_{st\ max} = 1 - H_s$ was 0.168, and our maximum F_{st} value was 0.057. A standardized estimate of F_{st} would thus give $F_{st'} = F_{st}/F_{st\ max} = 0.34$. Should this value have been close to 1, a complete lack of migrant would have been supported. The lower value (0.34) suggests that either there are migrants, or there have been migrants in the past and the separated populations did not yet reach equilibrium. If equilibrium is assumed in a two island model, then the corresponding number of migrants would be $Nm = (1 - F_{ST})/8F_{ST}$, which would give, with our "standardized" measure of F_{ST} , $Nm = 0.24$ migrant per generation or one migrant every four generations.

Morphometrics. A strong sexual dimorphism for size was disclosed in each locality, in favor of females (Fig. 3). Size variation was not significant between localities.

The multivariate regression of PW on size was significant on the total sample, mixing males and females (1,000 runs, $P = 0.0040$), but it was not significant within each sex (1,000 runs, $P = 0.508$ in males and $P = 0.083$ in females). This suggests that allometric effects were mainly due do sexual size dimorphism.

The first discriminant function (DF1, 84% of the total variation) clearly separated the Loos population from the other two populations (Fig. 4), whereas these latter populations were slightly separated by the second discriminant function (DF2, 16% of the total variation). Comparing flies from Loos islands with the group formed by flies from Magnokhoun and Touguissoury, the reclassification scores were 77% for Loos and 91% for mainland group. Size contribution to the geographic separation provided by DF1 was not significant (Fig. 4; $r^2 = 0.001$, $P > 0.05$).

Bilateral differences of centroid size showed distinct patterns in males and females, varying with geography. In females, directional and nondirectional asymmetries were found to be significant for the Loos population only. This suggests that nondirectional asymmetry on the island was antisymmetry, although kurtosis could not be detected. In females of the continental area as well as in males from the three localities, nondirectional (but no directional) asymmetry was detected, at a slightly higher amount in males (Table 3), and no kurtosis was detected in the distri-

Table 1. Gene diversity and number of alleles sampled by locus by population

| Locus | Gene diversity/locus/pop | | | No. alleles sampled | | |
|---------|--------------------------|-------|-------|---------------------|----|----|
| | L | M | T | L | M | T |
| B104 | 0.917 | 0.937 | 0.939 | 8 | 12 | 12 |
| Pgp11 | 0.764 | 0.846 | 0.811 | 6 | 9 | 7 |
| Pgp1 | 0.918 | 0.926 | 0.833 | 10 | 12 | 7 |
| Gpg55,3 | 0.830 | 0.824 | 0.800 | 5 | 11 | 10 |

L. Loos islands; M, Magnokhoun; and T, Touguissoury.

Table 2. F_{is} per locus per population

| Locus | F_{is} /locus/pop | | | P value (0.05 level) | | |
|---------|---------------------|-------|--------|----------------------|--------|-------|
| | L | M | T | L | M | T |
| B104 | 0.377 | 0.161 | -0.065 | 0.02 | 0.05 | 1.00 |
| Pgp11 | 0.127 | 0.071 | 0.137 | 0.40 | 0.39 | 0.32 |
| Pgp1 | 0.109 | 0.064 | 0.333 | 0.20 | 0.36 | 0.04 |
| Gpg55,3 | 0.097 | 0.353 | 0.125 | 0.42 | 0.0042 | 0.28 |
| Total | 0.182 | 0.159 | 0.126 | 0.017 | 0.013 | 0.013 |

Table 3. Left-right comparisons between the three tsetse populations

| | Directional asymmetry | Nondirectional asymmetry |
|----------------|-----------------------|--------------------------|
| Females | | |
| Loos | 34** | 20** |
| Magnokhoun | ns | 8* |
| Touguissoury | ns | 8* |
| Males | | |
| Loos | ns | 16** |
| Magnokhoun | ns | 16** |
| Touguissoury | ns | 29** |

Values are mean squares (MS) of an ANOVA output with individuals, side and their interaction as effects, and centroid size as dependent variable. ns, not significant (value not shown).**, $P < 0.00001$; *, $P < 0.0010$.

bution of signed differences. These results were compatible with fluctuating asymmetry in males and in females, although the nondirectional asymmetry in the island females suggest antisymmetry as the cause of their nondirectional asymmetry.

Classification Trees. The Mahalanobis distances (D_m) derived from shape variation of the wings of the three populations were significant only when comparing the Loos population with Magnokhoun ($D_m = 1.82$, $P = 0.014$) or Touguissoury ($D_m = 2.30$, $P < 0.001$), so that the resulting unweighted pair-group method with arithmetic average tree produced a pattern isolating the tsetse from the island and grouping the tsetse from the mangrove localities ($D_m = 1.09$, $P = 0.450$) (Fig. 5, left). The unweighted pair-group method with arithmetic average tree based on the Cavalli-Sforza and Edwards chord distances (D_{cve}) at microsatellite loci between the three populations gave similar branching (Fig. 5, right), and significant values were again found only when comparing the Loos population with populations of the mainland (1,000 permutations, $D_{cve} = 0.13$, $P = 0.001$ between Loos and Magnokhoun; $D_{cve} = 0.140$, $P = 0.002$ between Loos and Touguissoury; and $D_{cve} = 0.085$, $P = 0.141$ between Magnokhoun and Touguissoury).

Discussion

This study was undertaken to explore the population structure of *G. p. gambiensis*, the main tsetse species found in the very active HAT focus of Dubreka, Republic of Guinea. We feel that knowing the genetic structure of a vector population is useful for understanding an epidemic and will contribute to a rational control operation. Adapted tools are genetic markers like microsatellite DNA markers (Jarne and Lagoda 1996), which have proven successful for population studies of many arthropod species, including insect vectors (Lanzaro et al. 1995, de Meëus et al. 2002) and tsetse (Solano et al. 1999, Gooding and Krafur 2005). In the current study, the use of morphometrics was explored as a complementary, low-cost tool, to get information on population structure (Dujardin and Slice 2006). Thus, allele frequencies at four microsatellite loci, and morphometric features based on 11 wing landmarks, were compared among three populations of *G. p. gambiensis*, one originating from an island located 5 km from the capital Conakry, and the two others from the continent in the HAT focus of Dubreka, these two groups being separated by ≈ 30 km.

The number of traps (six in Loos islands, a total of 23 in the two other localities) and the time during which they were left (between 2 and 4 d) do not allow comparison of tsetse densities between localities. It may explain the limited number of individuals of sample L available for genetic and morphometric comparisons. Adapted statistics were used based on non-parametric tests.

Overall, and within each of the three populations, F_{is} values were positive, indicating within population heterozygote deficiency. We attributed this apparent heterozygote deficiency mainly to the occurrence of null alleles, as suspected by the high variance of F_{is} values among loci for each population, and as it has previously been reported in tsetse (S.R., unpublished data). Thus, we assume that there was random mating within each population.

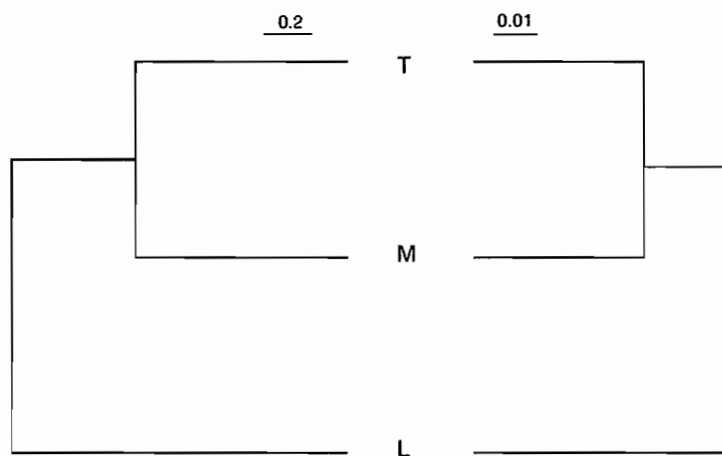


Fig. 5. Unweighted pair-group method with arithmetic average tree on genetic distances based on wing morphometry (on the left, Mahalanobis distance) and on microsatellite DNA loci (on the right, Cavalli-Sforza and Edwards distance) of the three tsetse populations.

The F_{st} value measured among the three populations was positive and significant, indicating genetic differentiation among the three populations. Pairwise Cavalli-Sforza and Edwards chord distances always distinguished the sample from Loos islands from the two other samples, whereas this same distance was the lowest and was not significant when measured between the two samples from the mangrove. When the two mainland populations were grouped and compared with the those from the island, F_{st} value was nearly 2 times higher (0.057) than the value comparing the three populations (0.032). Taking into account the high degree of polymorphism of our microsatellite loci, and using the suggestion of Hedrick (1999, 2005) for a standardized estimate ($F_{st} = F_{st}/F_{st\ max}$ with $F_{st\ max} = F_{st}/(1 - H_s)$) provided a corrected estimate of 0.34. Despite being relatively high, this upper bound seems far from 1, suggesting that either there are some migrants (e.g., one effective migrant each four generations), or there have been migrants in the past, and the separated populations did not yet reach equilibrium. According to mark-recapture experiments on *G. palpalis* (Cuisance et al. 1985, Bouyer et al. 2007), flies should be able to reach a distance of 30 km if the populations had been separated by homogeneous riverine forest. But given the geographic location of our study, it seems unlikely for them to actively disperse from the islands to the mangrove or vice versa. However, passive transport by the numerous boats in the area cannot be ruled out. Our working hypothesis is that tsetse from the mangrove colonized the Loos islands probably by passive transport, and probably at the time when the islands harbored important economic activities such as the bauxite exploitation, and the Conakry peninsula harbored natural mangrove vegetation. The frequency of passive tsetse exchanges probably dropped with the regression of economic activities and the degradation of this vegetation. According to that hypothesis, both low migration rates and small population sizes would have contributed to the observed genetic differentiation.

Metric properties are under the influence of both environmental and genetic factors, and as continuous traits they are among the earliest characters to change between physically separated populations (Falconer 1981). Environment typically acts primarily on size (Glasgow 1961) and then on shape, frequently as an allometric effect of size change (Dujardin and Le Pont 2004). The three populations were not distinct on the base of size, but they could be discriminated by shape variation. In our data, although some residual allometry was found due to sexual dimorphism typical of tsetse species (Sané et al. 2000, de La Rocque et al. 2002), no allometric effect was detected to explain the shape discrimination between island and mainland populations. Pure shape differences among conspecific populations are more likely to result from adaptive or genetic causes than from environmental effects (Dujardin and Slice 2006). This interpretation of metric variation was supported by the detection of directional asymmetry (and possibly antisymmetry) only in the island population, although limited to the females.

Directional asymmetry is a heritable trait very common in Diptera (Klingenberg et al. 1998), and the finding of intraspecific variability in this trait also suggests genetic differences.

Data from microsatellites and from wing geometry both converged to the idea of a separation of the Loos island population from the mainland. The level of separation in terms of number of migrants per generation seems high, which conforms to the known dispersing behavior of the insect. Although occasional contacts cannot be excluded, our working hypothesis is that the Loos population of tsetse flies is a completely isolated population. If true, this situation will favor control interventions, with the possibility of eliminating tsetse from this island.

Acknowledgments

We acknowledge collaboration from the Ministry of Health of Guinea, and thank A. S. Robinson for kindly providing *G. palpalis* microsatellite DNA sequences. This work was supported by the Leverhulme Trust Tsetse Research Network, Ministère des Affaires Etrangères of France, EU INCO-DEV project n°031849, and Institut de Recherche pour le Développement.

References Cited

- Bookstein, F. L. 1991. Morphometric tools for landmark data: geometry and biology. Cambridge University Press, New York.
- Bouyer, J., A. Sibert, M. Desquesnes, D. Cuisance, and S. de La Rocque. 2007. A model of diffusion of *Glossina palpalis gambiense* (Diptera: Glossinidae) in Burkina Faso. In M.J.B. Vreysen, A. S. Robinson, and J. Hendrichs [eds.], Area-wide Control of Insect Pests. From Research to Field Implementation. Springer, Dordrecht, The Netherlands. (in press).
- Bregues, J., A. Challier, and V. K. Ouedraogo. 1964. Contribution à la connaissance de l'épidémiologie de la trypanosomiase humaine: enquête entomologique dans les territoires kisis et limitrophes (avril-mai 1964: Sierra-Leone, Libéria, Guinée). OCCGE Eds, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.
- Camara, M., D. Kaba, M. Kagbadouno, J. R. Sanon, F. Ouedeno, and P. Solano. 2005. La Trypanosomose Humaine Africaine en zone de mangrove en Guinée: caractéristiques épidémiologiques et cliniques de deux foyers voisins. Méd. Trop. 65: 155-161.
- Cavalli-Sforza, L. L., and A.W.F. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis: model and estimation procedures. Am. J. Hum. Genet. 19: 233-257.
- Cuisance, D., H. Politzar, J. Fevrier, G. Bourdoiseau, and E. Sellin. 1980. Association d'un traitement insecticide avec la méthode du mâle stérile contre *Glossina palpalis gambiense*: intérêt de la mise en œuvre de plusieurs méthodes. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop. 33: 127-133.
- Cuisance, D., J. Fevrier, J. Dejardin, and J. Filledier. 1985. Dispersion linéaire de *Glossina palpalis gambiense* et *G. tachinoïdes* dans une galerie forestière en zone soudano-guinéenne. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop. 38: 153-172.
- Da Costa, B.F.P., J. F. Sant'anna, A. C. Santos, and M.G.A. Alvares. 1916. Sleeping sickness, a record of four years war against it in Principe, Portuguese West Africa. Ballière, Tindall & Cox, London, United Kingdom.
- de La Rocque, S., B. Geoffroy, J. F. Michel, F. Borne, P. Solano, J. Y. Meunier, and D. Cuisance. 2002. Les ailes

- de glossines, une carte d'identité de l'insecte? *Parasite* 9: 275–281.
- de Meeüs, T., L. Beati, C. Delaye, A. Aeschlimann, and F. Renaud. 2002. Sex biased genetic structure in the vector of Lyme disease, *Ixodes ricinus*. *Evolution* 56: 1802–1807.
- Dujardin, J. P., and F. Le Pont. 2004. Geographic variation in Neotropical sandflies. *Infect. Genet. Evol.* 4: 353–359.
- Dujardin, J. P., and D. Slice. 2006. Contributions of morphometrics to medical entomology. Chapter 24. *In* M. Tibayrenc [ed.], *Encyclopedia of infectious diseases: modern methodologies*. Wiley, New York.
- Falconer, D. S. 1981. *Introduction to quantitative genetics*. Longman, London, United Kingdom.
- Glasgow, J. P. 1961. Selection for size in tsetse flies. *J. Anim. Ecol.* 30: 87–94.
- Good, P. 2000. *Permutation tests: a practical guide to resampling methods for testing hypotheses*. Springer, New York.
- Gooding, R. H., P. Solano, and S. Ravel. 2004. X chromosome mapping experiments suggest occurrence of cryptic species in the tsetse fly, *Glossina palpalis palpalis* (Diptera: Glossinidae). *Can. J. Zool.* 82: 1902–1909.
- Gooding, R. H., and E. S. Krafur. 2005. Tsetse genetics: contributions to biology, systematics, and control of tsetse flies. *Annu. Rev. Entomol.* 50: 101–123.
- Hedrick, P. W. 1999. Perspective: highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. *Evolution* 53: 313–318.
- Hedrick, P. W. 2005. A standardized genetic differentiation measure. *Evolution* 59: 1633–1638.
- Goudet, J. 1995. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *J. Hered.* 86: 485–486.
- Jannin, J. C. 2005. Sleeping sickness—a growing problem? *Br. Med. J.* 331: 1242.
- Jarne, P., and P. J. Lagoda. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends Ecol. Evol.* 11: 424–429.
- Kaba, D., N. N. Dje, F. Courtin, E. Oke, M. Koffi, A. Garcia, V. Jamonneau, and P. Solano. 2006. L'impact de la guerre sur l'évolution de la THA dans le Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire. *Trop. Med. Int. Health* 11: 136–143.
- Lanzaro, G., L. Zheng, Y. Toure, S. F. Traore, F. C. Kafatos, and K. D. Vernick. 1995. Microsatellite DNA and isozyme variability in a West African population of *Anopheles gambiae*. *Insect Mol. Biol.* 4: 105–112.
- Laveissière, C., and P. Grébaud. 1990. Recherches sur les pièges à glossines. Mise au point d'un modèle économique: le piège "Vavoua". *Trop. Med. Parasitol.* 41: 185–192.
- Luna, C., M. Bonizzoni, Q. Cheng, S. Aksoy, and L. Zheng. 2001. Microsatellite polymorphism in the tsetse flies (Diptera: Glossinidae). *J. Med. Entomol.* 38: 376–381.
- Møller A. P., and J. P. Swaddle. 1997. *Asymmetry, developmental stability, and evolution*. Oxford University Press, New York.
- Klingenberg, C. P., G. S. McIntyre, and S. D. Zaklan. 1998. Left-right asymmetry of fly wings and the evolution of body axes. *Proc. R. Soc. Lond. B* 265: 1255–1259.
- Palmer, A. R., and C. Strobeck. 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 17: 391–421.
- Patterson, J. S., and C. J. Schofield. 2005. Preliminary study of wing morphometry in relation to tsetse population genetics. *South Afr. J. Sci.* 101: 1–3.
- Perrière, G., and M. Gouy. 1996. www-query: an on-line retrieval system for biological sequence banks. *Biochimie* 78: 364–369.
- Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223–225.
- Rohlf, F. J. 1990. Rotational fit (Procrustes) methods, pp. 227–236. *In* F. J. Rohlf and F. L. Bookstein [eds.], *Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop*. University of Michigan Museums, Ann Arbor, MI.
- Rohlf, F. J. 1996. Morphometric spaces, shape components and the effects of linear transformations, pp. 117–129. *In* L. F. Marcus, M. Corti, A. Loy, G. J. P. Naylor, and D. Slice [eds.], *Advances in morphometrics. Proceedings of the 1993 NATO-ASI on Morphometrics NATO ASI, Series A, Life Sciences*. Plenum, New York.
- Sané, B., P. Solano, A. Garcia, F. Fournet, and C. Laveissière. 2000. Variations intraspécifiques de la taille des ailes et du thorax chez *Glossina palpalis palpalis* en zone forestière de Côte d'Ivoire. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.* 53: 245–248.
- Solano, P., G. Duvallet, V. Dumas, D. Cuisance, and G. Cuny. 1997. Microsatellite markers for genetic population studies in *Glossina palpalis* (Diptera: Glossinidae). *Acta Trop.* 65: 175–180.
- Solano, P., S. de La Rocque, D. Cuisance, B. Geoffroy, T. de Meeüs, G. Cuny, and G. Duvallet. 1999. Intraspecific variability in natural populations of *Glossina palpalis gambiensis* from West Africa, revealed by genetic and morphometric analyses. *Med. Vet. Entomol.* 13: 401–407.
- Solano, P., S. de La Rocque, T. de Meeüs, G. Cuny, G. Duvallet, and D. Cuisance. 2000. Microsatellite DNA markers reveal genetic differentiation among populations of *Glossina palpalis gambiensis* collected in the agropastoral zone of Sideradougou, Burkina Faso. *Insect Mol. Biol.* 9: 433–439.
- Takezaki, N., and M. Nei. 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics* 144: 389–399.
- Vreysen M. J. B., K. M. Saleh, M. Y. Ali, M. A. Abdullah, Z. R. Zhu, K. G. Juma, V. A. Dyck, A. R. Masangi, P. M. Mkonyi, and H. U. Feldmann. 2000. *Glossina austeni* (Diptera: Glossinidae) eradicated on the Island of Unguja, Zanzibar, using the sterile insect technique. *J. Econ. Entomol.* 93: 123–135.
- Walsh, P. S., D. A. Metzger, and R. Higuchi. 1991. Chelex® 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 10: 506–513.
- Weir, B. S., and W. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of populations structure. *Evolution* 38: 1358–1370.

Received 18 April 2006; accepted 29 May 2006.

TITRE: Changements phénotypiques du milieu sylvestre au milieu domestique chez les vecteurs de la maladie de Chagas

RESUME: La transmission à l'homme du parasite de la maladie de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, est due principalement à l'activité de quelques espèces de grandes punaises hématophages, les Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). Ces quelques espèces sont très répandues et sont importantes dans le maintien de l'endémie car elles vivent en étroite association avec l'homme. C'est leur anthropisation, qui fait l'essentiel de leur signification épidémiologique, de leur capacité vectorielle. Pourtant, il est d'observation courante de voir des espèces sylvestres, dont certaines sont peu connues, tenter d'établir des colonies intradomiciliaires. A ce jour, aucun critère, ni génétique ni environnemental, n'existe pour juger du danger (de domestication) représenté par telle ou telle espèce. Nous avons examiné l'espèce qui dans notre pays, la Colombie, est considéré comme une menace potentielle, *Rhodnius pallescens*. En Colombie, cette espèce reste confiné aux palmiers et semble échouer dans ses tentatives de colonisation domiciliaires. Est-elle inapte à s'adapter? Nous nous sommes intéressés aux paramètres métriques de la plasticité phénotypique déjà recensés chez les vecteurs avérés de la maladie de Chagas: principalement une diminution de taille en milieu domestique. Pour examiner non seulement la moyenne mais aussi la variance de la taille, nous mettons à disposition un logiciel développant des tests non-paramétriques adaptés. Chez *R. pallescens*, nous confirmons que la diminution de taille semble typique du passage d'un milieu stressant, instable, de faible valeur nutritive, à un milieu stable et riche en source de sang, et qu'elle paraît systématique, valable d'une espèce à une autre, d'un genre (*Rhodnius*) à un autre (*Panstrongylus*). Nous mettons en évidence l'importance de l'interaction entre la densité des populations et la fréquence d'alimentation: c'est cette interaction qui rend compte de la diminution de taille, et non l'un de ces facteurs pris séparément. Les expérimentations réalisées sur des lignées isofemelles soulignent l'influence du génotype sur la réponse plastique de l'insecte, et suggèrent que la domestication pourrait ne pas être un attribut de l'espèce, mais plutôt d'un ou de plusieurs génotypes. Ainsi, la domestication serait en fait une affaire de chance, une rencontre entre un génotype, un milieu et des conditions favorables. Ces dernières sont liées au coût de la plasticité phénotypique. Les génotypes les plus aptes à la domestication seraient ceux qui assurent le mieux un équilibre entre les avantages adaptatifs et les coûts de la plasticité en réponse à des changements de milieu. Nos modèles de laboratoires nous permettent de suggérer qu'en Colombie, le poulailler est une porte d'entrée pour *R. pallescens* en milieu domestique. Dans les villages colombiens, si l'on veut détecter une domestication rampante, le poulailler doit être examiné au même titre que le domicile. C'est la recommandation que cette thèse peut nous amener à faire au Ministère de la Santé en Colombie.

TITLE: Phenotypical changes in Triatominae associated with environmental stress

ABSTRACT: Transmission to humans of the parasite inducing Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, is due mainly to a few species of hematophagous bugs of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). Although not numerous, these species are widespread and efficient vectors because of their close association with humans. However, it is relatively common to report also sylvatic, poorly known species invading human dwellings or peridomestic structures. Most of them seem to fail establishing domestic colonies, but, as far, neither genetic nor environmental criteria exist able to predict the final outcome. We studied the species which is considered as a potential threat in my country, Colombia. In this region, the species seems confined to palm trees, sporadically intruding human dwellings but failing to establish durable intradomestic colonies. Is it unable to accomplish domestication ?

We examined some aspects of phenotypic plasticity already described in the literature for well known Chagas vectors: mainly their size reduction in domestic conditions of life. To consider not only the mean size but also its variance, we developed a specialized software based on non-parametric tests. In *R. pallescens*, we confirmed that size reduction was typical of the transition from a stressing, poor and unstable environment to a stable and nutritive one, and that this size reduction was a systematic change, found for different species, different genera (*Panstrongylus*, *Rhodnius*). We highlighted the importance of the interaction between population density and feeding frequency: it is this interaction which drives the main changes in size, and not any of the factors separately. Experiences on isofemale lines indicate the influence of the genotype on plastic response, suggesting that ability to domesticate could be not a species but a genotype specific trait. Thus, domestication would be actually a matter of chance, an encounter between one or a few genotypes, a given environment and favorable conditions. The latter is linked to the cost represented by the plastic response. The genotypes able to be domesticated would be the ones enjoying the best balance between adaptive value and cost of their plastic response to environmental changes. Our laboratory observations suggest that in Colombia, hen houses would be the backdoor for *R. pallescens* durable access to the domestic environment. In colombian villages, to avoid undetected but true domestication process, not only human dwellings but also hen houses are priority targets to be investigated for the presence of triatomine bugs. Based on the data obtained in our thesis, it is the recommendation we feel authorized to address to the Health Ministry of Colombia.

MOTS-CLES: Maladie de Chagas, Plasticité phénotypique, Morphométrie Géométrique, Domestication

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R OU DU LABORATOIRE: GEMI-IRD. 911 Ave Agropolis. 34394. Montpellier. Cedex 5. France