O.C.C.G.E. O.R.S.T.O.M.

SECTION ONCHOCERCOSE

ETUDE CYTOTAXONOMIQUE DU COMPLEXE SIMULIUM DAMNOSUM EN AFRIQUE OCCIDENTALE

I TECHNIQUES D'ETUDE - PREMIERS RESULTATS

par

D. QUILLEVERE[1] et B. PENDRIEZ[2].

169/Oncho du 3 Novembre 1972

1. Chargé de Recherches de l'ORSTOM
2. Technicien d'Entomologie médicale de l'ORSTOM

Section Onchocercose B.P. 171 Bobo-Dioulasso - Haute-Volta.

I. INTRODUCTION.

1.1. Historique.

Depuis 1923, année où BLACKLOCK découvrit le rôle de Simulium damnosum Theo. dans la transmission de l'Onchocercose, de nombreux travaux à travers l'Afrique montrèrent la grande variabilité de comportement du vecteur. Dès lors plusieurs chercheurs émirent l'hypothèse de l'existence d'un complexe d'espèces indifférenciables morphologiquement. Seule l'étude précise des chromosomes géants trouvés dans les glandes sericigènes des larves, permit en 1966 à DUNBAR d'entamer l'étude cytotaxonomique du complexe S.damnosum. Parmi les larves que MAC CRAE lui avait expédiées d'Ouganda il déterminait quatre types cytologiques différents. En 1969, DUNBAR reconnait 9 types cytologiques, 8 en Afrique de l'Est et 2 en Afrique Occidentale (Nile étant commun aux deux). En 1971 DUNBAR et VAJIME fixent à 17 le nombre des cytotypes, 11 "spécifiques" de l'Afrique de l'Est, 5 de l'Afrique Occidentale et 1 (Nile) se trouvant dans toute l'Afrique. Enfin, en 1972, VAJIME (correspondance) donnant ses derniers résultats regroupait les 7 cytotypes Ouest-Africains en 4 espèces: Bandama - Soubre, Yah-Bille, Nile-Sirba, Dieguera. Les deux premières espèces étant "forestières" et les deux dernières de "savane". Il précisait aussi que ces quatre espèces et ces 7 cytotypes formaient en réalité 10 populations ou sous-populations différentes.

1.2. But du travail.

Il apparut rapidement nécessaire de faire la relation entre les cytotypes et les différences de comportement observées. Ceci ne pouvait être fait que sur le terrain au sein d'une équipe spécialisée depuis de nombreuses années dans l'étude écologique et épidémiologique de S.damnosum. C'est pourquoi, début 1972, nous avons entamé ce travail car il devenait désormais impossible de mener à bien un travail de recherches sur S.damnosum sans tenir compte des découvertes cytotaxonomiques. S.damnosum ne pouvait plus être considérée comme une seule et unique espèce mais comme un complexe d'espèces jumelles. Dans un premier temps nous avons dû mettre au point ou modifier les techniques d'étude puis ensuite déterminer les différents cytotypes présents dans notre zone d'étude.

.../...

2. TECHNIQUES D'ETUDE.

2.1. Récolte du matériel.

Les larves sont récoltées si possible avec leur support (branches, herbes, feuilles, pierres) et sont aussitôt enfermées dans des sachets de plastique avec une fiche indiquant le lieu et la date de la récolte. Les sacs plastiques sont placés à leur tour au contact de la glace dans une boîte thermostatique facilement transportable sur le terrain. Si les gîtes larvaires ne sont pas trop éloignés du laboratoire, on y ramène la glacière afin de trier les larves. On conserve les larves de S.damnosum du dernier stade (ébauches branchiales bien visibles). Si les gîtes sont trop éloignés ou si la tournée dure plusieurs jours, on se contente de fixer les larves en les plongeant directement avec leurs supports, bien égouttés, dans le fixateur. Les piluliers contenant les larves fixées sont conservés en glacière.

2.2. Fixation du matériel.

L'un des meilleurs fixateurs pour l'étude des noyaux cellulaires et en particulier des chromosomes est le fixateur de Carnoy dont la formule classique est :

- 6 parties d'alcool absolu
- 3 parties de chloroforme
- 1 partie d'acide acétique cristallisable à rajouter au moment de l'emploi.

DUNBAR emploie un Carnoy modifié comme suit :

- Alcool absolu 2 parties (ou 3 parties)
- Acide acétique cristallisable (1 partie).

Il n'emploie donc pas de chloroforme mais, en contre partie, pratique une incision dorsale de la partie postérieure de l'abdomen afin "de mettre à nu" les glandes séricigènes. Nous pensons qu'en utilisant le chloroforme cette précaution est superflue. Nous avons obtenu d'excellentes fixations des glandes séricigènes et des tubes de Malpighi en utilisant du Carnoy formé de :

- 3 parties d'alcool absolu
- 1 partie de chloroforme
- 1 partie d'acide acétique cristallisable.

.../...

et en plongeant directement les larves vivantes dans le fixateur sans dissection préalable. Cette méthode permet sur le terrain de récolter un matériel bien plus abondant.

Nous avons testé également la méthode de DUNBAR consistant à ouvrir les larves avant de les fixer dans le Carnoy sans chloroforme. Les résultats obtenus ont été tout à fait similaires aux nôtres.

La durée de la fixation pour les larves non disséquées est de 2 à 3 heures, pour une température comprise entre 0 et 5°C. On peut également conserver les larves dans le fixateur durant plusieurs mois mais à condition de les maintenir à basse température (0 à 5°C). Nous avons personnellement obtenu de bonnes préparations avec des larves conservées depuis 3 mois dans le fixateur; cependant l'étalement des chromosomes se fait plus difficilement qu'avec des larves fraichement fixées.

2.3. Coloration.

Nous avons testé quatre méthodes différentes de coloration :

- coloration de Feulgen
- coloration à l'orcéine acéto-lactique
- coloration au violet de Cresyl
- coloration au carmin acétique.

2.3.1. Coloration de Feulgen.

La coloration nucléaire de Feulgen nous a donné d'excellents résultats.

Les larves sorties du fixateur et ouvertes ventralement sont placées dans une solution d'acide chlorhydrique à 10% à froid durant 1 minute, puis dans une solution identique préalablement chauffée à 60°C durant 5 à 10 minutes; on les repasse alors dans la solution à froid durant 30 secondes et on les lave à l'eau distillée. On sèche rapidement les larves sur du papier filtre, on les plonge dans la leucofuschine basique et on place le tout au réfrigérateur entre 0 et 5°C.

La durée de la coloration est très variable et dépend beaucoup de la fixation. Certaines larves se colorent suffisamment en 10 - 15 minutes, d'autres en 2 ou 3 heures. La durée moyenne est

.../...

1 heure ou 1 heure et demie. On lave ensuite dans trois bains successifs d'eau sulfurée et dans trois bains d'eau du robinet, chaque bain durant 5 minutes environ. On conserve les larves avec leur glandes séricigènes colorées dans le dernier bain de lavage jusqu'au moment du montage provisoire.

2.3.2. Coloration à l'orcéine acéto-lactique.

Cette coloration est couramment utilisée pour l'étude cytotaxonomique des moustiques par exemple. Son avantage sur la coloration de Feulgen est qu'elle ne nécessite pas d'étuve ou de bain-marie pour l'hydrolyse préalable, de plus elle est plus rapide et nécessite moins de manipulations. Les résultats obtenus sont bons mais les bandes chromosomiques n'apparaissent pas aussi nettement, au contraste de phase, qu'avec la coloration de Feulgen.

Les larves sorties du fixateur sont ouvertes ventralement. On sépare alors les glandes séricigènes du corps de la larve, ce dernier étant placé en attente dans de l'acool à 70° en vue de l'étude morphologique.

Les glandes séricigènes sont alors placées dans une goutte d'orcéine acéto-lactique déposée sur une lame propre. On laisse le colorant agir 3 à 5 minutes puis on recouvre d'une lamelle et on procède à l'écrasement.

Avec cette coloration qui ne nécessite pas, comme le Feulgen, une hydrolyse préalable, les glandes séricigènes contiennent une masse de soie rendue dure et compacte par le fixateur. Cette soie rend parfois impossible l'écrasement des cellules et l'étalement des chromosomes. Deux solutions sont alors possibles: ou bien on dissèque les glandes séricigènes elles-mêmes afin de retirer la masse de soie interne, ou bien on ramollit suffisamment la soie en procédant à une hydrolyse préalable.

La première solution n'est guère satisfaisante car on détruit, du moins en partie, beaucoup de cellules et de noyaux. La seconde solution rend cette coloration aussi peu pratique que la coloration de Feulgen. Nous avons donc pris un moyen terme en réalisant une simple "hydrolyse" à froid dans une solution d'acide chlorhydrique à 10% durant une minute. Ceci suffit à ramollir suffisamment

.../...

la soie pour permettre un bon étalement des chromosomes et ne nécessite pas l'utilisation d'une étuve ou d'un bain-marie.

Cette méthode rapide peut être employée pour un travail de routine visant à déterminer les larves, mais dans un premier temps où nous devons avoir des images précises de la succession des bandes nous lui préférons la coloration de Feulgen.

2.3.3. Coloration au violet de cresyl.

Cette coloration bien que relativement complexe ne donne pas de résultats intéressants. En particulier elle se prête très mal à l'observation en contraste de phase. Nous la citons donc pour mémoire (AMIRKHANIAN, 1968).

2.3.4. Coloration au carmin-acétique.

La coloration au carmin acétique est très proche de la coloration à l'orcéine acéto-lactique. En ce qui concerne les résultats obtenus, les bandes chromosomique colorées par l'orcéine acéto-lactique sont plus nettes, en particulier lors de l'observation en contraste de phase.

2.4. Montage provisoire.

2.4.1. Après la coloration de Feulgen.

On sort une par une les larves du bain de lavage. Chaque larve est alors placée pour la dissection sur une lame propre, dans une goutte d'acide acétique à 50%. Les glandes séricigènes sont séparées du reste de la larve qui est placé dans de l'acool à 70% en vue d'une étude morphologique ultérieure.

On couvre alors la préparation d'une lamelle. Pour procéder à l'écrasement il est important que la lamelle ne glisse pas et n'enroule pas, ce faisant, les noyaux et les chromosomes. On place donc la lame entre deux morceaux de papier filtre, et on exerce progressivement une pression sur la lamelle et ceci suivant la verticale (OVAZZA 1971). Très souvent une pression même forte du pouce ne suffit pas à étaler suffisamment les chromosomes. Ne disposant pas de presse spéciale, nous avons placé au dessus de la lamelle, recouverte de plusieurs couches de papier filtre, une simple gomme servant

d'amortisseur et avec quelques coups de marteau nous obtenons un étalement parfait des chromosomes. Il faut évidemment s'assurer que la table ou la paillasse où l'on travaille est absolument plane sinon la lame casse.

2.4.2. Après les autres colorations.

Les glandes sericigènes étant déjà placées sur la lame dans la goutte de colorant, il suffit donc, après le lavage, d'enlever au maximum la soie contenue dans les glandes avant de placer la lamelle et de procéder à l'écrasement comme ci-dessus.

2.5. Montage définitif.

2.5.1. Congélation.

Après s'être assuré au microscope du bon étalement des chromosomes, on place la lame dans le freezer d'un réfrigérateur lamelle en dessous. Après trois ou quatre heures on sort la lame et rapidement on fait sauter la lamelle. Une partie du matériel reste sur la lame, l'autre sur la lamelle.

2.5.2. Déshydratation.

On plonge la lame dans un tube de Borrel contenant de l'alcool absolu et la lamelle correspondante dans une petite boîte de Petri contenant, elle aussi, de l'alcool absolu. Après 2 bains d'alcool absolu et 2 bains de Toluène (5 mn chacun) on procède au montage.

2.5.3. Montage au Baume.

On sort la lame du Toluène et on place à l'endroit où se trouve le matériel une goutte de Baume du Canada. On recouvre avec une lamelle propre. On place alors sur la lame à côté de la lamelle une deuxième goutte de Baume et on recouvre avec la lamelle sortie du Toluène. Chaque lame porte donc deux lamelles, l'une recouvrant le matériel resté sur la lame et l'autre le matériel resté sur la lamelle. La lame, où sont inscrites les indications voulues, est alors placée à l'étuve pour le séchage.

.../...

2.6. Etude des chromosomes.

2.6.1. Observation et photographie.

Les chromosomes sont observés à fort grossissement au contraste de phase. Le contraste de phase donne des images nettement plus contrastées et précises de la succession des bandes que l'observation en fond clair. Signalons à ce propos que la coloration doit être légère. Les chromosomes doivent apparaître rosés à l'optique ordinaire, pour la coloration de Feulgen et l'orcéine acéto-lactique, sinon on observe au contraste de phase un "engorgement" des bandes chromosomiques. Inversement si la coloration est insuffisante on observe en contraste de phase une succession de bandes grisâtres se détachant à peine sur le fond gris.

Pour chaque larve on sélectionne quelques noyaux dont les chromosomes sont nets et bien étalés et on les photographie. Les films sont ensuites tirés sur papier photo format 18 x 24 cm, ce qui donne des chromosomes d'environ 1 cm de largeur.

2.6.2. Les cartes chromosomiques.

On découpe les chromosomes sur les photographies obtenues et on les recolle sur papier cartonné en rectifiant au maximum les courbures afin de pouvoir comparer côte à côte les chromosomes correspondants de diverses larves.

On dessine ensuite sur calque à partir du montage photographique obtenu les bandes chromosomiques et on précise leur succession au microscope. On obtient ainsi une carte photographique et une carte dessinée permettant de préciser les bandes apparaissant plus ou moins nettement sur la photo.

2.6.3. Numérotation.

Pour étudier plus précisément la succession des bandes on divise la longueur totale des 3 chromosomes d'un noyau en cent parties égales en ayant soin toutefois que chacune des cent parties soit définie par des bandes bien repérables. On numérote ces cent parties de 1 à 100 en débutant par le bras court du chromosome I et en terminant par le bras long du chromosome III. C'est ainsi que le chromosome I est numéroté de 1 à 42, le chromosome II de 43 à 72, le chromosome III de 73 à 100.

Lorsque l'on compare ensuite avec les chromosomes d'une autre larve il est plus commode de repérer les parties homologues et de mettre en évidence les inversions.

2.7. Etude morphologique.

Parallèlement à l'étude cytotaxonomique nous avons mené l'étude morphologique des larves. Lors de la dissection des glandes sericigènes, nous avons indiqué précédemment, que le reste du corps de la larve était placé en attente dans de l'alcool à 70°, de là il est placé dans du Marc-André à froid durant 24 heures. Ensuite on dissèque sur lame dans du P.V.A.

En ce qui concerne la capsule céphalique, on dispose sous une lamelle, les prémandibules, les mandibules, les maxilles, l'armature bucco-pharyngée et la capsule céphalique déroulée portant les antennes.

En ce qui concerne le corps de la larve, on en découpe la partie postérieure, afin de placer à plat le sclérite anal et la couronne de crochets postérieure. On déroule également une ébauche branchiale. Sous une troisième lamelle, on place de profil le reste du corps de la larve.

3. RESULTATS OBTENUS.

3.1. Sur les larves au dernier stade.

En photographiant et en comparant les chromosomes correspondants de larves issues de différents gîtes, nous avons pu préciser la localisation et l'étendue des inversions IL_1 IIIL_2 et IIIL_6 de la nomenclature DUNBAR-VAJIME. Ces trois inversions nous ont permis de déterminer les cytotypes Nile, Sirba et Bille dans les différents gîtes étudiés. Le tableau de la page 10 résume les déterminations effectuées.

.../...

Pays	Localité	Rivière	Mois de récolte	Cyto-type	Nbre d'exemplaires
Soudan	Abu - Tin	Nil	Février	Nile	8
	Wau	Bahr-el-Ghazal	Février	Nile	9
Haute-Volta	Samandéni (en amont du pont)	Volta noire	Décembre Janvier Mars	Nile Nile Sirba Nile Sirba	11 11 9 3 9
	Dédougou (route de Nouna)	Volta noire	Février Avril	Nile Sirba Nile Sirba	25 7 2 13
	Guéna	Dienkoa	Mars	Bille	15
	Dienkoa (chutes)	Dienkoa	Mai	Bille	32
	Banzo	Volta noire	Mai	Bille Sirba	2 6
	Lanvièra	Plandi	Mai	Bille	9
	Nabéré	Bougouri-Ba	Juillet	Sirba	8
Mali	Farako campement	Farako	Juillet	Sirba	6
	Bamadougou	Farako	Juillet	Sirba	9
	Dougoukourané	Baouléni	Juillet	Sirba	10

Au point de vue morphologique nous n'avons trouvé aucun caractère distinctif constant sur les larves étudiées entre les différents cytotypes.

3.2. Sur les nymphes et les adultes.

Chez les adultes nous avons observé les tubes de Malpighi, les glandes salivaires, les ovaires. Nulle part nous n'avons trouvé de chromosomes géants utilisables pour une étude cytotaxonomique. Tout au plus les tubes de Malpighi présentent comme chez les nymphes et les larves de gros noyaux, mais les chromosomes malpighiens dont les bandes sont bien nettes chez les larves, deviennent moins nets chez les nymphes et complètement illisibles chez les adultes.

3.3. Ecologie et épidémiologie des différents cytotypes.

Le but de ce travail de détermination est évidemment, dans un second temps, l'étude comparative de l'écologie et de l'épidémiologie des différents cytotypes. Nous n'avons malheureusement pas eu la possibilité cette année de débuter cette partie du travail, la Section Onchocercose ayant eu à assurer un vaste programme d'essais insecticides par voie aérienne, programme auquel nous avons participé à plein temps à partir du mois d'Août 1972.

4. CONCLUSION.

La grande diversité des types cytologiques chez *Simulium damnosum* (17 cytotypes décrits jusqu'à présent) ne peut s'expliquer uniquement par une recombinaison de gènes lors d'un crossing-over méïotique. Le processus primordial est celui de la dérive génique, continuellement engendrée par la création de sous-populations à partir d'un nombre restreint d'individus isolés de populations plus importantes. Ceci chez *S.damnosum* est dû à plusieurs facteurs concomittants tels que la puissance de dispersion des femelles, l'alternance saison des pluies-saison sèche, et aussi artificiellement, les campagnes insecticides (LE BERRE 1966).

Lors de la formation de ces sous-populations, la proportion des différents types géniques responsables de l'adaptation au milieu peut être mauvaise par le seul fait du hasard, la loi des grands nombres ne jouant plus. Le polymorphisme balancé de la sous-population devra donc se reconstituer à partir de quelques individus au

stock génique mal équilibré dans lequel certains des gènes de la population mère sont absents. Les conditions sélectives du milieu ayant en outre toutes chances d'être un peu différentes, d'autres gènes seront sélectionnés et la composition génétique de la sous-population isolée se différenciera de plus en plus de la population mère.

En Afrique de l'Ouest où les conditions écologiques (climat, hydrologie, etc...) permettent, chaque année, le développement d'environ 25 générations de Simulies, on peut aisément comprendre la complexité du problème. VAJIME lui-même (correspondance 1972) après avoir défini 7 Cytotypes Ouest-Africains, les regroupait en 4 espèces tout en décrivant 10 sous-populations. Les variations observées et le nombre d'inversions sont considérables. Certains bras de chromosomes possèdent jusqu'à 7 inversions se chevauchant les unes les autres, certaines étant fixes, d'autres flottantes. On peut donc trouver plusieurs combinaisons différentes à l'intérieur d'un même cytotype, de même qu'entre des cytotypes différents. Il paraît également difficile d'établir une carte de répartition des différents types puisque cette carte doit varier selon les mois de l'année et aussi en fonction des phénomènes de dispersion et des campagnes insecticides. Dans la poursuite de ce travail nous devrons donc sélectionner des gîtes larvaires purs (un seul cytotype) aussi isolés que possible afin de pouvoir étudier l'écologie et le comportement épidémiologique de la population considérée.

5. REMERCIEMENTS.

Il nous est agréable de remercier ici le Docteur LE BERRE Chef de la Section Onchocercose qui nous a fourni tous les moyens en matériel et en personnel pour ce travail tout en nous faisant profiter de sa longue expérience de S.damnosum.

Nous tenons aussi à remercier nos collègues de la Section Onchocercose qui nous ont toujours aidé et soutenu durant ce travail.

.../...

6. BIBLIOGRAPHIE.

AMIRKHANIAN, J. D., 1968.
A combined HCL-Acetic - Alcohol fixation and Hydrolysis followed by cresyl violet staining for mosquito chromosome spreads.
Stain Technology, 43 , 167 - 170.

BLACKLOCK, D.B., 1926.
The development of O.volvulus in S.damnosum Theo.
Ann. trop. med. Parasit., 20, 1-48.

DUNBAR, R.W., 1966.
Four sibling species included in Simulium damnosum Theobald(Diptera: Simuliidae) from Uganda.
Nature, 209, 597 - 599.

DUNBAR, R.W., 1969.
Nine cytological segregates in the Simulium damnosum complex(Diptera, Simuliidae)
Bull. Org. mond. Santé, 40, 974 - 979.

DUNBAR, R.W., et VAJIME, Ch.G., 1971.
Etude cytotaxonomique du complexe Simulium damnosum
WHO/Oncho/71. 87, 5p.

LE BERRE, R., 1966.
Contribution à l'étude biologique et écologique de Simulium damnosum, Theobald, 1903 (Diptera, Simuliidae).
Mémoires ORSTOM, N°17, 204p.

OVAZZA, M., 1971.
Notes sur l'étude cytotaxonomique des Simulies et en particulier de S.damnosum.
Rapport dactylographié, 12 p.

C. C. G. E. O. R. S. T. O. M.

CENTRE ENTOMOLOGIQUE DE L'ONCHOCERCOSE

ETUDE CYTOTAXONOMIQUE DU COMPLEXE *SIMULIUM DAMNOSUM* EN AFRIQUE OCCIDENTALE

III. CARTES CHROMOSOMIQUES ET REPARTITION GEOGRAPHIQUE DES CYTOTYPES

par

D. QUILLEVERE [1]

N° 79/Oncho/Tech./74

---

1. Entomologiste médical de l'ORSTOM, Mission Entomologique ORSTOM auprès de l'OCCGE, Centre Entomologique de l'Onchocercose B.P. 1500 Bouaké - Côte d'Ivoire.

PLAN

1. Introduction.
   1.1. Le complexe Simulium damnosum.
   1.2. But du travail.

2. Les Cartes chromosomiques.
   2.1. Techniques d'étude.
   2.2. Caryotype de Simulium damnosum s.l.
   2.3. Identification des cytotypes.
      2.3.1. Numérotation.
      2.3.2. Les inversions.
      2.3.3. Nomenclature des inversions.
   2.4. Composition du complexe S.damnosum, en Afrique Occidentale.

3. Répartition géographique des cytotypes.

4. Cytotypes et variations internes.

5. Cytotypes et morphologie.
   5.1. Larves.
   5.2. Nymphes et adultes.
   5.3. Oeufs.

6. Cytotypes, bioécologie et épidémiologie.

7. Discussion.
   7.1. Cartes chromosomiques.
   7.2. Répartition des cytotypes.
   7.3. Cytotypes et variations internes.
   7.4. Cytotypes et morphologie.
   7.5. Cytotypes, bioécologie et épidémiologie.

8. Conclusion.

9. Remerciements.

10. Bibliographie.

1. Introduction.

1.1. Le complexe S.damnosum.

Lors de nos précédents rapports (Quillévéré et Pendriez, 1972, Quillévéré, 1974), nous avons présenté le problème posé par la découverte d'un complexe Simulium damnosum, nous en avons également fait l'historique. Rappelons brièvement ici que Simulium damnosum est le seul vecteur de l'onchocercose humaine en Afrique Occidentale, à ce titre il est primordial de connaître la composition exacte du complexe ainsi que les retombées écologiques, biologiques et épidémiologiques des différences chromosomiques observées.

Les seules études menées jusqu'à présent sur la cytotaxonomie de S.damnosum s.l. l'ont été au Canada ou en Afrique de l'est par l'équipe Dunbar-Vajime (1966, 1969, 1971, 1972). Il était donc urgent que ces mêmes études soient faites en Afrique de l'ouest sur le terrain même où sévit le plus gravement l'endémie onchocerquienne. Nous avons entamé ce travail en 1972 au sein d'une équipe spécialisée depuis de nombreuses années dans l'étude bioécologique de S.damnosum s.l. et dans la transmission de l'onchocercose. La mise en place d'un vaste programme de lutte contre le vecteur de l'onchocercose vient relancer à point nommé les recherches fondamentales et appliquées nécessaires à une meilleure connaissance et donc à un meilleur contrôle de S.damnosum s.l. .

1.2. But du travail.

Les résultats publiés jusqu'à présent quoique fort intéressants (Dunbar, 1966, 1969, Dunbar et Vajime 1971, 1972) ne permettent pas d'identifier les cytotypes Ouest Africains. En effet 7 cytotypes ont été décrits jusqu'à présent en Afrique Occidentale mais seulement deux "idiogrammes", ceux de Nile et Bandama, ont été publiés. Ces "idiogrammes" sont peu précis les chromosomes y étant représentés sous forme très schématique sans aucune indication des bandes (voir figure N° 9). Nous avons donc établi des cartes détaillées des diverses inversions permettant d'identifier les cytotypes Ouest Africains à l'exception de Diéguera dont seuls 7 spécimens ont été récoltés au Mali occidental. En ce qui concerne la répartition des différents cytotypes nous avons dans la zone considérée (Côte d'Ivoire, Sud Mali et Sud Haute-Volta) étudié à nouveau 12 gîtes déjà connus du point de vue cytotaxonomique, ce qui nous a permis de différencier les 6 cytotypes présents dans notre zone d'étude (Nile - Sirba - Bandama - Soubré - Bille - Yah). Nous avons alors pu identifier les cytotypes présents

dans 30 gîtes préimaginaux non encore étudiés du point de vue cytotaxonomique. Nous pensons avoir d'ici fin 1974 une couverture satisfaisante en ce qui concerne la répartition des cytotypes en Côte d'Ivoire. Nous passerons alors à l'étude bioécologique et épidémiologique des différents membres du complexe.

2. Les cartes chromosomiques.

2.1. Techniques d'étude.

Nos techniques d'étude ont été décrites précédemment (Quillévéré et Pendriez 1972). En résumé les larves de S.damnosum s.l. sont fixées vivantes sur le terrain dans un mélange fixateur comprenant 3 parties d'alcool absolu, 1 partie de chloroforme et 1 partie d'acide acétique cristallisable (Carnoy modifié). Les larves fixées sont conservées à basse température (0° à 5° C). Les meilleures préparations sont obtenues avec des larves fraîchement fixées du 5ème ou 6ème stade. La coloration de Feulgen donne les meilleurs résultats mais en raison de la longueur des manipulations elle peut être remplacée par la coloration à l'orcéine acéto-lactique en travail de routine. Le montage définitif se fait au Neutral. Les observations et les photographies des chromosomes se font en contraste de phase, qui donne des résultats nettement supérieurs à ceux obtenus en fond clair. Les agrandissements photographiques et les dessins réalisés à la chambre claire servent à l'établissement des cartes chromosomiques.

2.2. Caryotype de Simulium damnosum s.l.

Simulium damnosum s.l. possède trois paires de chromosomes. Les chromosomes géants des glandes séricigènes sont polyténiques; nous observons seulement trois chromosomes, chacun étant en réalité composé de chromosomes homologues accolés. Ces chromosomes homologues sont issus des deux chromosomes homologues initiaux et en ce qui concerne l'étude des inversions chromosomiques tout se passe comme si nous avions seulement deux chromosomes homologues appariés dans chaque "Chromosome géant".

Les trois chromosomes géants de Simulium damnosum sont aisément différenciables. Le chromosome I est le plus long et représente 42% de la longueur additionnée des trois chromosomes. Il possède un centromère (C) très visible situé en son milieu, formant une zone élargie à chromatine diffuse. Près du centromère sur le bras court

se trouve le nucléole (N). Le rapport entre le bras court et le bras long est de 1/1,1. (fig. 2; pl I photo 2).

Les chromosomes II et III sont presque de longueur équivalente, le premier représente 30% et le second 28% de la longueur additionnée des trois chromosomes. Tous deux sont acrocentriques le centromère étant déporté vers l'une des extrêmités, le rapport bras court/bras long est de 1/1,4 pour le chromosome II et de 1/1,8 pour le chromosome III. Dans les deux cas le centromère (C) n'est pas très visible car il est constitué d'une simple bande pouvant au premier abord être confondue avec les bandes voisines. Le chromosome II possède sur le bras court une zone à double dilatation appelée double-bulle (db) et séparée par deux bandes sombres de l'anneau de Balbiani (r) zone également élargie à coloration claire (fig. 4; pl I photos 3 et 4). Sur le bras long se trouve le parabalbiani (p) autre zone élargie mais plus petite et moins nette que la précédente. Le chromosome III est caractérisé par l'extrêmité du bras court élargie en massue et par la présence juste en dessous d'une zone très peu colorée appelée "Blister" (b) et suivie d'une forte bande sombre (fig. 7; pl II photos 5 et 6).

Notons enfin que l'aspect des bandes est très variable selon le degré d'étalement, de coloration et selon le noyau considéré. Il est donc nécessaire d'examiner en détail plusieurs noyaux d'une même larve avant de l'identifier.

2.3. Identification des cytotypes.

2.3.1. Numérotation.

Pour étudier plus précisément la succession des bandes on divise la longueur totale des trois chromosomes en cent parties en ayant soin toutefois que chacune des cent parties soit définie par des bandes repérables. On numérote ces parties de 1 à 100 en débutant par le bras court du chromosome I et en terminant par le bras long du chromosome III. C'est ainsi que le chromosome I est numéroté de 1 à 42, le chromosome II de 43 à 72, le chromosome III de 73 à 100. Lorsque l'on compare ensuite les chromosomes de larves différentes il est plus commode de repérer et de numéroter les parties homologues afin de mettre en évidence les inversions.

.../...

2.3.2. Les inversions.

Les cytotypes se différencient par la présence d'inversions fixes "inter-spécifiques" et de plus possèdent une ou plusieurs inversions flottantes "intra-spécifiques" caractéristiques. On appelle inversion le retournement d'un fragment de chromosome. Rappelons ici que chacun des trois chromosomes est en réalité composé de deux "ensembles" de chromosomes homologues étroitement appariés. L'inversion est dite "fixe" si elle est homozygote c'est-à-dire si elle concerne les deux "ensembles chromosomiques". L'inversion est dite "flottante" si elle est hétérozygote c'est-à-dire si elle concerne uniquement l'un des deux chromosomes, l'autre conservant la configuration standard. Dans ce dernier cas on observe "des boucles d'inversions", les bandes homologues du segment inversé et du segment standard restant accolées. Nous avons représenté sur la figure 1 la formation de la boucle d'inversion pour l'inversion flottante IIL_8 (Nomenclature Dunbar-Vajime) chez Nile. En a) nous voyons les deux "ensembles chromosomiques" séparés, l'un présentant un segment inversé l'autre restant "standard". En b) nous voyons que l'appariement des deux ensembles nécessite la formation d'une boucle afin que les bandes homologues s'apparient.

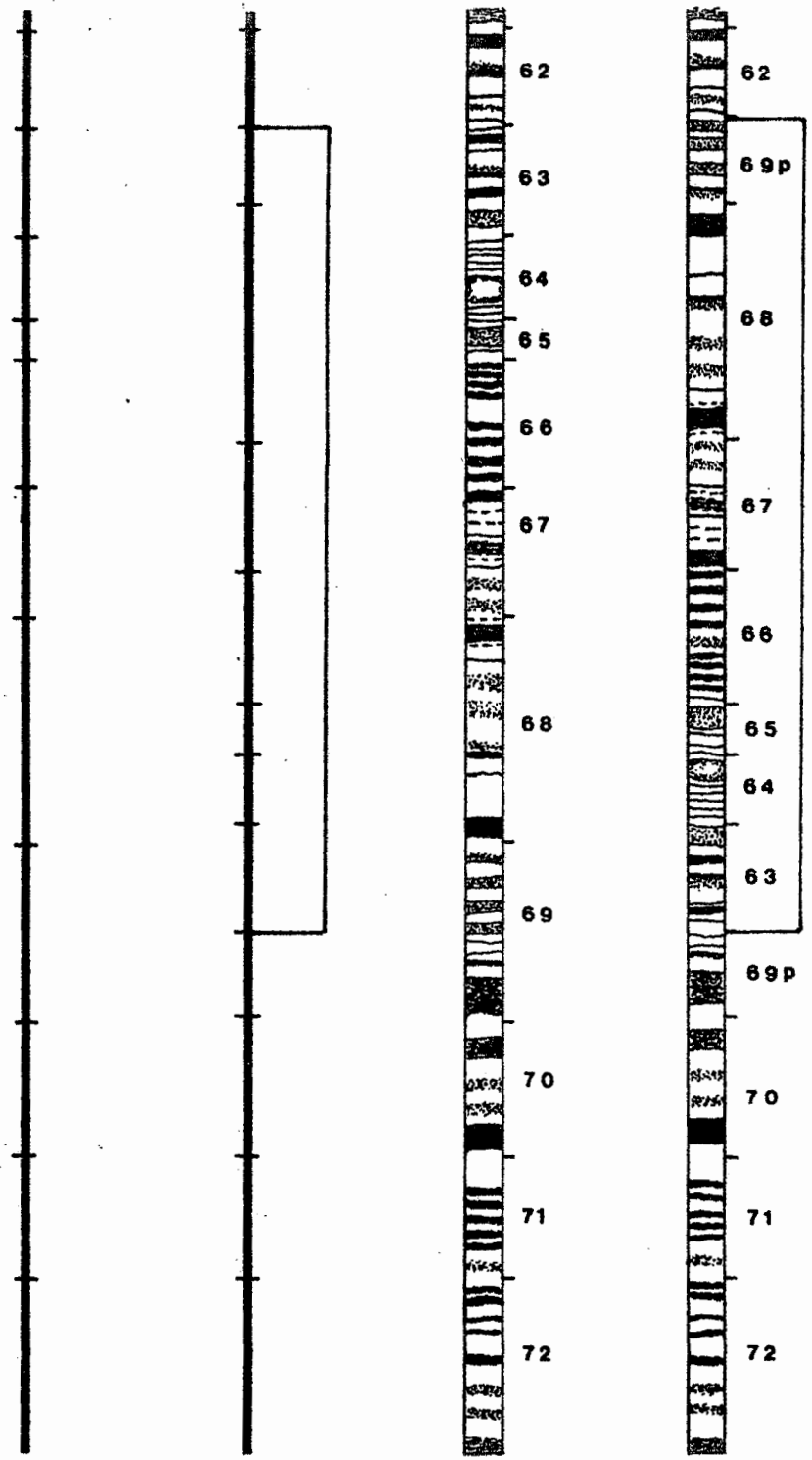
2.3.3. Nomenclature des inversions.

Nous avons utilisé ici dans un souci de standardisation la même nomenclature que l'équipe Dunbar-Vajime. Du moins avons nous fait des rapprochements entre les inversions que nous avons personnellement étudiées et celles citées précédemment par ces auteurs. Nous n'avons en effet pas pu obtenir de renseignements précis à ce sujet malgré de nombreuses tentatives.

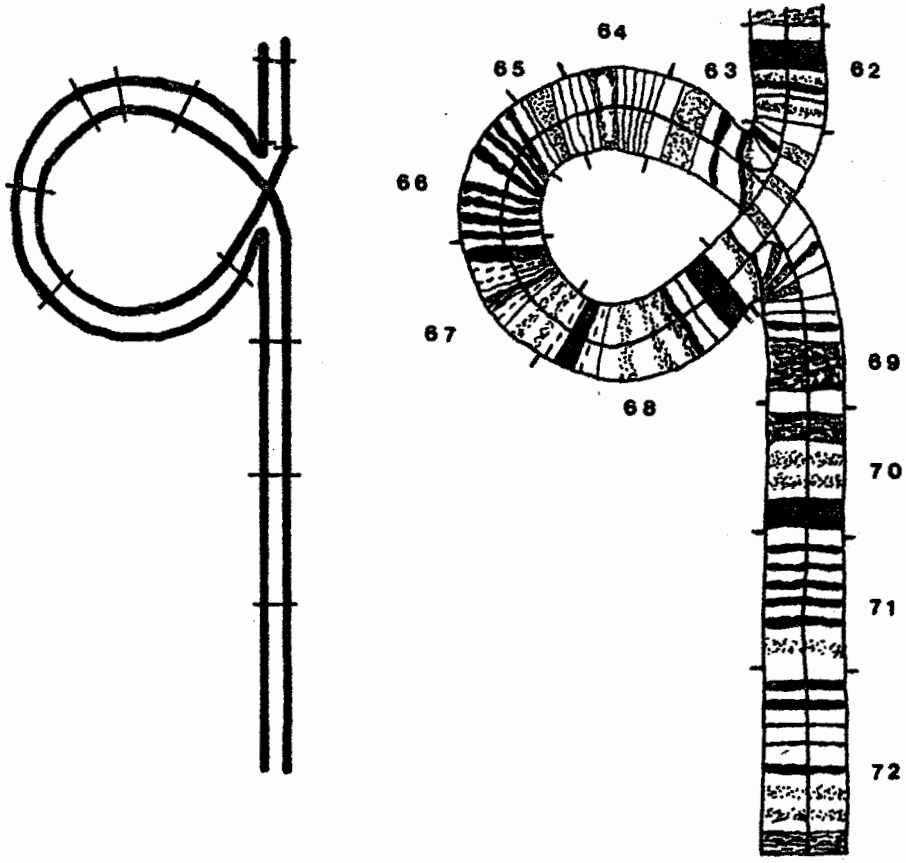
Les diverses inversions fixes ou flottantes sont désignées par un chiffre romain I, II ou III, qui indique le chromosome concerné, une lettre majuscule, S ou L, qui précise si l'inversion se trouve sur le bras court S (short) ou le bras long L et enfin un chiffre arabe déterminé par l'ordre dans lequel ont été décrites les inversions d'un même bras chromosomique. Par exemple l'inversion IS_1 se trouve sur le bras court du chromosome I et c'est la première inversion que l'on y a découverte.

.../...

Inversion flottante IIL_8



a



b

fig.1

2.4. Composition du complexe S.damnosum en Afrique Occidentale.

En Afrique Occidentale tous les membres du complexe S.damnosum appartiennent au sous-groupe Nile. Sept cytotypes ont jusqu'à présent été décrits en Afrique de l'Ouest et nous avons personnellement étudié six d'entre eux, à savoir : Nile - Sirba, Bandama - Soubré, Bille et Yah regroupés en trois paires par Vajime (1972) compte-tenu de leurs affinités chromosomiques. Le septième, Diéguéra n'est connu pour l'instant que de son gîte de description au Mali septentrional.

Le sous-groupe Nile se différencie du sous-groupe Sanje que l'on trouve uniquement en Afrique Orientale par la présence des inversions fixes IS_1 et IL_3 (Dunbar & Vajime, 1971). Tous les chromosomes I des différents cytotypes Ouest Africains présenteront donc ces deux inversions.

La forme Bille ne présentant que ces deux inversions fixes a été choisie comme standard des cytotypes Ouest Africains. Dans son dernier rapport Vajime (1972) donne les différences chromosomiques existant entre les cytotypes et à l'intérieur d'un même cytotype. Nous avons cartographié ces inversions afin que quiconque puisse avec un peu d'habitude déterminer les divers cytotypes. Rappelons ici brièvement les inversions caractéristiques des différentes formes (nous n'avons indiqué que les inversions personnellement observées).

a) Paire Bille-Yah	: inversions fixes : IS_1-IL_3
	inversion flottante : IIS_6
- forme Bille	: standard pour IIL
	inversion flottante : IIL_{18}
- forme Yah	: inversion fixe : IIL_{18}
b) Paire Nile-Sirba	: inversions fixes: IS_1-IL_3-IL_1-IIIL_2
	inversions flottantes: IS_2-IS_3-IL_2-IIIL_7
- forme Nile	: standard pour IIL - inversion fixe: IIIL_2
	inversions flottantes : IIL_8-IIIL_6
- forme Sirba	: inversions fixes : IIL_8-IIIL_{2-6}
c) Paire Bandama-Soubré	: inversions fixes: IS_1-IL_{3-6}-IIL_6-IIIL2 ou IIIL_4
	inversion flottante : IL_1
- forme Bandama	: inversion fixe : IIL_6
	inversions flottantes: IS_3-IS_5-IIL_{6-7}
- forme Soubré	: inversion fixe : IIL_{6-7}
	inversion flottante : IIIL_{24}

.../...

Nous voyons qu'il est donc possible d'établir des cartes de détermination des divers cytotypes.

Si nous considérons tout d'abord le chromosome I, chez le standard choisi "Bille" et chez "Yah" il porte uniquement les inversions fixes IS_1 et IL_3 caractéristiques du sous-groupe Nile (fig. 2). En faisant abstraction pour le moment des inversions flottantes nous voyons que la paire Nile-Sirba possède de plus l'inversion fixe IL_1 et que la paire Bandama-Soubré diffère du standard par l'inversion fixe IL_{3-6}. Il est donc possible en comparant l'extrêmité du bras long du premier chromosome de différencier les trois paires cytotaxomiques. Pour plus de clarté nous avons sur la figure 3 représenté côte à côte les extrêmités du bras long du chromosome I des trois paires.

Le chromosome II peut lui nous permettre d'identifier les deux cytotypes à l'intérieur d'une même paire. En effet chez Bille-Yah, Bille est standard pour la branche longue du II alors que Yah possède l'inversion fixe IIL_{18} qui est flottante chez Bille (fig. 4). Notons à ce propos que sur les différentes figures nous n'indiquons que les inversions fixes (en trait plein) et les inversions flottantes correspondantes (en pointillé). Pour la paire Nile-Sirba (fig. 5) Nile est considéré comme standard (ou du moins le plus proche du standard), Sirba possède l'inversion fixe IIL_8 qui est flottante chez Nile (pl I photo 4). Enfin pour Bandama-Soubré, Bandama possède l'inversion fixe IIL_6 alors que Soubré possède l'inversion fixe IIL_{6-7}, l'inversion IIL_7 étant flottante chez Bandama (fig. 6). Il est donc possible uniquement avec les chromosomes I et II, de séparer les 6 cytotypes étudiés.

Le chromosome III donne des informations complémentaires. Il est standard chez Bille-Yah (fig. 7); chez Bandama-Soubré il possède sur le bras long l'inversion fixe IIIL_4 (parfois IIIL_2 pour Bandama); Nile possède IIIL_2 et Sirba IIIL_{2-6}, IIIL_6 étant flottante chez Nile (pl II photo 1), (fig. 8).

Tout cela peut se résumer dans le tableau suivant :

CHROMOSOME I

Bille – Yah

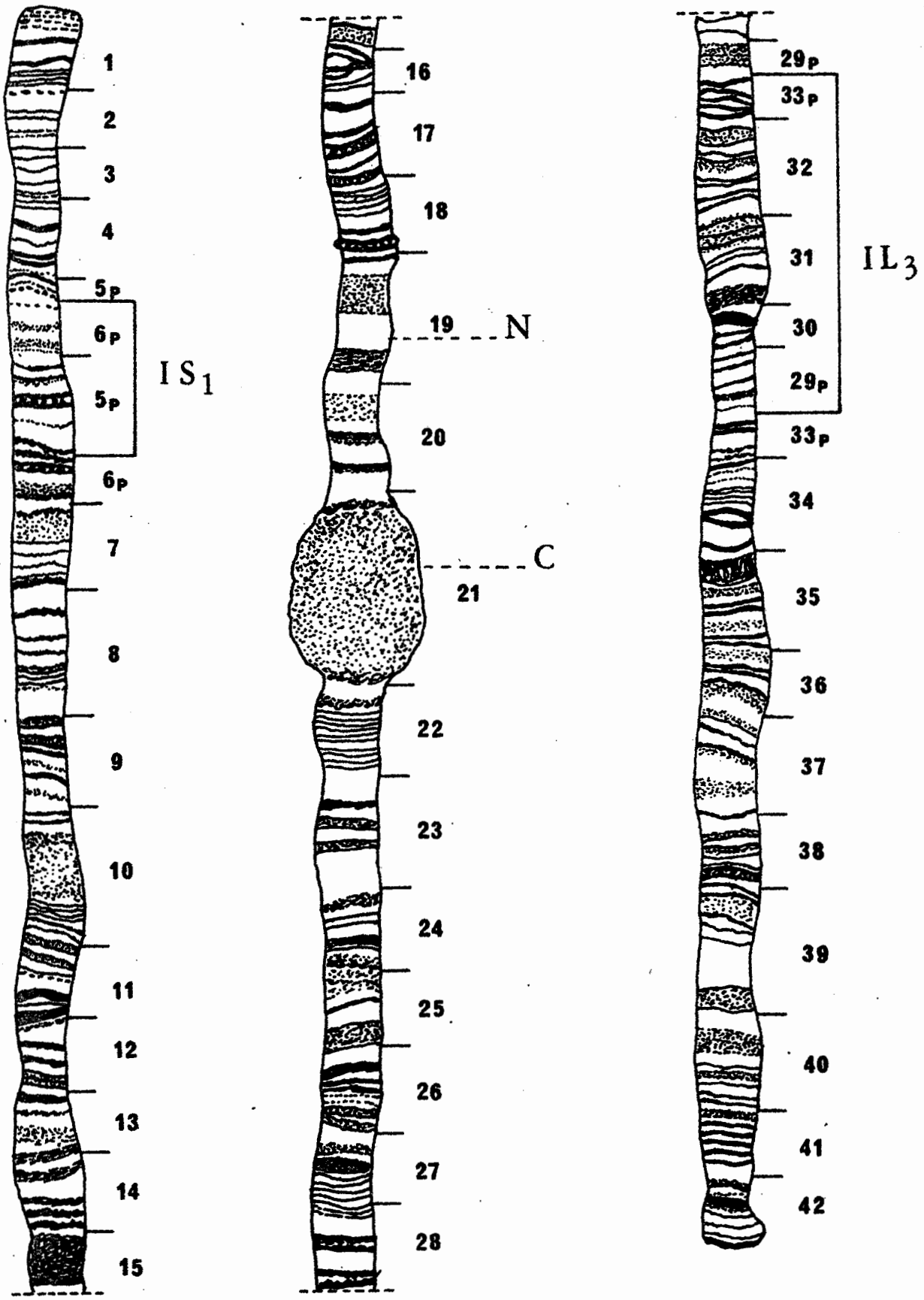
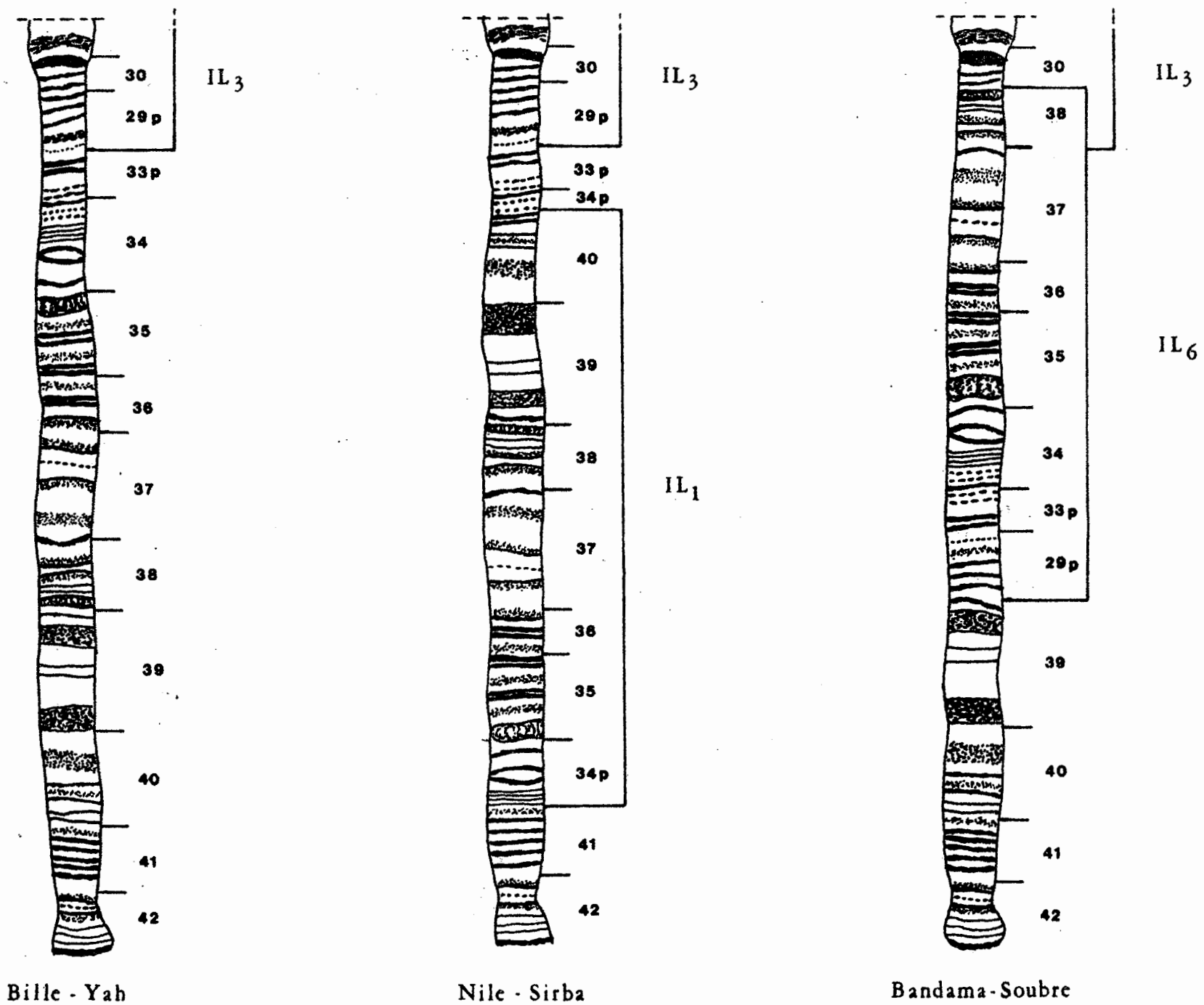


fig.2



Bille - Yah

Nile - Sirba

Bandama-Soubre

II

fig. 3

CHROMOSOME II

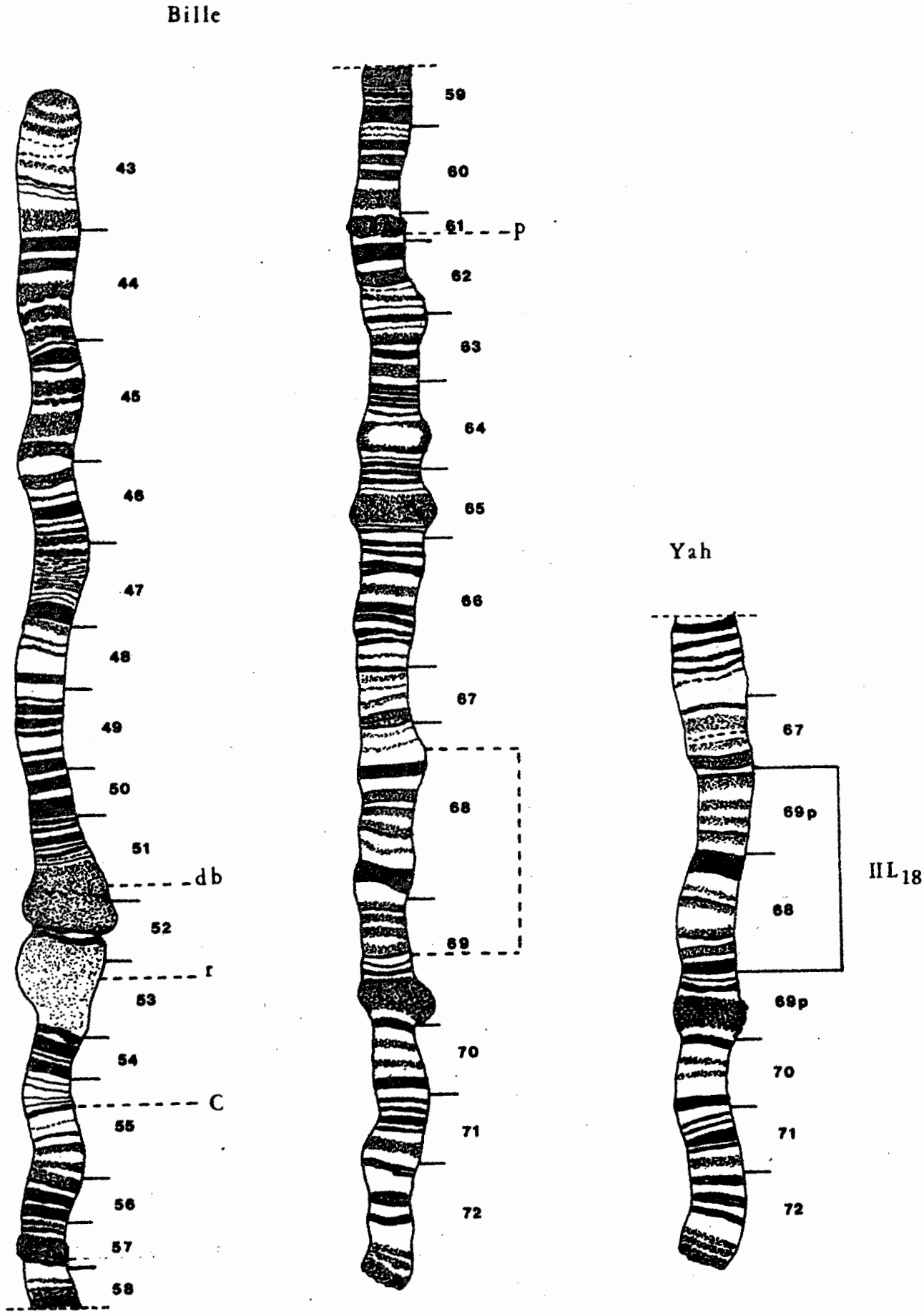


fig.4

CHROMOSOME II

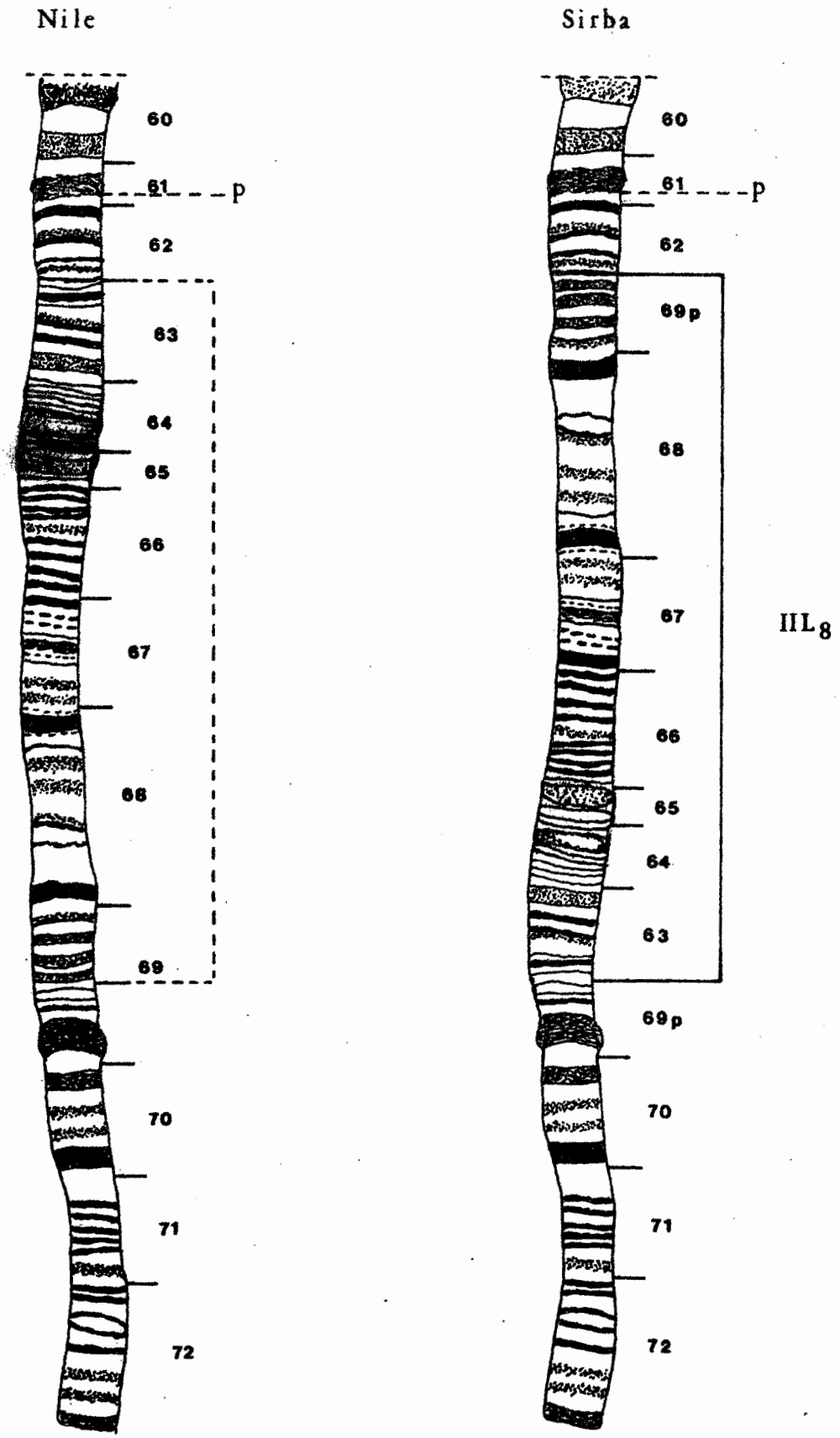


fig. 5

CHROMOSOME II

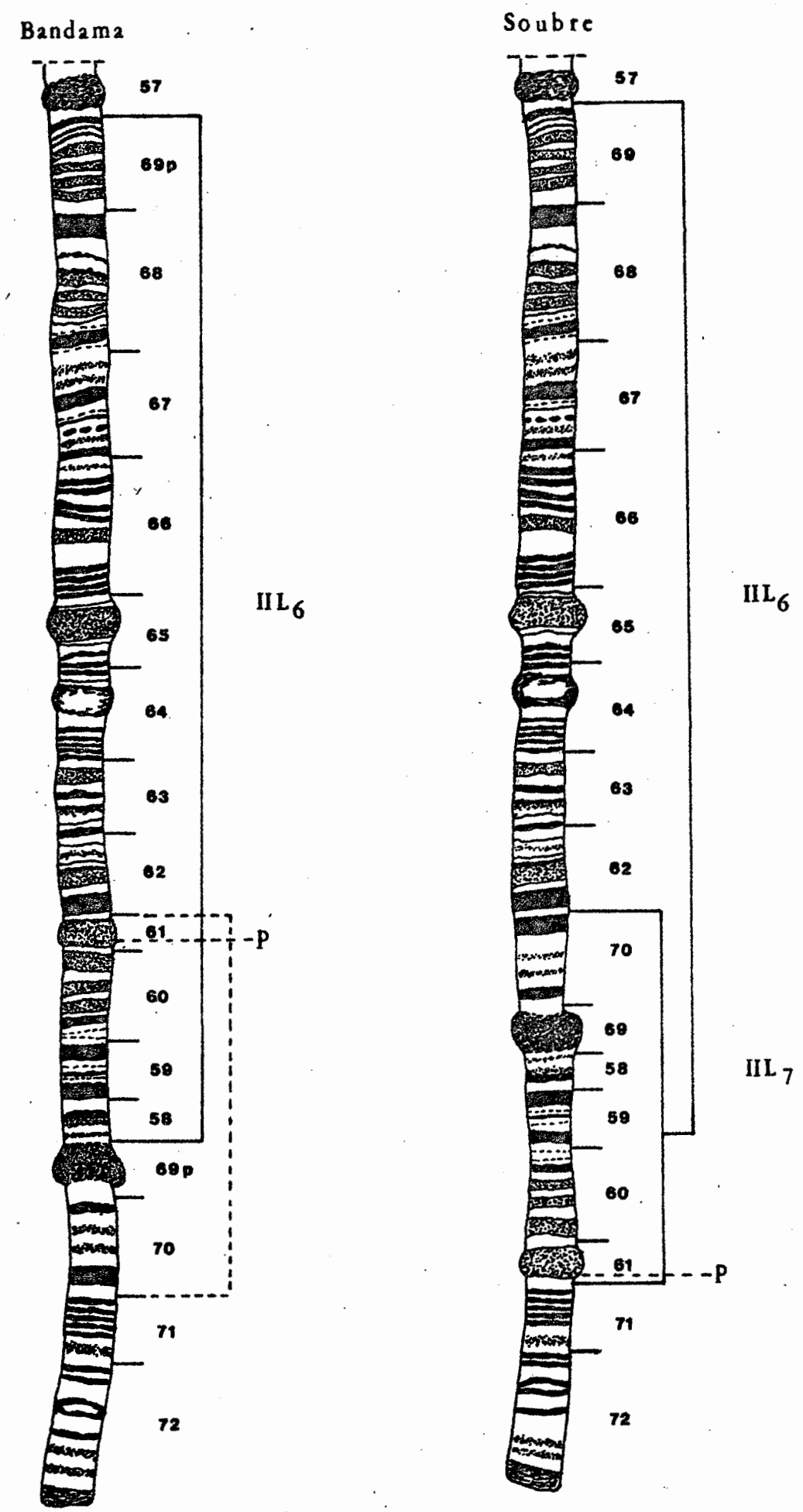


fig. 6

CHROMOSOME III

Bille - Yah

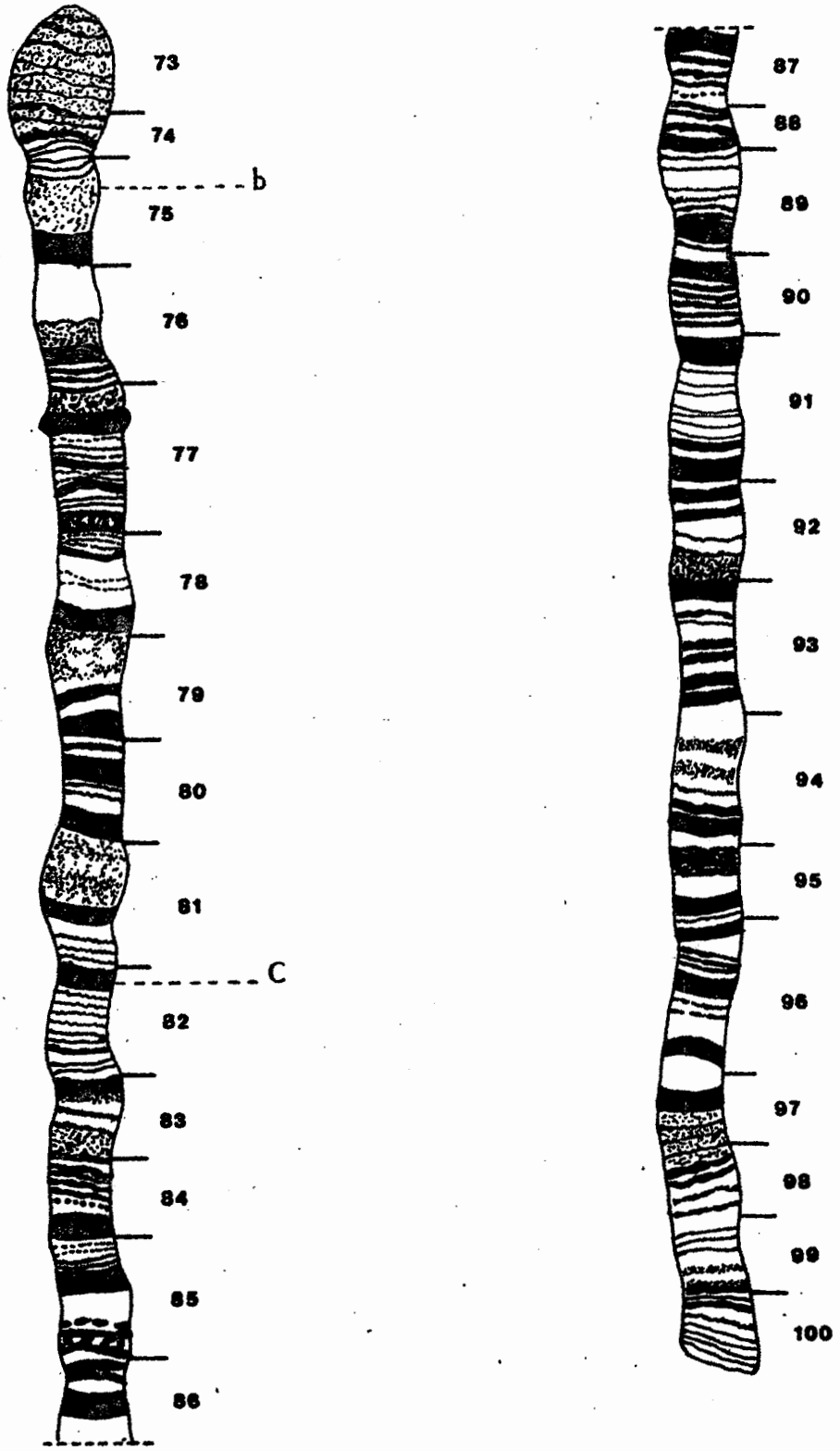


fig.7

CHROMOSOME III

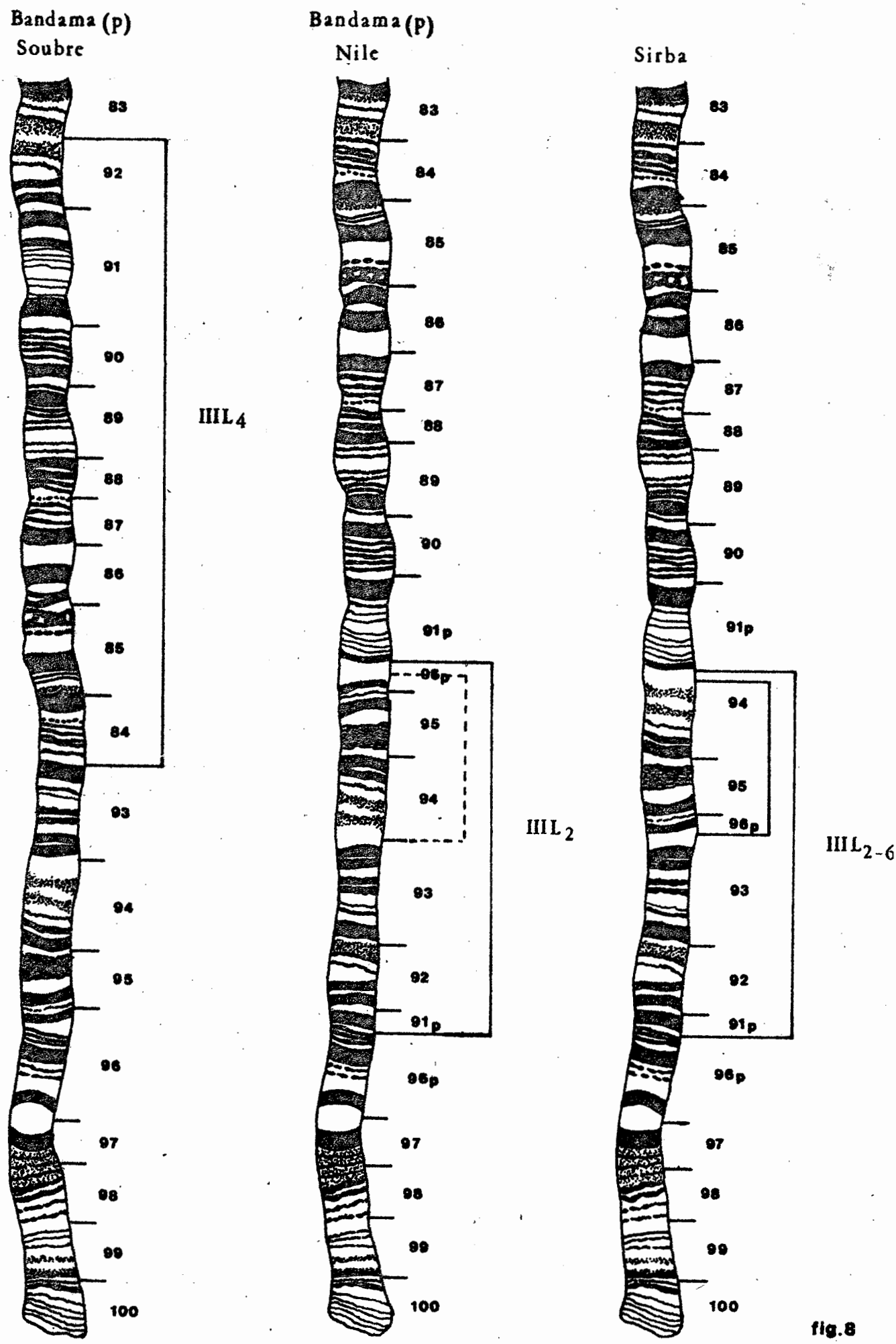


fig.8

$IS_1 + IL_3$ .....Bille-Yah

- IIL_{18} absente ou flottante .....Bille
- IIL_{18} fixe .....Yah

$IS_1 + IL_3 + IL_1$ ..... Nile-Sirba

- IIL_8 absente ou flottante ou IIIL_6 absente ou flottante .....Nile
- IIL_8 fixe et IIIL_6 fixe .....Sirba

$IS_1 + IL_{3-6} + IIIL_6$.....Bandama-Soubré

- IIIL_4 ou IIIL_2 fixe IIL_7 absente ou flottante .....Bandama
- IIIL_4 fixe IIL_7 fixe .....Soubré

Toutes ces inversions ainsi que les diverses inversions flottantes que nous avons personnellement observées sont regroupées sur les "idiogrammes" des 6 cytotypes: (fig. 9). Sur ces idiogrammes les inversions fixes sont figurées sur la gauche et les inversions flottantes sur la droite.

Notons enfin que quelques hybrides Nile-Sirba, Bandama-Soubré et Bille-Yah ont été observés. En plus des inversions flottantes précisées ci-dessus, ils possèdent des segments de non-appariement situés ailleurs dans le chromosome. Cependant les hybrides Bandama-Soubré ne présenteraient que l'inversion flottante IIL_7 (Vajime 1972).

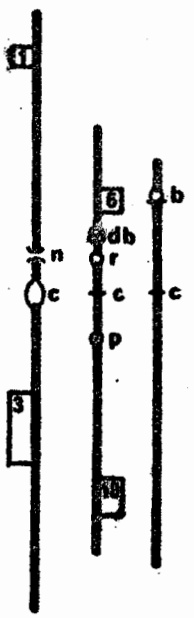
3. Répartition géographique des cytotypes.

Nous avons regroupé sur une carte commune les gîtes étudiés par Vajime et nous-même afin d'avoir une vue plus complète de la répartition actuellement connue des divers cytotypes dans notre zone d'étude. (fig. 10.).

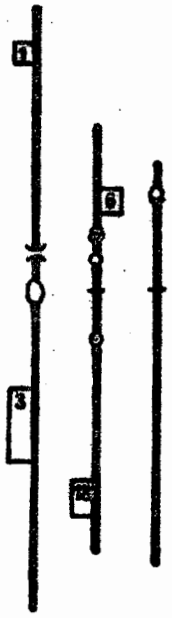
Nous reprenons ces résultats sous forme de tableaux permettant d'indiquer les caractéristiques des différents gîtes indiqués sur la carte par des numéros.

.../...

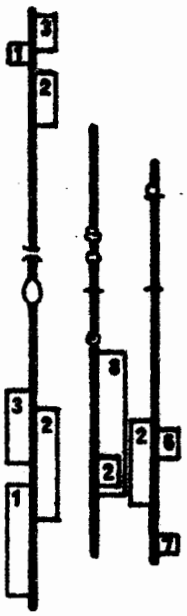
IDIOGRAMMES



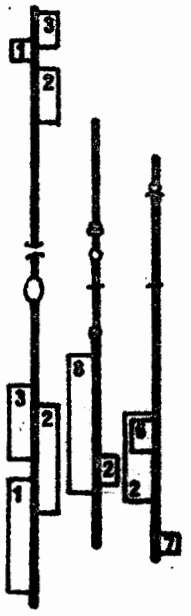
Bille



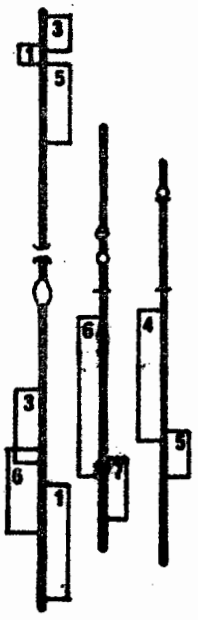
Yah



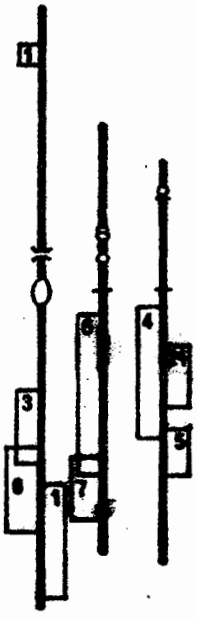
Nile



Sirba



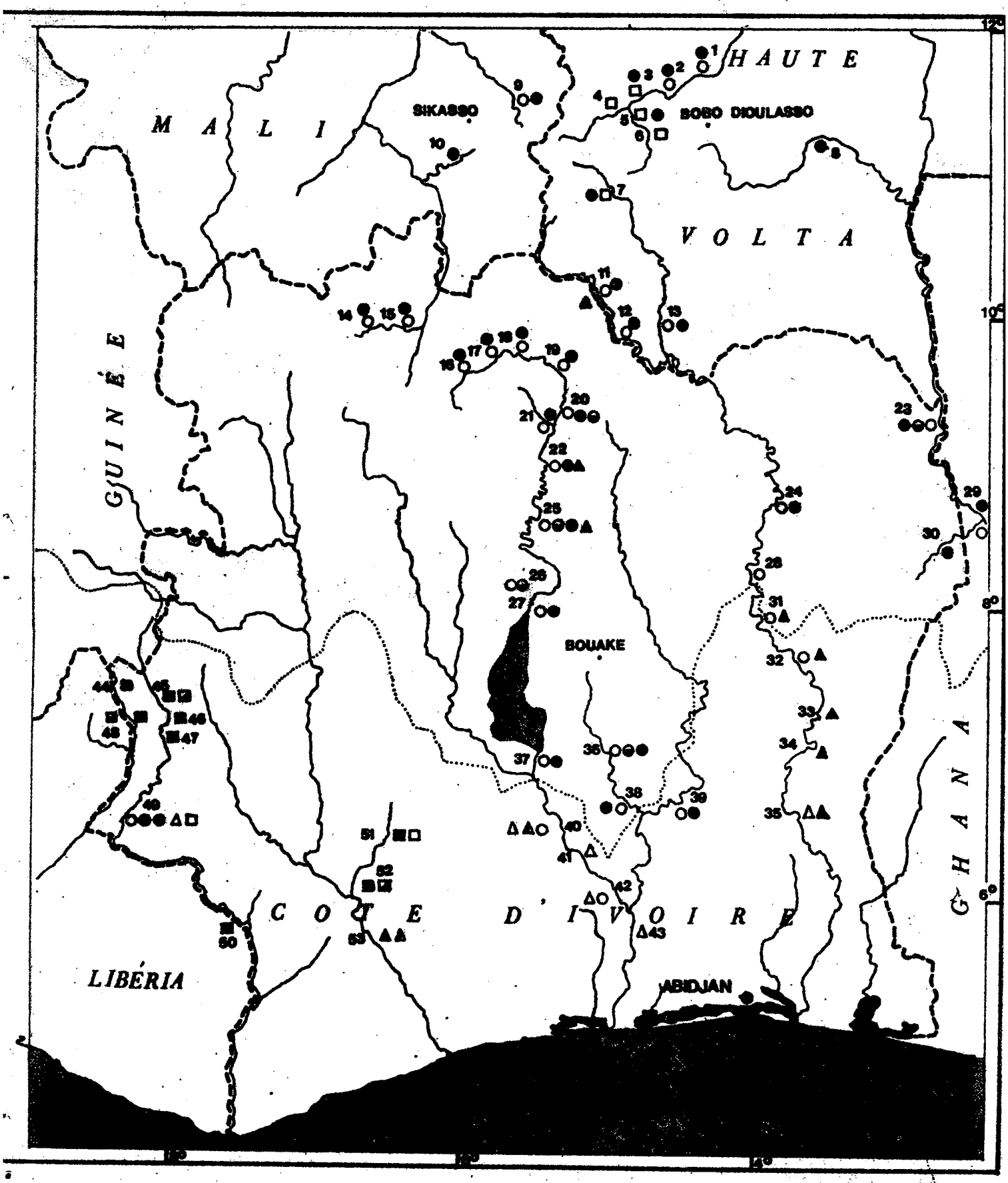
Bandama



Soubre

fig.9

REPARTITION CONNUE DES CYTOTYPES DE *S. damnosum* DANS LA ZONE ETUDIEE



○ Nile
● Nile - Sirba
● Sirba
□ Bille
▣ Bille - Yah
■ Yah
△ Bandama
▲ Bandama - Soubré
▲ Soubré
..... Limite savane - forêt

fig.10

N° sur la carte	Gîte	Rivière	Latitude Longitude	Pays	Zone Climatique	Auteur de l'étude Date de la récolte	Cytotypes récoltés
1	Samandéni	Volta noire	4° 28' W 11° 30' N	Haute-Volta	Savane Soudanienne	Vajime : juin 1966 Quillévéré : Déc. 1971 Janv. 1972 Mars 1972 Fév. 1974	Nile Nile+Sirba Nile+Sirba Nile+Sirba Nile+Sirba
2	Natena	Volta noire	4° 31' W 11° 25' N	Haute-Volta	Savane Soudanienne	Quillévéré : Fév. 1974	Nile+Sirba
3	Sokorola	Volta noire	4° 45' W 11° 21' N	Haute-Volta	Savane Soudanienne	Quillévéré : Nov. 1973	Nile+Sirba
3bis	Banzo	Volta noire	4° 49' 11° 19' N	Haute-Volta	Savane Soudanienne	Vajime : Juin 1971 Quillévéré : Mai 1972	Bille+Sirba Bille+Sirba
4	Lanvièra	Plandi	4° 55' W 11° 17' N	Haute-Volta	Savane Soudanienne	Vajime : Juin 1971 Quillévéré : Mai 1972	Bille Bille
5	Dienkoa (chutes)	Dienkoa	4° 45' W 11° 11' N	Haute-Volta	Savane Guinéenne	Vajime : Juin 1971 Quillévéré : Mai 1972	Bille+Sirba Bille
6	Guéna	Dienkoa	4° 41' W 11° 05' N	Haute-Volta	Savane Guinéenne	Vajime : Juin 1971 Quillévéré : Mai 1972	Bille Bille
7	Karfiguéla	Comoé	4° 50' W 10° 45' N	Haute-Volta	Savane Soudanienne	Quillévéré : Fév. 1974	Bille+Sirba
8	Nabéré	Bougouri-Ba	4° 30' W 11° 05' N	Haute-Volta	Savane Soudanienne	Vajime : Juin 1971 Quillévéré : Juil. 1972	Sirba Sirba

Tableau N° 1

N° sur la carte	Gîte	Rivière	Latitude Longitude	Pays	Zone Climatique	Auteur de l'étude Date de la récolte	Cytotypes récoltés
9	Bamabougou	Farako	5° 30' W 11° 20' N	Mali	Savane Guinéenne	Quillévéré: Janv. 1972	Nile
10	Dougoukou-rané	Banifi	5° 55' W 11° 05' N	Mali	Savane Guinéenne	Quillévéré: Juil. 1972	Sirba
11	Pont de la Léraba (route Banfora-Ferké)	Léraba	5° 03' W 10° 10' N	Frontière Haute-Volta Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Vajime : Juin 1971 Quillévéré: Fév. 1974	Nile+Sirba+ Soubré Nile+Sirba
12	Gréchan	Léraba	4° 50' W 9° 50' N	Frontière Haute-Volta Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Quillévéré: Nov. 1972 Fév. 1974	Nile+Sirba Nile+Sirba
13	Folonzo	Comoé	4° 40' W 9° 55' N	Haute-Volta	Savane Guinéenne	Quillévéré: Janv. 1974	Nile+Sirba
14	Madinani	Bagoé	6° 50' W 9° 35' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Quillévéré: Nov. 1973	Nile+Sirba
15	Gbando	Bagoé	6° 40' W 9° 30' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Quillévéré: Nov. 1973	Nile+Sirba
16	Pont de M'Bengue	Bandama	5° 50' W 9° 40' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Quillévéré: Janv. 1974	Nile+Sirba
17	Tawara	Bandama	5° 40' W 9° 45' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Quillévéré: Janv. 1973	Nile+Sirba

Tableau N° 2

N° sur la carte	Gîte	Rivière	Latitude Longitude	Pays	Zone Climatique	Auteur de l'étude Date de la récolte	Cytotypes récoltés
18	Naniénavo-go	Bandama	5° 30' W 9° 43' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Quillévéré : Juin 1974	Nile+Sirba
19	Pont de Ferké(route Korhogo Ferké)	Bandama	5° 20' W 9° 30' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Vajimé : Juin 1971 Quillévéré: Fév. 1974	Nile+Sirba Nile+Sirba
20	Badikaha (chaussée)	Bandama	5° 22' W 9° 19' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Vajime : Juin 1971 Quillévéré: Janv.1974	Sirba+H N/S Nile+Sirba
21	Confluent Lafigué	Lafigué	5° 25' W 9° 15' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Quillévéré: Janv.1974	Nile+Sirba
22	Béma	Bandama	5° 30' W 8° 40' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Quillévéré: Janv.1974	Nile+Sirba H N/S+Soubré
23	Mazou	Volta noire	2° 40' W 9° 20' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Quillévéré: Nov. 1973	Nile+Sirba + H N/S
24	Gansé	Comoé	3° 55' W 8° 35' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Quillévéré: Nov. 1973	Nile+Sirba
25	Niakaramandougou(chaussée)	Bandama	5° 32' W 8° 46' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Vajime : Juin 1971	Sirba
26	Marabadiassa	Bandama	5° 26' W 8° 06' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Vajime : Juin 1971	Nile+ H N/S

H N/S = Hybride Nile/Sirba.

Tableau N° 3

N° sur la carte	Gîte	Rivière	Latitude Longitude	Pays	Zone Climatique	Auteur de l'étude Date de la récolte	Cytotypes récoltés
27	Bada	Bandama	5° 30' W 8° 10' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Quillévéré: Mars 1974	Nile+Sirba
28	Lissolo	Comoé	4° 01' W 8° 05' N	Côte d'Ivoire	Zone préforestière	Quillévéré: Nov. 1973	Nile
29	Bui	Volta noire	2° 30' W 8° 35' N	Ghana	Savane Guinéenne	Quillévéré: Nov. 1973	Nile+Sirba
30	Niaguela	Niaguela	2° 45' W 8° 25' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Quillévéré: Nov. 1973	Sirba
31	Kongonaba	Comoé	3° 45' W 7° 45' N	Côte d'Ivoire	Zone préforestière	Quillévéré: Nov. 1973	Nile+Sirba
32	Nekokro	Comoé	3° 35' W 7° 30' N	Côte d'Ivoire	Zone préforestière	Quillévéré: Nov. 1973	Nile+Soubré
33	Komoé-Denou	Comoé	3° 35' W 7° 20' N	Côte d'Ivoire	Zone préforestière	Quillévéré: Nov. 1973	Soubré
34	Kofi - Kolikro	Comoé	3° 37' W 7° 05' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Quillévéré: Nov. 1973	Soubré
35	Attakro	Comoé	3° 45' W 6° 40' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Quillévéré: Nov. 1973	Bandama+ Soubré

Tableau N° 4

N° sur la carte	Gîte	Rivière	Latitude Longitude	Pays	Zone Climatique	Auteur de l'étude Date de la récolte	Cytotypes récoltés
36	Gangoro	Kan	5° 05' W 7° 05' N	Côte d'Ivoire	Savane Guinéenne	Quillévéré: Oct. 1973	Nile+Sirba H N/S
37	Bonzi	Bandama	5° 30' W 6° 50' N	Côte d'Ivoire	Zone préforestière	Vajime : Juin 1971 Quillévéré: Janv.1974	Nile Nile+Sirba
38	Asserekro	Kan	4° 50' W 6° 35' N	Côte d'Ivoire	Zone préforestière	Quillévéré: Janv.1974	Nile
39	Dimbokro	Nzi	4° 40' W 6° 37' N	Côte d'Ivoire	Zone préforestière	Quillévéré: Janv.1974	Nile+Sirba
40	Taabo	Bandama	5° 08' W 6° 14' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Vajime : Juin 1971	Bandama Soubré+Nile
41	Ahouati	Bandama	4° 57' W 6° 06' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Vajime : Juin 1971 Quillévéré: Nov. 1973	Bandama Bandama
42	Chutes Gautier	Bandama	4° 50' W 5° 50' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Vajime : Avril 1968	Bandama+H B/S+ Nile+H N/S
43	Tiassalé	Bandama	4° 50' W 5° 54' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Vajime : Juin 1971	Bandama
44	Yéalé	Yan	8° 26' W 7° 32' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Vajime : Juin 1971	Yah

H N/S = Hybride Nile/Sirba
H B/S = Hybride Bandama/Soubré

Tableau N° 5

N° sur la carte	Gîte	Rivière	Latitude Longitude	Pays	Zone Climatique	Auteur de l'étude Date de la récolte	Cytotypes récoltés
45	Wa	Goué	8° 10' W 7° 26' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Vajime : Juin 1971 Quillévéré: Fév. 1974	Yah+ H B/Y Yah
46	Tien	Boan	8° 10' W 7° 20' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Quillévéré: Fév. 1974	Yah
47	Lieupleu	Cavally	8° 07' W 7° 10' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Quillévéré: Fév. 1974	Yah
48	Gbé-Nda	Nuon	8° 13' W 7° 15' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Vajime : Juin 1971	Yah+H B/Y
49	Toulepleu	Cavally	8° 20' W 6° 35' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Vajime : Juin 1971	Nile+Sirba+ H N/S Bandama+Bille
50	Taï	Cavally	7°28' W 5° 52' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Vajime : Juin 1971	Yah
51	Route Soubré Issia	Lobo	6° 30' W 6° 35' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Vajime : Mai 1968	Bille+Yah
52	Route Soubré Buyo	Lobo	6° 36' W 5° 48' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Vajime : Juin 1971	Yah+ H B/Y
53	Soubré	Sassandra	6° 36' W 5° 47' N	Côte d'Ivoire	Forêt	Vajime : Juin 1971	Soubré+H B/S

H B/Y = Hybride Bille/Yah
H B/S = Hybride Bandama/Soubré

Tableau N° 6

A la lecture des tableaux de répartition nous voyons que les gîtes de savane hébergent principalement les cytotypes Nile et Sirba. Trois faits méritent cependant notre attention; la présence du cytotype Bille, peuplant habituellement les régions forestières, dans la région de Guéna, la remontée du cytotype forestier Soubré jusqu'au niveau du Pont de la Léraba et la descente de Nile en forêt le long du Bandama dans le V Baoulé connu pour être une zone d'interpénétration de faune et de flore entre forêt et savane.

En ce qui concerne les gîtes à S.damnosum des zones forestières et préforestières il est à noter que beaucoup sont peuplés par 2 ou 3 cytotypes différents. Au sud-est de la Côte d'Ivoire on trouve principalement les cytotypes Bandama, Soubré et Nile alors qu'au sud-ouest la paire Bille-Yah est prédominante.

Les cours d'eau principaux ayant en Côte d'Ivoire une orientation nord-sud, traversent les différentes zones bioclimatiques et on observe également une zonation de la distribution des cytotypes sur un même cours d'eau. Si on descend la Comoé de la région de Bobo-Dioulasso jusqu'à la mer on trouve successivement Bille et Sirba à Karfiguéla (N° 7) (la présence de Bille étant à rapprocher de l'existence d'un foyer de "Bille" centré autour de Guéna (N° 6)), Nile et Sirba à Folonzo (N° 13) et à Gansé (N° 24); Sirba disparaît ensuite et dans la zone préforestière on trouve Nile à Lissolo (N° 28) puis Nile et Soubré à Kongonaba (N° 31) et Nekokro (N° 32). Dans la zone forestière on rencontre Soubré à Komoé-Denou (N° 33) et Kofi-Kolikro (N° 34) puis plus au sud, Bandama et Soubré à Attakro (N° 35).

4. Cytotypes et variations internes.

Il est apparu au cours de notre étude que les cytotypes eux-mêmes sont sujets à variation lorsque leur aire de répartition est particulièrement étendue. C'est le cas par exemple pour la paire Nile-Sirba dans notre zone d'étude. Nous ne dissocierons pas les deux cytotypes puisqu'ils possèdent pratiquement les mêmes inversion flottantes. Si on étudie les inversions flottantes des larves déterminées on est frappé par la diversité existant même sur un faible échantillon. A titre d'exemple nous citons ici les résultats obtenus sur 16 gîtes Nile-Sirba répartis dans toute la zone étudiée. Chaque numéro correspond à une larve étudiée, en face de chaque numéro est indiquée la ou les inversions flottantes observées chez cette larve.

.../...

Toutes les inversions flottantes citées sont indiquées sur les idiogrammes Nile-Sirba (fig. 9) et sont illustrées sur les planches photos I et II.

Samandéni (N° 1)

1 - IS_3 + IIIL_7
2 - IS_3
3 - 0
4 - 0
5 - IIIL_7
6 - IS_3
7 - IIIL_7
8 - 0
9 - IS_3 + IIIL_7
10- 0

Naténa (N° 2)

1 - IS_3
2 - 0
3 - IIIL_7
4 - IIIL_7
5 - 0
6 - IS_3
7 - 0
8 - IS_3 + IIIL_7
9 - IIIL_7
10- 0

Pont de la Léraba (N° 11)
(Route Bobo - Ferké)

1 - IS_3 + IIIL_7
2 - 0
3 - IS_3 + IIIL_7
4 - 0
5 - IIL_2 + IIIL_7
6 - IIIL_6
7 - IIIL_7
8 - IIIL_6
9 - IIIL_6
10- IIIL_6

Folonzo (N° 13)

1 - IS_2
2 - IIL_2
3 - IIIL_7
4 - IS_3
5 - IIIL_7
6 - IIIL_7
7 - 0
8 - IS_2 + IIIL_6
9 - IS_2 + IIIL_7
10- 0

Gbando (N° 15)

1 - IL_2 + IIIL_7
2 - IL_2
3 - 0
4 - IS_2 + IL_2 + IIL_8
5 - IL_2
6 - IL_2
7 - IL_2 + IIIL_7
8 - IL_2 + IIIL_7
9 - IL_2
10- IS_3 + IL_2 + IIIL_7

Naniénavogo (N° 18)

1 - 0
2 - IL_2
3 - IL_2
4 - IS_3 + IL_2 + IIL_8
5 - 0
6 - 0
7 - 0
8 - IL_2
9 - IS_2 + IS_3 + IIIL_6
10- 0

.../...

Tawara (N° 17)

1 - $IS_3 + IL_2$
2 - 0
3 - 0
4 - $IS_2 + IS_3 + IIL_8$
5 - $IL_2 + IIIL_7$
6 - $IS_3 + IL_2$
7 - $IS_2 + IS_3 + IIL_8$
8 - IS_3
9 - 0
10- IS_2

Béma (N° 22)

1 - $IS_2 + IIIL_7$
2 - $IIL_8 + IIIL_7$
3 - $IS_2 + IIL_8$
4 - $IS_2 + IS_3$
5 - IIIL_7
6 - 0
7 - 0
8 - IL_2
9 - $IS_2 + IIL_8$
10- $IS_2 + IIL_8$

Gansé (N° 24)

1 - IS_2
2 - $IS_3 + IIIL_7$
3 - $IS_2 + IS_3$
4 - $IS_2 + IIIL_7$
5 - $IIL_8 + IIIL_7$
6 - $IS_3 + IL_2 + IIL_8$
7 - IS_3
8 - 0
9 - $IIIL_6 + IIIL_7$
10- $IS_2 + IIL_8 + IIIL_7$

Lafigué (N° 21)

1 - IL_2
2 - IS_3
3 - $IIL_8 + IIIL_7$
4 - 0
5 - IL_2
6 - 0
7 - $IIL_8 + IIIL_7$
8 - $IS_2 + IS_3$
9 - $IS_3 + IIIL_7$
10- IL_2

Bada (N° 27)

1 - $IS_3 + IIIL_7$
2 - IIIL_7
3 - $IS_3 + IL_2 + IIIL_7$
4 - $IS_3 + IIIL_7$
5 - $IL_2 + IIL_8 + IIIL_7$
6 - $IS_3 + IIIL_7$
7 - 0
8 - IIIL_7
9 - IIIL_7
10- 0

Bui (N° 29)

1 - 0
2 - $IS_2 + IS_3$
3 - 0
4 - $IS_2 + IS_3$
5 - 0
6 - 0
7 - 0
8 - IS_3
9 - $IS_2 + IS_3 + IL_2 + IIIL_7$
10- 0

.../...

Gangoro (N° 36)

1 - IS_2
2 - IL_2 + IIL_8
3 - IS_3 + IL_2 + IIIL_7
4 - IS_2 + IS_3
5 - 0
6 - 0
7 - IS_3 + IL_2 + IIIL_7
8 - IS_2 + IS_3
9 - IL_2
10- 0

Bonzi (N° 37)

1 - IS_2 + IIIL_7
2 - IIL_8 + IIIL_7
3 - 0
4 - IS_3 + IIL_8 + IIIL_7
5 - IIIL_7
6 - IS_3
7 - IIL_8
8 - 0
9 - IL_2 + IIL_8
10- 0

Asserekro (N° 38)

1 - IS_2 + IS_3
2 - IIL_8 + IIIL_7
3 - 0
4 - IS_2
5 - IS_2 + IIIL_7
6 - IIL_8
7 - IS_2 + IIIL_7
8 - IS_2 + IS_3 + IIIL_7
9 - IS_2 + IIIL_7
10- IS_2 + IIIL_7

Dimbokro (N° 39)

1 - IIL_8 + IIIL_7
2 - IS_3 + IIL_2
3 - IS_2 + IIL_8
4 - IIL_2
5 - 0
6 - IL_2 + IIL_8 + IIIL_7
7 - 0
8 - IIL_2
9 - IS_2 + IIL_8
10- IIL_2

Il est bien sûr impossible de tirer des conclusions définitives après l'étude d'échantillons aussi réduits cependant nous pouvons faire quelques remarques. Dans les gîtes les plus septentrionaux (Samandéni et Naténa) on n'a trouvé que deux inversions flottantes: IS_3 et IIIL_7. Au pont de la Léraba et à Folonzo on trouve de plus IS_2, IIL_2 et IIIL_6. A Gbando IL_2 est prédominante on la retrouve chez 9 des 10 larves étudiées, de plus apparaît pour la première fois IIL_8. Ces deux inversions flottantes se retrouvent également à Naniénavogo et dans les gîtes plus méridionaux. Notons également que c'est à Naniénavogo que l'on retrouve pour la dernière fois IIIL_6 sur le bassin du Bandama. Une larve possédant IIIL_6 sera également trouvée à Gansé sur la Comoé. Notons enfin que du nord au sud le nombre de inversions flottantes s'accroît, les cytotypes Nile et Sirba se trouvant là à la limite sud de leur aire de répartition. Le gîte Bui situé sur la Volta

.../...

noire paraît également moins riche en inversions flottantes que les gîtes situés à la même latitude sur le Bandama et la Comoé. Il serait intéressant d'approfondir cette étude afin de voir si on a réellement affaire à des populations simulidiennes différentes ou s'il y a une simple répartition au hasard.

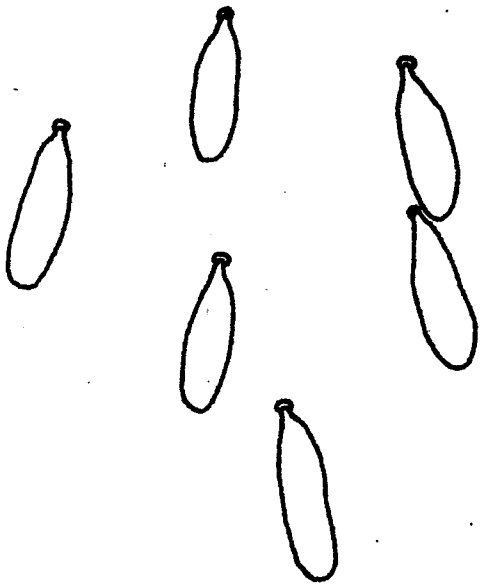
5. Cytotypes et morphologie.

Un autre aspect du problème intéressant à approfondir serait l'étude morphologique détaillée des larves, nymphes, adultes (mâles et femelles) des différents cytotypes.

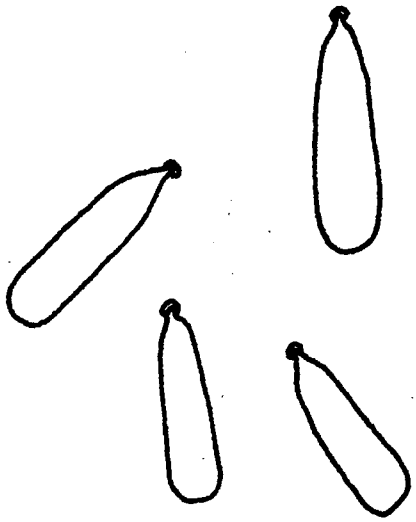
5.1. Larves.

Nous avons procédé au montage morphologique des larves étudiées du point de vue cytotaxonomique. Après dissection des glandes séricigènes, nous plaçons le corps de la larve dans de l'alcool à 70° puis durant une journée dans du Marc-André enfin nous montons les différentes pièces dans du P.V.A.. Sur chaque lame de morphologie se trouvent trois lamelles. L'une recouvre le sclérite anal, la couronne postérieure de crochets, les papilles rectales, les ébauches branchiales. La seconde recouvre la cuticule de la larve, enfin la troisième la capsule céphalique déroulée et les différentes pièces buccales. Jusqu'à présent nous n'avons pas eu le temps nécessaire à une étude détaillée et précise des différentes structures cependant nous avons pu constater de prime abord une assez grande variabilité dans l'aspect morphologique général. Pour illustrer cela nous avons photographié dans les même conditions la cuticule larvaire de deux spécimens l'un provenant de Wa (N° 45, cytotype Yah), l'autre d'Ahouati (N° 41, cytotype Bandama). La différence d'aspect est frappante. Dans le premier cas (pl II photo 7) les tubercules dorsaux sont bien développés et la cuticule est recouverte de grandes écailles denses, dans le second (pl II photo 8) les tubercules dorsaux sont inexistants et la cuticule porte de petites écailles peu denses. Nous avons dessiné les écailles larvaires thoraciques des six cytotypes étudiés (fig. 11) nous pouvons noter qu'elles sont de tailles et de formes différentes sans que cela suffise cependant à identifier les cytotypes. Nous espérons cependant qu'une étude complète de morphologie pourra nous donner des caractères suffisamment nets et constants permettant l'identification des cytotypes.

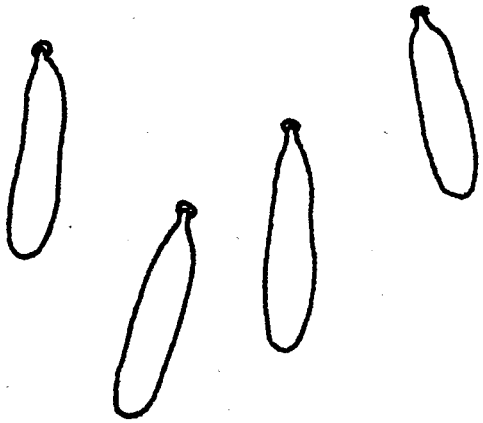
.../...



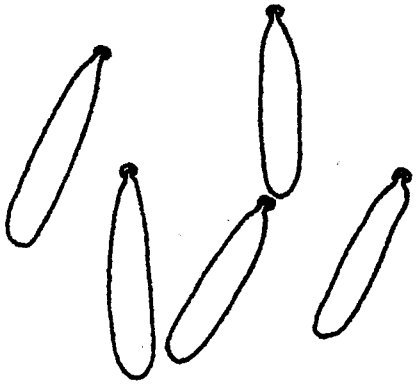
Bille



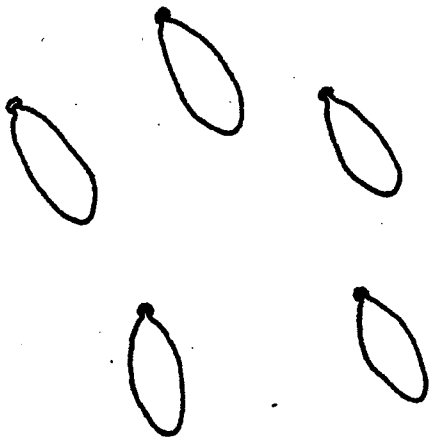
Yah



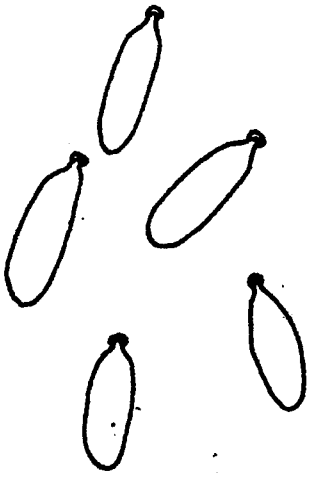
Nile



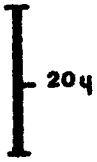
Sirba



Bandama



Soubre



ECAILLES THORACIQUES

fig.11

5.2. Nymphes et adultes.

Le problème là est différent car pour l'instant nous ne pouvons pas déterminer directement le cytotype d'une nymphe ou d'un adulte. Aucun tissu n'a procuré de chromosomes satisfaisants, tout au plus a-t-il été possible de repérer des chromosomes encore visibles dans les tubes de Malpighi des jeunes nymphesmais ceux-ci dégénèrent très rapidement et sont inutilisables chez les adultes (Quillévéré et Pendriez 1972). A défaut, nous pouvons travailler dans des zones homogènes du point de vue cytotaxonomique et nous pourrons rattacher presque à coup sûr les nymphes et les adultes récoltés à tel ou tel cytotype. De telles zones sont malheureusement rares. Il semble cependant qu'un seul cytotype, Yah, soit représenté dans la région de Danané (N° 44 à 48). Nous pouvons également élever des larves obtenues à partir de femelles pondeuses capturées sur un gîte ou de femelles récoltées gorgées et maintenues en captivité jusqu'à la ponte. Cette dernière méthode est la plus rigoureuse car chaque femelle, puis chaque ponte sont élevées séparément. Ce programme est déjà en cours d'exécution. Reste enfin à trouver de nouvelles techniques d'étude des espèces jumelles applicables aux Simulies comme par exemple la chémotaxonomie (étude des acides aminés) (Copeman comm. pers.), la sérologie (Service 1973) et la radioisotopie (Calaprice, Mc Sheffrey et Lapi, 1971).

5.3. Oeufs.

Lors de nos élevages nous prélevons également des oeufs dans les différents lots pour une étude fine de la cuticule de ces oeufs au microscope électronique à balayage, afin de déterminer s'il existe une relation entre les cytotypes et l'ornementation cuticulaire des oeufs (technique de Williams, 1974).

6. Cytotypes, bioécologie et épidémiologie.

Le véritable but de ce programme n'a pas encore été abordé puisqu'il consiste finalement à faire la relation entre les cytotypes et les différences bioécologiques et épidémiologiques observées. Certaines relations ont déjà pu être établies en particulier en ce qui concerne l'épidémiologie. De tout temps les auteurs ont souligné les différences épidémiologiques et cliniques de la maladie entre les zones de savane et les zones de forêt; la découverte de cytotypes

de savane (Nile-Sirba) et de cytotypes de forêt (Bille-Yah-Bandama-Soubré) pourrait permettre d'expliquer en partie ces différences. Nous avons signalé précédemment la présence d'un foyer de Bille (cytotype forestier) centré autour de Guéna (N° 6) en pleine zone de savane guinéenne (tableau 1, gîtes 3 à 7). Or il se trouve que dans cette même région de Guéna l'étude du potentiel vecteur de S.damnosum a montré l'existence d'un foyer de transmission de type forestier (Philippon comm. pers.).De même dans la région de Danané où le cytotype Yah est seul représenté, a été notée une certaine tendance des femelles à la zoophilie (Philippon, Séchan et Pendriez, 1971) (tableaux et 6, gîtes 44 à 48).

A Taabo (N° 40), les femelles locales (cytotype Nile présent) transmettent bien le parasite de savane soudanienne, alors que chez les femelles de la région de Wa (N° 45, cytotype Yah), le développement de la même souche d'Onchocerca volvulus est abortif (Philippon, comm. pers.). Notons enfin que Mc Crae a observé des différences écologiques entre les cytotypes Est-Africains, principalement en ce qui concerne leurs préférences trophiques et leur comportement de piqûre (Mc Crae, 1966, 1969).

Tous ces faits concordent donc et prouvent s'il en était besoin la nécessité absolue de pouvoir rattacher les femelles piqueuses aux différents cytotypes (cf. chapitre V).

7. Discussion.

7.1. Cartes chromosomiques.

Si nous comparons les cartes que nous avons obtenues avec les idiogrammes de Nile et Bandama précédemment publiés nous constatons l'identité presque parfaite des inversions observées exception faite bien sûr des inversions flottantes que nous n'avons indiquées qu'après observation personnelle . Les cartes chromosomiques sont cependant sujettes à variation compte-tenu de l'aspect variable des bandes et du coefficient d'erreur dû à leur interprétation. Certaines inversions peuvent également passer inaperçues et pour s'en convaincre il suffit de comparer l'idiogramme de Nile publié par Dunbar en 1966 et celui publié par Dunbar et Vajime en 1971. Sur le premier sont indiquées une inversion fixe (IL_1) et 5 inversions flottantes sur le second 4 inversions fixes (IS_1, IL_3, IL_1, IIIL_2)et 10 inversions flottantes.

.../...

Actuellement l'étude des bandes chromosomiques reste délicate et bien des points sont à éclaircir. Vajime écrit par exemple dans son dernier rapport (1972) "La forme Yah est principalement homozygote pour IIL_8 et il y a, dans la plupart des régions, de rares hétérozygotes avec le standard IIL. Cette forme possède une inversion flottante remarquable IL_{12} qui fait défaut chez "Bille"". En clair cela signifie qu'il n'est pas possible de différencier Yah de Bille puisque IIL_8 est flottante chez Bille et parfois chez Yah et que IL_{12} est aussi flottante. On ne peut baser une identification sur la présence ou l'absence d'une inversion flottante ou alors nous pouvons considérer qu'il existe une cinquantaine de cytotypes en Afrique Occidentale. Pour notre part nous considérons que si IIL_8 est absente ou flottante on a affaire à Bille et que si IIL_8 est fixe on est en présence de Yah.

En ce qui concerne la paire Bandama-Soubré, Vajime cite IL_{3-6} comme inversion fixe caractéristique mais la cite également parmi les inversions flottantes de cette paire ce qui ne peut être qu'une erreur de dactylographie. Pour séparer Bandama de Soubré, Vajime est également très circonspect puisqu'il écrit "La forme Bandama est en majorité homozygote pour IIL_6 et comprend quelques hétérozygotes IIL_6 / IIL_{6-7} dans la zone forestière de Côte d'Ivoire". Pour Soubré il écrit: "Cette forme est principalement homozygote pour IIL_{6-7} à l'exception de rares hétérozygotes trouvés dans la zone forestière de Côte d'Ivoire". Il nous parait plus clair de considérer les larves possédant IIL_6 fixe comme Bandama et celles possédant IIL_{6-7} fixe comme Soubré les hétérozygotes IIL_6 / IIL_{6-7} étant des hybrides.

Enfin en ce qui concerne Nile-Sirba Vajime écrit: "Ces deux formes diffèrent de Bille par les inversions fixes IL_1 et IIIL_2 et un complexe d'au moins trois phases indéterminées dans IIL." Une fois de plus l'interprétation des bandes paraît bien problémique. Pour notre part nous considérons le IIL de Nile comme standard en attendant une étude plus complète. Il apparaît peu probable que cette étude puisse être menée à bien par les méthodes traditionnelles, c'est pourquoi nous essayons actuellement d'appliquer l'analyse photométrique et informatique à l'étude de la succession des bandes chromosomiques, afin de disposer d'effectifs statistiquement significatifs.

.../...

7.2. Répartition des cytotypes.

La carte de répartition dont nous disposons actuellement est bien sûr insuffisante et d'ici la fin de 1974 nous pensons pouvoir combler la plupart des lacunes et avoir une couverture satisfaisante de notre zone d'étude. Il sera aussi nécessaire après cette étude générale de répartition de passer à une étude plus fine et complète de la répartition des cytotypes à l'intérieur d'un même gîte et aux différentes saisons. Cela ne pourra être abordé que parallèlement à l'étude écologique. Il faudra également étudier des échantillons plus importants sur les gîtes afin de les inventorier complètement. L'extension de la cartographie géographique des cytotypes serait également utile dans la perspective du Programme de Lutte contre l'Onchocercose dans le bassin des Volta.

7.3. Cytotypes et variations internes.

Là aussi il faudrait étudier très soigneusement la répartition des diverses inversions flottantes d'un même cytotype où d'une même paire à l'intérieur d'un gîte et les variations possibles au cours de l'année. Nous pourrons étudier dès à présent sur les larves d'élevage les variations possibles du spectre des inversions flottantes d'une même population. Il faudra faire la relation entre les diverses combinaisons d'inversions flottantes observées et une hypothétique adaptation à un milieu déterminé.

7.4.Cytotypes et morphologie.

Ce problème est particulièrement intéressant car sa solution permettrait l'identification rapide de tous les stades de développement du vecteur mais il est aussi particulièrement difficile à résoudre car si nous disposons de quelques données de départ, il ne faut pas perdre de vue que les caractères morphologiques sont rarement constants dans une espèce à large distribution comme S.damnosum s.l. . L'étude de la morphologie devra donc porter sur un nombre suffisamment important d'individus de chaque cytotype et répartis sur toute l'aire occupée par ce cytotype. De plus le problème d'identification des stades autres que les larves aux derniers stades se pose de façon aigue. De nouvelles méthodes seront sans doute nécessaires pour pallier les lacunes de la taxonomie classique et de la cytotaxonomie.

.../...

7.5. Cytotypes, bioécologie et épidémiologie.

Dès 1975 nos efforts porteront principalement sur ce problème qui reste nous l'avons dit le but essentiel de ce programme de recherche.

Les relations déjà établies serviront de base à la suite de ce travail qui devra recouvrir tous les domaines d'étude possibles du vecteur à savoir : biologie, écologie, pouvoir vecteur, sensiblité aux insecticides et aux parasites etc... etc... . Ce travail sera recoupé en partie par les programmes de recherches actuellement en cours ou prévus dans un proche avenir, auxquels il servira de base : étude du parasitisme par Mermithidae, sensibilité aux insecticides, pouvoir vecteur des populations simulidiennes, échantillonnage des populations, écologie des stades préimaginaux des simulies, étude d'Onchocerca volvulus.

8. Conclusion.

Les résultats obtenus à ce jour permettent d'espérer un développement important du programme d'étude cytotaxonomique.

Les cartes chromosomiques dont nous disposons actuellement permettent l'identification des différents cytotypes et l'étude de leurs variations internes. Ces cartes seront complétées dès que possible par utilisation de la photométrie et de l'informatique.

La répartition des divers cytotypes est déjà connue dans ses grandes lignes. D'ici fin 1974 nous aurons une couverture satisfaisante de la zone étudiée.

L'étude des variations internes des cytotypes, de leurs relations avec la morphologie, la bioécologie et l'épidémiologie de l'onchocercose est déjà en cours ou sera entamée prochainement.

Le démarrage du programme de lutte contre S.damnosum s.l. en zone de savane d'Afrique Occidentale donnera une accélération certaine aux programmes de recherche fondamentale et appliquée concernant le vecteur et permettra l'application de nouvelles techniques d'étude aux problèmes les plus délicats à résoudre.

.../...

9. Remerciements.

Il m'est un agréable devoir de remercier ici Monsieur B. Philippon, Directeur du Centre Entomologique de l'Onchocercose de Bouaké, qui m'a donné tous les moyens nécessaires à ce travail, en a assuré la direction, et m'a conseillé tout au long de la rédaction. Je tiens également à remercier Monsieur Diallo Souleymane, auxiliaire de laboratoire, qui a procédé au montage morphologique de toutes les larves étudiées et au tirage sur papier des photos de ce rapport. Monsieur Séchan a réalisé la carte de répartition des cytotypes et à plusieurs reprises m'a rapporté du matériel d'étude ainsi d'ailleurs que tous mes collègues du C. E. O., MM Mondet, Pendriez, Escaffre, Grébaut, que MM. Le Berre et Baldry entomologistes du Programme de Lutte contre l'Onchocercose et que M. Carlsson professeur à l'Université d'Helsinborg, qu'ils en soient tous remerciés.

Bouaké, le 11 Mai 1974

10. Bibliographie.

BLACKLOCK (D.B.)
1926
The development of O.volvulus in S.damnosum Theo.
Ann. trop. med. Parasit., 20, 1-48.

CALAPRICE (J.R.), Mac SHEFFREY (H.M.) & LAPI (A.L.)
1971
Radioisotope X - Ray Fluorescence Spectrometry in Aquatic Biology : A Review.
J. Fish. Res. Bd. Canada, 28, 1583-1594.

DUNBAR (R.W.)
1966
Four sibling species included in Simulium damnosum Theobald (Diptera: Simuliidae) from Uganda.
Nature, 209, 597-599.

DUNBAR (R.W.)
1969
Nine cytological segregates in the Simulium damnosum complex (Diptera, Simuliidae)
Bull. Org. mond. Santé, 40, 974-978.

DUNBAR (R.W.) & VAJIME (Ch.G.)
1971
Etude cytotaxonomique du complexe Simulium damnosum.
WHO/Oncho/71. 87, 5p.

DUNBAR (R.W.) & VAJIME (Ch.G.)
1972
Le complexe Simulium (Edwarsellum) damnosum: rapport sur les études cytotaxonomiques effectuées jusqu'en avril 1972.
WHO/Oncho 72-100, 13 p.

Mc CRAE (A.W.R.)
1966
The Simulium damnosum species complex.
East African Virus Research Report, 38-39.

.../...

Mc CRAE (A.W.R.)
1969
Consideration of Simulium damnosum Teo.as a species complex and its relevance to the control of Onchocerciasis.
East African Virus Research Report, 1 - 6.

PHILIPPON (B.), SECHAN (Y.) & PENDRIEZ (B.)
1971
Enquête entomologique sur l'Onchocercose dans le bassin du Cavally (Côte d'Ivoire).
Rapport ronéotypé N° 66/Oncho, 13 p. 3 cartes.

QUILLEVERE (D.) & PENDRIEZ (B.)
1972
Etude cytotaxonomique du complexe Simulium damnosum en Afrique Occidentale. I Techniques d'étude - premiers résultats.
Rapport ronéotypé N° 169/Oncho, 13 p.

QUILLEVERE (D.)
1974
Etude cytotaxonomique du complexe Simulium damnosum en Afrique Occidentale. II Présentation du Programme. Etat d'avancement.
Rapport ronéotypé N° 50/Oncho/Tech./74., 11 p.

SERVICE (M.W.)
1973
Mortalities of the larvae of the Anopheles gambiae Giles complex and detection of predators by the precipitin test.
Bull. ent. Res., 62, 359-369.

WILLIAMS (T.R.)
1974
Egg membranes of Simuliidae.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 68, 15-16.

1. $IS_2 + IS_3$

2. $IS_3 + IL_2$

3. IIL_2

4. IIL_8

pl I.

5. IIIL_6

6. IIIL_7

7. Larve "Yah"

8. Larve "Bandama"

pl. II