

ÉTUDE BIOMÉTRIQUE ET MORPHOLOGIQUE
DE LA CROISSANCE LARVAIRE
CHEZ *SIMULIUM DAMNOSUM* THEOBALD

Par [P. GRENIER] et L. FERAUD (*)

La détermination du nombre des mues et des stades larvaires chez les Simulies est rendue extrêmement difficile par les conditions très spéciales qu'exige l'élevage de ces insectes au laboratoire. En effet, alors que les larves aquatiques de certains Diptères, tels les *Culicidae*, peuvent effectuer toute leur évolution en eau stagnante, milieu dans lequel il est facile de recueillir les exuvies abandonnées à l'occasion des mues, les larves de Simulies, au contraire, ne peuvent vivre que dans des aquariums où sont entretenus, de façon permanente, de violents dégagements d'air : ceux-ci ayant le double effet d'oxygéner l'eau et de créer, en même temps, dans le milieu, des courants apportant aux larves les particules alimentaires qu'elles captent au passage, à l'aide de leurs prémandibules. On conçoit aisément l'impossibilité absolue dans laquelle on se trouve, alors, de dénombrer les fragiles exuvies larvaires que le brassage de l'eau disperse dans le récipient d'élevage.

C'est pourquoi certains biologistes ont tenté de déterminer, dans une population larvaire d'une même espèce, les différents stades en effectuant, sur un nombre suffisant d'individus, une étude biométrique de la croissance d'organes rigides (capsules céphaliques, submentum, antennes, disques postérieurs d'accrochage...), croissance discontinue à laquelle doit s'appliquer la loi de Dyar.

Malheureusement, au cours d'une telle étude, de nouvelles difficultés surgissent : les premières sont créées par les tailles minuscules des premiers stades larvaires (0,6 à 0 mm. 9 de longueur au stade I; 1 à 2 mm. du stade II au stade IV) qui doivent être, par conséquent, montés en préparations microscopiques et soigneusement orientés ; de minimes différences d'orientation des organes étudiés (qui doivent être souvent examinés à l'objectif à immersion) peuvent entraîner alors des erreurs importantes dans les mensurations. En ce qui concerne les stades terminaux, les valeurs notées d'un stade à l'autre, pour certains organes comme le submentum, se recouvrent telle-

(*) Séance du 8 juin 1960.

O. R. S. I. O. M.

Collection de Références

n° 13077 ex 1

ment que l'étude de nombreux exemplaires est absolument nécessaire.

Une étude biométrique de la croissance, dans de telles conditions, doit donner des indications intéressantes sur la marche de celle-ci, mais doit être confrontée, pour amener à des conclusions valables, avec une étude de morphologie comparée des différents stades, permettant de mettre en évidence des caractères distinctifs. C'est ce qu'a très bien montré A. E. TERTERIAN dans une étude parue en 1957. Dans ce travail, cet observateur est arrivé à la conclusion que les deux espèces étudiées par lui passaient par six stades larvaires. Nous avons repris l'étude de cette question en nous adressant à l'espèce la plus importante pour nous au point de vue médical : *S. damnosum* Théo., le grand vecteur africain de l'onchocercose humaine. Chez cette espèce nous avons pu mettre en évidence certains caractères morphologiques (revêtements d'écailles tégumentaires), qui, s'ajoutant à ceux découverts par TERTERIAN (sclérites post-frontaux) et par PURI en 1925 (morphologie de l'antenne au cours des trois premiers stades), nous ont permis d'arriver à la conclusion que l'espèce passe par sept stades larvaires et que chacun de ces stades peut être reconnu par une simple étude morphologique.

Une telle étude n'offre pas qu'un intérêt zoologique mais présente aussi un intérêt pratique, puisque la détermination des différents stades larvaires de cette espèce est d'une incontestable utilité, lorsqu'il s'agit de situer, au cours des enquêtes épidémiologiques, les gîtes larvaires du redoutable vecteur qu'est *S. damnosum*. En effet, l'aspect morphologique des larves, chez cette espèce de Simulie, change nettement au cours de l'évolution larvaire, ce qui pourrait amener des erreurs de détermination spécifique.

HISTORIQUE

D'après MEINERT (1886), HORVATH (1886) pense que les larves de *Simulium* subissent quatre mues. Pour TÖMÖSOVARY (1892) et AIGNER-ABAFI (1903) cinq mues seraient effectuées pour atteindre le stade nymphal, la larve passerait donc par cinq stades.

EDWARDS (1920-1921) pour la première fois tente une étude biométrique et, en notant la taille des larves de *S. latipes* recueillies par lui, arrive à dénombrer six mues larvaires, la sixième libérant la nymphe (donc six stades).

CAMERON (1922) arrive à la même conclusion en mesurant les disques postérieurs de fixation sur les exuvies abandonnées au cours de la croissance de *S. simile* Malloch.

PURI (1925), sans se livrer à une étude biométrique de la croissance, mais en suivant, de jour en jour, le développement larvaire de

S. aureum Fries et *S. erythrocephalum* Degeer, confirme les conclusions de EDWARDS et de CAMERON. Il décrit avec précision le premier et le dernier stade de *S. nolleri* Friederichs, ainsi que les six stades successifs de *S. aureum* et *S. erythrocephalum*. Il met, pour la première fois, en évidence quelques particularités morphologiques des premiers stades larvaires : au stade I, contact des plaques épicroâiales en arrière du fronto-clypeus, présence d'une dent d'éclosion (*raptor ovi*), aspect très particulier du submentum, muni d'une dent médiane beaucoup plus développée que chez les larves des stades ultérieurs, et surtout il observe que l'antenne est réduite à un seul article, qui deviendra le segment terminal des stades larvaires II à VI (*). Cet article unique présente, à sa base, une paire de minuscules sensilles.

PURI attire l'attention sur le curieux mode de croissance de l'antenne : 1 article au stade I ; 2 articles au stade II (c'est-à-dire addition d'un article basal) ; 3 articles au stade III et aux stades postérieurs à celui-ci. Il considère qu'à ce stade le troisième article (qu'il appelle quatrième) a été « intercalé » entre le segment basal et l'article terminal qui est pour lui le troisième. De plus, dans sa description des six stades larvaires de *S. erythrocephalum*, il note l'augmentation du nombre des soies latérales du submentum, nombre qui passe de 1 soie de chaque côté au stade I, à 2 soies aux stades II et III. Enfin il remarque la complication progressive des papilles rectales et donne, pour *S. aureum* et *S. erythrocephalum*, les longueurs moyennes des différents stades larvaires. Dans l'ensemble les observations que nous avons faites chez *S. damnosum* confirment celles de PURI.

PATTON et EVANS (1929), dans leur ouvrage classique : *Insects, Ticks, Mites and venomous animals* (tome I, p. 207), écrivent, sans expliquer comment ils sont arrivés à cette conclusion, que les larves de Simulies muent six fois et présentent sept stades larvaires, ce qui ne paraît pas constituer une erreur puisque, p. 208, ils ajoutent : « when the seventh larval instar of *Simulium* is full grown it stops feeding and then selects a place, usually on the same support where it pupates. »

SMART (1934), dans un travail dont TERTERIAN n'a pas eu connaissance puisqu'il ne cite qu'une publication postérieure de SMART (1935), arrive, lui aussi, à la conclusion qu'il existe chez *S. ornatum* Meigen plus de six stades larvaires. Il rapporte avoir suivi le développement

(*) PURI, qui se rallie à l'opinion d'EDWARDS (1920-1921), RILEY (1884-1886) et PLANCHON (1844), considère la partie tout à fait terminale comme un article véritable, d'où antenne de 2 articles au stade I ; trois articles au stade II ; quatre articles au stade III. Nous ne partageons pas cette opinion : la portion terminale, minuscule, ne constitue qu'une sensille, ainsi que l'avaient fort bien vu MEINERT (1886) et FRIEDERICHS (1920).

individuel des larves aux stades I, II et III, dont il a pu noter les tailles des capsules céphaliques ; il reconnaît les stades terminaux (pénultième et dernier stade) par leurs tailles et par le développement des histoblastes nymphaux. Pour SMART, la différence de taille entre le stade III et le pénultième est trop considérable pour qu'il n'existe qu'un seul stade intercalaire entre ceux-ci : en effet, la longueur moyenne saute de 1 mm. 5 (stade III) à 5 mm. (avant-dernier stade) et 6,5 à 8 mm. (dernier stade). De plus, l'accroissement de la capsule céphalique se fait ; lui aussi, très brusquement, entre le stade III et les deux derniers stades. SMART en conclut qu'il doit se placer *plus* d'un stade entre le stade III et l'avant-dernier stade (considéré par EDWARDS et les auteurs qui l'ont suivi comme le cinquième). Il tente alors une étude biométrique, en mesurant la largeur du submentum dans une importante série de larves, mais les résultats ne le satisfont pas : « *It was found that the range of variation in the dimension of the mental plates of a small series of final stage larvae was greater than that of the mental plates of the head capsules of individual larvae in the penultimate and ultimate stages.* »

Pour WANSON et HENRARD (1945), qui se rallient à une opinion admise mais ne disent pas avoir dénombré eux-mêmes les stades, la vie larvaire comporte classiquement 6 mues et dure, chez *S. damnosum*, 5 jours (*) ; le cycle œuf-adulte serait effectué en 9 jours, aussi bien en saison froide qu'en saison chaude, à Léopoldville. Mais pour certains auteurs, la durée d'évolution paraît plus longue chez cette espèce : 10 à 13 jours en saison sèche, dans le northern Nigeria d'après CRISP (1956), 12 à 15 jours à 26,5° C (2 à 3 jours de l'œuf à la larve, 6 à 8 jours de la larve à la nymphe, 4 jours de la nymphe à l'imago), en Uganda, d'après BARNLEY (1952).

La dernière étude publiée est celle de A. E. TERTERIAN (1957). Cet observateur s'est livré à une étude biométrique très minutieuse, en mesurant les organes suivants : submentum, prémandibule, antenne, disque postérieur d'accrochage, capsule céphalique, chez deux espèces (*Odagmia kirishenkoi* et *Wilhelmia paraequina* Puri, cet auteur utilisant la terminologie d'Enderlein et Rubtzov). Il en arrive à la conclusion qu'il existe, chez ces espèces, six stades larvaires et que le seul moyen d'obtenir des résultats démonstratifs consiste à effectuer une étude de morphologie comparée des différents stades en même temps qu'une étude biométrique.

(*) Dans son travail de 1950 (« Contribution à l'étude de l'onchocercose africaine humaine », *Ann. Soc. Belg. Méd. Trop.*, 30 (4), 659), WANSON écrit : « La vie larvaire comporte classiquement 5 mues... » Il s'agit d'une évidente erreur de transcription et il faut lire 6 mues.

L'un de nous avait tenté, il y a une dizaine d'années, une étude biométrique de la croissance de l'antenne et du submentum sur une population de *S. costatum* Friederichs. Mais les résultats ne lui avaient pas paru à l'époque assez démonstratifs pour être publiés et l'avaient seulement amené à l'idée qu'il devait exister très probablement sept stades et non pas six.

Récemment, en tenant compte, d'une part de certaines structures larvaires particulières à l'avant-dernier et dernier stade (individualisation des sclérites post-frontaux), mises en évidence par TER-TERIAN, et d'autre part de l'augmentation du nombre des segments antennaires au cours des premiers stades (stades I, II et III), nous avons décidé de reprendre l'étude de la croissance larvaire chez *S. damnosum*. En effet, chez cette espèce, nous avons constaté que le revêtement des écailles cuticulaires, complètement absent au cours des premiers stades (stades I, II et III), apparaissait progressivement à partir du stade IV. Nous avons effectué alors une étude de morphologie comparée, en même temps qu'une étude biométrique de la croissance de l'antenne et de la mandibule, ceci sur une série de 280 larves récoltées sur le même support, dans une station proche de Bobo-Dioulasso (Haute-Volta).

ÉTUDE BIOMÉTRIQUE ET MORPHOLOGIQUE

A) *Techniques*. — Un premier triage nous a permis de répartir les larves, d'après leur longueur totale et la taille de la capsule céphalique en plusieurs groupes provisoires A, B, C... En même temps l'examen de l'échancrure ventrale de la capsule céphalique (« cervical cleft »), très caractéristique dès le stade II, permettait de s'assurer de l'identité spécifique des larves. Les larves possédant des histoblastes nymphaux (filaments respiratoires enroulés) noirs et des protubérances dorsales bien développés étaient, d'emblée, considérées comme appartenant au dernier stade (fig. 1 G). Les grosses larves possédant des disques imaginaires bien développés mais blanchâtres étaient provisoirement considérées comme appartenant à l'avant-dernier stade.

Les larves étaient ensuite éclaircies dans le liquide n° 1 de Marc André, à chaud, puis montées directement en préparation microscopique dans l'alcool polyvinylique lacto-phénol.

Les larves de tailles petites et moyennes étaient disposées de profil ou de 3/4, de façon à mettre en évidence le submentum, l'antenne et la mandibule. Pour les larves considérées comme appartenant à l'avant-dernier et au dernier stade, la tête était séparée du reste du

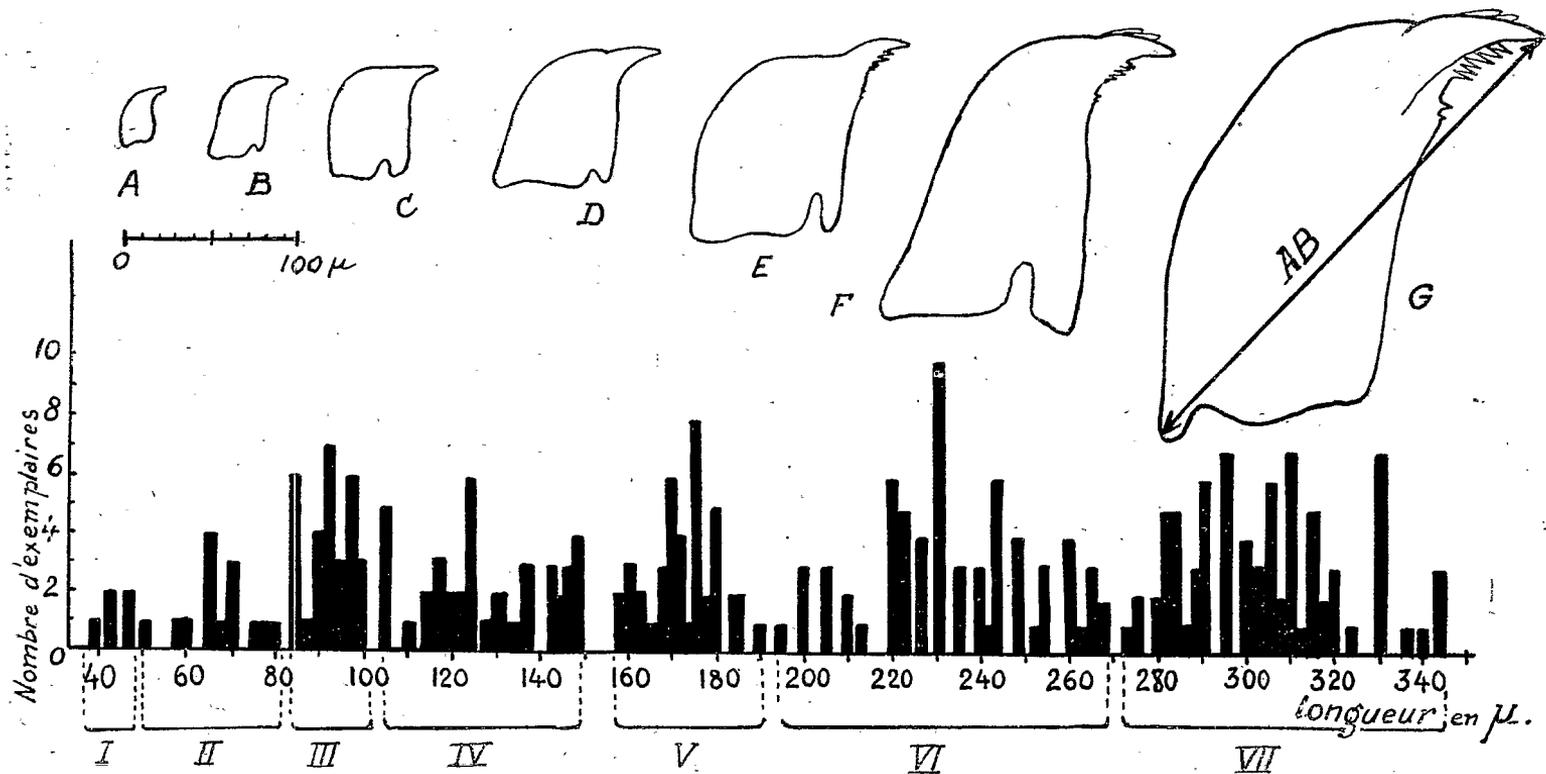


Fig. 1. — Histogramme représentant la croissance des mandibules chez *S. damnosum* (larves). En haut, mandibules des stades larvaires successifs A à G : stades I à VII.

corps et placée à plat, face ventrale vers le haut, de façon à mettre en évidence à la fois le submentum et les sclérites post-frontaux ; les mandibules séparées de la capsule céphalique étaient disposées à plat, à côté de celle-ci. Le reste du corps était monté de profil, pour permettre l'étude du revêtement d'écaillés tégumentaires.

Pour chaque larve, les antennes, le submentum et les mandibules ont été dessinés, à un fort grossissement, à l'aide de l'appareil à dessiner O. P. L. Les mensurations ont été effectuées par comparaison des dessins avec une échelle micrométrique (micromètre-objectif) dessinée dans les mêmes conditions. La mensuration faite sur chaque mandibule était la distance AB (fig. 1 G). Chez certaines larves prêtes à subir la mue, deux mensurations ont pu être effectuées sur le submentum (largeur du bord antérieur CD) car le submentum du stade suivant est le plus souvent visible par transparence.

Les valeurs obtenues pour le submentum se sont révélées (et ceci est en accord avec les constatations antérieures de SMART et de TERTERIAN) très décevantes en raison du recouvrement des chiffres correspondant à deux stades consécutifs et aussi en raison de l'imprécision des mesures effectuées sur un organe aussi difficile à orienter convenablement. Les mensurations antennaires se sont montrées plus intéressantes, mais moins cependant que les mensurations des mandibules qui sont apparues comme les plus valables et ont permis d'établir l'histogramme représenté figure 1.

Le nombre des larves étudiées est le suivant (*) :

Stade I : 5.

Stade II : 14.

Stade III : 30.

Groupe IV : 45.

Groupe V : 42.

Avant-dernier stade (groupe VI) : 66.

Dernier stade (groupe VII) : 77.

B) *Étude morphologique comparée des différents stades.* — Si l'on reporte, sur l'histogramme établi au moyen des mensurations mandibulaires, les indications fournies par l'étude de la morphologie comparée des larves, nous pouvons avec certitude à l'aide des caractères morphologiques découverts par PURI (antennes) et par TERTERIAN (sclérites post-frontaux) reconnaître immédiatement l'existence de cinq stades qui sont les suivants :

(*) Nous employons ici le nom de « stade » pour les larves qui peuvent être dès maintenant identifiées par leur morphologie (antennes, sclérites post-frontaux) ; le nom de « groupe » est appliqué provisoirement aux stades présumés.

- Stade I* : antenne de 1 article, dent d'éclosion (*d*) présente (fig. 1 H et 3 A).
Stade II : antenne de 2 articles, disparition de la dent d'éclosion (fig. 1 I).
Stade III : antenne de 3 articles, qui est le nombre définitif des articles antennaires (fig. 1 G).
Avant-dernier stade : sclérites post-frontaux individualisés mais encore rattachés aux extrémités de la collerette (fig. 3 D). Écailles tégumentaires présentes, très abondantes.
Dernier stade : sclérites post-frontaux isolés des extrémités de la collerette (fig. 3 E), histoblastes nymphaux noirs en fin de croissance. Écailles tégumentaires présentes, très abondantes.

Pas
 d'écailles
 tégumentaires.

Ces cinq stades, morphologiquement définis, correspondent aux sommets 1, 2, 3 ... 6 et 7 de l'histogramme mandibulaire. De plus il apparaît alors nettement, sur cet histogramme, que l'écart qui sépare le stade III (défini morphologiquement) et l'avant-dernier stade, défini lui aussi morphologiquement, est trop considérable pour ne contenir qu'un seul stade intercalaire, comme cela devrait être si le développement comportait seulement les six stades larvaires reconnus par certains auteurs. Cet histogramme présente d'ailleurs, dans cet espace, deux sommets nets, que nous considérons provisoirement comme constituant les « groupes » IV et V.

Si nous examinons les larves du groupe IV nous constatons, par comparaison avec les larves du stade III, l'apparition d'un caractère extrêmement frappant : la présence d'écailles tégumentaires petites, éparées (fig. 2 D), qui étaient complètement absentes au stade III et qui sont présentes *seulement* sur la face dorsale de la partie renflée de l'abdomen.

Les larves du groupe V qui se place ensuite sur l'histogramme présentent un revêtement d'écailles nettement plus important (fig. 2 E), s'étendant sur la partie renflée de l'abdomen, depuis la face dorsale jusqu'à la face ventrale où elles sont cependant moins denses. En outre, dorsalement, sur la partie moyenne de chacun des autres segments du corps, on constate la présence de ces mêmes écailles, mais peu abondantes ; elles sont absentes ou très peu nombreuses (5-7 de chaque côté), à la base du pseudopode thoracique. De plus, les larves de ce groupe, que nous considérons comme le groupe V, ne présentent pas de trace des sclérites post-frontaux, qui n'apparaîtront que dans le groupe suivant (groupe VI). L'individualisation de ces sclérites, qui restent cependant attachés aux extrémités de la collerette (fig. 3 D), va permettre de considérer les larves de ce groupe comme étant des larves de l'avant-dernier stade. Leur appartenance à ce stade est d'ailleurs prouvée par le fait que, dans ce lot, de nombreuses larves sont prêtes à muer. Chez toutes les larves de l'avant-dernier stade, le revêtement d'écailles est très dense (fig. 2 F) avec,

sur la partie dorsale des segments antérieurs, des écailles plus nombreuses qu'au stade précédent et une plage bien visible d'écailles, de chaque côté, à la base du pseudopode.

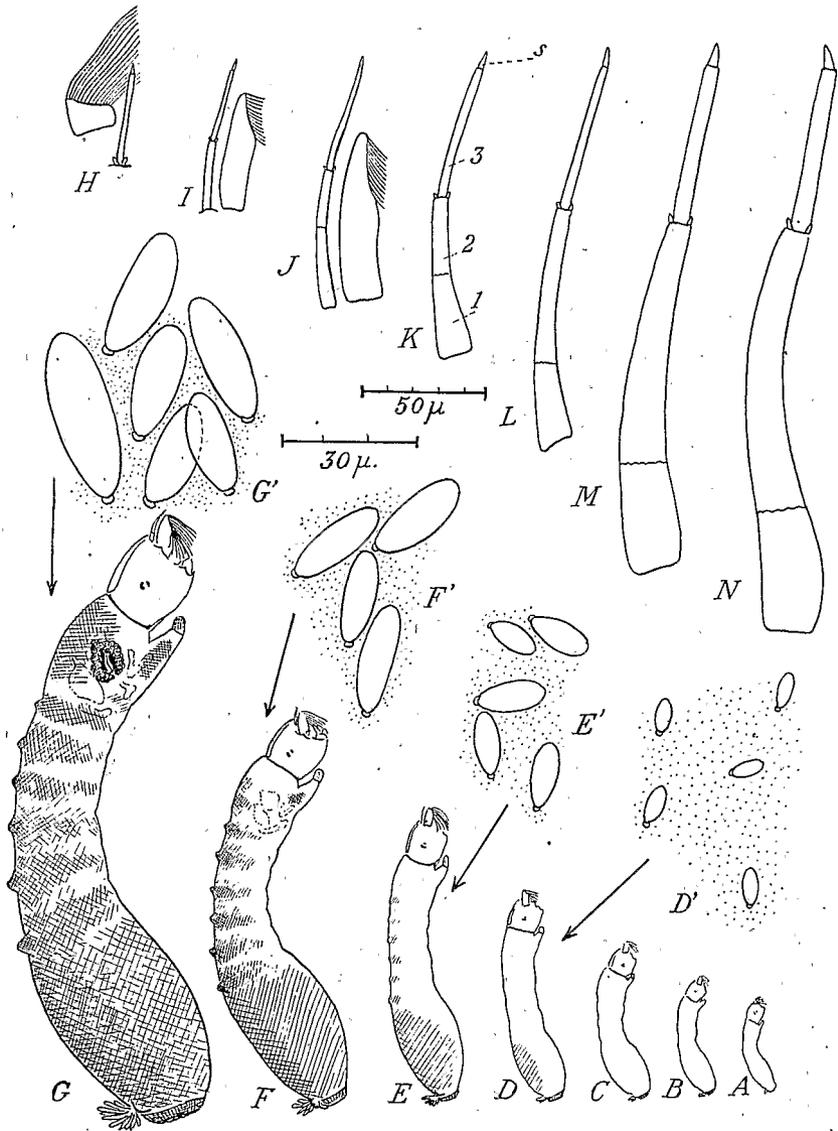


Fig. 2. — A à G : les sept stades larvaires ; les parties hachurées représentent les zones couvertes d'écailles tégumentaires (celles-ci sont représentées, au milieu de la figure, au même grossissement : D' : écailles du stade IV ; E' : écailles du stade V ; F' : écailles du stade VI ; G' : écailles du stade VII) ; H à N : croissance de l'antenne, du stade I à VII ; les prémandibules ne sont figurées que pour les stades I à III, et, pour les stades II et III, seules les bases des grandes soies falciformes ont été représentées (= sensille terminale).

Ces constatations morphologiques nous permettent, par conséquent, de délimiter facilement, sur l'histogramme, d'abord un groupe IV, compris entre les valeurs 105μ à 148μ et tellement diffé-

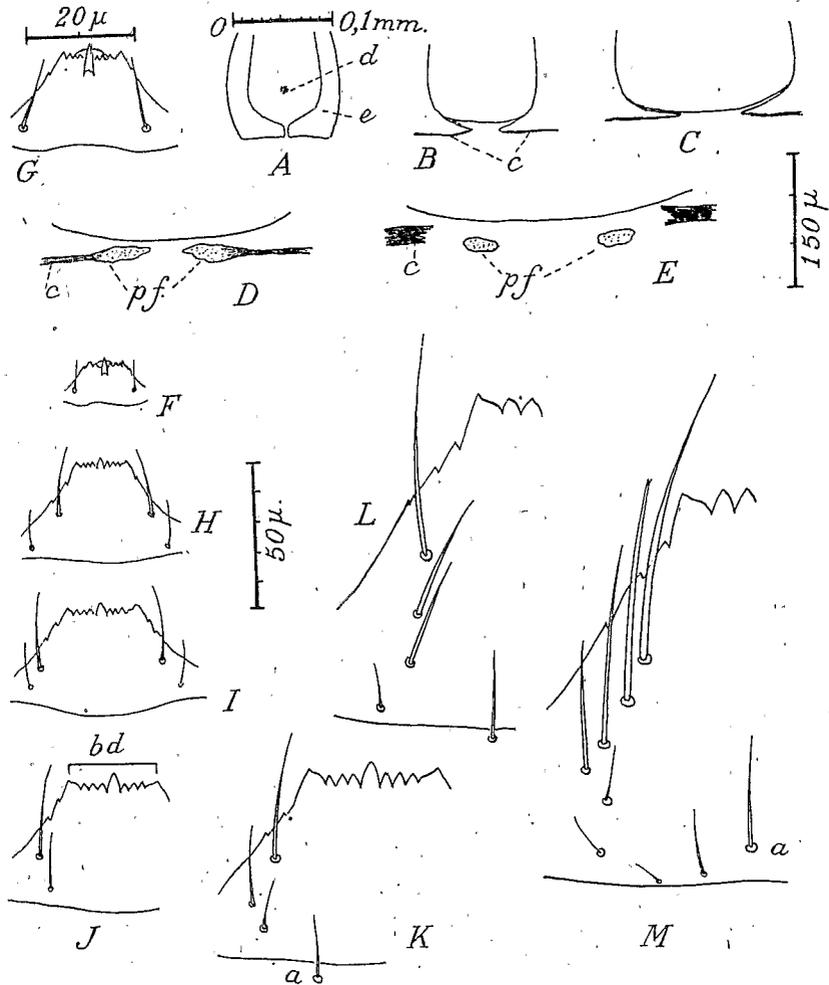


Fig. 3. — A) Stade I : partie postérieure du fronto-clypeus avec la dent d'écllosion (*d*) et les plaques épicaniales (*a*) ; B) Stade III *idem* ; *c* : collerette ; C) Stade V, *idem* ; D) Stade VI : *pf* sclérites post-frontaux ; E) Stade VII, *idem* ; F, H à M) Stades I à VII : submentums vus au même grossissement ; G) submentum de la larve au stade I, plus fortement grossi.

rent des autres groupes qu'il correspond sans aucun doute au stade IV. Nous délimiterons ensuite, par les caractères morphologiques qui viennent d'être indiqués, un groupe V (mandibules 158μ à 190μ),

et un groupe VI (195 μ à 268 μ) celui-ci constituant, incontestablement, l'avant-dernier stade.

C) *Étude statistique des résultats* (par J. ITARD et R. LE BERRE (*)). — La détermination des premiers stades de la croissance, c'est-à-dire les stades I, II et III, ne donnant lieu à aucune ambiguïté, du fait de la morphologie antennaire, l'étude statistique de la croissance des mandibules n'a été faite que pour les groupes intermédiaires IV, V et VI en discussion (le groupe IV se différenciant facilement du stade III et le stade VI du VII).

La méthode employée pour ces calculs est la méthode de comparaison de deux variances (cf. LAMOTTE, p. 85-88). Le tableau I nous donne pour chacun de ces stades :

X = mensuration en μ , de la distance AB, sur la mandibule.

f = nombre d'individus (fréquence).

X — A = mensuration après changement d'origine.

D'abord ont été calculées les *variances estimées* des trois groupes (stades présumés IV, V, VI) (cf. tabl. I) en simplifiant les calculs par un changement d'origine approprié à chaque stade (A = 125 μ pour le groupe IV ; 175 μ pour le groupe V ; 230 μ pour le groupe VI (cf. tabl. I)).

Ensuite ont été comparés : 1° les groupes IV-V ; 2° les groupes VI-V.

Les rapports des variances estimées, que nous appelons F_{IV-V} et F_{VI-V} , ont été comparés aux chiffres donnés par la table de Snédécov pour les degrés de liberté voulus :

Calcul de la variance estimée :

$$\frac{\Sigma(x - m)^2}{f - 1} = \frac{f \sigma^2}{f - 1}.$$

Calcul de la variance :

$$\sigma^2 = \frac{f(x - A)^2}{f} - \left[\frac{f(x - A)}{f} \right]^2.$$

Pour le groupe IV, nous obtenons, en appliquant ces formules :

$$\sigma_{IV}^2 = \frac{8.531}{45} - \left(\frac{163}{45} \right)^2 = 189,577 - (3,622)^2 = \boxed{176,458}.$$

Pour le groupe V :

$$\sigma_V^2 = \frac{2.716}{42} - \left(\frac{98}{42} \right)^2 = 64,190 - (2,334)^2 = \boxed{58,742}.$$

(*) J. ITARD, Entomologiste vétérinaire des Services de l'Élevage (I. E. M. V. P. T.) et R. LE BERRE, Chargé de Recherches à l'O. R. S. T. O. M., que nous tenons à remercier très vivement de leur amicale collaboration.

TABLEAU I

Groupe IV					Groupe V					Groupe VI				
X	f	X - A	f(X - A)	f(X - A) ²	X	f	X - A	f(X - A)	f(X - A) ²	X	f	X - A	f(X - A)	f(X - A) ²
I05	5	- 20	- 100	2.000	I58	2	- 17	- 34	578	I95	1	- 35	- 35	1.225
I10	1	- 15	- 15	225	I60	3	- 15	- 45	675	200	3	- 30	- 90	2.700
I14	1	- 11	- 11	121	I63	2	- 12	- 24	288	205	3	- 25	- 75	1.875
I15	1	- 10	- 10	100	I65	1	- 10	- 10	100	210	2	- 20	- 40	800
I18	3	- 7	- 21	147	I67	3	- 8	- 24	192	212	1	- 18	- 18	324
I20	2	- 5	- 10	50	I70	6	- 5	- 30	150	220	6	- 10	- 60	600
I22	1	- 3	- 3	9	I72	4	- 3	- 12	36	222	5	- 8	- 40	320
I23	2	- 2	- 4	8	I74	1	- 1	- 1	1	225	4	- 5	- 20	100
I25	6	0	0	0	I75	8	0	0	0	230	10	0	0	0
I28	1	3	3	9	I78	2	3	6	18	235	3	5	15	75
I30	2	5	10	50	I80	5	5	25	125	240	3	10	30	300
I32	2	7	14	98	I83	2	8	16	128	243	1	13	13	169
I34	1	9	9	81	I85	2	10	20	200	245	6	15	90	1.350
I35	1	10	10	100	I90	1	15	15	225	248	4	18	72	1.296
I36	1	11	11	121						252	1	22	22	484
I38	3	13	39	507						253	3	23	69	1.587
I42	3	17	51	867						260	4	30	20	3.600
I44	2	19	38	722						263	1	33	33	1.089
I45	3	20	60	1.200						265	3	35	105	3.675
I48	4	23	92	2.116						268	2	38	76	2.888
Totaux	45		163	8.531		42		98	2.716		66		267	24.457

Pour le groupe VI :

$$\sigma_{VI}^2 = \frac{24 \cdot 457}{66} - \left(\frac{267}{66}\right)^2 = 370,560 - (4,045)^2 = \boxed{354,198}.$$

Comparaison entre les groupes IV et V :

Le rapport des variances estimées F_{IV-V} s'établit ainsi :

$$\frac{\frac{f_{IV} \sigma_{IV}^2}{f_{IV} - 1}}{\frac{f_V \sigma_V^2}{f_V - 1}} = \frac{45 \times 176,458}{44} = \frac{180,458}{60,174} = \boxed{2,999 \neq 3}.$$

La table de Snédécour, pour les valeurs de F au coefficient de sécurité 99 0/0, nous donne, pour 30 et 30 degrés de liberté : 2,38 et pour 50 et 50 : 1,94. Or, nous avons 44 et 41 degrés de liberté pour les groupes IV et V respectivement. La valeur limite de F devrait donc être comprise entre les deux chiffres 2,38 et 1,94, or le chiffre ($\neq 3$) obtenu par nous étant nettement supérieur au plus grand, nous pouvons donc affirmer que la divergence entre σ^2 IV et σ^2 V est trop grande pour pouvoir être attribuée au seul hasard, et doit être considérée comme très significative.

Un même calcul effectué pour les groupes VI et V nous donne :

$$F_{VI-V} = \frac{\frac{66 \times 354,198}{65}}{\frac{42 \times 58,742}{41}} = \frac{359,647}{60,174} = \boxed{5,9 \neq 6}.$$

La table de Snédécour, au coefficient de sécurité 99 0/0 nous donne, pour 50 et 30 degrés de liberté : 2,24 et pour ∞ et 50 degrés de liberté : 1,68. La valeur de F_{VI-V} trouvée par nous étant $\neq 6$, dépasse très largement ces chiffres. La divergence est là encore très significative.

D) *Conclusion et observations.* — On peut donc conclure que la méthode biométrique appliquée à la croissance des mandibules permet de mettre en évidence un groupe V qui diffère, d'une part du stade IV et d'autre part du stade VI.

L'étude biométrique est donc en accord avec les données précédemment tirées de l'étude de la morphologie comparée des différents groupes.

Nous pouvons, en conséquence, admettre que ces groupements IV, V, VI sont incontestablement des stades larvaires différents.

L'existence ainsi démontrée de 7 stades larvaires et non de 6 (PURI, TERTERIAN) permet d'expliquer, nous le pensons du moins,

certaines particularités qui apparaissent dans les travaux des auteurs précédents.

C'est ainsi que, si nous considérons la croissance de l'antenne (fig. 2 H à N) nous constatons, entre nos stades IV et V un accroissement important du deuxième article antennaire, qui nous permet de comprendre la différence de taille considérable de cet organe, entre le stade IV (déterminé avec certitude par son revêtement d'écaillés) et l'avant-dernier stade (à sclérites frontaux non individualisés). Si nous examinons les figures de l'antenne données par TERTERIAN (fig. 3 de cet auteur) nous constatons, entre son stade IV et son stade V, un accroissement considérable de la longueur de l'antenne qui paraît surprenant. Or, si nous comparons ces figures aux nôtres, nous remarquons que l'antenne du stade IV décrit par TERTERIAN correspond exactement à celle du stade IV de *S. damnosum* et qu'elle présente, par rapport au stade V dessiné par TERTERIAN, le même écart considérable qu'entre notre stade IV et notre stade VI (avant-dernier) de *damnosum*. Il semble donc que le stade V mis en évidence chez *damnosum* ait échappé à TERTERIAN.

L'existence de sept stades larvaires permet en outre de comprendre les observations faites par SMART en ce qui concerne la longueur des larves. En effet, cet auteur a noté, chez *S. ornatum*, que si l'on admettait l'existence de six stades, on passait d'une longueur moyenne de 1 mm. 5 (stade III), à 5 mm. (avant-dernier stade) accroissement considérable, qui paraît difficilement explicable s'il n'existe qu'un seul stade intercalaire. Or, chez *S. damnosum* nous avons observé que la longueur approximative est de 1 mm. 5 au stade III et de 4 à 5 mm. à l'avant-dernier stade, ce qui correspond bien à l'écart noté par SMART, mais par la morphologie comparée et l'étude biométrique de la croissance mandibulaire, nous avons pu mettre en évidence un stade IV (longueur moyenne : 1,8 à 2 mm.) et un stade V (longueur moyenne : 2,5 à 3 mm.) ce qui paraît plus normal.

La description complète des différents stades larvaires que nous donnons ci-après, fait apparaître d'autres différences morphologiques moins importantes (nombre des soies latérales du submentum, nombre de dents *bt* de la mandibule, morphologie des papilles rectales).

DESCRIPTION DES DIFFÉRENTS STADES LARVAIRES

Dans cette description les particularités morphologiques importantes permettant l'identification des stades sont indiquées en caractères normaux, les caractères accessoires en petit texte.

STADE I :

Longueur totale : environ 0,6 à 0 mm. 7.

Écailles tégumentaires : complètement absentes.

Dent d'éclosion (d) (fig. 3 A) : présente sur le fronto-clypeus et noire ; elle sera absente dès le stade II.

Antennes (fig. 2 H) : un seul article portant, à son extrémité distale, une sensille conique, et, à sa base, une paire de sensilles du même type, mais plus petites. Longueur totale : 40 μ environ.

Prémandibules : hampe très courte (fig. 2 H), une vingtaine de grandes soies falciformes, nettement pectinées (non pectinées, d'après TERTERIAN).

Mandibules (fig. 1 A) : longueur moyenne AB : 43 μ .

Plaques épicroaniales : largement en contact (fig. 3 A) en arrière du clypeus ; pas de renforcement sclérifié formant la collerette.

Submentum (fig. 3 F et G) : neuf dents au bord antérieur, la médiane considérablement développée, une seule soie, longue, de chaque côté (pas de soie d'après TERTERIAN).

Échancrure ventrale de la capsule céphalique : large mais d'aspect un peu différent de ce qu'il sera à partir du stade II.

Disque postérieur d'accrochage : crochets peu nombreux, mais normalement développés, et disposés en trois rangées concentriques. Les deux longues soies qui, d'après PURI, sont insérées au centre du disque, n'ont pas été observées chez *S. damnosum*.

Papilles rectales : trois digitations simples, sans indication des futures digitations secondaires qui seront présentes chez les larves des stades ultérieurs.

STADE II :

Longueur totale : 0,9 à 1 mm. environ.

Écailles tégumentaires : complètement absentes.

Antennes : deux articles ; l'article basal est presque aussi long que le deuxième (fig. 1 H). Longueur totale : environ 60 μ .

Prémandibules : hampe normalement développée ; longue approximativement comme les 4/5 de l'antenne ; soies falciformes nettement pectinées (TERTERIAN les décrit comme non pectinées chez les espèces étudiées par lui).

Mandibules (fig. 1 B) : 3 à 4 dents *bt* ; longueur moyenne, AB : 67 μ .

Submentum : la dent médiane n'est pas considérablement plus développée que les autres, comme elle l'est au stade I. Deux soies latérales de chaque côté (fig. 3 H), comme PURI l'a observé chez les espèces étudiées par lui ; la soie postérieure est moitié moins longue que l'antérieure.

Échancrure ventrale céphalique : la forme caractéristique est déjà réalisée.

Plaques épicroaniales : séparées en arrière du clypeus, collerette (*c*) déjà indiquée, mais pas aussi sclérifiée qu'aux stades suivants.

Papilles rectales : chacune des trois digitations principales porte, sur sa moitié basale, de petits nodules constituant les ébauches des digitations secondaires, qui seront bien développée à partir du stade suivant.

Disque postérieur d'accrochage : une cinquantaine de rangées radiales, chacune comprenant 4 à 5 crochets.

STADE III :

Longueur : environ 1 mm. 5.

Écailles tégumentaires complètement absentes.

Antennes (fig. 2 J) : trois articles, par adjonction d'un nouveau segment basal, celui-ci nettement plus long que le deuxième, le troisième long deux fois comme le deuxième. Longueur totale : environ 100 μ .

Mandibules : 4 dents *bt* ; longueur moyenne AB : 92 μ .

Submentum (fig. 3 I) : deux soies latérales comme au stade II.

Plaques épieraniales : séparées en arrière du clypeus, mais pas encore d'ébauches de sclérites post-frontaux (fig. 3 B).

Papilles rectales : sur chaque digitation principale, six petites digitations secondaires, courtes, mais bien apparentes.

STADE IV :

Longueur 1,8 à 2 mm. environ.

Écailles tégumentaires : présentes mais seulement sur la face dorsale de la partie postérieure renflée de l'abdomen (fig. 2 D et D'), petites et éparses.

Antennes (fig. 2 K) : longueur 130 μ environ ; trois articles, le deuxième est encore petit (ainsi que l'a observé PURI), le troisième qui s'est allongé par rapport au stade précédent est un peu plus court que le deuxième et le premier réunis.

Submentum (fig. 3 J) : toujours deux soies latérales.

Papilles rectales digitations secondaires plus longues qu'au stade précédent.

Mandibules (fig. 1 D) : longueur moyenne AB : 128 μ ; 4 dents *bt*.

STADE V :

Longueur : environ 2,5 à 3 mm.

Antennes (fig. 2 L) : longueur 165 μ environ, trois articles, le deuxième qui a subi un allongement très net, est devenu aussi long que le troisième, le premier (basal) est court, mesurant environ la moitié du deuxième.

Écailles tégumentaires (fig. 2 E et E') : plus nombreuses et plus grandes qu'au stade IV, elles s'étendent, sur la face dorsale et sur les faces latérales de la partie renflée de l'abdomen et parfois aussi sur

la face ventrale de celle-ci, où elles sont nettement moins abondantes que sur la face dorsale ; sur les segments antérieurs de l'abdomen et du thorax elles sont peu nombreuses et présentent seulement du côté dorsal, sur la région moyenne de chaque segment ; à la base du pseudopode elles sont absentes ou présentes en très petit nombre (5 à 7 de chaque côté).

Plaques épicroaniales (fig. 3 C) : largement séparées en arrière du clypeus, pas encore d'indication des sclérites post-frontaux.

Submentum (fig. 3 K) : trois soies latérales, dont la taille décroît nettement d'avant en arrière, la soie *a* n'est pas encore insérée sur le submentum.

Mandibules (fig. 1 E) : longueur moyenne AB : 170 μ ; 5 dents *bt*.

Papilles rectales : très ramifiées.

Tubercules latéro-dorsaux de l'abdomen : très peu apparents, lorsqu'ils existent.

STADE VI :

Longueur : environ 4 à 5 mm.

Écailles tégumentaires : nettement plus denses et plus grandes qu'au stade précédent ; elles sont abondantes sur les segments thoraciques et les segments antérieurs de l'abdomen (fig. 2 F) ; à la base du pseudopode thoracique elles sont nettement plus nombreuses qu'au stade V et forment une plage bien visible.

Antennes (fig. 2 M) : longueur 215 μ environ ; le deuxième article est devenu nettement le plus long ; le troisième long comme les 3/4 du deuxième et le premier court, un peu inférieur, à la moitié du second.

Plaques épicroaniales (fig. 3 D) : sclérites post-frontaux (*pf*) présents mais pas encore détachés des extrémités de la collerette (*c*).

Tubercules latéro-dorsaux de l'abdomen : une paire bien apparente sur les six premiers segments de l'abdomen (fig. 2 F).

Disques imaginaux et histoblastes nymphaux : bien apparents, sous la forme de taches blanchâtres.

Submentum (fig. 3 L) : quatre soies latérales dont la taille décroît d'avant en arrière, la soie basale est très courte ; la soie A n'est toujours pas insérée sur le submentum.

Mandibules (fig. 1 F) : longueur moyenne AB : 235 μ ; 6 dents *bt*.

Papilles rectales : extrêmement ramifiées ; les digitations secondaires aussi longues que les principales.

STADE VII (dernier stade) :

Longueur : 5 à 6 mm. 5.

Plaques épicroaniales (fig. 3 E) : les bords de la collerette (*c*) nettement marqués sont largement séparés et les deux sclérites post-fron-

taux (*pf*), qui se sont détachés des plaques épicroaniales, sont nettement isolés en arrière du clypeus.

Disque imaginaux : bien nets, blanchâtres, où l'on reconnaît l'organisation du futur organe de l'adulte ; histoblastes des branchies nymphales bien organisés, très noirs chez les larves les plus avancées en développement.

Tubercules latéro-dorsaux : six paires nettement apparentes, abondamment recouvertes d'écaillés, qui leur donnent une teinte noirâtre.

Écaillés tégumentaires (fig. 2 G) : formant un revêtement extrêmement dense, disposé comme au stade précédent.

Antennes (fig. 2 N) : trois articles, seul le deuxième s'est allongé de façon sensible par rapport au stade VI. Longueur : 240 μ environ.

Submentum (fig. 3 M) : six soies latérales disposées comme sur la figure, les deux postérieures très petites et grêles ; la soie *a* est insérée sur le submentum.

Mandibules (fig. 1 G) : longueur moyenne AB : 300 μ ; 7 dents *bt*.

Papilles rectales : constituant un bouquet extrêmement ramifié comme au stade précédent.

RÉSUMÉ

Nous avons constaté l'existence, chez *S. damnosum* Theo., de sept stades larvaires, la larve subissant au cours de sa croissance six mues, puis une septième qui l'amène à l'état de nymphe.

Ceci vient à l'appui des opinions déjà suggérées par PATTON et EVANS (1929) et SMART (1934). Une telle conclusion a pu être formulée par la confrontation des résultats obtenus : 1° par l'étude biométrique de la croissance des mandibules, 2° par une étude de la morphologie comparée des larves au cours de leur croissance.

L'étude morphologique a été basée : *a*) pour les stades I, II, III sur les particularités de la croissance de l'antenne découvertes par PURI (stade I : 1 article ; stade II : 2 articles ; stade III : 3 articles qui est le nombre définitif des segments) ; *b*) pour les stades terminaux (avant-dernier et dernier), sur l'individualisation, puis l'isolement des sclérites post-frontaux, conformément aux observations de TERTERIAN ; *c*) pour les stades IV à VII sur l'apparition progressive du revêtement d'écaillés tégumentaires se complétant d'un stade à l'autre. Ce dernier caractère, mis en évidence par nous, est particulier à *S. damnosum* et nous a permis de préciser le nombre des stades intermédiaires se situant entre le troisième et l'avant-dernier stade.

Ces résultats permettent d'identifier maintenant, en faisant appel seulement à la morphologie, les différents stades larvaires de *S. dam-*

nosum, espèce chez qui les premiers stades de l'évolution larvaire sont, dans leur aspect, différents des stades terminaux et pouvaient, jusqu'ici, être considérés comme ceux d'une autre espèce. Cette étude nous paraît offrir ainsi un intérêt pratique non négligeable, au cours des enquêtes épidémiologiques ayant pour but la localisation précise des gîtes larvaires de cette espèce.

*Institut Pasteur, Paris, Laboratoire d'Entomologie médicale
et Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer.*

BIBLIOGRAPHIE

- AIGNER-ABAFI (L. V.). — Die Kolumbacszer Fliege. *Allgm. Zeitschr. f. Entom.*, 1903, 8, 93-96.
- BARNLEY (G. R.). — An attempt to eradicate *S. damnosum* Theob. from an area on the Victoria Nile, Uganda. *Unpublished Report* (cité par CRISP, 1956), 1952.
- CAMERON (A. E.). — The morphology and biology of a Canadian cattle infesting black-fly, *S. simile* Mall. *Dept. of Agric. Dominion of Canada, Bull. 5 (n. s. Techn.)*, 1922, 26 p.
- CRISP (G.). — *Simulium* and onchocerciasis in the Northern territories of the Gold Coast. *Publ. British Empire Soc. for the blind*, H. L. Lewis and Co. Ltd., éd., 1956, 171 p.
- EDWARDS (F. W.). — On the British species of *Simulium*. II. The early stages. *Bull. Ent. Res.*, 1920-1921, 11, 211-246.
- LAMOTTE (M.). — Initiation aux méthodes statistiques en biologie. Masson et Cie, éd., Paris, 1957, 144 p.
- MEINERT (Fr.). — De eucephaler Myggelarver. *K. Dan. Viden. Selsk. Skr.*, 1886, 3, 373-493.
- PATTON (W. S.) et EVANS (A. M. E.). — Insects, Ticks and venomous animals. *Publ. Liverpool School Trop. Med. Hyg.*, 1929, 786 p.
- PURI (I. M.). — On the life history and structure of the early stages of *Simuliidae* (Diptera, Nematocera). *Parasitology*, 1925, 17 (3-4), 295-369.
- SMART (J. S.). — On the biology of the black-fly, *Simulium ornatum* Meig. (Diptera, *Simuliidae*). *Proc. Royal Phys. Soc. Edinburgh*, 1934, 22, 217-238.
- TERTERIAN (A. E.). — The determination of the number of instars in the larvae of black-flies (Diptera, *Simuliidae*) (en russe). *Revue d'Entomologie de l'U. R. S. S.*, 1957, 36 (4), 860-868.
- WANSON (M.) et HENRARD (C.). — Habitat et comportement larvaire de *Simulium damnosum* Theobald. *Rec. Tr. Sc. Med. Congo belge*, 1945, n° 4, 113-121.