

T D M  
TRAVAUX ET DOCUMENTS  
MICROFICHÉS

N° 90

F2

GÉNÉTIQUE ET BIOLOGIE DES POPULATIONS  
DE DEUX HÔTES INTERMÉDIAIRES  
DE SCHISTOSOMES À ÉPERON TERMINAL :  
*BULINUS GLOBOSUS* (MORELET, 1866)  
ET *B. TRUNCATUS* (AUDOUIN, 1827).  
CONSÉQUENCES ÉPIDÉMIOLOGIQUES.

Flobert NJIOKOU

ORSTOM  
Editions

**Flobert NJIOKOU**

**GENETIQUE ET BIOLOGIE DES POPULATIONS  
DE DEUX HOTES INTERMEDIAIRES  
DE SCHISTOSOMES A OEUF A EPERON TERMINAL :  
*BULINUS GLOBOSUS* (MORELET, 1866)  
ET *B. TRUNCATUS* (AUDOUIN, 1827) ;  
CONSEQUENCES EPIDEMIOLOGIQUES.**

**Editions de l'ORSTOM**

INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE POUR LE DEVELOPPEMENT EN COOPERATION

**Collection ETUDES ET THESES**

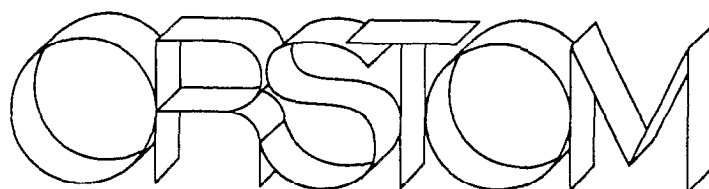
PARIS 1992

1

20 OCT. 1992

ORSTOM Fonds Documentaire  
N° : 35. 487 ex 2  
Cote : A

# TDM 90



**Editions de l'ORSTOM**

L'INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
POUR LE DÉVELOPPEMENT EN COOPÉRATION

*Collection :*

**Travaux et Documents Microédités**

**PARIS 1992**

**ISBN : 2-7099-1110-8**

© ORSTOM

**F 2**

«La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, que les «copies ou reproductions « strictement réservées à l'usage privé du copiste et non des- « tinées à une utilisation collective» et, d'autre part, que les « analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et « d'illustration, «toute représentation ou reproduction intégrale, « ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses « ayants droit ou ayants cause, est illicite» (alinéa 1er de l'article 40).

« Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé « que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par « les articles 425 et suivants du Code pénal.»

Cette étude a fait l'objet d'une thèse de doctorat intitulée "Génétique et Biologie des Populations de deux hôtes intermédiaires de schistosomes à oeuf à éperon terminal : *Bulinus globosus* (Morelet, 1866) et *B. truncatus* (Audouin, 1827) ; Conséquences épidémiologiques" dirigée par Bernard Delay et Christian Bellec, et soutenue le 10 Juillet 1992 à l'Université de Montpellier II.

## REMERCIEMENTS

### Les membres du jury

#### **Monsieur le Professeur Louis Euzet**

C'est pour moi un grand honneur de vous voir présider mon jury de thèse. J'ai débuté ma formation en parasitologie à Montpellier dans le cadre de votre unité de valeur de Maîtrise dont je garde un souvenir agréable. Vous êtes à l'origine de mes relations avec l'ORSTOM et vous êtes resté très attentif au déroulement de mes travaux au sein de cette nouvelle famille. Pour tout cela, je vous adresse mes sincères remerciements.

#### **Monsieur Christian Bellec**

Cette thèse s'est déroulée dans votre laboratoire où j'ai trouvé des conditions de travail très agréables. C'est pour moi l'occasion de vous exprimer ma profonde reconnaissance pour un certain nombre de points:

- le début de ce travail a connu quelques difficultés, aussi je vous remercie d'avoir eu de la patience,
- la réalisation de ce travail demandait une coordination entre le CERMES du Niamey, le CEMV de Bouaké, l'Institut des Sciences de l'Evolution et le Laboratoire de Biologie Animale de Perpignan; votre connaissance de l'Afrique et la qualité de vos relations avec les membres de ces instituts ont favorisé le bon déroulement de cette thèse,
- lorsque l'on aborde la génétique des populations, on est tout de suite séduit par de nombreuses théories, votre vigilance, marquée par des conseils quotidiens, nous a permis de produire un document scientifique ayant pour but essentiel de répondre aux questions posées sur le terrain.

#### **Monsieur Bernard Delay**

Je vous remercie d'avoir accepté d'assurer la direction de cette thèse. Vous avez été très disponible à mes multitudes sollicitations. Je vous dois mon insertion au sein du laboratoire de génétique de l'USTL où j'ai bénéficié aussi bien du matériel disponible pour la formation que de discussions fructueuses avec l'équipe présente. Enfin, vos nombreuses idées d'expérimentation ont permis de mieux orienter les recherches au cours de cette thèse.

#### **Monsieur Bertrand Sellin**

Je vous remercie d'avoir accepté d'être rapporteur pour ce travail qui s'inscrit dans les activités de l'Unité de Recherche filarioses et bilharzioses de l'ORSTOM dont vous êtes responsables. Ce travail n'a été possible que grâce à la collaboration du CERMES de Niamey que vous avez assurée par de nombreux envois de bulins et de renseignements précis sur leurs conditions écologiques; j'en suis très reconnaissant.

**Monsieur le Professeur Claude Combes**

J'ai apprécié particulièrement votre approche originale de l'étude de la biologie des helminthes pendant les cours de DEA de parasitologie. Je vous remercie d'avoir accepté de faire un rapport sur ce travail.

**Monsieur le Professeur Georges Bouix**

J'ai bénéficié de vos cours de protistologie dans le cadre du DEA de Parasitologie. De plus, vous avez accepté de faire partie de mon jury de thèse et je vous en remercie.

**Monsieur Patrick Berrebi**

J'ai le plaisir de vous avoir au jury de cette thèse. B. Delay m'avait suggéré de vous rencontrer pour discuter de la tétraploïdie. Vous avez été très disponible. Nos discussions m'ont été très utiles dans l'interprétation et l'analyse des données électrophorétiques. Pour tout cela, je vous suis très reconnaissant.

ORSTOM Montpellier

**Monsieur Jacques Brengues:** alors chef du Département Santé en 1987, vous m'avez ouvert les portes de l'ORSTOM; j'y ai connu de beaux moments et je vous en remercie.

**Monsieur Jean Louis Frézil:** c'est pour moi l'occasion de reconnaître que le déroulement de cette thèse, en particulier la phase de rédaction a bénéficié d'un ensemble d'équipements mis en place par le département Santé dont vous êtes actuellement le représentant à Montpellier. Votre lecture entière du manuscrit a contribué largement à l'amélioration de la forme du texte. Je vous en remercie.

**Monsieur Guy Chauvet:** mon stage de DEA a été réalisé au Laboratoire d'Epidémiologie alors que vous en étiez encore le responsable; nous avons gardé d'excellentes relations amicales.

Ce travail m'a permis de partager de moments passionnants avec de nombreux chercheurs et techniciens du Département Santé à Montpellier: les premiers électrophorèses ont été réalisées avec l'aide de **Marie France Bosseno**, qu'elle en soit remerciée; tout le mystère des bulins en élevage a été découvert avec l'aide très appréciée de **Luc Finot**, je lui suis reconnaissant; **Christian Carles** du laboratoire de Nutrition et **Bernard Geoffroy** m'ont été d'une aide précieuse pour résoudre de nombreux problèmes d'informatique; l'illustration de cette thèse, notamment les figures, a bénéficié des conseils de **Jean Paul Hervy**, véritable "Macintosh man"; je ne saurai oublier les secrétaires du Département Santé à Montpellier, **C. Le Courant** et **S. Coudert**, toujours très disponibles pour de multiples services, ni les "collègues" et leur humour, **Stéphane Herder**, **Alexis Nzila**, **Pascal Grébaut**, **Laurent Jean Pierre** et les autres...

*La dernière année de cette thèse a bénéficié d'une allocation de recherche du Département Santé de L'ORSTOM. C'est pour moi l'occasion d'adresser à **Bernard Philippon**, chef du Département Santé, et à **Jacques Prod'hon**, responsable de la commission scientifique, mes remerciements pour la confiance qu'ils m'ont accordée.*

#### Laboratoire de Génétique et Environnement USTL

Une partie de ma formation a été réalisée au laboratoire de génétique de l'Institut des Sciences de l'Evolution où j'ai bénéficié de cours, de séminaires et de discussions fructueuses avec des chercheurs et techniciens.

Mes remerciements vont particulièrement à **Philippe Jarne**, qui a beaucoup contribué à ma formation en génétique des populations. C'est pour moi l'occasion de lui dire le plaisir que j'ai eu, pendant cette phase de rédaction, de côtoyer un généticien des populations en même temps passionné par la biologie des gastéropodes. Ses critiques sur mon premier manuscrit ont permis d'améliorer sensiblement le texte final.

Je ne saurai oublier ceux que j'ai côtoyés sur la paillasse du laboratoire d'électrophorèse, techniciens et "collègues", **Ghislaine Berrebi**, **Josette Catalan**, **Anne Françoise Pernot**, **Philippe Borsa**, **Anne Blanquer** et les autres...

#### Laboratoire de Biologie Animale de Perpignan

J'adresse mes remerciements au **Docteur J. Jourdane** qui m'a été d'un aide précieux dans l'étude de la génétique de la susceptibilité des bulins. Toute la phase expérimentale a bénéficié de ces conseils.

L'exposition des mollusques aux miracidiums a été effectuée en compagnie de **Anne Rognon**, technicienne expérimentée; qu'elle en soit remerciée.

Les quelques moments passés à Perpignan ont été rendus agréables par la compagnie de mon ami et compatriote **Louis Albert Tchuem Tchuenté**.

#### Le CEMV de Bouaké

Cette thèse a été possible grâce à une disponibilité sans relâche de mes amis et "collègues" **N'Goran K. Eliezer** et **Yapi Yapi Grégoire** qui ont assuré l'échantillonnage des bulins sur le terrain. Je leur dois de nombreuses informations sur l'endémie bilharzienne et le fonctionnement des populations de bulins en Côte d'Ivoire. C'est pour moi l'occasion de leur dire le plaisir que j'ai eu à collaborer avec eux.

#### Le CERMES de Niamey

Les populations de mollusques du Niger ont été récoltées par l'équipe du CERMES de NIAMEY que je remercie chaleureusement. Nous avons eu plusieurs fois recours aux services de **François Mouchet** que je tiens à gratifier particulièrement.

#### et le Cameroun?

Ma venue en France a été très encouragée par **ma famille** qui a supporté une partie des charges. A elle, à **Monsieur Domo K. Paul** et à **Madame Kontchou**, pour tout l'amour qu'ils ont pour moi, je leur dédie ce travail.

Tous mes moments difficiles et joyeux pendant ce travail ont été partagés par **Berthe et Frédéric**. Ce travail est le nôtre.



## SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	2
INTRODUCTION	10
1 <sup>ère</sup> PARTIE: RAPPELS EPIDEMIOLOGIQUES	15
<b>I. LES SCHISTOSOMES</b>	15
1. Cycle biologique des schistosomes	15
2. Rappels taxonomiques	15
3. Le sous-groupe <i>S. haematobium</i> / <i>S. intercalatum</i> / <i>S. bovis</i> / <i>S. curassoni</i>	17
<b>II. LES HOTES INTERMEDIAIRES: PRESENTATION DES ESPECES ETUDIEES, <i>BULINUS GLOBOSUS</i> ET <i>B. TRUNCATUS</i></b>	18
1. Les groupes systématiques	18
2. La ploïdie	20
3. Les systèmes de reproduction	21
3.1. L'appareil reproducteur	21
3.2. Les modalités de la reproduction	22
4. Ecologie	24
<b>III. FOYERS EPIDEMIOLOGIQUES ETUDIES EN COTE D'IVOIRE ET AU NIGER</b>	25
1. Les systèmes bioclimatiques	25
2. Les types de collection d'eau	28
3. Répartition des bulins et rôle dans la transmission des schistosomes	28
3.1. En Côte d'Ivoire	28
3.2. Au Niger	29
2 <sup>ème</sup> PARTIE: VARIABILITE ISOENZYMATIQUE DES POPULATIONS SAUVAGES DE <i>BULINUS GLOBOSUS</i> ET DE <i>B. TRUNCATUS</i> DU NIGER ET DE COTE D'IVOIRE	31
<b>I. INTRODUCTION</b>	31
<b>II. MATERIELS ET METHODES</b>	32
1. Matériel biologique utilisé	32

2. Technique d'électrophorèse des protéines enzymatiques en gel d'amidon	36
3. Méthodes d'identification et de codage des locus et des allèles	40
3.1. <i>Bulinus globosus</i>	40
3.2. <i>B. truncatus</i>	43
4. Méthodes d'analyse des données électrophorétiques	47
4.1. Analyse du polymorphisme à l'intérieur des populations	47
4.1.1. Fréquences alléliques	47
4.1.2. Etude de la variabilité génétique	47
4.1.3. Adéquation à l'équilibre de Hardy-Weinberg	48
4.1.4. Variation temporelle des structures génotypiques	49
4.2. Différenciation génétique entre populations	49
4.2.1. La distance génétique de Nei (1972, 1978)	49
4.2.2. L'analyse factorielle des correspondances	50
4.3. Relation entre allozymes et types de milieux	51
<b>III. ANALYSE DU POLYMORPHISME ENZYMATIQUE A L'INTERIEUR DES POPULATIONS</b>	<b>53</b>
1. Résultats	53
1.1. Etude chez <i>Bulinus globosus</i>	53
1.1.1. Fréquences alléliques	53
1.1.2. Description de la variabilité génétique	53
1.1.3. Adéquation à l'équilibre de Hardy-Weinberg	54
1.1.4. Variation temporelle des structures génotypiques	54
1.2. <i>B. truncatus</i>	63
1.2.1. Fréquences alléliques et variabilité génétique d'après le codage minimisant	63
1.2.2. Fréquences alléliques et variabilité génétique d'après le codage "hétérozygote fixé"	68
2. Discussion et conclusion	73
<b>IV. DIFFERENCIATION GENETIQUE DES POPULATIONS CHEZ <i>B. TRUNCATUS</i> ET CHEZ <i>B. GLOBOSUS</i></b>	<b>81</b>
1. Résultats	81
1.1. Différenciation génétique des populations de <i>B. globosus</i>	81
1.1.1. Distance génétique	81
1.1.2. Analyse factorielle des correspondances	84
1.2. Différenciation génétique des populations de <i>B. truncatus</i>	87
1.2.1. Distance génétique	87
1.2.2. Analyse factorielle des correspondances	91

2. Discussion et conclusion	97
<b>V. ETUDE DES RELATIONS ENTRE ALLOZYMES ET TYPES DE MILIEUX</b>	102
1. Introduction	102
2. Résultats et discussion	103
2.1. Cas des populations de <i>B. globosus</i>	103
2.2. Cas des populations de <i>B. truncatus</i>	108
3. Conclusion	112
<b>3<sup>ème</sup> PARTIE: SYSTEMES DE REPRODUCTION CHEZ <i>B. TRUNCATUS</i> ET <i>B. GLOBOSUS</i></b>	113
<b>I. TECHNIQUES UTILISEES</b>	113
1. Elevage de mollusques au laboratoire	113
1.1. Conditions d'élevage de mollusques au laboratoire	113
1.2. Croisements contrôlés	113
2. Mesure des paramètres démographiques	114
<b>II. ETUDE DU SYSTEME DE REPRODUCTION CHEZ <i>B. TRUNCATUS</i></b>	115
1. Introduction	115
2. Protocole expérimental	117
3. Résultats	120
4. Discussion et conclusion	124
<b>III. SYSTEMES DE REPRODUCTION ET ISOLEMENT REPRODUCTEUR CHEZ <i>B. GLOBOSUS</i></b>	130
1. Introduction	130
2. Matériel biologique	132
3. Protocole expérimental	132
4. Résultats	136
5. Discussion et conclusion	143
<b>IV. ETUDE DE LA REPRODUCTION CHEZ LES DESCENDANTS DE CROISEMENTS INTERPOPULATIONS</b>	147
1. Introduction	147
2. Protocole expérimental	147
3. Résultats	148
4. Discussion et conclusion	150
<b>4<sup>ème</sup> PARTIE: GENETIQUE DE LA SUSCEPTIBILITE CHEZ <i>B. TRUNCATUS</i> ET <i>B. GLOBOSUS</i></b>	152

<b>I. TECHNIQUES D'INFESTATION DES MOLLUSQUES AU LABORATOIRE</b>	152
<b>II. SUSCEPTIBILITE DES "HYBRIDES" INTERPOPULATIONS DE <i>B. GLOBOSUS</i> A <i>SCHISTOSOMA HAEMATOBIMUM</i></b>	152
1. Introduction	152
2. Matériel biologique	154
3. protocole expérimental	154
4. Résultats	156
5. Discussion et conclusion	160
<b>III. ANALYSE COMPAREE DE LA SUSCEPTIBILITE DE <i>B. TRUNCATUS</i> A <i>S. HAEMATOBIMUM</i></b>	163
1. Introduction	163
2. matériel biologique	163
3. Protocole expérimental	164
4. Résultats	164
5. Discussion et conclusion	167
<b>CONCLUSIONS GENERALES</b>	168
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	178
<b>ANNEXES</b>	199
Annexe 1: Composition des tampons d'électrophorèse	199
Annexe 2: Solution de broyage des bulins	200
Annexe 3: Solution alcoolique pour fixation des gels	200
Annexe 4: Quelques électromorphes des bulins	201
Annexe 5: Matrice de distances génétiques entre échantillons de <i>B. globosus</i>	203
Annexe 6: Matrice de distances génétiques entre échantillons de <i>B. truncatus</i> (codage minimisant)	204
Annexe 7: Matrice de distances génétiques entre échantillons de <i>B. truncatus</i> (codage "hétérozygote fixé")	205
Annexe 8: Composition des groupes de populations identifiées dans l'étude des relations génotypes milieux.	206

## INTRODUCTION

Les schistosomoses sont des parasitoses causées par des helminthes trématodes transmis par des mollusques d'eau douce (hôtes intermédiaires). Les formes humaines représentent la deuxième endémie mondiale et affectent 200 millions de personnes (Mott, 1990). Ces affections se caractérisent par une forte hétérogénéité dans le fonctionnement des foyers. En effet, pour un même parasite, des différences sont observées non seulement au niveau de la prévalence et de la charge parasitaire dans le même foyer chez l'homme, mais encore au niveau du taux de susceptibilité des populations de mollusques appartenant à différents types de collections d'eau d'un même bassin hydrologique, ou même à différentes zones biogéographiques. Ce polymorphisme du fonctionnement des foyers de schistosomoses n'est pas favorable au développement d'une méthode de lutte standardisée applicable à l'ensemble des zones couvertes par l'endémie.

Les enquêtes parasitologiques (prévalence) et malacologiques (distribution des espèces de mollusques et taux d'infestation) conduites en Côte d'Ivoire et au Niger (Ngoran, 1987; Sellin, 1988) ont clairement confirmé cette hétérogénéité lors des études réalisées chez *S. haematobium* (Bilharz, 1852), agent de la bilharziose urinaire, et plus généralement chez les schistosomes appartenant au groupe à oeuf à éperon terminal et leurs hôtes. En effet, d'importantes variations de morbidité peuvent être observées dans une même zone bioclimatique du Niger ou de la Côte d'Ivoire. En outre, *B. truncatus* constitue le principal hôte intermédiaire de *S. haematobium* au Niger et en savane soudanienne et guinéenne de la Côte d'Ivoire, alors que *B. globosus* ne transmet le parasite qu'en zone forestière.

Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de cette hétérogénéité, en particulier, (i) le comportement de l'homme et son état immunitaire (Bundy 1988, Haswell-Elkins *et al.*, 1987), (ii) la distribution discontinue des populations de mollusques (Brown, 1980) et les fluctuations de la densité des populations dans le temps et dans l'espace (Woolhouse & Chandiwana, 1989; Ngoran, 1987), (iii) la variabilité génétique des populations d'hôtes et de parasites (Anderson, 1911). Tous ces paramètres doivent être appréciés dans toute approche raisonnable de l'épidémiologie des foyers de schistosomoses.

La variabilité d'origine génétique peut être appréciée dans le cadre d'une étude de génétique des populations d'organismes hôtes et de leurs parasites. Cette discipline a pour but de mesurer la variabilité et d'étudier

les facteurs responsables de son évolution (Lewontin, 1974). Plusieurs marqueurs ont été utilisés pour mesurer la variabilité génétique chez les parasites et leurs hôtes intermédiaires.

Chez les parasites, en particulier dans le groupe des schistosomes à oeuf à éperon terminal, plusieurs marqueurs ont été pris en compte: la biométrie des oeufs (Touassem, 1987), la chétotaxie des cercaires (Bayssade-Dufour *et al.*, 1989), leur chronobiologie (Mouahid & Théron, 1986), les marqueurs biochimiques et moléculaires (Brémond *et al.*, 1990; Despres, 1991).

Chez les mollusques hôtes intermédiaires, les marqueurs morpho-anatomiques, très utilisés dans la détermination des espèces (Mandahl-Barth, 1957; Brown, 1980; Same-Ekobo, 1984) se sont avérés peu discriminants dans les études intraspécifiques. En revanche, les marqueurs isoenzymatiques se sont révélés très utiles dans l'étude des structures génétiques chez ces mollusques (Mulvey & Vrijenhoek, 1981a, 1982; Wright & Rollinson, 1984; Jelnes, 1986; Mulvey *et al.*, 1988a; Rollinson *et al.*, 1990), dans l'étude des systèmes de reproduction (Mulvey & Vrijenhoek, 1981b, 1982; Rollinson *et al.*, 1989) et dans l'étude des relations entre la structure génétique des mollusques et leur susceptibilité aux schistosomes (Michelson & Dubois, 1981; Mulvey & Vrijenhoek, 1984; Mulvey *et al.*, 1988b).

Il faut toute fois remarquer que la plupart de ces études ont été développées chez *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) et chez *Bulinus cernicus* (Morelet, 1867). De fait, chez les bulins hôtes intermédiaires de schistosomes du groupe à oeuf à éperon terminal en Afrique, peu de données sont disponibles sur: (i) la variabilité génétique intra et interpopulationnelle, en relation avec les biotopes occupés; (ii) les systèmes de reproduction qui jouent un rôle à la fois dans l'évolution des structures génétiques des populations et de la dynamique des populations de mollusques.

Dans les systèmes hôte-parasites, l'ensemble des facteurs contribuant à l'évolution des structures génétiques des populations de parasites et d'hôtes doivent être étudiées pour une bonne compréhension de l'épidémiologie des foyers (Rollinson, 1985). Ces structures génétiques des populations peuvent être modifiées en fonction de contraintes internes et externes, dont un excellent exemple est fourni par les systèmes de reproduction qui selon Wright (1931) et Falconer (1989), représentent une contrainte interne majeure. En effet, les gènes sont normalement transmis par la reproduction. De plus, chez les mollusques hôtes intermédiaires, les modalités de la reproduction sont diversifiées (autofécondation, allofécondation, aphallisme), et la valeur sélective des individus, évaluée sur la base de l'âge de maturité sexuelle, de la production en oeufs, et de la survie en dépend (Vianey-Liaud, 1990; Jarne, 1990). Si l'étude de la dynamique des populations sur le terrain a considéré l'impact des facteurs

abiotiques (revue dans Appleton, 1978), l'influence des systèmes de reproduction a été rarement prise en compte. Dans certains cas, une relation a pu en effet être établie entre le degré d'hétérozygotie dans les populations et le système de reproduction (Lewontin, 1974).

Les facteurs externes pouvant entraîner les modifications de la structure génétique des populations ont été largement discutés par Wright (1978), Slatkin (1985), Wade & McCauley (1988), McCauley (1991). Suivant les cas, l'homogénéisation ou la différenciation des fréquences alléliques au sein des populations dépend de la distribution spatiale (continue ou discontinue) des populations, de leur taille, de l'intensité des migrations, de l'origine des migrants et de l'importance des fluctuations de la taille des populations.

Un aspect important de l'étude des systèmes hôte-parasites dérive du fait que le support génétique de la susceptibilité des hôtes a été montré dans certains cas (Crombie & Anderson, 1985). En outre, les populations de mollusques présentent une variabilité géographique de la susceptibilité aux schistosomes (Wright, 1977; Mutani *et al.*, 1983). On peut alors s'interroger sur les relations probables entre la structure génétique des populations de mollusques et cette variation de la susceptibilité. Deux principaux modèles ont été développés pour interpréter les relations entre la variabilité génétique d'un hôte et sa résistance aux parasites.

Dans le premier cas, la résistance de l'hôte dépendrait d'un grand nombre de gènes; ainsi le "meilleur" hôte dans cette optique devrait avoir des populations polymorphes, donc maintenir la sexualité ou l'allofécondation par rapport à l'autofécondation car ces systèmes génèrent la variabilité (Levin, 1975; Hamilton, 1980; Lively, 1987). Dans ce modèle, toute population d'hôte très monomorphe, par exemple se reproduisant uniquement par autofécondation, s'exposerait à une élimination dès qu'un parasite nouveau apparaîtrait. Ainsi, chez le prosobranch *Potamopyrgus* qui possède soit uniquement des populations de femelles asexuées, soit des populations de femelles sexuées et de mâles, il a été montré que le système de reproduction permettant la fusion des gamètes/recombinaison pouvait avoir été maintenu dans les populations, dans le but de produire des génotypes rares capables de résister aux pressions parasitaires (Lively, 1987).

Dans le second modèle, la résistance de l'hôte pourrait ne dépendre que d'un petit nombre de gènes. Par exemple, Richards (1973) a montré que la résistance à *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907) des adultes d'une lignée de *Biomphalaria glabrata* avait un déterminisme monogénétique, le gène de résistance étant dominant sur le gène de susceptibilité. Si le déterminisme de la susceptibilité est connu, on peut alors tester la liaison entre le gène de susceptibilité et d'autres marqueurs génétiques (Mulvey & Woodruff, 1985). La validité de ce concept pourrait déboucher sur une méthode de lutte contre les mollusques vecteurs, puisqu'il est actuellement

envisagé d'utiliser des individus résistants introduits dans les populations d'individus sensibles (Hubendick, 1958; Richards, 1970; Wright, 1977; Minchella & Loverde, 1983). Ceci demande d'une part de connaître le déterminisme de la susceptibilité, d'autre part de comprendre comment circule l'information génétique entre et dans les populations. Pour ce dernier point, il apparait clairement qu'une bonne connaissance des systèmes de reproduction est indispensable.

Notre étude a pour but d'évaluer la variabilité génétique des mollusques hôtes intermédiaires et d'analyser les mécanismes de sa mise en place et de son maintien. Nous proposons une approche populationnelle des deux principales espèces de mollusques (*B. truncatus* et *B. globosus*) hôtes intermédiaires potentiels de *S. haematobium* et d'autres schistosomes du groupe à oeuf à éperon terminal au Niger et en Côte d'Ivoire. Les objectifs de ces travaux sont:

- mesurer et analyser la variabilité génétique à l'intérieur et entre les populations des deux espèces d'hôtes intermédiaires, analyser les relations entre génotypes des mollusques et leur localisation (système bioclimatique, type de collection d'eau), analyser les variations temporelles des structures génotypiques,

- contribuer à l'étude des systèmes de reproduction dont la connaissance est nécessaire pour interpréter et expliquer les structures génétiques des populations, pour comprendre la dynamique des populations de bulins et les modalités de transfert de l'information génétique, y compris des gènes de susceptibilité ou de résistance aux schistosomes, ce qui est par ailleurs un préalable à la perspective de l'utilisation des individus transgéniques résistants.

- contribuer à l'étude de la variabilité génétique de la susceptibilité en prenant en compte la structure génétique des populations.

**PREMIERE PARTIE**  
**RAPPELS EPIDEMIOLOGIQUES**



## LES SCHISTOSOMOSES

### 1. Cycle biologique des schistosomes

Le cycle biologique des schistosomes du groupe à oeuf à éperon terminal est représenté à la Figure 1. Il présente schématiquement les caractéristiques suivantes:

- parasitose eau-dépendante
- présence obligatoire d'un hôte définitif vertébré et d'un hôte intermédiaire mollusque,
- gonochorie des schistosomes, la reproduction sexuée ayant lieu chez l'hôte définitif vertébré,
- plusieurs phases de multiplications asexuées (sporocystogénèse et cercariogénèse) chez l'hôte intermédiaire mollusque (Jourdan et Théron, 1987).

### 2. Rappels taxonomiques

Le genre *Schistosoma* (Weinland, 1858) comprend 19 espèces à affinités zoophiles ou anthropophiles. Ces espèces sont réparties en cinq groupes sur la base de la morphologie de l'oeuf et du type d'hôte intermédiaire. Onze de ces espèces sont recensées sur le continent africain et appartiennent soit au groupe à oeuf à éperon terminal (sept espèces), soit au groupe à oeuf à éperon latéral (quatre espèces).

Dans le groupe de schistosomes à oeuf à éperon terminal, notre travail concerne les espèces anthropophiles (*S. haematobium* et *S. intercalatum* (Fischer, 1934) et deux espèces zoophiles (*S. bovis* (Sonsino, 1875) et *S. curassoni* (Brumpt, 1931)) rencontrées en Afrique de l'Ouest ou en Afrique centrale.

### 3. Le sous-groupe *S. haematobium* / *S. intercalatum* / *S. bovis* / *S. curassoni*

- *S. haematobium* est l'agent de la schistosomose urogénitale. Les mollusques hôtes intermédiaires appartiennent au genre *Bulinus*. Les adultes vivent dans le plexus veineux vésical. L'aire de répartition de *S. haematobium* englobe toute l'Afrique, soit 39 pays en prenant en compte Madagascar et l'île Maurice (Doumenge *et al.*, 1987).

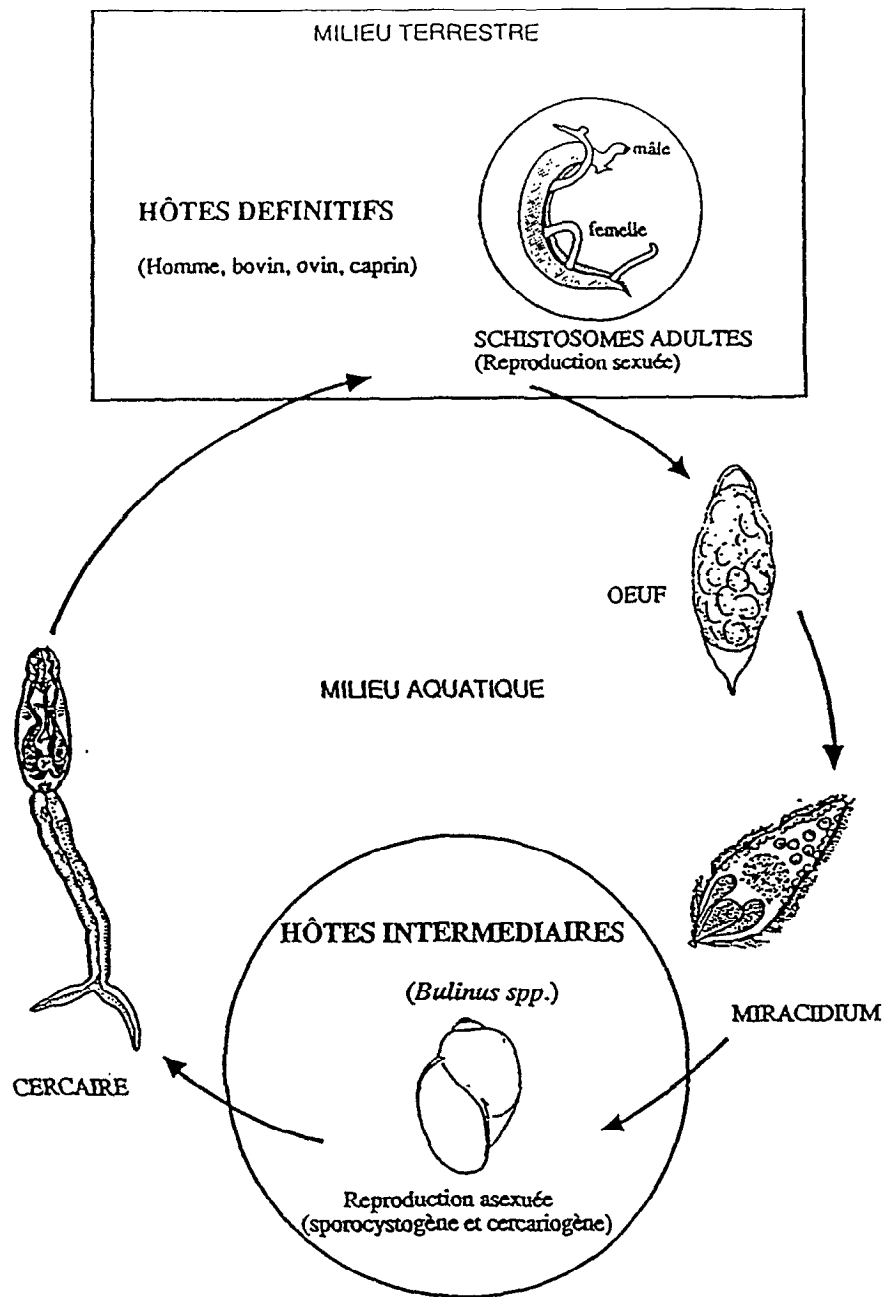


Figure 1  
Schéma du cycle biologique des schistosomes du groupe à oeuf à éperon terminal

- *S. intercalatum* (Fischer 1934) est l'agent de la schistosomose rectale. Les vers adultes vivent dans le plexus veineux rectal. Les mollusques hôtes intermédiaires sont également des bulins. Il existerait deux variants, un transmis naturellement par *B. globosus*, et un autre par *B. forskalii* (Wright *et al.*, 1972, 1979; Frandsen *et al.*, 1978). *B. crystallinus* jouerait un rôle dans la transmission de ce parasite dans la région de Gamba au Gabon (Jelnes, 1984). La zone de répartition de l'espèce est strictement africaine: Zaïre, Congo, Gabon, Cameroun, République Centrafricaine, Tchad, Sao Tomé, Guinée Equatoriale et Nigeria (Jourdane & Mas-Coma, 1990).

- *S. bovis* est l'agent de la schistosomose intestinale. Il parasite des ruminants domestiques (bovins, ovins, caprins) et quelques ruminants sauvages (antilopes). Plusieurs espèces de bulins assurent sa transmission en Afrique (*B. globosus*, *B. truncatus*, *B. forskalii* et *B. senegalensis*). Son aire de répartition est très large en Afrique, mais ne comprend pas la partie Sud du continent.

- *S. curassoni* est un parasite de ruminants domestiques (bovins, ovins et caprins), passant aussi par les bulins. *S. curassoni* est rencontré en Afrique de l'Ouest (Sénégal, Gambie, Mauritanie, Mali, Niger et Nigéria).

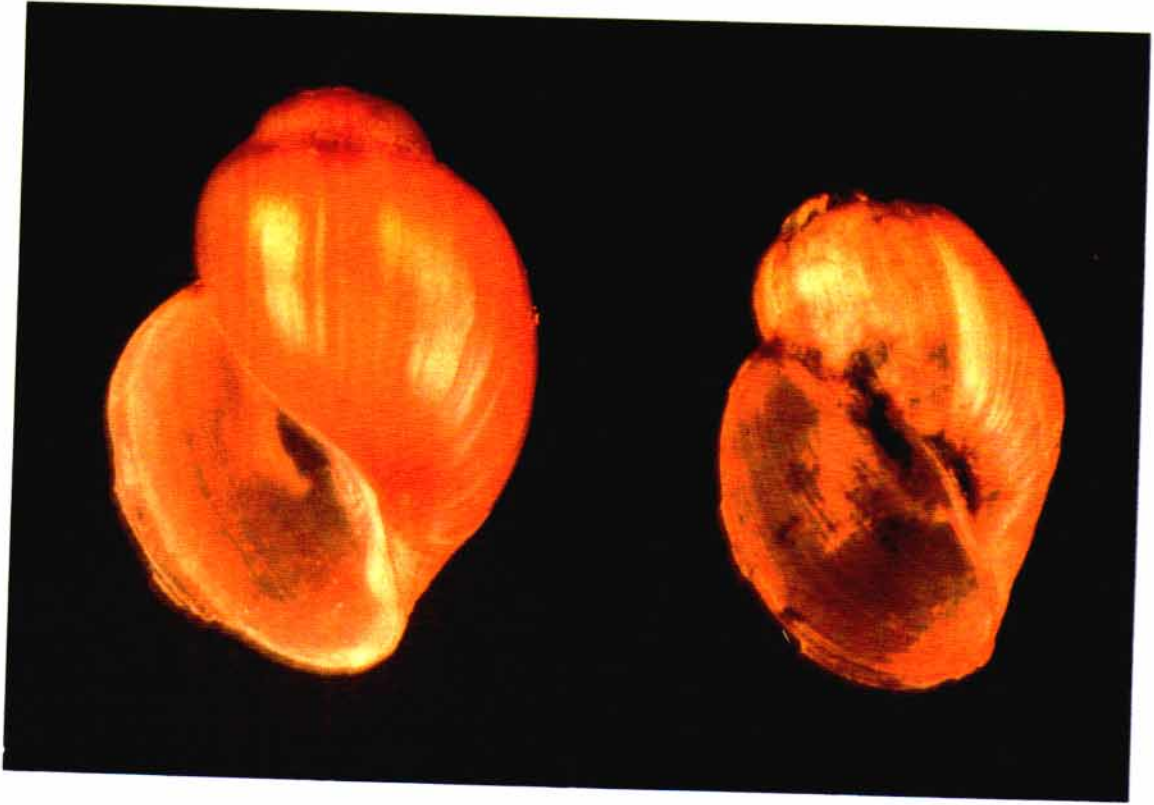
Des études récentes ont révélé l'existence d'hybridations naturelles entre des espèces de schistosomes du groupe à oeuf à éperon terminal en Afrique, notamment entre *S. intercalatum* et *S. haematobium* au Cameroun (Wright *et al.*, 1974; Southgate & Rollinson, 1980) et entre *S. bovis* et *S. curassoni* en Afrique de l'Ouest (Brémond *et al.*, 1990; Rollinson *et al.*, 1990).

## CHAPITRE II

### LES HOTES INTERMEDIAIRES : PRESENTATION DES ESPECES ETUDIEES, *BULINUS GLOBOSUS* ET *B. TRUNCATUS*.

#### 1. Les groupes systématiques

Les représentants du genre *Bulinus* Müller, 1781 forment probablement le groupe de gastéropodes d'eau douce le plus courant en Afrique (Brown, 1980). L'aire de répartition du genre atteint la région méditerranéenne, le Proche Orient, le Moyen Orient et les îles de l'Océan Indien (Madagascar et Maurice). L'organisation des espèces dans le genre *Bulinus* a été constamment modifiée en fonction de l'introduction de nouveaux caractères d'identification.



*Bulinus globosus* (12 mm)

*Bulinus truncatus* (9 mm)

Planche 1

Plus d'une centaine d'espèces ont été décrites sur la seule morphologie de la coquille. Une trentaine d'espèces seulement ont été validées par Mandahl-Barth (1957) qui a considéré non seulement la coquille, mais aussi l'organisation de la dentition interne et de la morphologie de l'appareil copulateur. Une quarantaine d'espèces ont été confirmées par Brown (1980) et Brown & Shaw (1989) sur la base de caractères morpho-anatomiques. L'utilisation des allozymes a permis de proposer la mise en synonymie des espèces *B. globosus* et *B. jousseaumei* d'une part, et des espèces *B. truncatus*, *B. rohlfsi* et *B. guernei* d'autre part (Jelnes, 1986). Les espèces du genre sont classées dans les 4 groupes définis par Mandahl-Barth (1957), caractérisés par la morphologie générale et par leur rôle dans la transmission des schistosomes:

- groupe *B. forskalii*: la coquille est généralement effilée et lisse. Des espèces du groupe *forskalii* transmettent *S. haematobium*, *S. intercalatum* et *S. bovis*.

- groupe *B. africanus*: ce sont les plus gros bulins. Ils sont caractérisés par la troncature et la courbure de la partie interne de la coquille. Les principaux schistosomes transmis par des espèces du groupe sont *S. haematobium*, *S. intercalatum*, *S. bovis*, *S. curassoni* et *S. mattheei*.

- groupe *B. truncatus/tropicus*: les espèces sont de grande taille. L'ouverture n'est pas tronquée. Des espèces de ce groupe transmettent *S. haematobium* et *S. bovis*.

- groupe *B. reticulatus*: ce groupe comprend deux espèces, *B. reticulatus* rencontré en Afrique de l'Est et dans la partie sud de l'Afrique, et *B. wrighti* rencontré au Yémen, en Arabie Saoudite et à Oman (Brown, 1980). *B. reticulatus* est morphologiquement proche des espèces du groupe *B. forskalii* alors que *B. wrighti* est proche du groupe *B. truncatus/tropicus*. *B. wrighti* est compatible à la plupart des schistosomes du groupe à oeuf à éperon terminal alors que *B. reticulatus* est faiblement compatible à *S. haematobium* et *S. bovis* (Southgate & Knowles, 1975; Brown, 1980).

Dans ce travail, nous avons étudié *B. globosus* qui appartient au groupe *B. africanus* et *B. truncatus* qui est membre du groupe *B. truncatus/tropicus*. La morphologie de la coquille des deux espèces est donnée à la planche 1.

## 2. La ploïdie

La ploïdie a été utilisée comme critère supplémentaire pour classer les espèces dans le groupe *B. truncatus/tropicus*. En effet, le nombre de base de chromosomes dans les groupes de bulins est de  $2n = 36$  (Burch, 1960; Burch & Lindsay, 1970), excepté le groupe *B. truncatus/tropicus*, qui est composé d'une série polyploïde, les espèces pouvant avoir  $2n = 36, 72, 108$

ou 144 chromosomes (Brown & Burch, 1967; Burch, 1967). *B. truncatus* est tétraploïde ( $2n = 72$ ; Burch & Lindsay, 1970).

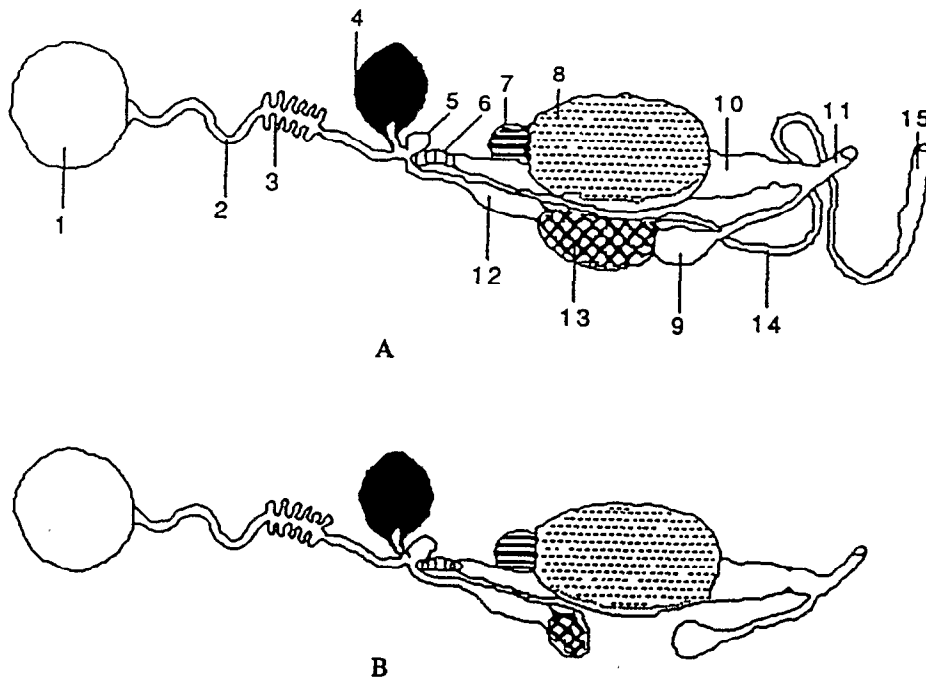
Le niveau de ploïdie et le type de polyploïdie doivent être pris en compte dans l'interprétation des résultats d'électrophorèse des enzymes (Lewontin, 1974).

On peut distinguer deux principaux types de polyploïdie, l'autopolyploïdie qui résulte d'une multiplication du stock chromosomique chez une espèce, et l'allopolyplôïdie qui est engendrée par une hybridation entre espèces voisines (Stabbins, 1950). Chez les autopolyploïdes, chaque génome diploïde homologue peut subir une évolution autonome (par ex., mutation, inactivation des locus) pouvant conduire à une divergence des génomes diploïdes homologues (Ohno, 1970; Ferris & Whitt, 1977; Buth, 1983). Le fonctionnement méiotique est influencé par l'état d'évolution entre les génomes diploïdes homologues, et on peut alors distinguer deux types de ségrégation chromosomiques chez les polyplôïdes. Chez les tétraploïdes, la ségrégation tétrasomique localisée au sein du génome tétraploïde caractérise des espèces présentant une autotétraploïdie d'origine récente. Alternativement, la ségrégation disomique localisée au niveau de chaque génome diploïde homologue caractérise: soit des espèces d'origine allotétraploïdes, soit des espèces présentant une autotétraploïdie d'origine ancienne, chez lesquelles les génomes diploïdes homologues ont divergé (Allendorf & Thorgaard, 1984). Dans ces deux derniers cas, les espèces sont tétraploïdes pour le nombre de chromosomes, mais présentent un fonctionnement diploïde des locus. L'illustration de cette notion et son utilisation dans l'interprétation des bandes d'électrophorèse d'enzymes chez *B. truncatus* sont présentées dans la deuxième partie à la planche 2.

Chez les bulins, peu d'études ont été menées sur l'origine de la polyploïdie. Cependant quelques études cytologiques ont suggéré que la tétraploïdie chez *B. truncatus* a très probablement eu une origine hybride, l'une des espèces parentale pouvant être *B. tropicus*, qui appartient au même groupe ou une autre espèce diploïde de caryotype voisin (Burch & Huber, 1966; Nascetti & Bulini, 1980; Goldman & Loverde, 1983). Cependant, une autotétraploïdie ancienne ne peut être distinguée d'une allotétraploïdie en l'absence des données paléontologiques (Allendorf & Thorgaard, 1984). Quelle que soit l'origine de la tétraploïdie chez *B. truncatus*, l'observation uniquement de divalents à la méiose (Goldman & Loverde, 1983) est en faveur de l'existence d'une ségrégation disomique des allèles.

### **3. Les systèmes de reproduction**

#### **3.1. L'appareil reproducteur (Figure 2)**



**Figure 2**  
**Appareil reproducteur de *Bulinus* sp.**

**A. *Bulinus* normal**

**B. *Bulinus* aphyllique**

*Les parties homologues sont indiquées de façon identique.*

Partie hermaphrodite: 1. ovotestis, 2. spermiducte, 3. vésicules séminales.

Partie femelle: 4. glande de l'albumen, 5. carrefour, 6. pars contorta, 7. glande mucipare, 8. glande de l'oothèque, 9. spermathèque, 10. utérus, 11. vagin.

Partie mâle: 12. spermiducte, 13. prostate, 14. vas deferens, 15. complexe pénien  
(d'après Ducan, 1975; Geraerts & Joosse, 1984).

Chez *B. truncatus* et *B. globosus*, l'appareil reproducteur est bâti sur le plan général défini chez les Basommatophores par Larambergue (1939), Paraense (1955, 1976), Duncan (1975) et Geraerts & Joosse (1984). Il comprend 3 parties principales:

- une partie hermaphrodite constituée de l'ovotestis qui fabrique les deux types de gamètes, des vésicules séminales dans lesquelles sont stockés l'autosperme, et le canal hermaphrodite par lequel transitent l'autosperme, l'allosperme et les oeufs,
- une partie femelle constituée de l'oviducte par lequel transitent l'allosperme et les oeufs fécondés, des glandes femelles qui synthétisent les substances nécessaires à la ponte, du vagin qui reçoit le pénis pendant la copulation et de la spermathèque dont un des rôles est de détruire l'excédant de sperme après la copulation,
- une partie mâle constituée du spermiducte par lequel transite l'autosperme, de la prostate qui synthétise les fluides séminaux, du *vas deferens*, et du complexe pénien.

Dans l'espèce *B. truncatus*, certains individus sont aphalliques, la partie mâle est incomplète; il manque notamment le complexe pénien et le *vas deferens*, et la prostate est atrophiée (Larambergue, 1939).

### 3.2. Les modalités de la reproduction

La reproduction se fait par autofécondation et par allofécondation (Larambergue, 1939; Rudolph, 1979). Dans le premier cas, à maturité sexuelle, les jeunes individus encore vierges déposent des pontes autofécondées. Dans le deuxième cas l'allofécondation se fait par copulation unilatérale, l'individu inséminé pouvant jouer le rôle insémineur juste après le premier coït. Un même individu peut être fertilisé par plusieurs partenaires successivement. Plusieurs individus placés ensemble peuvent copuler en chaîne, les individus intermédiaires jouant le rôle mâle vis-à-vis d'un partenaire et le rôle femelle vis-à-vis d'un autre. Le sperme étranger reçu lors de la copulation peut être conservé chez l'individu receveur quelques jours à plusieurs mois (Larambergue, 1939; Rudolph & Bailey, 1985).

Chez *B. globosus*, l'analyse des systèmes de reproduction au laboratoire montre que l'allofécondation est de règle (Rudolph, 1979; 1983; Jarne *et al.*, 1991). Ce mode de reproduction a d'ailleurs été confirmé par l'étude du polymorphisme enzymatique (Jelnes, 1986). En revanche, chez *B. truncatus*, le système de reproduction est encore discuté. En effet, les résultats de croisement au laboratoire et des études cytologiques (Larambergue, 1939), ainsi que le taux d'individus aphalliques variable mais le plus souvent élevé dans les populations naturelles, ont suggéré un

rôle important de l'autofécondation (Larambergue, 1939; Jarne, 1990). Cependant, l'observation des phénotypes électrophorétiques de type hétérozygotes qui ne semblaient pas présenter *a priori* de ségrégation lors de reproductions uniparentales a suggéré que la reproduction chez *B. truncatus* pouvait se faire par parthénogénèse améiotique (Jelnes, 1978, 1986). Notons que les travaux de Jelnes ne font pas référence aux résultats de Larambergue (1939), ni à l'existence de la ségrégation disomique chez les organismes tétraploïdes. Une étude récente portant sur l'aphallie chez *B. truncatus* a suggéré un rôle certainement important de l'autofécondation (Jarne *et al.*, 1992b).

#### 4. Ecologie

L'habitat des bulins est très varié, allant des collections d'eau naturelles telles que lacs, mares résiduelles, mares temporaires, ruisseaux, aux gîtes artificiels tels que barrages de retenue, étangs ou canaux d'irrigation (Schiff, 1964; Appleton, 1974; Brown, 1980; Cantrell, 1981; Sellin & Boudin, 1981; Betterton, 1983; Ndifon *et al.*, 1989; Vera *et al.*, 1990). Tous ces biotopes sont soumis à une variation hydrologique spatio-temporelle importante dont dépend la densité de populations de mollusques. L'explication des variations de la densité de populations dans l'espace est complexe, pouvant faire intervenir:

- l'effet de la végétation ralentissant la vitesse du courant et permettant la formation de refuges pour les bulins,
- la présence de certaines espèces végétales pour lesquelles les mollusques présentent une certaine affinité (Marti & Tanner, 1988; Woolhouse & Chandiwana, 1989),
- la présence de troncs d'arbres morts qui servent de support aux mollusques ou même
- l'anthropisation par apport de déchets ménagers (Ngoran, 1987). Les variations d'effectif des populations dans le temps sont induites par les variations de température et la pluviométrie; en particulier, en saison sèche, les populations de mollusques sont limitées aux points d'eau résiduels, et la différence de densité entre populations est élevée alors qu'en saison des pluies les densités sont plus homogènes (Woolhouse & Chandiwana, 1989). Dans le même cours d'eau, les mollusques peuvent être transportés sur plusieurs dizaines de mètres par le courant, et coloniser de nouveaux biotopes (Marti & Tanner, 1988; Woolhouse, 1988a, b). En revanche, entre différents systèmes hydrologiques, le flux de gènes entre populations peut être le résultat de l'action des crues (Ndifon & Ukoli, 1989) mais aussi des oiseaux (Wright, 1977) qui dispersent soit des individus soit des pontes. La recolonisation de certains points d'eau après la période de sécheresse peut être assurée chez *B. truncatus* et *B.*

*globosus* par des individus qui ont estivé (Brown, 1980; Betterton *et al.*, 1988).

### CHAPITRE III

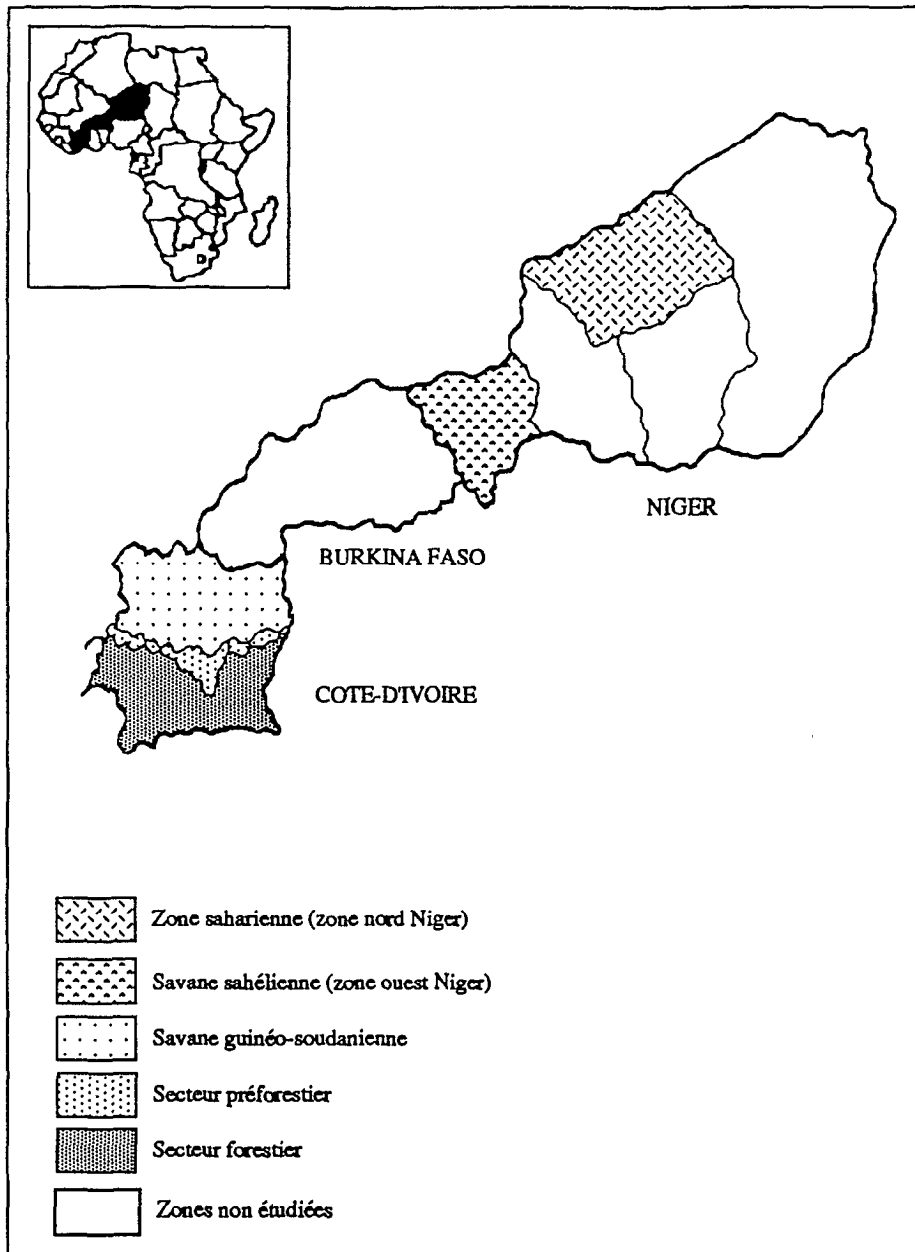
## FOYERS EPIDEMIOLOGIQUES ETUDIÉS EN CÔTE D'IVOIRE ET AU NIGER.

L'aire d'échantillonnage des populations de mollusques étudiées recouvre les principaux types de systèmes bioclimatiques et de collections d'eau représentatifs des différents biotopes d'Afrique de l'Ouest.

### 1. Les systèmes bioclimatiques

Ils comprennent cinq grands groupes (Figure 3):

- le secteur forestier au Sud de la Côte d'Ivoire est caractérisé par un climat équatorial typique à quatre saisons: une grande saison des pluies d'Avril à Juillet, une petite saison sèche de Juillet à Septembre, une petite saison des pluies de Septembre à Novembre et une grande saison sèche de Décembre à Mars. La pluviométrie annuelle varie de 1400 à 1600 mm. La moyenne annuelle de température est de 25 à 26° C (ELDIN, 1971).
- le secteur préforestier au Centre de la Côte d'Ivoire est caractérisé par un climat à quatre saisons moins marquées qu'en secteur forestier: une grande saison sèche de Novembre à Février, une grande saison des pluies de Mars à Juin, une petite saison sèche de Juillet à Août et une petite saison des pluies de Septembre en Octobre. Ces dernières années, on a observé un climat à deux saisons (Ngoran, 1987). La pluviométrie varie de 1200 à 1400 mm par an. La moyenne annuelle de température est d'environ 26 à 27° C et l'amplitude thermique journalière atteint 12° C.
- la savane guinéo-soudanienne au Nord de la Côte d'Ivoire est caractérisée par un climat de type tropical humide à deux saisons. La saison des pluies est réduite (6 à 3 mois par an). La pluviométrie annuelle varie entre 1000 et 1600 mm. L'amplitude thermique journalière maximale de 20°C est atteinte au mois de Janvier.



*Figure 3*  
 Systèmes bioclimatiques présents dans les zones étudiées

- la savane sahélienne au Sud Ouest du Niger présente une saison sèche et une saison des pluies. Les précipitations varient de 250 à 700 mm par an, et la moyenne annuelle de température entre 27 et 29° C. L'amplitude thermique journalière est d'environ 9° C.
- la zone saharienne au Nord du Niger a une pluviométrie annuelle inférieure à 250 mm. L'amplitude thermique journalière est d'environ 15° C.

## 2. Les types de collection d'eau

On reconnaît cinq types principaux:

- les étangs et barrages de retenue en Côte d'Ivoire qui sont des collections d'eau artificielles aménagées à des fins agro-pastorales,
- les rivières et ruisseaux en Côte d'Ivoire qui sont des affluents non permanents formant des cuvettes d'eau stagnantes pendant les basses eaux,
- les canaux d'irrigation qui sont des conduits secondaires et tertiaires acheminant l'eau des rivières ou des fleuves jusqu'aux rizières du Nord de la Côte d'Ivoire et du Sud Ouest du Niger,
- les mares temporaires du Sud Ouest du Niger qui sont des collections d'eau stagnante variant de quelques mètres carrés à plusieurs hectares, la période de mise en eau variant de 5 à 9 mois par an,
- les mares permanentes ou guelta des régions sahariennes au Nord du Niger qui sont des collections d'eau larges de quelques centaines de mètres continuellement ravitaillées par des résurgences.

## 3. Répartition des bulins et rôle dans la transmission des schistosomes

### 3.1. En Côte d'Ivoire

Les bulins, hôtes intermédiaires potentiels des schistosomes, sont représentés par trois espèces: *B. truncatus*, *B. globosus* et *B. forskalii* (Doumenge *et al.*, 1987). *B. truncatus* est l'espèce la moins représentée; elle occupe surtout le Centre et le Nord de la Côte d'Ivoire mais peut être exceptionnellement rencontrée en forêt dégradée du Sud (par exemple, à Mopé). *B. globosus*, plus abondamment représentée que *B. truncatus*, occupe surtout le Sud et le Centre de la Côte d'Ivoire (secteur forestier et préforestier). Cette espèce est présente au Nord Ouest (Odienné et Tiémé) où son développement est probablement favorisé par la pluviométrie, qui à latitude égale est plus élevée à l'Ouest qu'à l'Est en relation avec la convergence des masses d'air maritime (Eldin, 1979). Les deux espèces précédentes peuvent être rencontrées avec *B. forskalii* qui est le bulin le plus abondamment représenté en Côte d'Ivoire.

La bilharziose urinaire sévit du Sud au Nord de la Côte d'Ivoire (Doumenge *et al.*, 1987; Ngoran, 1987). *B. globosus* est vecteur de *S. haematobium* au Sud Est et dans certains foyers du Centre de la Côte d'Ivoire. *B. truncatus* est responsable de la transmission de ce parasite au Nord et dans certains foyers du Centre de la Côte d'Ivoire. *B. forskalii* ne joue aucun rôle dans la transmission du parasite dans tout le pays. La présence de *S. bovis*, transmis par *B. truncatus* au Nord de la Côte d'Ivoire a été suggérée par Sonon (1987).

### 3.2. Au Niger

Quatre espèces de bulins colonisent les périmètres irrigués du Sud Ouest du Niger: *B. truncatus* s'y rencontre toute l'année (densité maximale en saison sèche); *B. globosus* s'y développe en saison de pluie (densité maximale en fin de saison de pluie); *B. forskalii* y est présent toute l'année avec une densité maximale en saison de pluie, tandis que *B. senegalensis* colonise épisodiquement les collections d'eau temporaires adjacentes aux canaux d'irrigation. Les mares temporaires du Sud Ouest du Niger sont colonisées principalement par *B. senegalensis* lorsque la période de mise en eau est inférieure à sept mois. Au delà, *B. senegalensis* partage ce biotope avec *B. truncatus*, *B. globosus* et *B. forskalii*. Quant aux mares permanentes des régions sahariennes, elles sont principalement occupées par *B. truncatus*; *B. senegalensis* étant parfois présent en saison des pluies (Mouchet, 1987; Mouchet *et al.*, 1990)

Au Niger, la bilharziose urinaire à *S. haematobium* est présente dans les trois types de systèmes épidémiologiques considérés (Sellin *et al.*, 1986; Vera *et al.*, 1990). Dans les foyers de périmètres irrigués, *B. truncatus* est le principal vecteur de *S. haematobium*, *B. globosus* jouant un rôle accessoire aussi bien par le faible taux de mollusques infestés que par la faible capacité d'émission cercarienne. *B. senegalensis* et *B. forskalii* ne jouent aucun rôle dans la transmission.

Dans les foyers de mares temporaires de la zone Ouest du Niger, *B. truncatus* et *B. senegalensis* sont les principaux vecteurs de *S. haematobium*; *B. globosus* et *B. forskalii* n'ont jamais été rencontrés parasités.

Dans les mares permanentes des régions sahariennes, *B. truncatus* est le vecteur principal de *S. haematobium* (Mouchet *et al.*, 1990).

La présence de *S. bovis* a été confirmée dans certains foyers du Niger dont la zone Sud Ouest où *B. truncatus* a été récolté naturellement parasité. Expérimentalement, les quatre espèces de bulins de cette région Ouest sont à des degrés divers, compatibles à la souche de *S. bovis* de Niamey (Vera, 1991).

En résumé, il apparaît que le rôle joué dans la transmission des schistosomes aussi bien par les différentes espèces de bulins, que par les

différentes populations d'une même espèce, varie en fonction des foyers épidémiologiques. *B. truncatus* est impliqué dans la transmission des schistosomes à oeuf à éperon terminal dans les trois types de foyers étudiés au Niger et dans la moitié Nord de la Côte d'Ivoire. *B. globosus* est l'hôte intermédiaire principal de *S. haematobium* dans la moitié Sud de la Côte d'Ivoire. Au Niger, cette espèce à une très faible capacité vectrice pour *S. haematobium* dans les périmètres irrigués de la région Ouest.

**DEUXIEME PARTIE**

**VARIABILITE ISOENZYMATIQUE  
DES POPULATIONS SAUVAGES  
DE *BULINUS GLOBOSUS* ET DE *B. TRUNCATUS*  
DU NIGER ET DE COTE D'IVOIRE**



## INTRODUCTION

Le polymorphisme enzymatique a été révélé par la technique d'électrophorèse sur gel d'amidon. Le principe de cette technique est la séparation des protéines enzymatiques qui sont chargées, et qui migrent lorsqu'elles sont placées dans un champs électrique. Des modifications d'origine génétique entraînant celles de la charge des protéines peuvent être détectées par électrophorèse.

Cette technique est largement utilisée en génétique des populations car elle permet l'analyse rapide d'un grand nombre de gènes à déterminisme monofactoriel (Lewontin, 1974). Les données électrophorétiques ont permis d'analyser les modifications des fréquences alléliques dans le temps et dans l'espace, leurs distributions géographiques, et ont ainsi largement contribué à la connaissance de l'histoire naturelle des populations (extinction et effet de fondation) (Lewontin, 1974; Nei, 1987). Les données électrophorétiques ont aussi permis l'analyse de divergences entre populations (Nei, 1972; 1978) et l'estimation du flux de gènes (Slatkin, 1985; 1987).

Chez les bulins, le polymorphisme des protéines a été étudié en premier lieu dans le but de résoudre des problèmes taxonomiques (séparation des espèces ou des variants géographiques).

Les premières investigations ont concerné le polymorphisme des protéines totales des oeufs (Wright & Ross, 1965; Brown & Wright, 1972; Brown, 1976). Ces études ont permis la distinction entre espèces diploïdes et espèces tétraploïdes dans le groupe *B. truncatus/tropicus*. Le polymorphisme enzymatique a été étudié par la suite, à partir d'extraits issus soit de l'animal entier, soit de plusieurs organes (glandes digestives, gonades, muscles du pied). Ces études ont été basées sur un nombre de locus enzymatiques faible et les échantillons de mollusques provenaient le plus souvent de souches maintenues pendant longtemps au laboratoire ou de populations sauvages d'origines géographiques très diverses. Deux groupes de travaux peuvent être distingués:

\* les études purement taxonomiques pour lesquelles les isoenzymes sont utilisées pour caractériser des espèces ou des variants géographiques (Cooles, 1970; Wu, 1972; Saladin, 1976; Ross, 1977, Rollinson & Southgate, 1979; Biocca, 1979; Jelnes, 1977, 1978, 1979a, b, c, 1986; Wright

& Rollinson, 1979, 1981; Wurzinger & Saliba, 1979; Aru *et al.*, 1980; Mimpfoundi et Greer, 1989),

\* les études de structure génétique des populations (Nascetti & Bullini, 1980; Rollinson *et al.*, 1984, 1990; Mimpfoundi & Greer, 1990a, b, c d).

Dans cette partie, nous abordons la génétique des populations naturelles de *B. truncatus* et de *B. globosus* du Niger et de Côte d'Ivoire par:

- l'analyse du polymorphisme enzymatique dans les populations (description de la variabilité, étude de la variation temporelle des structures génotypiques observées),
- l'étude de la différenciation génétique entre populations,
- la recherche de relations entre génotypes des mollusques et milieux occupés.

## CHAPITRE II

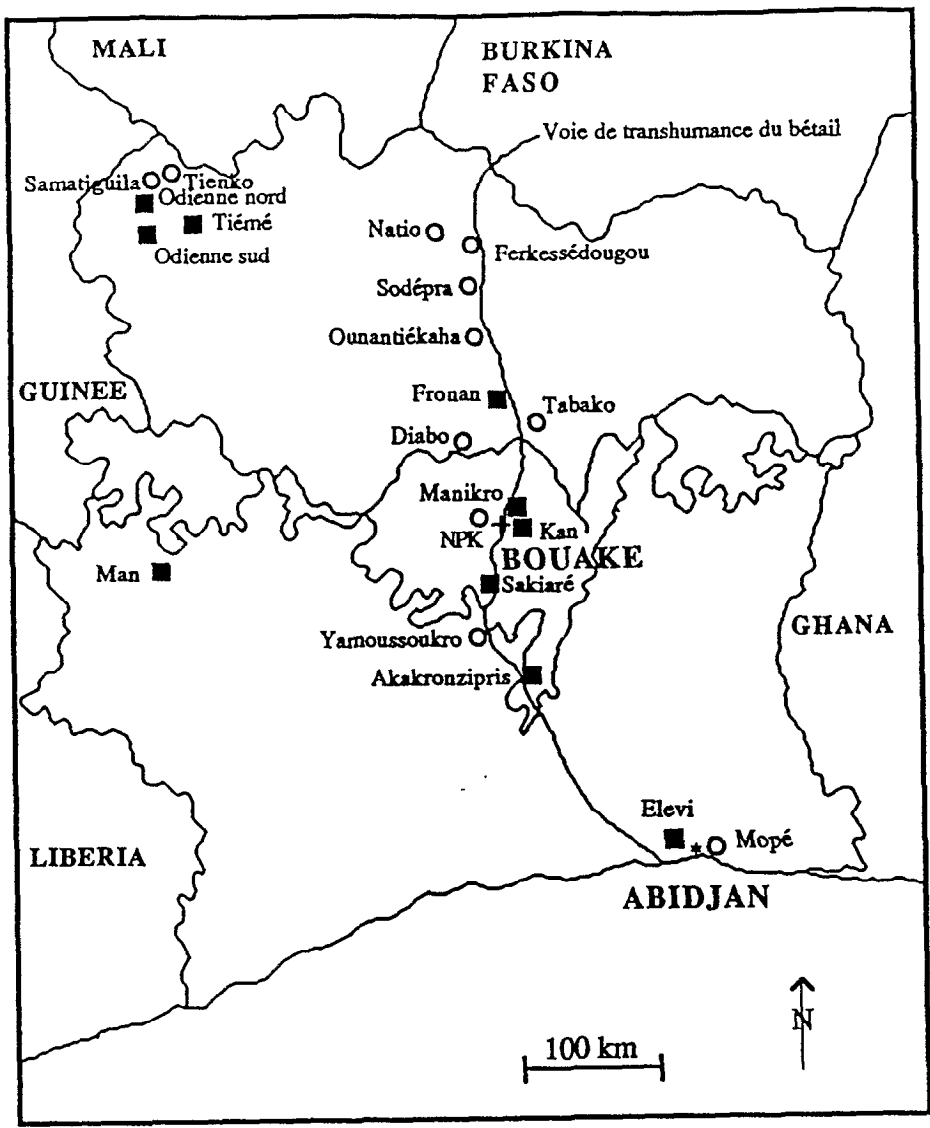
### MATERIEL ET METHODES

#### 1. Matériel biologique utilisé

L'étude porte sur un effectif de 1199 bulins collectés en Côte d'Ivoire et au Niger puis transportés vivants jusqu'au laboratoire à Montpellier, où ils sont mis en observation pendant quelques jours avant leur congélation à -80 °C. 478 *B. truncatus* proviennent de 24 échantillons originaires de 17 localités; 721 *B. globosus* répartis en 23 échantillons ont été prélevés dans 13 localités (Tableau 1). La localisation des stations de collecte en Côte d'Ivoire et au Niger est présentée aux Figures 4 et 5 respectivement. Un échantillon de *B. truncatus* originaire d'Egypte a été utilisé à titre comparatif, ce qui porte l'effectif total des individus étudiés à 1219 bulins.

**Tableau 1.** Caractéristiques des échantillons utilisés pour l'étude du polymorphisme enzymatique. CI et NI signifient respectivement Côte d'Ivoire et Niger, et a, b, c, respectivement 1<sup>er</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> échantillon de la même population; P = Pays; Ef = effectif; A E = année d'échantillonnage; \* = échantillon obtenu à partir de mollusques élevés au laboratoire.

<i>Bulinus truncatus</i>				<i>Bulinus globosus</i>					
P	Localité	Ef	A E	P	Localité	Ef	A E		
CI	Mopé	6	1990	CI	Elevi (a)	23	1988		
	Yamoussoukro	30	1990		Elevi (b)	28	1990		
	NPK (a)	25	1988		Akakronzipris (a)	20	1988		
	NPK (b)	16	1989		Akakronzipris (b)	25	1989		
	Diabo	8	1989		Akakronzipris (c)	18	1991		
	Tabako (a)	9	1988		Sakiare	32	1988		
	Tabako (b)	25	1989		Man	5	1989		
	Ounantiékaha (a)	30	1988		Kan	25	1990		
	Ounantiékaha (b)	8	1989		Manikro (a)	13	1989		
	Ounantiékaha (c)	16	1990		Manikro (b)	30	1990		
	Sodepra (a)	29	1988		Fronan	12	1990		
	Sodepra (b)	20	1990		Tiéomé	21	1989		
	Ferkessédougou (a)	13	1988		Odienne sud	29	1989		
	Ferkessédougou (b)	30	1990		Odienne nord (a)	22	1989		
	Natio (a)	10	1988		Odienne nord (b)	29	1990		
	Natio (b)	30	1989		NI	Libore 8 (a)	98	1989	
	Tienko	20	1990			Liboré 8 (b)	48	1990	
	Samatiguila	15	1990			Liboré 8 (c)	50	1991	
	NI	Liboré 9	24			1991	Libore 9 (a)	50	1989
		Daikaina	28			1988	Liboré 9 (b)	50	1991
Bangario		37	1990	Daikaina (a)		24	1988		
Tem		9	1990	Daikaina (b)		31	1989		
El-Meki		22	1988	Daikaina (c)	38	1991			
Timia		18	1988*						
Egypte	20	1989*							



**Figure 4**  
*Localités d'origine des échantillons de bulins en Côte d'Ivoire.*

■ *B. globosus*                      ○ *B. truncatus*



broyat sont centrifugés à environ 12000 trs/mn pendant 25 mn à 5° C. La solution protéique (surnageant) issue de chaque mollusque est recueillie à l'aide d'une micropipette, transférée dans 2 à 3 tubes Eppendorf et stockée à nouveau à -80° C. Cette répartition est nécessaire car après une à deux décongélations certaines enzymes se dénaturent. Juste avant utilisation, les extraits sont déposés sur du papier Whatman (4 x 9 mm).

- Les gels à révéler sont découpés en fines tranches horizontales ce qui permet plusieurs colorations sur un même gel. Les conditions de révélation des enzymes étudiés dans ce travail sont données au Tableau 3.

**Tableau 2.** Tampons de gel et tampons d'électrodes correspondants aux systèmes enzymatiques étudiés chez les deux espèces de bulins. La composition des tampons utilisés est donnée en Annexe 1. \* signifie système enzymatique présentant des zymogrammes de qualité moyenne sur le tampon donné.

TAMPONS	<i>B. globosus</i>	<i>B. truncatus</i>
TC 6,7/TC 6,3	IDH GPI PGM EST*	IDH PGM EST*
TC 8/TC 8	EST AAT NP PGM*	EST AAT NP PGM*
TCB 8,7/B.NaOH 8,2	MPI ODH $\alpha$ -GPDH*	MPI ODH XDH $\alpha$ -GPDH*
TEB 8,1/TEB 8,6		GPI EST
TEB 9/TEB 9	HBDH $\alpha$ -GPDH 6-PGD MDH PEPB	HBDH $\alpha$ -GPDH 6-PGD MDH PEPB

Lors de la présente étude, 14 systèmes enzymatiques ont été révélés:

AAT: Aspartate-amino-transférase

EST: Estérase

GPI: Glucose-phosphate-isomérase

$\alpha$ -GPDH: Alpha-glycérophosphate-déshydrogénase

HBDH: Hydroxy-butyrate-déshydrogénase

IDH: Isocitrate-déshydrogénase

MDH: Malate-déshydrogénase

MPI: Mannose-phosphate-isomérase

NP: Nucléoside-phosphorylase

ODH: Octanol-déshydrogénase

PEP B: Peptidase B

PGM: Phosphoglucomutase

6-PGD: Six-phosphogluconate-déshydrogénase

XDH: Xanthine-déshydrogénase

- La lecture des gels se fait dès que les bandes peuvent être distinguées (30 minutes à 2 heures après coloration suivant les systèmes enzymatiques). Elle consiste à comparer les bandes des différents extraits à celles des extraits témoins de niveaux de migration connus. Certaines enzymes (GPI, EST, AAT) sont très actives. La qualité de la lecture est améliorée lorsqu'on réduit de moitié la largeur du papier contenant l'extrait. Les méthodes d'identifications des locus et des allèles sont largement exposées dans Pasteur *et al.* (1987).

- Après lecture, les gels peuvent être conservés pendant plusieurs années. Pour ce faire, les tranches d'amidon sont fixées dans de l'acide acétique à 5%, baignées 24 heures dans une solution de glycérol à 10% et mises à sécher entre deux films de cellophane préalablement imbibés de glycérol. Les pellicules d'agar sont mises à sécher sur du papier buvard après séjour de 24 heures dans un fixateur éthanolé (Annexe 3).

**Tableau 3.** Composition des solutions de révélation des enzymes. Les coenzymes (NAD, NADP) et les colorants (NBT, MTT, PMS) sont en concentration 1%.

A: Tris HCl (0,2 M, pH 8)

B: Phosphate (0,1 M, pH 7,1)

C: Tris HCl (0,5 M, pH 8,5)

D: Phosphate Na HCl (0,2 M, pH 7,5)

Enzyme	Tampon de coloration	Solution de révélation
EST	B: 50ml	$\alpha$ -naphthyl acétate 2% dans acétone 0,75ml, $\beta$ -naphthyl acétate 2% dans acétone 0,75ml, Fast Blue RR Salt 50mg.
IDH	A: 5ml	Acide D,L isocitrique à 1% dans H <sub>2</sub> O 1ml, NADP 0,5ml, NAD 1ml, MgCl <sub>2</sub> 1ml, NBT 0,5ml, MTT 0,5ml, PMS 0,5ml, agar.
AAT	A: 40ml	Pyridoxal 5-phosphate 5mg, acide aspartique 40mg, acide $\alpha$ -cetoglutarique 80mg, Fast Blue BB Salt 80mg.
HBDH	A: 40ml	D,L 3-hydroxybutyrate 100mg, NAD 1ml, NBT 1ml, PMS 1ml.
$\alpha$ -GPDH	A: 40ml	$\alpha$ -glycérophosphate 300mg, pyrazole 20mg, pyruvate 20mg, NADP 2ml, NBT 1ml, MTT 0,5ml PMS 0,5ml.
MDH	A: 40ml	Acide malique (2M) 5ml, pyruvate 20mg, MgCl <sub>2</sub> (0,5M) 0,5ml, NAD 0,5ml, NBT 1ml.
MPI	A: 10ml	Manose-6-phosphate 20mg, pyruvate 20mg, NADP 0,5ml, NAD 1ml, Pgi 15 l, 6-Pgdh 6 l, MTT 1ml, PMS 0,25ml, Agar.
NP	D: 15ml	Inosine 15mg, xanthine oxydase 15 l, MTT 1ml, PMS 2,5ml.
ODH	A: 40ml	Octanol 1ml, NAD 1ml, NBT 1ml, PMS 1ml.
6-PGD	C: 40ml	6-phosphogluconate 20mg, NADP 0,5ml, MgCl <sub>2</sub> (0,5M) 0,5ml, MTT 1ml, PMS 1ml.
GPI	A: 5ml	Fructose 6-Phosphate 10mg, NADP 0,5ml, MgCl <sub>2</sub> (0,5M) 0,5ml, NAD 1ml, 6-pgdh 10 , NBT 1ml, MTT 0,5ml, PMS 0,5ml, agar.
PGM	A: 10ml	Glucose-1-phosphate 300mg, NAD 1ml, MgCl <sub>2</sub> (0,5M) 0,5ml, NADP 0,5ml, 6-Pgdh 10 , NBT 1ml, MTT 0,5ml, PMS 0,5ml, agar.
PEP B	A: 10ml	L-leucyl L-alanine 20mg, L-amino acide oxydase 5mg, peroxydase 5mg, MgCl <sub>2</sub> (0,5M) 1ml, MnCl <sub>2</sub> 0,5ml, 3-amino éthyl carbazol 5mg dilué dans 400 l d'éthanol, agar.
XDH	A: 40ml	Hypoxanthine 100mg, NAD 1ml, NBT 1ml, PMS 0,5ml.

### 3. Méthodes d'identification et de codage des locus et des allèles

#### 3.1. *Bulinus globosus*

Chez *B. globosus*, 13 systèmes enzymatiques révélés ont permis l'analyse de 18 locus présumés. Les différents allèles identifiés à chaque locus sont donnés au tableau 4. Un allèle nul a été identifié au locus EST-2. On parle d'allèle nul lorsque certains gènes de structure ne forment aucun produit révélablé en électrophorèse. Il n'est pas facile de s'assurer de la présence d'un allèle nul uniquement par l'observation des zymogrammes, car la non-révélation d'une enzyme peut être due à sa dénaturation ou à une erreur de manipulation. Quelques méthodes de vérification (croisements, immunoélectrophorèse) sont conseillées par Pasteur *et al.* (1987). Chez *B. globosus*, nous avons vérifié la présence d'un allèle nul au locus EST-2 par une étude de la ségrégation des allèles à ce locus chez un individu de génotype hétérozygote EST-2<sup>0</sup>/80. Les détails de la manipulation sont donnés dans l'Encadré 1.

**Tableau 4.** Nombre et différents allèles identifiés aux locus étudiés chez *B. globosus*

Système enzymatique	Locus	Nombre et dénomination des allèles
GPI	GPI-1	2 (100, 120)
IDH	IDH-1	2 (100, 120)
PGM	PGM-1	3 (70, 80, 90)
	PGM-2	3 (100, 115, 120)
EST	EST-1	2 (100, 105)
	EST-2	3 (0, 80, 100)
HBDH	HBDH-1	4 (60, 80, 100, 110)
NP	NP-1	2 (100, 120)
PEPB	PEPB-1	1 (100)
	PEPB-2	5 (60, 70, 80, 90, 100)
AAT	AAT-1	1 (100)
	AAT-2	1 (100)
MDH	MDH-1	1 (100)
	MDH-2	1 (100)
MPI	MPI-1	1 (100)
6-PGD	6-PGD-1	1 (100)
$\alpha$ -GPDH	$\alpha$ -GPDH-1	1 (100)
ODH	ODH-1	1 (100)

### Encadré 1

#### Présence d'un allèle nul au locus EST-2 chez *B. globosus*.

##### Observations préliminaires:

- au locus EST-1, tous les individus d'Akakronzipris présentent une activité enzymatique révélable par électrophorèse. En revanche, au locus EST-2, certains individus ne présentent aucune activité enzymatique, alors que d'autres présentent le phénotype EST-2<sup>80</sup>.

- des individus d'Akakronzipris (A) sont croisés à ceux de Daikaina (D). Un individu A de génotype EST-2 inconnu, est fécondé par un individu D ayant pour génotype EST-2<sup>100</sup>/100. L'individu A étudié donne des descendants qui ont soit le phénotype EST-2<sup>80</sup>/100, soit le phénotype EST-2<sup>100</sup>.

**Hypothèse:** il existe un allèle nul EST-2<sup>0</sup> chez les individus A. L'individu A étudié serait alors de génotype EST-2<sup>0</sup>/80, et les descendants du croisement précédent, soit de génotype EST-2<sup>80</sup>/100, soit de génotype EST-2<sup>0</sup>/100.

Théoriquement, la descendance de cet individu A par autofécondation devrait être constituée de 1/4 d'individus à phénotypes EST-2<sup>0</sup> et de 3/4 à phénotypes EST-2<sup>80</sup>, si la ségrégation est Mendélienne.

**Expérimentation:** l'individu A étudié, est isolé pendant deux mois, temps supposé nécessaire pour l'épuisement de l'allosperme. 44 descendants de cet individu A par autofécondation sont ensuite analysés par électrophorèse pour le locus EST-2.

##### Résultats:

- 12 descendants ne présentent pas d'activité enzymatique EST-2 (phénotype EST-2<sup>0</sup>),
- 32 descendants ont le phénotype EST-2<sup>80</sup>.

Les effectifs théoriques auraient du être respectivement de 11 et de 33 descendants. Si on les compare aux effectifs observés, la valeur du X<sup>2</sup> pour un degré de liberté est de 0,11 (non significatif).

##### Conclusion:

Il existe bien un allèle nul EST-2<sup>0</sup> chez certains individus d'Akakronzipris.

### 3.2. *B. truncatus*

L'interprétation des zymogrammes chez les tétraploïdes présente des difficultés qui proviennent du fait que ces organismes peuvent présenter deux types de ségrégations chromosomiques, et que dans certains cas, le nombre de locus fonctionnels n'est pas identique chez toutes les espèces et même toutes les populations. Lorsque la ségrégation est tétrasomique, toutes les combinaisons entre allèles présents aux locus diploïdes homologues du tétraploïde peuvent apparaître chez le zygote (Lumaret, 1981). En revanche, lorsque la ségrégation est disomique, les locus diploïdes homologues fonctionnent indépendamment (Allendorf & Thorgaard, 1984). Ce fonctionnement diploïde des locus chez des organismes tétraploïdes a deux conséquences:

(i) lorsque les deux locus diploïdes homologues du tétraploïde sont homozygotes pour des allèles différents, le locus tétraploïde porte en permanence les deux allèles et on parle d'hétérozygotie fixée. Sur le gel d'électrophorèse, on observe dans ce cas plusieurs séries de bandes appartenant au même locus. Dans notre étude, on observe deux, trois ou quatre bandes selon qu'on a respectivement affaire à une enzyme monomère, dimère ou trimère (Planche 2 a),

(ii) lorsque les deux locus homologues portent le même allèle ou lorsqu'un des locus est homozygote alors que l'autre est inactivé (diploisation fonctionnelle; Ohno, 1970), une seule bande est observée en électrophorèse. Cette bande peut être attribuée aussi bien à un qu'à deux locus (Planche 2 b).

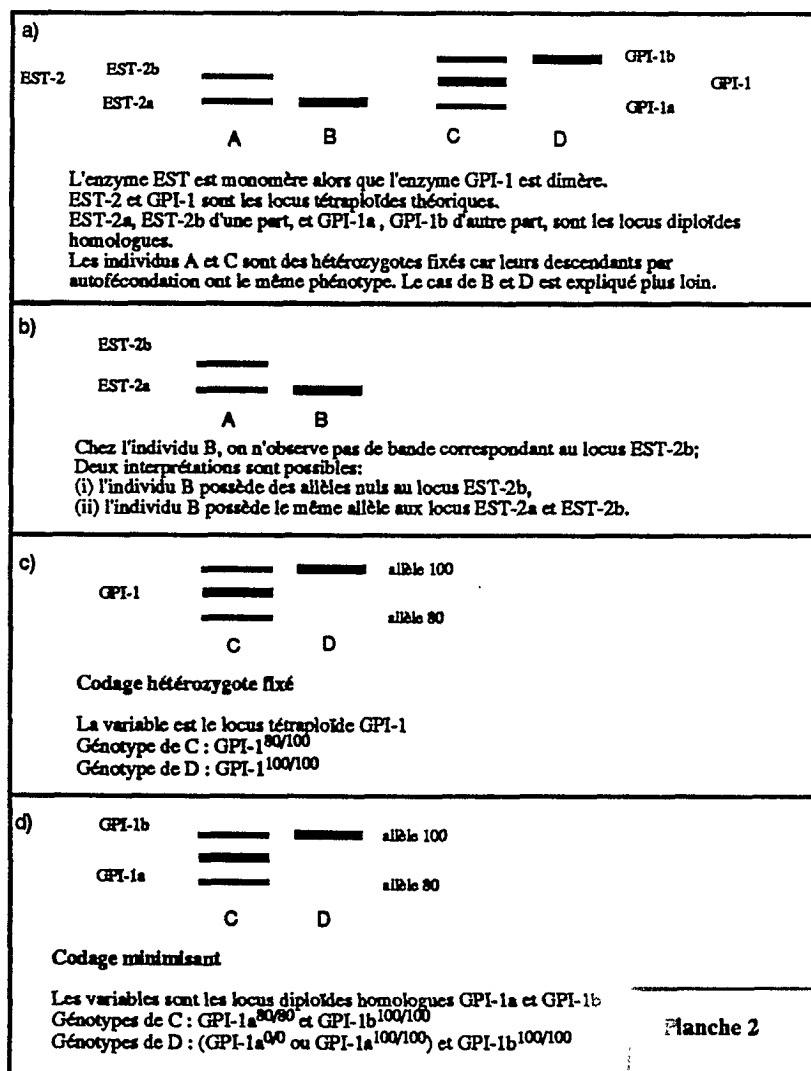
Le problème rencontré est donc d'analyser des individus dont le nombre de locus fonctionnels est différent. Trois méthodes de codage des données sont disponibles pour l'analyse des zymogrammes des organismes tétraploïdes pour des locus à ségrégation disomique:

(i) codage "hétérozygote fixé" (Berrebi, comm. pers.): bien que les deux locus diploïdes homologues fonctionnent indépendamment, la variable considérée est le locus tétraploïde théorique (Planche 2 c). Ce locus est le plus souvent hétérozygote, indiquant la fixation d'allèles différents aux locus diploïdes. Dans ce cas, la fréquence de chacun des deux allèles est forcément de 0,5. En cas de polymorphisme pouvant aller jusqu'à  $n$  allèles, les fréquences sont calculées sur les  $n$  allèles.

(ii) les codages minimisant et maximisant (Berrebi *et al.*, 1990): dans ces cas, on tient compte du fait que la tétraploïdie a multiplié par deux le nombre de variables. La variable considérée est le locus diploïde homologue (Planche 2 d). Cette méthode a l'avantage de donner les vraies valeurs de l'hétérozygotie ( $H$ ), impossible à calculer avec le codage "hétérozygote fixé". Dans le cas où un seul locus est exprimé, il faut supposer que l'autre locus possède des allèles nuls à l'état homozygote. A

un locus donné, ces allèles nuls peuvent témoigner soit d'un même événement dans les différents taxons et sont considérés comme le même allèle, soit de différents événements et sont alors considérés comme des allèles différents. Dans la même espèce, on suppose que les populations ont le même allèle nul; il s'agit du codage minimisant. Entre différentes espèces on considère chaque allèle nul comme allèle différent; c'est le codage maximisant.

Chez *B. truncatus*, espèce tétraploïde, les locus enzymatiques présentent une ségrégation disomique. Les zymogrammes ont été analysés suivant deux types de codage ("hétérozygote fixé" et minimisant). Le nombre de locus analysés pour chaque codage est donné au Tableau 5.



**Tableau 5.** Locus et allèles identifiés chez *B. truncatus*.

Enzyme	Codage "hétérozygote fixé"		Codage minimisant	
	Locus tétraploïde	Combinaisons alléliques fixées	Locus diploïde	Allèles identifiés
EST	EST-1	(100/100)	EST-1a	(100)
	EST-2	(80/90, 80/100)	EST-2a	(80, 90, 100, 110)
	EST-3	(100/110, 110/110)	EST-2b	(90, 100)
PGM	PGM-1	(100/100)	EST-3a	(100, 110)
	PGM-2	(80/100, 80/105, 100/100)	EST-3b	(100, 110)
			PGM-1a	(100)
NP	NP-1	(100/100, 100/110, 100/105)	PGM-2a	(80, 100)
			PGM-2b	(100, 105)
GPI	GPI-1	(80/80, 80/100)	NP-1a	(100)
			NP-1b	(100, 105, 110)
IDH	IDH-1	(80/80, 80/100)	GPI-1a	(80)
			GPI-1b	(80, 100)
AAT	AAT-1	(100/100)	IDH-1a	(100)
	AAT-2	(100/100, 100/110)	IDH-1b	(80, 100)
			AAT-1a	(100)
HBDH	HBDH-1	(80/100)	AAT-2a	(100)
			AAT-2b	(100, 110)
6-PGD	6-PGD-1	(100/100)	HBDH-1a	(80)
α-GPDH	α-GPD-1	(100/100)	HBDH-1b	(100)
MDH	MDH-1	(100/100)	6-PGD-1a	(100)
			a-GPDH-1a	(100)
PEPB	MDH-2	(100/100)	MDH-1a	(100)
	PEPB-1	(100/100)	MDH-2a	(100)
ODH	PEPB-2	(100/100)	PEPB-1a	(100)
	ODH-1	(100/100)	PEPB-2a	(100)
MPI	MPI-1	(100/100)	ODH-1a	(100)
XDH	XDH-1	(100/100)	MPI-1a	(100)
	XDH-2	(100/100)	XDH-1a	(100)
			XDH-2a	(100)

#### 4. Méthodes d'analyse des données électrophorétiques (d'après Hartl, 1980; Pasteur *et al.*, 1987).

##### 4.1. Analyse du polymorphisme à l'intérieur des populations

#### 4.1.1. Fréquences alléliques

Un locus possède un ou plusieurs allèles. La fréquence de chaque allèle est la proportion de cet allèle qui est représentée au locus considéré. Dans le cas de deux allèles codominants, les fréquences alléliques sont calculées de la manière suivante.

Soit un échantillon d'effectif N, les fréquences p de l'allèle A et q de l'allèle B sont:

$$p = \frac{2 AA + AB}{2 N} \quad q = \frac{2 BB + AB}{2 N}$$

(AA, BB et AB, sont respectivement le nombre d'individus homozygotes pour l'allèle A, homozygotes pour l'allèle B et hétérozygotes possédant les deux allèles).

Dans le cas d'un allèle nul (B), la fréquence est:  $q = \sqrt{(BB/N)}$

#### 4.1.2. Etude de la variabilité génétique

Trois indices permettent d'évaluer la variabilité génétique des protéines enzymatiques (Pasteur *et al.*, 1987):

- le taux de polymorphisme P correspond au nombre de locus polymorphes par rapport au nombre de locus étudiés. On considère en général qu'un locus est polymorphe lorsque la fréquence de l'allèle le plus représenté ne dépasse pas 95% (P95%) ou 99% (P99%). Nous avons utilisé le critère P99%.

- la diversité allélique A est le nombre moyen d'allèles par locus,

- la diversité génétique He ou hétérozygotie théorique, représente théoriquement la proportion des génotypes hétérozygotes, et peut être calculée pour un locus i:

si  $p_j$  représente la fréquence de l'allèle j au locus i:

$$H_i = 1 - \sum_j p_j^2$$

Pour l'ensemble des locus étudiés:

$$H_e = \sum H_i / L$$

où L est le nombre total de locus étudiés. Nous avons calculé l'hétérozygotie par comptage direct de la proportion des hétérozygotes. Il s'agit de l'hétérozygotie observée (Ho).

#### 4.1.3. Adéquation à l'équilibre de Hardy-Weinberg

D'après la loi de Hardy-Weinberg, si dans une population, un locus possède deux allèles A et B, en fréquences respectives p et q ( $p = 1-q$ ), les fréquences théoriques des génotypes seront  $p^2$  pour AA,  $q^2$  pour BB et  $2pq$  pour AB. Ce modèle suppose que les populations soient des entités infinies et panmictiques (la fécondation se fait au hasard) et qu'elles ne soient soumises à aucune pression (mutation, sélection, migration). Bien

que ces conditions ne soient jamais réalisées, la distribution des génotypes observée est rarement significativement différente des proportions théoriques de Hardy-Weinberg chez plusieurs groupes d'organismes (Pasteur *et al.*, 1987). En revanche, plusieurs groupes de mollusques marins et d'eau douce présentent régulièrement un déficit en hétérozygotes (Zouros & Foltz, 1984; Gaffney *et al.*, 1990).

Les cas de déficit ou d'excès en hétérozygotes doivent être expliqués. Ils peuvent provenir (i) de problèmes techniques (échantillonnage de plusieurs populations ou espèces (effet Wahlund), erreurs de lecture des zymogrammes), (ii) d'un réel déséquilibre (absence de panmixie, gènes liés au sexe, effets sélectifs).

Chez les organismes hermaphrodites autoféconds, le rôle de l'autofécondation a été très souvent proposé comme explication du déficit en hétérozygotes même si d'autres causes telles que l'effet Wahlund (échantillonnage d'individus appartenant à plusieurs populations) ne peuvent être exclues (Bandoni *et al.*, 1990; Mimpfoundi & Greer, 1990a, b). Une méthode indirecte permettant de vérifier le rôle effectif de l'autofécondation est l'étude de la dépression d'autofécondation (Jarne *et al.*, 1991).

Pour tester l'équilibre de Hardy-Weinberg, on calcule les proportions théoriques des différents génotypes aux locus considérés, puis on les compare aux proportions observées dans l'échantillon. Nous avons utilisé le test de  $X^2$  pour vérifier si les deux proportions étaient significativement différentes. Les conditions d'utilisation du  $X^2$  sont celles de Cochran (1954), exposées dans Sherrer (1984). Nous avons utilisé soit le test exact de Fisher, soit le  $X^2$  avec correction de Yates, soit le G-test (Sokal & Rohlf, 1969) en fonction de la taille de l'échantillon et des fréquences théoriques des génotypes. Les deux premiers tests ont été effectués à l'aide du logiciel BIOSYS (Swofford & Selander, 1981) qui donne la valeur de la probabilité (p). Le G-test a été calculé à la main et nous donnons un intervalle dans lequel p est compris.

#### 4.1.4. Variation temporelle des structures génotypiques.

Pour étudier l'évolution de la structure génétique des populations dans le temps, 2 à 3 échantillons ont été récoltés à des dates différentes (intervalles de 6 mois à 2 ans) dans certaines populations. Nous avons comparé la distribution des allèles présents aux locus polymorphes dans les différents échantillons appartenant à la même population. Pour chaque locus, on calcule le nombre théorique de chaque allèle sous l'hypothèse nulle d'une distribution identique de ces allèles dans les échantillons comparés. Le test de  $X^2$ , ou le G-test lorsque c'est nécessaire, sont utilisés pour tester si les distributions observées s'écartent significativement des distributions théoriques. Cette partie de l'étude a été menée uniquement chez l'espèce *B. globosus*.

## 4.2. Différenciation génétique entre populations

Deux méthodes ont permis l'analyse de la différenciation génétique entre les populations de *B. truncatus* et de *B. globosus*.

### 4.2.1. La distance génétique de Nei (1972, 1978)

Plusieurs indices permettent d'estimer la distance génétique entre populations. L'indice de distance de Nei (1972, 1978) est largement utilisé pour l'analyse des données électrophorétiques, car elle a une signification biologique. L'indice de Nei exprime le nombre moyen de codons différents par gène entre populations. Si  $x_i$  est la fréquence du  $i^{\text{ème}}$  allèle d'une population X,  $y_i$  celle du  $i^{\text{ème}}$  allèle au même locus dans une population Y, la probabilité d'identité de deux allèles pris au hasard l'un dans X et l'autre dans Y est  $P_{XY} = \sum_i x_i y_i$ . De même, les probabilités d'identité de deux allèles pris au hasard à ce locus au sein des populations X et Y sont respectivement  $P_X = \sum_i x_i^2$  et  $P_Y = \sum_i y_i^2$ . L'indice de ressemblance de Nei entre les deux populations est:

$$I = P_{XY} / P_X P_Y$$

La distance (D) de Nei est:

$$D = -\ln I$$

Une classification des populations en fonction de leurs ressemblances génétiques a été proposée. Le dendrogramme a été construit à partir d'une matrice de distance de Nei (1972, 1978), adaptée aux petits échantillons. La méthode d'agglomération des unités taxonomiques (populations) est le groupement selon l'association moyenne (UPGMA) (Sneath & Sokal, 1973). Cette méthode accorde le même poids aux objets agglomérés. Pour que ces agglomérations soient valides, il faut que le taux de divergence évolutive soit relativement homogène entre les unités taxonomiques, car l'hypothèse sous-jacente est celle de l'existence d'une horloge moléculaire (Ashlock, 1972). Les limites de la méthode viennent, d'une part, du fait que les molécules protéiques évoluent à des vitesses différentes dans les espèces, et d'autre part, de l'existence des phénomènes de parallélisme et de convergence (Bonhomme *et al.*, 1984). Le calcul des distances génétiques et la construction du dendrogramme ont été effectués à l'aide du logiciel BIOSYS (Swofford & Selander, 1981).

### 4.2.2. L'analyse factorielle des correspondances

C'est une méthode d'analyse multidimensionnelle mise au point par Benzecri (1973). Cette méthode est particulièrement adaptée aux données qualitatives, et à l'analyse des données électrophorétiques (She *et al.*, 1987; Berrebi, 1988). L'AFC est réalisée à partir d'un tableau croisé

(échantillons x allèles) dans lequel pour chaque allèle, le nombre (0, 1 ou 2) de copies porté par chaque individu est figuré. L'AFC prend en compte l'information fournie par l'ensemble des variables et projette l'ensemble des points variables et individus dans un espace formé par les axes les plus discriminants. L'intersection de ces axes se trouve au centre de gravité du nuage de points. La distance entre les points est la distance distributionnelle du  $X^2$ . On peut ainsi caractériser chaque échantillon par l'ensemble des variables et connaître en même temps la contribution de chaque variable à l'établissement des axes factoriels. L'AFC a été réalisée à l'aide du logiciel BIOMECA développé par l'équipe de Biométrie du CEPE (CNRS, Montpellier). Les variables (allèles) d'effectifs très élevés ou très faibles entraînent une distorsion des axes factoriels. Dans ce cas, on préconise de retirer de tels allèles de l'analyse (Berrebi, 1988). Les échantillons d'effectif très élevé nuisent à une bonne représentation des autres échantillons de faible taille. Pour limiter ce dernier effet, nous avons tiré au hasard une trentaine d'individus dans les échantillons d'effectifs très élevés pour l'analyse.

L'analyse de la différenciation se fait en comparant la distance entre les enveloppes séparant les différentes populations. L'avantage de l'AFC par rapport aux autres méthodes d'analyse de la différenciation est la non-compression de l'information (observation à la fois de la variabilité intra et interpopulationnelle).

#### 4.3. Relation entre allozymes et types de milieux

Les relations entre allozymes et milieux ont été étudiées par la méthode d'analyse factorielle des correspondances. Les AFC sont identiques à celles qui ont été décrites au paragraphe précédent. Dans le premier plan factoriel, on inclut dans une enveloppe les populations appartenant au même type de milieu et on compare la position des surfaces correspondant aux différents types de milieux. Deux groupes de milieux ont été identifiés:

- les systèmes bioclimatiques: les populations sont regroupées suivant (i) leur appartenance aux systèmes bioclimatiques classiques (forêt, zone préforestière, savane guinéo-soudanienne, savane sahélienne et zone saharienne) et (ii) en fonction de la pluviométrie (nombre de millimètres de pluie reçus par an, valeur corrélée dans notre étude, au nombre de jours de pluie par an). Ce dernier regroupement est effectué en quatre classes: de 1600 à 1200 mm, de 1200 à 900 mm, de 900 à 400 mm et de 400 à 100 mm de pluie par an.

- les types de collection d'eau: on a reconnu cinq types: les canaux d'irrigation, les barrages et étangs permanents, les rivières et ruisseaux, les mares temporaires et les guelta (mares permanentes). Les populations

correspondant à chacun des groupes ci-dessus sont indiquées dans l'Annexe 8.

### CHAPITRE III

## ANALYSE DU POLYMORPHISME ENZYMATIQUE A L'INTERIEUR DES POPULATIONS

### 1. Résultats

#### 1.1. *Bulinus globosus*

9 locus sont polymorphes: EST-1, EST-2, PGI-1, IDH-1, PGM-1, PGM-2, PEPB-2, HBDH-1 et NP-1. Quelques illustrations de ces résultats sont présentées à l'Annexe 4.

##### 1.1.1 Fréquences alléliques

Les fréquences alléliques aux locus polymorphes (Tableau 6) présentent les caractéristiques suivantes:

- il y a généralement un allèle fortement représenté à chaque locus, sa fréquence étant de 1 ou très proche de 1,
- plusieurs allèles généralement de faible fréquence appartiennent uniquement à une, deux ou trois populations. Ainsi PGM-1<sup>90</sup> et PEPB-2<sup>90</sup> ne sont rencontrées qu'à Elevi, PEPB-2<sup>70</sup> qu'à Daikaina, NP-1<sup>120</sup> qu'à Odienne nord, PGM-2<sup>120</sup> qu'à Akaronzipris et Odienne nord, HBDH-1<sup>110</sup> qu'à Tiémé et Odienne sud, EST-1<sup>105</sup> qu'à Daikaina, Libore 8 et Manikro,
- certains allèles sont toujours très faiblement représentés, par exemple EST-1<sup>105</sup>, dont la fréquence varie de 0 à 0,2 au Niger, et de 0 à 0,08 en Côte d'Ivoire.

##### 1.1.2. Description de la variabilité génétique.

Les valeurs des indices A, P et Ho dans les populations sont données au tableau 7. L'ensemble de ces paramètres montre que la variabilité génétique est faible dans les populations de *B. globosus*. Le nombre d'allèles par locus (A) varie de de 1,0 à 1,3 dans les populations. Cela correspond généralement à un allèle par locus, 2 ou 3 dans peu de cas, 4 et

5 respectivement dans un seul cas. La présence de trois allèles à un locus dans la même population, n'a été observée que deux fois. Le taux de polymorphisme ( $P_{99\%}$ ) est faible, allant de 0% pour la population de Fronan à 22% (4 locus polymorphes sur 18) pour la population de Daikaina. L'hétérozygotie qui varie de 0,000 à 0,072 est faible. La moyenne pour l'ensemble des 23 échantillons est de 0,034, avec une moyenne de 0,028 en Côte d'Ivoire et 0,047 au Niger.

#### 1.1.3. Adéquation à l'équilibre de Hardy-Weinberg.

38 tests de  $X^2$  pour les locus polymorphes ont été réalisés (Tableau 8). 4 tests sont significatifs, 3 correspondant à un déficit en hétérozygotes et 1 à un excès en hétérozygotes. Les autres tests (89,4% des cas) indiquent que les fréquences génotypiques observées dans les populations de *B. globosus* ne diffèrent pas significativement des prédictions théoriques de l'équilibre de Hardy-Weinberg. Le déficit en hétérozygote observé au locus GPI-1 dans un échantillon de la population de Daikaina est absent dans les deux autres échantillons. Il en est de même de l'excès d'hétérozygotes observé au locus IDH-1 dans l'un des échantillons de la population de Liboré 8. En revanche, on remarque une persistance du déficit en hétérozygotes au locus PEPB-2 à Elevi.

#### 1.1.4 Variation temporelle des structures génotypiques

Dans 37% des cas (6 tests sur 16), la composition de certains allèles diffère significativement entre les échantillons comparés (Tableau 9). Il s'agit des distributions alléliques aux locus EST-2 et PGM-2 à Odienne Nord, au locus PEPB-2 à Elevi et à Liboré 9, au locus EST-1 à Daikaina et à Liboré 8. Notons que dans la même population, on peut observer des différences de fréquence allélique à un locus, et pas à d'autres. C'est le cas de la population de Liboré 9, pour laquelle les fréquences alléliques diffèrent au locus PEPB-2 alors qu'elles sont conservées au locus GPI-1. Au locus EST-1, la composition allélique est significativement différente entre les trois échantillons a, b et c de Liboré 8; mais si on les compare deux à deux, a et c diffèrent significativement alors que a et b, ou b et c, peuvent être considérés comme identiques. Au même locus à Daikaina, la distribution des types alléliques n'est homogène ni entre les trois échantillons a, b, c, ni entre a et b d'une part, et a et c d'autre part. Elle peut être considérée comme homogène entre b et c.

**Tableau 6.** Fréquences alléliques chez *B. globosus*. Aka = Akakronzipris, ELV = Elevi, SAK = Sakiaré, MAK = Manikro, TIE = Tiémé, ODN = Odienne nord, ODS = Odienne sud, FRO = Fronan, DAI = Daikaina, LI8 = Liboré 8, LI9 = Liboré 9.

Locus	EST-1		EST-2			NP-1		HBDH-1				GPI-1	
	100	105	0	80	100	100	120	60	80	100	110	100	120
<b>Echantillons</b>													
AKA a	1,000	0,000	0,425	0,575	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
AKA b	1,000	0,000	0,560	0,440	0,000	1,000	0,000	0,000	0,020	0,980	0,000	1,000	0,000
AKA c	1,000	0,000	0,528	0,472	0,000	1,000	0,000	0,000	0,028	0,972	0,000	1,000	0,000
ELV a	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000
ELV b	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000
SAK	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,297	0,703	0,000	1,000	0,000
MAK a	0,923	0,077	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,154	0,000	0,846	0,000	1,000	0,000
MAK b	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,200	0,000	0,800	0,000	1,000	0,000
MAN	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,300	0,000	0,700	0,000	1,000	0,000
TIE	1,000	0,000	0,524	0,476	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,929	0,071	1,000	0,000
ODN a	1,000	0,000	0,795	0,205	0,000	0,864	0,136	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000
ODN b	1,000	0,000	0,966	0,034	0,000	0,879	0,121	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000
ODS	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,983	0,017	1,000	0,000
FRO	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000
KAN	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,200	0,240	0,560	0,000	1,000	0,000
DAI a	0,792	0,208	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,375	0,625
DAI b	0,952	0,048	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,387	0,613
DAI c	0,921	0,079	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,408	0,592
LI8 a	0,974	0,026	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000
LI8 b	0,927	0,073	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000
LI8 c	0,890	0,110	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000
LI9 a	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,200	0,800
LI9 b	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,200	0,800

Tableau 6 (suite). Fréquences alléliques chez *B. globosus*.

Locus	IDH-1		PGM-1			PGM-2			PEPB-2				
	100	120	70	80	90	100	115	120	60	70	80	90	100
<b>Echantillons</b>													
AKA a	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,525	0,000	0,475	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
AKA b	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,640	0,000	0,360	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
AKA c	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,667	0,000	0,333	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
ELV a	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,717	0,283	0,000
ELV b	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,393	0,607	0,000
SAK	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
MAK a	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
MAK b	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
MAN	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,700	0,300	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
TIE	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
ODN a	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
ODN b	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,759	0,000	0,241	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
ODS	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
FRO	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
KAN	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
DAI a	0,250	0,750	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,083	0,729	0,000	0,188
DAI b	0,274	0,726	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,032	0,645	0,000	0,323
DAI c	0,197	0,803	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,013	0,684	0,000	0,303
LI8 a	0,653	0,347	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
LI8 b	0,677	0,323	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
LI8 c	0,610	0,390	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
LI9 a	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,580	0,000	0,000	0,000	0,420
LI9 b	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,750	0,000	0,000	0,000	0,250

**Tableau 7.** Description de la variabilité génétique chez *B. globosus* (voir Tableau 6 pour légende).

<b>Echantillons</b>	<b>Effectif</b>	<b>Diversité allélique</b>	<b>Taux de polymorphisme</b>	<b>Hétérozygotie moyenne (Ho)</b>
AKA a	20	1,1	11,1	0,044
AKA b	25	1,2	16,3	0,051
AKA c	18	1,2	11,1	0,049
ELV a	23	1,1	5,6	0,010
ELV b	28	1,1	5,6	0,018
SAK	32	1,1	5,6	0,019
MAK a	13	1,1	11,1	0,017
MAK b	30	1,1	5,6	0,019
MAN	5	1,2	11,1	0,052
TIE	21	1,1	11,1	0,034
ODN a	22	1,1	11,1	0,028
ODN b	29	1,2	11,1	0,036
ODS	29	1,1	5,6	0,002
FRO	12	1,0	0,0	0,000
KAN	25	1,1	5,6	0,036
DAI a	24	1,3	22,2	0,063
DAI b	31	1,3	22,2	0,072
DAI c	38	1,3	22,2	0,067
LI8 a	98	1,1	11,1	0,035
LI8 b	48	1,1	11,1	0,027
LI8 c	50	1,1	11,1	0,033
LI9 a	50	1,1	11,1	0,042
LI9 b	50	1,1	11,1	0,037
<b>MOYENNE</b>	<b>31</b>	<b>1,1</b>	<b>10,8</b>	<b>0,034</b>

**Tableau 8.** Test d'adéquation à l'équilibre de Hardy-Weinberg aux locus polymorphes dans les populations de *B. globosus*. Les valeurs du  $X^2$  sont données avec la probabilité de significativité (p) ; + et - signifient respectivement excès et déficit en hétérozygotes; Ech. = échantillons (voir Tableau 6 pour légende).

Ech.	Locus	$X^2$	p	Ech.	Locus	$X^2$	p
AKA a	PGM-2	2,1	0,147	DAI a	GPI-1	0,42	0,515
					IDH-1	0,20	0,655
					PEPB-2	1,34	0,224
AKA b	PGM-2	0,58	> 0,25		EST-1	1,70	0,190
	HBDH1	0,00	1,000	DAI b	GPI-1	7,01	< 0,01 -
					IDH-1	0,04	> 0,5
AKA c	PGM-2	1,37	> 0,1		PEPB-2	1,14	0,766
	HBDH1	0,00	1,000		EST-1	0,05	0,819
ELV a	PEPB-2	11,02	< 0,001-	DAI c	GPI-1	1,46	0,226
					IDH-1	0,18	> 0,10
ELV b	PEPB2	4,96	< 0,025-		PEPB-2	4,32	0,228
					EST-1	0,23	0,632
SAK	HBDH1	1,20	0,273	LI8 a	IDH-1	6,43	0,011 +
					EST-1	0,05	0,817
MAK a	EST-1	0,04	0,835	LI8 b	IDH-1	0,52	> 0,250
	HBDH1	2,17	> 0,1		EST-1	2,58	> 0,1
MAK b	HBDH1	0,02	0,890	LI8 c	IDH-1	0,81	0,367
TIE	HBDH1	0,08	0,776		EST-1	0,04	0,507
ODN a	NP-1	1,17	> 0,25	LI9 a	GPI-1	0,67	0,411
					PEPB-2	1,79	0,189
ODN b	PGM-2	0,37	0,540	LI9 b	GPI-1	0,00	1,000
	NP-1	1,35	0,244		PEPB-2	0,54	0,461
KAN	HBDH1	0,45	0,930				

**Tableau 9.** Test de comparaison de la distribution des allèles dans les différents échantillons appartenant à la même population (voir Tableau 6 pour légende).

Echantillons	allèles					
	EST-2 <sup>0</sup>	EST-2 <sup>80</sup>	PGM-2 <sup>100</sup>	PGM-2 <sup>120</sup>	NP-1 <sup>100</sup>	NP-1 <sup>120</sup>
AKA a	17	23	21	19		
AKA b	28	22	32	18		
AKA c	19	17	24	12		
	$X^2 = 1,70$ $p = 0,420$		$X^2 = 1,89$ $p = 0,388$			
ODN a	35	9	44	0	38	6
ODN b	56	2	44	14	51	7
	$G = 7,82$ $p < 0,01$		$X^2 = 12,31$ $p < 0,001$		$X^2 = 0,06$ $p = 0,810$	

Echantillons	allèles			
	HBDH-1 <sup>60</sup>	HBDH-1 <sup>100</sup>	PEPB-2 <sup>80</sup>	PEPB-2 <sup>90</sup>
ELV a			33	13
ELV b			22	34
			$X^2 = 10,71$ $p = 0,001$	
MAK a	4	22		
MAK b	12	48		
	$X^2 = 0,04$ $p = 0,800$			

**Tableau 9 (suite).** Test de comparaison de la distribution des allèles dans les différents échantillons de la même population.

Echantillons	Allèles					
	EST-1 <sup>100</sup>	EST-1 <sup>105</sup>	GPI-1 <sup>100</sup>	GPI-1 <sup>120</sup>	IDH-1 <sup>100</sup>	IDH-1 <sup>120</sup>
MAk a	24	2				
MAk b	60	0				
	$X^2 = 1,95$ $p = 0,16$					
DAI a	38	10	18	30	12	36
DAI b	59	3	24	38	17	45
DAI c	70	6	31	45	15	61
	$X^2 = 8,30$ $p = 0,015$		$X^2 = 0,14$ $p = 0,93$		$X^2 = 1,18$ $p = 0,55$	
LI8 a	191	5			128	68
LI8 b	90	6			65	31
LI8 c	89	11			61	39
	$X^2 = 9,02$ $p = 0,010$				$X^2 = 1,01$ $p = 0,603$	
LI9 a			20	80		
LI9 b			20	80		
			$X^2 = 0,00$ $p = 1,000$			

**Tableau 9 (suite).** Test de comparaison de la distribution des allèles dans les différents échantillons de la même population.

Echantillons	allèles			
	PEPB-2 <sup>60</sup>	PEPB-2 <sup>100</sup>	PEPB-2 <sup>70</sup>	PEPB-2 <sup>80</sup>
LI9 a	42	58		
LI9 b	25	75		
$\chi^2 = 6$ $p = 0,010$				
-----				
DAI a		9	4	35
DAI b		20	2	40
DAI c		23	1	52
$G = 6,28$ $p > 0,100$				

## 1.2. *B. truncatus*

Rappelons que chez cette espèce tétraploïde, les données ont été traitées suivant deux méthodes (cf. Chapitre II).

### 1.2.1. Fréquences alléliques et variabilité génétique d'après le codage minimisant (voir Planche 2)

Ce type de codage permet d'identifier 29 locus diploïdes dont 10 sont polymorphes (EST-3a, EST-3b, EST-2a, EST-2b, PGM-2a, PGM-2b, NP-1b, GPI-1b, IDH-1b, et AAT-2b). Les fréquences alléliques (Tableau 10) présentent quelques particularités:

- comme chez *B. globosus*, les locus ont généralement un allèle majeur qui est soit fixé, soit en fréquence très élevée,
- on note la présence de nombreux allèles privés (présents seulement dans une ou deux populations),
- contrairement à ce qui est observé chez *B. globosus*, les allèles privés peuvent avoir des fréquences très élevées ou même être fixés dans les populations où on les trouve; c'est le cas de NP-1b<sup>105</sup> et de EST-3a<sup>110</sup> à Daikaina, de GPI-1b<sup>80</sup> à Bangario, de EST-3b<sup>110</sup> à Tienko, de IDH-1b<sup>80</sup> et de AAT-2b<sup>110</sup> à Yamoussoukro.

L'ensemble des paramètres calculés (Tableau 11) montre une absence ou une très faible variabilité des allozymes dans les populations de *B. truncatus* étudiées:

- 13 populations sur 18 ne possèdent aucun locus polymorphe. Dans les populations qui en présentent, le taux de polymorphisme est très faible, variant de 3,4 à 10,3, soit 1 à 3 locus polymorphes sur 29. Par exemple, l'essentiel du polymorphisme enzymatique dans les populations de Côte d'Ivoire est représenté par les variations de la fréquence de l'allèle NP-1<sup>110</sup>,
- la diversité allélique est très faible, le nombre moyen d'allèles par locus étant toujours voisin de 1 (1,0 à 1,1),
- l'hétérozygotie ( $H_o$ ) est nulle à tous les locus. En effet, aucun génotype hétérozygote vrai (génotype pouvant produire par autofécondation les deux homozygotes respectifs) n'a été observé aux locus possédant plus d'un allèle dans la même population. En conséquence, un fort déficit en hétérozygotes est obtenu à tous les locus polymorphes.

**Tableau 10.** Fréquences alléliques dans les populations de *B. truncatus* d'après le codage minimisant. SOD = Sodepra, NPK = Nguessan Pokoukro, OUN = Ounantiékaha, FER = Ferkessédougou, NAT = Natio, TAB = Tabako, DIA = Diabo, MOP = Mopé, TIK = Tienko, YAM = Yamoussoukro, SAM = Samatiguila, DAI = Daikaina, ELM = El-Méki, BAN = Bangario, LI9 = Liboré 9, EGY = Egypte.

Locus	EST-3b		EST-3a			EST-2b		EST-2a			PGM-2b	
	100	110	100	110	90	100	80	90	100	110	100	105
<b>Echantillons</b>												
SOD a	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
SOD b	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
NPK a	0,880	0,120	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
NPK b	0,875	0,125	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
OUN a	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
OUN b	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
OUN c	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
FER a	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
FER b	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
NAT a	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
NAT b	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
TAB a	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
TAB b	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
DIA	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
MOP	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,833	0,167	0,000	0,000	0,000	1,000
TIK	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000
YAM	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
SAM	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000
DAI	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000
ELM	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
BAN	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000
TEM	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000
TIM	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,611	0,000	0,389	0,000	0,000	1,000
LI9	0,000	1,000	1,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000
EGY	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000

**Tableau 10 (suite).** Fréquences alléliques dans les populations de *B. truncatus* d'après le codage minimisant.

Locus	PGM-2a		NP-1b			GPI-1b		IDH-1b		AAT-2b	
	80	100	100	105	110	80	100	80	100	100	110
<b>Echantillons</b>											
<b>SOD a</b>	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>SOD b</b>	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>NPK a</b>	0,000	1,000	0,680	0,000	0,320	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>NPK b</b>	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>OUN a</b>	0,000	1,000	0,733	0,000	0,267	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>OUN b</b>	0,000	1,000	0,625	0,000	0,375	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>OUN c</b>	0,000	1,000	0,375	0,000	0,625	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>FER a</b>	0,000	1,000	0,538	0,000	0,462	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>FER b</b>	0,000	1,000	0,067	0,000	0,933	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>NAT a</b>	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>NAT b</b>	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>TAB a</b>	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>TAB b</b>	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>DIA</b>	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>MOPE</b>	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>TIK</b>	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>YAM</b>	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000
<b>SAM</b>	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>DAI</b>	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>ELM</b>	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>BAN</b>	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>TEM</b>	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>TIM</b>	0,611	0,389	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>LI9</b>	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000
<b>EGY</b>	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000

**Tableau 11.** Description de la variabilité génétique chez *B. truncatus* d'après le codage minimisant. L'hétérozygotie moyenne ( $H_o$ ) est égale à 0,000 dans tous les échantillons.

Echantillon	Effectif	Diversité allélique	Taux de polymorphisme
SOD a	29	1,0	0,0
SOD b	20	1,0	0,0
NPK a	25	1,1	7,1
NPK b	16	1,0	3,6
OUN a	30	1,0	3,6
OUN b	8	1,0	3,6
OUN c	16	1,0	3,6
FER a	13	1,0	3,6
FER b	30	1,0	3,6
NAT a	10	1,0	0,0
NAT b	30	1,0	0,0
TAB a	9	1,0	0,0
TAB b	25	1,0	0,0
DIA	8	1,0	0,0
MOPE	6	1,0	3,6
TIK	20	1,0	0,0
YAM	30	1,0	0,0
SAM	15	1,0	0,0
DAI	28	1,0	0,0
ELM	22	1,0	0,0
BAN	37	1,0	0,0
TEM	9	1,0	0,0
TIM	18	1,1	10,0
LI9	24	1,0	0,0
EGY	20	1,0	0,0
<b>MOYENNE</b>	<b>20</b>	<b>1,0</b>	<b>1,7</b>

1.2.2. Fréquences alléliques et variabilité génétique d'après le codage "hétérozygote fixé"

Ce codage permet de considérer 21 locus tétraploïdes théoriques dont 8 sont polymorphes (EST-3, EST-2, IDH-1, AAT-2, PGM-2, NP-1, GPI-1 et HBDH-1). Quelques exemples de zymogrammes révélés chez *B. truncatus* sont fournis à l'Annexe 4. L'"hétérozygote fixé" au locus NP-1 est constitué par trois bandes, alors que quatre bandes sont attendues dans le cas d'une enzyme trimère. Ce résultat suggère que NP, pourtant trimère chez *B. globosus*, serait dimère chez *B. truncatus*.

Les fréquences alléliques aux locus polymorphes sont données au Tableau 12. Plusieurs valeurs sont voisines de 0,5 puisque l'essentiel du polymorphisme est constitué par les couples d'allèles fixés aux locus tétraploïdes. Des valeurs de fréquences alléliques de 0 ou 1 sont observées aux locus présentant suivant les populations, soit des phénotypes hétérozygotes fixés, soit uniquement des phénotypes homozygotes; c'est le cas des locus AAT-2, GPI-1 et PGM-2. Des valeurs plus variables de fréquences alléliques sont observées au locus NP-1 qui possède suivant les populations, soit uniquement des phénotypes hétérozygotes fixés, soit des phénotypes homozygotes pour l'allèle NP-1<sup>100</sup>, soit enfin les deux phénotypes.

Pour ce type de codage de l'information, les paramètres calculés (Tableau 13) montrent une variabilité génétique nettement supérieure à ce qui est observée dans le cas du codage minimisant et même chez *B. globosus*. Rappelons que l'essentiel de la variabilité dans ce cas est constitué par les couples d'allèles fixés aux locus homologues. Le taux de polymorphisme varie de 20 à 25%, et l'hétérozygotie moyenne dans les populations de 0,172 à 0,247. Ces valeurs sont élevées. La diversité allélique est aussi relativement élevée (moyenne de 1,2 à 1,3 allèles par locus).

Lorsque l'adéquation à l'équilibre de Hardy-Weinberg est testée aux locus polymorphes, on observe en général une déviation significative des fréquences génotypiques (102 tests significatifs sur 122 réalisés). En effet, le codage "hétérozygote fixé" génère aux locus un fort excès d'hétérozygotes.

Toujours en considérant comme variable le locus tétraploïde théorique, si on choisit plutôt d'analyser dans les populations la variabilité des couples d'allèles fixés à ces locus, on obtient un niveau de polymorphisme aussi faible que celui décrit dans le cas du codage minimisant. Par exemple, le locus HBDH-1 supposé hétérozygote 80/100 dans toutes les populations est considéré comme monomorphe pour la combinaison allélique 80/100. Le codage minimisant apparaît donc exprimer de façon plus précise l'état réel de la variabilité génétique dans les populations de *B. truncatus* que le codage "hétérozygote fixé". Cependant, le codage "hétérozygote fixé" permet d'apprécier le degré d'hétérozygotie stockée aux locus tétraploïdes.

**Tableau 12.** Fréquences alléliques dans les populations de *B. truncatus* d'après le codage "hétérozygote fixé" (voir Tableau 10 pour la légende).

Locus	EST-3		EST-2				IDH-1		AAT-2	
	100	110	80	90	100	110	80	100	100	110
<b>Echantillons</b>										
<b>SOD a</b>	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>SOD b</b>	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>NPK a</b>	0,940	0,060	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>NPK b</b>	0,937	0,063	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>OUN a</b>	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>OUN b</b>	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>OUN c</b>	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>FER a</b>	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>FER b</b>	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>NAT a</b>	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>NAT b</b>	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>TAB a</b>	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>TAB b</b>	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>DIA</b>	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>MOP</b>	0,500	0,500	0,417	0,083	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>TIK</b>	0,500	0,500	0,000	0,000	0,500	0,500	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>YAM</b>	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	0,000	1,000	0,000	0,500	0,500
<b>SAM</b>	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>DAI</b>	0,000	1,000	0,000	0,500	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>ELM</b>	0,500	0,500	0,500	0,000	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>BAN</b>	0,500	0,500	0,500	0,000	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>TEM</b>	0,500	0,500	0,500	0,000	0,500	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>TIM</b>	0,500	0,500	0,306	0,000	0,694	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>LI9</b>	0,500	0,500	0,500	0,500	0,000	0,000	0,500	0,500	1,000	0,000
<b>EGY</b>	0,500	0,500	0,000	0,000	0,500	0,500	0,500	0,500	1,000	0,000

**Tableau 12 (suite).** Fréquences alléliques dans les populations de *B. truncatus* d'après le codage "hétérozygote fixé".

Locus	PGM-2			NP-1			GPI-1		HBDH-1	
	80	100	105	100	105	110	80	100	100	110
<b>Echantillons</b>										
SOD a	0,000	1,000	0,000	0,500	0,000	0,500	0,000	1,000	0,500	0,500
SOD b	0,000	1,000	0,000	0,500	0,000	0,500	0,000	1,000	0,500	0,500
NPK a	0,000	1,000	0,000	0,500	0,000	0,500	0,000	1,000	0,500	0,500
NPK b	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,500	0,500
OUN a	0,000	1,000	0,000	0,867	0,000	0,133	0,000	1,000	0,500	0,500
OUN b	0,000	1,000	0,000	0,813	0,000	0,187	0,000	1,000	0,500	0,500
OUN c	0,000	1,000	0,000	0,688	0,000	0,313	0,000	1,000	0,500	0,500
FER a	0,000	1,000	0,000	0,769	0,000	0,231	0,000	1,000	0,500	0,500
FER b	0,000	1,000	0,000	0,533	0,000	0,467	0,000	1,000	0,500	0,500
NAT a	0,000	1,000	0,000	0,500	0,000	0,500	0,000	1,000	0,500	0,500
NAT b	0,000	1,000	0,000	0,500	0,000	0,500	0,000	1,000	0,500	0,500
TAB a	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,500	0,500
TAB b	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,500	0,500
DIA	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,500	0,500
MOPE	0,500	0,000	0,500	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,500	0,500
TIK	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,500	0,500
YAM	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,500	0,500
SAM	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,500	0,500
DAI	0,000	1,000	0,000	0,500	0,500	0,000	0,000	1,000	0,500	0,500
ELM	0,500	0,000	0,500	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,500	0,500
BAN	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,500	0,500	0,500	0,500
TEM	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,500	0,500
TIM	0,306	0,389	0,306	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,500	0,500
LI9	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,500	0,500
EGY	0,500	0,500	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,500	0,500

**Tableau 13.** Description de la variabilité génétique chez *B. truncatus* d'après le codage "hétérozygote fixé" (voir Tableau 10 pour la légende).

Echantillons	Effectif	Diversité allélique	Taux de polymorphisme	Hétérozygotie moyenne ( $H_o$ )
SOD a	29	1,3	25,0	0,250
SOD b	20	1,3	25,0	0,250
NPK a	25	1,3	25,0	0,172
NPK b	16	1,2	20,0	0,156
OUN a	30	1,3	25,0	0,213
OUN b	8	1,3	25,0	0,219
OUN c	16	1,3	25,0	0,231
FER a	13	1,3	25,0	0,223
FER b	30	1,3	25,0	0,247
NAT a	10	1,3	25,0	0,250
NAT b	30	1,3	25,0	0,250
TAB a	9	1,3	25,0	0,211
TAB b	25	1,2	20,0	0,200
DIA	8	1,2	20,0	0,200
MOPE	6	1,3	25,0	0,250
TIK	20	1,2	20,0	0,200
YAM	30	1,2	20,0	0,200
SAM	15	1,2	20,0	0,200
DAI	28	1,2	20,0	0,200
ELM	22	1,3	25,0	0,250
BAN	37	1,3	25,0	0,250
TEM	9	1,2	20,0	0,200
TIM	18	1,3	25,0	0,211
LI9	24	1,2	20,0	0,200
EGY	20	1,3	25,0	0,250
MOYENNE	20	1,3	23,2	0,219

## 2. Discussion et conclusion

Le polymorphisme enzymatique chez *B. truncatus* et *B. globosus* montre les caractéristiques suivantes:

- de nombreux allèles privés sont présents dans les populations. Ce résultat pose le problème de l'importance du flux de gènes entre populations, il sera examiné au prochain chapitre,
- le niveau de variabilité génétique est faible chez *B. globosus* à très faible ou nul chez *B. truncatus*,
- l'adéquation aux fréquences génotypiques attendues sous les conditions de l'équilibre de Hardy-Weinberg est généralement vérifiée dans les populations de *B. globosus*, alors que dans les populations de *B. truncatus*, on n'observe pas d'hétérozygotes aux locus possédant plusieurs allèles.

Le Tableau 14 présente une étude comparative du degré de variabilité génétique pour les deux espèces étudiées, ainsi que chez d'autres espèces de bulins et de gastéropodes d'eau douce. Dans les populations de *B. globosus*, le polymorphisme observé est faible aussi bien par le nombre de locus polymorphes que par le nombre d'allèles par locus. Ce degré de polymorphisme est cependant légèrement supérieur à celui décrit par Jelnes (1986). Dans cette étude qui porte sur 23 populations du bassin du Niger, seulement 4 locus sur huit étudiés sont polymorphes dans huit populations. Un maximum de deux allèles est observé par locus, l'hétérozygotie moyenne étant d'environ 0,019. Wright & Rollinson (1979) observent un niveau de variabilité beaucoup plus faible, très probablement parce que les échantillons de bulins étudiés étaient en majorité des souches d'élevage. Si on compare le degré de variabilité génétique observé chez *B. globosus* à celui des autres espèces de bulins diploïdes, on peut distinguer trois cas:

- (i) les espèces de niveau de variabilité comparable: exemple *B. umbilicatus* (Tableau 14),
- (ii) les espèces de niveau de variabilité plus faible: c'est le cas de *B. forskalii* et de *B. senegalensis* étudié par Jelnes (1986) et Mimpfoundi & Greer (1989, 1990a),
- (iii) les espèces de niveau de variabilité génétique plus élevée: c'est le cas de *B. cernicus* de l'île Maurice étudié par Rollinson & Wright (1984) et Rollinson *et al.* (1990). Chez cette espèce, la diversité allélique est particulièrement élevée avec 6, 5 et 4 allèles observés aux locus GPI, HBDH et ACP respectivement.

La comparaison peut être étendue aux autres Planorbidae tels que les *Biomphalaria*. *Biomphalaria camerounensis* (Mimpfoundi & Greer, 1990c) et *Biomphalaria glabrata* (Mulvey *et al.*, 1982, 1988) ont un niveau de variabilité génétique légèrement inférieur à celui de *B. globosus*, alors que *Biomphalaria pfeifferi* (Bandoni *et al.* 1990; Mimpfoundi & Greer, 1990b) est nettement moins polymorphe. On peut noter enfin que le degré de variabilité génétique observée chez *B. globosus* est environ cinq à huit fois inférieur à ce qui est observé chez d'autres Basommatophores tels que *Lymnaea elodes* et *Lymnaea peregra* respectivement (Tableau 14). En revanche, les gastéropodes terrestres *Rumina decollata* (Selander &

Kaufman, 1973) et *Achatina fulica* (Selander & Ochman, 1983) sont beaucoup moins polymorphes que *B. globosus*.

Dans les populations de *B. truncatus*, les électromorphes se caractérisent par la présence de phénotypes "hétérozygotes fixés". Rappelons que ces types de phénotypes traduisent un fonctionnement diploïde des locus chez cette espèce chromosomiquement tétraploïde. Dans les populations étudiées, on observe à un locus donné soit uniquement des phénotypes "hétérozygotes fixés", soit uniquement des phénotypes homozygotes simple bande, soit enfin dans peu de cas, un phénotype "hétérozygote fixé" et un seul phénotype homozygote correspondant, l'autre homozygote étant absent. Les cas de polymorphisme signalés dans les populations étudiées sont représentés par la présence des deux phénotypes à un même locus. Chez d'autres organismes polyploïdes présentant une ségrégation disomique des locus, on peut observer à la fois des hétérozygotes fixés dus au type de ségrégation, et des hétérozygotes vrais (avec tous les deux homozygotes respectifs) traduisant le polymorphisme des locus diploïdes fonctionnels. Un exemple est donné chez *Bulinus permembranaceus* (Jelnes, 1977) ou chez la plante hexaploïde *Festuca microstachys* (Adams & Allard, 1977). La situation observée chez *B. truncatus* signifie que tous les locus diploïdes fonctionnels sont homozygotes dans les populations étudiées. En effet, ce résultat est retrouvé lorsqu'on utilise le codage minimisant qui considère comme variables ces locus diploïdes fonctionnels (cf. Tableau 11). Le polymorphisme révélé est alors très faible, l'hétérozygotie étant nulle. L'ensemble de ces résultats corroborent ceux de Jelnes (1986) et Mimpfoundi & Greer (1990d) chez la même espèce. Ce niveau de variabilité très faible est observé chez d'autres bulins tétraploïdes tels que *B. guernei* et *B. rohlfsi* (Jelnes, 1986), et chez des bulins diploïdes tels que *B. senegalensis* et *B. forskalii* (Tableau 14).

Il ressort de cette comparaison que la variabilité génétique est généralement faible à très faible aussi bien dans les populations étudiées de *B. globosus* et *B. truncatus* que dans celles des autres gastéropodes qui occupent les mêmes types de milieux. Parmi les hypothèses pouvant expliquer la faible variabilité génétique dans ces groupes d'espèces, l'écologie et les systèmes de reproduction de ces mollusques ont été le plus souvent examinés (Selander & Ochman, 1983; Mulvey *et al.*, 1988a). En effet, les espèces allofécondes doivent généralement avoir un niveau d'hétérozygotie supérieur à celui des espèces autofécondes.

**Tableau 14.** Niveau de polymorphisme chez quelques gastéropodes. Les noms d'espèces sont suivis du nombre (N) de populations étudiés. Le nombre de locus étudiés est accompagné du nombre de locus polymorphes entre parenthèses; B., Bi, Ho, AU, SR et AL signifient respectivement *Bulinus*, *Biomphalaria*, hétérozygotie, autofécondation, système de reproduction et allofécondation.

Espèces (N)	Locus	Ho	SR	Auteurs
<i>B. globosus</i> (23)	8(4)	0,019	AL	Jelnes (1986)
<i>B. globosus</i> (13)	18(9)	0,034	AL	Cette étude
<i>B. umbilicatus</i> (12)	8(4)	0,025	AL	Jelnes (1986)
<i>B. senegalensis</i> (3)	8(0)	0,000	AU	Jelnes (1986)
<i>B. senegalensis</i> (8)	15(0)	0,000	AU	Mimpfoundi & Greer (1989)
<i>B. forskalii</i> (22)	8(0)	0,000	AU	Jelnes (1986)
<i>B. forskalii</i> (32)	15(0)	0,001	AU	Mimpfoundi & Greer (1990a)
<i>B. cernicus</i> (25)	11(7)	0,090	AL	Rollinson & Wright (1984)
<i>B. cernicus</i> (8)	11(7)	0,009-0,203	AL	Rollinson & al. (1990)
<i>B. truncatus</i> (21)	8(0)	0,000	AU	Jelnes (1986)
<i>B. truncatus</i> (25)	11(3)	0,000	AU	Mimpfoundi & Greer (1990d)
<i>B. truncatus</i> (18)	29(10)	0,000	AU	Cette étude
<i>Bi. pfeifferi</i> (12)	10(7)	0,007	AU	Bandoni <i>et al.</i> (1990)
<i>Bi. pfeifferi</i> (20)	19(4)	0,002	AU	Mimpfoundi & Greer (1990b)
<i>Bi. glabrata</i> (7)	26(4)	0,000-0,055	AL	Mulvey & Vrijenhoek (1982)
<i>Bi. glabrata</i> (8)	21(13)	0,013	AL	Mulvey & al. (1988)
<i>Bi. camerounensis</i> (12)	19(5)	0,011	AL	Mimpfoundi & Greer (1990c)
<i>Lymnaea peregra</i> (7)	12(9)	0,218-0,266	AL	Jarne & Delay (1990)
<i>Lymnaea elodes</i> (3)	15 (6)	0,080-0,130	AL	Brown & Richardson (1988)
<i>Rumina decollata</i>	-	0,000-0,003	AU	Selander & Kaufman (1973)
<i>Achatina fulica</i>	-	0,004	AL	Selander & Ochman (1983)

- **Raisons écologiques de la perte de variabilité génétique dans une population:** elle peut être le fait du hasard (hypothèse neutraliste) ou le fait d'une force déterminante (hypothèse sélectionniste) (Lewontin, 1974). Selon l'hypothèse neutraliste, la perte de variabilité peut résulter des fluctuations de fréquences alléliques liées à un échantillonnage aléatoire dans les populations de taille finie aboutissant à la fixation d'allèles. Dans les populations de grande taille, la perte d'hétérozygotie est lente (Kimura & Ohta, 1971; Nei *et al.*, 1975). Par ailleurs, la perte de variabilité génétique peut résulter d'une sélection unidirectionnelle aboutissant à la fixation de l'allèle avantageux (Soulé, 1973). Cependant peu d'exemples d'une telle sélection en populations naturelles sont disponibles. D'après Selander (1976), la perte de variabilité est surtout sévère dans les populations subdivisées connaissant une variation saisonnière de l'effectif. La taille de la population et les variations de la densité semblent être des facteurs importants dans la perte de la variabilité. Ces caractéristiques se retrouvent chez les populations de bulins et *Biomphalaria* qui ont des habitats subdivisés (Brown, 1980). La densité des populations est très variable dans le temps et dans l'espace en fonction de la disponibilité en eau (Marti & Tanner, 1988; Woolhouse & Chandiwana, 1989). La dérive génétique peut être évoquée pour expliquer la faible variabilité génétique dans ces populations. Dans les populations de *B. cernicus*, les conditions écologiques sont semblables à celles dans lesquelles vivent les autres bulins, mais le degré de variabilité génétique est élevé (Rollinson *et al.*, 1990). L'explication pourrait être un effectif efficace de la population élevé.

- **Importance des systèmes de reproduction:** le système de reproduction est l'une des forces agissant sur la structure génétique des populations (Hartl, 1980). Par exemple chez les organismes hermaphrodites autoféconds, l'hétérozygotie est faible. Cependant, des organismes autoféconds peuvent présenter un niveau de variabilité génétique comparable à celui des espèces qui se croisent (Allard & Kahler, 1971; Selander & Kaufman, 1973). En effet, l'autofécondation diminue l'hétérozygotie mais ne réduit pas la variabilité génétique. Dans les populations de taille limitée sujette à des fluctuations d'effectif, donc à des phénomènes de dérive génétique, l'homozygotie s'accroît en régime d'autofécondation et la probabilité de fixer un allèle de fréquence élevée augmente. La perte de variabilité génétique dans ce cas est une conséquence indirecte du système de reproduction.

\* Cas de *B. globosus*: les tests d'adéquation à l'équilibre de Hardy-Weinberg ont montré en général que l'hypothèse de panmixie n'était pas rejetée aux locus polymorphes dans les populations de *B. globosus*. Ce résultat suggère que l'allofécondation est le mode de reproduction prédominant dans ces populations. En effet, en régime d'autofécondation,

un déficit en hétérozygotes est attendu aux locus polymorphes. Les résultats électrophorétiques de Jelnes (1986) sont en accord avec le mode de reproduction par allofécondation chez *B. globosus*. Ce mode de reproduction est confirmé par des expériences de laboratoire (Rudolph, 1979, 1983; Jarne *et al.*, 1991). Il semble bien qu'en général l'autofécondation ne soit pas impliquée dans la faible variabilité génétique observée chez *B. globosus*. Une exception à ces résultats est fournie par la population d'Elevi où nous avons observé un déficit en hétérozygotes au locus PEPB-2 dans les échantillons de 1988 et 1990. Parmi les nombreuses causes du déficit en hétérozygotes, l'autofécondation nous semble être une cause majeure. Nous discutons le cas d'Elevi dans un chapitre consacré à l'étude du système de reproduction chez *B. globosus*.

\* Cas de *B. truncatus*: nos résultats chez *B. truncatus* montrent une absence totale d'hétérozygotes vrais aux quelques locus possédant plus d'un allèle dans la même population. Le même type de résultat a été obtenu par Jelnes (1986) lors d'une étude de 21 populations. A notre connaissance, aucune preuve d'allofécondation à partir des études électrophorétiques n'a été fournie pour les populations sauvages de *B. truncatus*. Les expériences de laboratoire ont montré la possibilité de croisements entre individus de cette espèce. Ces auteurs ont utilisé, soit des marqueurs pigmentaires (Larambergue, 1939), soit des marqueurs isoenzymatiques (Njiokou *et al.*, sous presse). Une étude récente portant sur l'aphallie chez *B. truncatus* a suggéré un rôle certainement important de l'autofécondation (Jarne *et al.*, 1992b). L'ensemble de ces observations suggère que le système de reproduction dans les populations de *B. truncatus* est très probablement de type mixte avec une prédominance de l'autofécondation sur l'allofécondation. Nous analysons l'importance relative des modes de reproduction dans un chapitre consacré à l'étude du système de reproduction chez cette espèce. Chez *B. truncatus*, il semblerait bien que le niveau très faible de variabilité génétique, notamment l'homozygotie totale des locus dans les populations, résulte d'une action conjuguée de l'autofécondation qui augmente l'homozygotie et de la dérive génétique qui contribue à la fixation des allèles aux locus.

Plus globalement, chez les bulins et d'autres Planorbidae tels que les *Biomphalaria* qui colonisent les mêmes types de milieux, deux niveaux de variabilité peuvent être distingués en fonction des systèmes de reproduction:

- les espèces chez lesquelles l'allofécondation prédomine et qui présentent un niveau de variabilité génétique relativement élevé. C'est le cas de *B. globosus*, *B. umbilicatus*, *Biomphalaria camerounensis*, *B. glabrata* et le cas isolé de *Bulinus cernicus* (Tableau 14),
- les espèces chez lesquelles l'autofécondation prédomine. On observe soit une absence, soit un niveau très faible de variabilité génétique. C'est le cas

de *B. truncatus*, *B. forskalii*, *B. senegalensis* et *Biomphalaria pfeifferi* (Tableau 14).

Quelques incertitudes demeurent au sujet de ces observations. En effet, le nombre de populations et le nombre de locus étudiés varient en fonction des auteurs et le degré de variabilité observée en dépend. Si, chez quelques espèces, les systèmes de reproduction ont été précisés par des expériences de laboratoire, chez d'autres ils ont été déduits de l'analyse électrophorétique de quelques locus, et devraient être précisés.

Un aspect particulier chez *B. truncatus* est l'existence de la tétraploïdie. Malgré le niveau de polymorphisme très faible, cette espèce maintient une "pseudo-hétérozygotie", réalisée par les couples d'allèles fixés au locus tétraploïde, tant que les locus diploïdes homologues sont tous fonctionnels. De plus, cette "pseudo-hétérozygotie" ne subit pas l'effet de la dérive génétique et de l'autofécondation contrairement à l'hétérozygotie aux locus diploïdes (Wright, 1977). La question de savoir si cette "pseudo-hétérozygotie" confère aux espèces tétraploïdes une valeur sélective plus élevée que celle des espèces diploïdes parentales, reste posée (Stebbins, 1977; Vrijenhoek, 1985).

Les principaux facteurs entraînant la modification dans le temps des fréquences alléliques dans les populations sont la dérive génétique, la migration et la sélection (Lewontin, 1974). Dans les populations étudiées de *B. globosus*, on constate que sur une durée de 6 mois à deux ans, la structure génétique est modifiée dans 37% des cas. La structure spatiale des populations de bulins et les fluctuations régulières d'effectif des populations suggèrent plutôt un rôle important de la dérive génétique. Cependant, le niveau de polymorphisme faible ne constitue pas une situation favorable à l'observation de petites modifications. D'autre part, si la dérive génétique est contrebalancée par la migration, les fréquences alléliques peuvent être conservées.

#### CHAPITRE IV

### DIFFERENCIATION GENETIQUE ENTRE POPULATIONS CHEZ *B. TRUNCATUS* ET CHEZ *B. GLOBOSUS*.

#### 1. Résultats

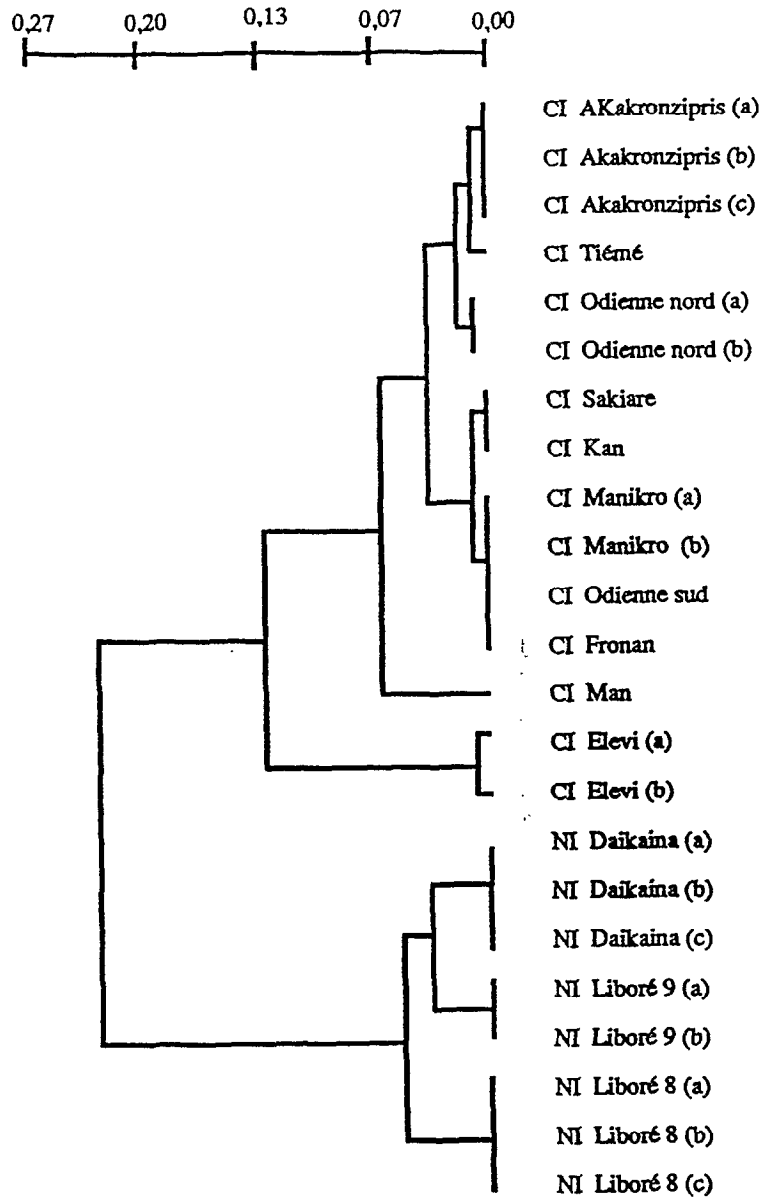
##### 1.1. Différenciation génétique des populations de *B. globosus*

### 1.1.1. Distance génétique

La matrice de distance est donnée à l'Annexe 5. Les distances génétiques de Nei sont faibles, variant de 0,000 à 0,288 pour l'ensemble des populations, avec des valeurs de 0,000 à 0,183 en Côte d'Ivoire et 0,029 à 0,063 au Niger. Les distances génétiques ont permis la construction d'un dendrogramme (UPGMA) (Figure 6) permettant d'identifier deux grands groupes représentant les populations du Niger et de Côte d'Ivoire. Ce niveau de différenciation est dû à l'existence de locus et d'allèles diagnostiques des deux groupes de populations. Les allèles EST-2<sup>100</sup> et PGM-1<sup>80</sup> sont strictement nigériens alors que EST-2<sup>80</sup>, EST-2<sup>0</sup>, PGM-1<sup>70</sup> et PGM-1<sup>90</sup> sont strictement ivoiriens. De plus, GPI-1<sup>120</sup> et IDH-1<sup>120</sup> sont strictement nigériens alors que GPI-1<sup>100</sup> et IDH-1<sup>100</sup> appartiennent aux deux pays.

\* Les populations nigériennes: deux groupes peuvent être distingués, d'une part, Liboré 8 avec une fréquence élevée des allèles IDH-1<sup>100</sup> ( $p > 0,6$ ) et PEPB-2<sup>100</sup> ( $p = 1$ ), et d'autre part Liboré 9 et Daikaina avec une faible fréquence de ces deux allèles. La différenciation entre Liboré 9 et Daikaina est expliquée par les différences de fréquence des allèles au locus PEPB-2: Liboré 9 (PEPB-2<sup>60</sup>:  $p > 0,55$ ; PEPB-2<sup>80</sup>:  $p = 0$ ) et Daikaina (PEPB-2<sup>60</sup>:  $p = 0$ ; PEPB-2<sup>80</sup>:  $p > 0,65$ ).

\* Les populations ivoiriennes: On peut distinguer deux groupes, Elevi d'une part, et les autres populations d'autre part. Ce niveau de différenciation est dû à deux locus, (i) PGM-1, avec l'allèle PGM-1<sup>90</sup> fixé à Elevi et PGM-1<sup>70</sup> fixé dans les autres, (ii) PEPB-2, avec PEPB-2<sup>80</sup> et PEPB-2<sup>90</sup> à Elevi et PEPB-2<sup>100</sup> fixé dans les autres populations. Les autres populations se divisent en deux sous-groupes, Man qui possède seul l'allèle PGM-2<sup>115</sup> et les autres populations qui ont, soit l'allèle PGM-2<sup>100</sup>, soit les allèles PGM-2<sup>100</sup> et PGM-2<sup>120</sup>. Les populations restantes forment deux ensembles, d'une part Akakronzipris, Tiémé, Odienne nord ayant l'allèle EST-2<sup>0</sup> et d'autre part Sakiare, Kan, Manikro, Fronan et Odienne sud ne possédant pas cet allèle. Dans le premier ensemble, la faible différenciation observée entre populations est due aux variations de la fréquence de l'allèle PGM-2<sup>120</sup> alors que dans le second, elle est due aux variations de la fréquence de l'allèle HBDH-1<sup>80</sup>.



**Figure 6**  
 Dendrogramme (UPGMA) construit à partir des distances génétiques de Nei chez *B. globosus*.  
 CI et NI signifient respectivement Côte d'Ivoire et Niger.

### 1.1.2. Analyse factorielle des correspondances

Le plan défini par les axes 1 et 2 est fourni à la Figure 7. Ce plan représente 28% de l'inertie totale. 58 points (individus) sont représentés alors que 484 sont superposés. On distingue trois nuages de points. L'axe 1 sépare nettement les populations du Niger qui se projettent du côté positif, et les populations de Côte d'Ivoire qui se projettent du côté opposé. L'axe 2 isole la population d'Elevi des autres populations ivoiriennes. Les populations du Niger forment un ensemble, celles de Liboré 8 et Liboré 9 apparaissant comme des sous-ensembles de la population de Daikaina. En effet, à l'exception de l'allèle PEPB-2<sup>60</sup> qui est exclusif de la population de Liboré 9, tous les autres allèles observés à Liboré 8 et Liboré 9 sont présents dans la population de Daikaina.

En Côte d'Ivoire, on distingue la population d'Elevi des autres populations. Ces dernières sont regroupées. Le nuage de certaines populations s'écartent de la surface commune lorsqu'elles possèdent des allèles privés, par exemple Odiene Nord qui a seule l'allèle NP-1<sup>120</sup>.

La Figure 8 représente la projection dans le plan formé par les axes 1 et 2, des allèles responsables de la position des points individus dans le plan défini à la Figure 6. Les autres plans ne sont pas représentés, car ils ne fournissent pas d'information supplémentaire par rapport au plan formé par l'axe 1 et 2.

Comme dans le cas du dendrogramme, l'AFC montre une différenciation relativement élevée entre les populations du Niger et de Côte d'Ivoire. La différenciation est faible entre les populations nigériennes, ainsi qu'entre les populations ivoiriennes (Elevi non considérée).

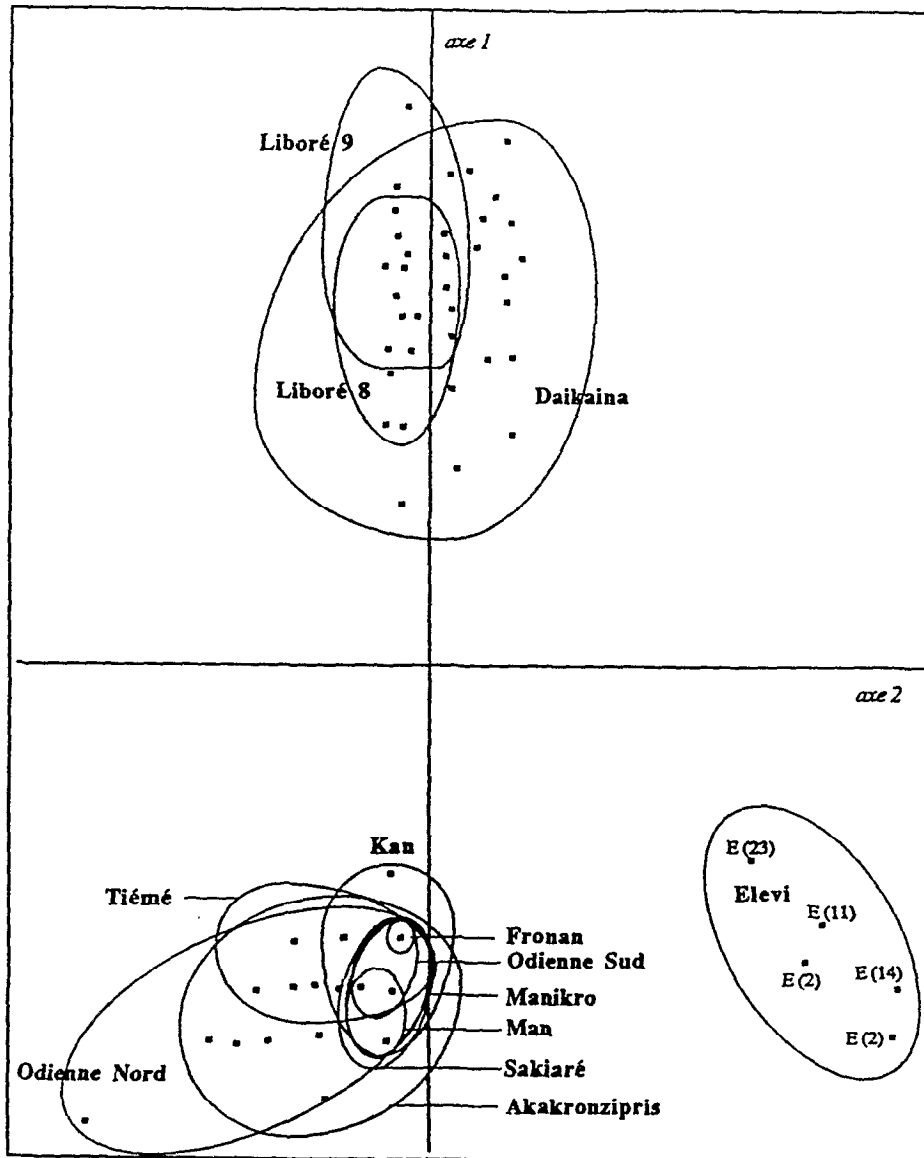


Figure 7

AFC chez *B. globosus*. Projection des points (individus) dans le premier plan factoriel. Les ellipsoïdes représentent les différentes populations. Pour la population d'Elevi (E), le nombre d'individus superposés en chaque point est représenté. Nous n'avons pas donné cette information pour les autres populations parce que la figure deviendrait surchargée.

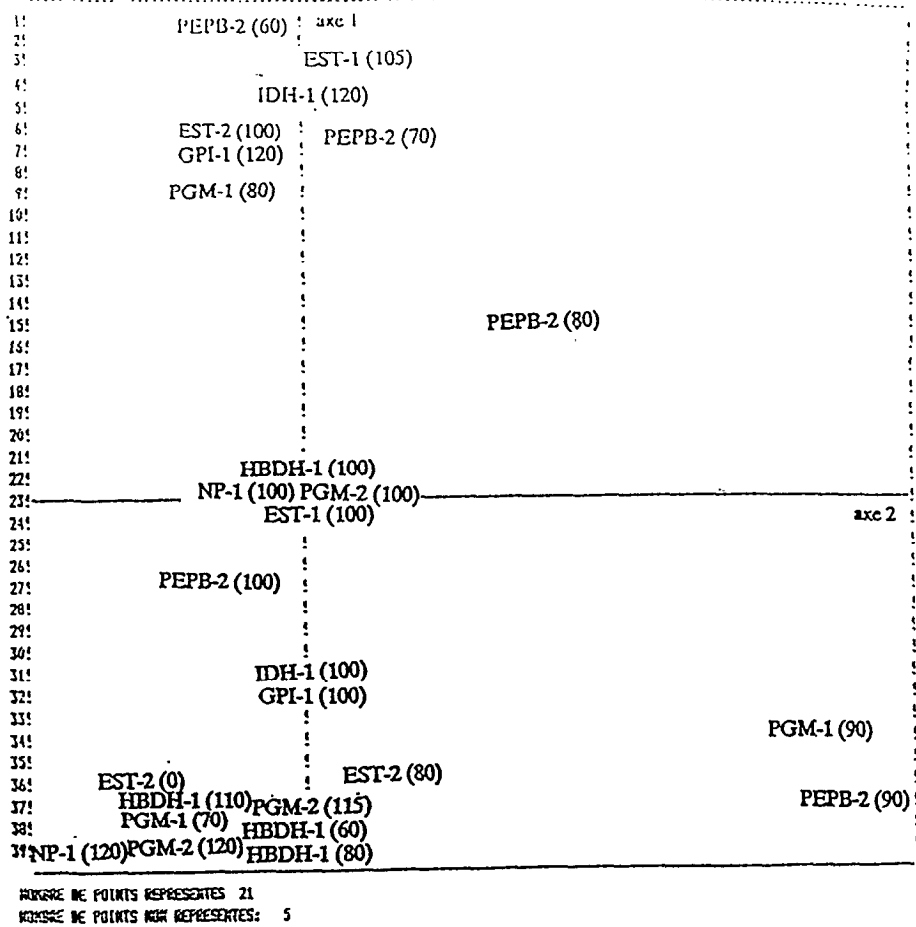


Figure 8  
 AFC chez *B. globosus*. Projection des points (allèles) dans le premier plan factoriel.

## 1.2. Différenciation génétique des populations de *B. truncatus*.

### 1.2.1. Distances génétiques

- **Cas du codage minimisant**: la matrice de distance est donnée à l'Annexe 6. Les distances génétiques varient de 0,000 à 0,189 pour l'ensemble des populations, avec des valeurs de 0,000 à 0,177 en Côte d'Ivoire, et 0,015 à 0,148 au Niger. Les distances génétiques ont permis la construction d'un dendrogramme (UPGMA) (Figure 9). L'arbre apparaît très hétérogène. On peut distinguer successivement:

+ la population de Daikaina caractérisée par la présence de deux allèles privés (NP-1b<sup>105</sup> et EST-3a<sup>110</sup>),

+ le groupe Timia, El-Méki, Mopé, et Egypte caractérisé par une fréquence élevée de l'allèle PGM-2a<sup>80</sup>. Dans ce groupe, la population d'Egypte se distingue des autres car elle possède seule l'allèle EST-2a<sup>110</sup>, et contrairement aux autres populations, l'allèle PGM-2b<sup>105</sup> n'y est pas présent.

+ la population de Yamoussoukro caractérisée par la présence de deux allèles privés (IDH-1b<sup>80</sup> et AAT-2<sup>110</sup>),

+ un groupe constitué par les populations de Liboré 9 et de Bangario caractérisé respectivement par les allèles privés (EST-2b<sup>90</sup>) et (GPI-1b<sup>80</sup>),

+ le groupe constitué par Tem et Tienko se distingue du groupe majeur des populations ivoiriennes par la fixation de l'allèle EST-2a<sup>110</sup> à Tienko,

+ le groupe des autres populations ivoiriennes caractérisé par la fixation de l'allèle EST-2a<sup>90</sup>. Dans cet ensemble, la population de Nguessan Pokoukro se distingue par la présence d'un allèle privé (EST-3b<sup>100</sup>). Les autres populations se différencient en deux sous-ensembles, (i) Sodepra, Natio et Ferké qui ont une fréquence élevée de l'allèle NP-1b<sup>110</sup> et (ii) Ounantiékaha, Tabako, Diabo et Samatiguila qui ont une fréquence faible ou nulle de l'allèle NP-1b<sup>110</sup>.

- **Codage "hétérozygote fixé"**: la matrice de distance est donnée à l'Annexe 7. Les distances génétiques varient de 0,000 à 0,072 pour l'ensemble des populations, avec des valeurs de 0,000 à 0,058 en Côte d'Ivoire et 0,005 à 0,066 au Niger. Les distances génétiques ont permis la construction d'un dendrogramme (UPGMA) (Figure 10). Comme dans le cas du codage minimisant, le dendrogramme apparaît très hétérogène, mais les distances entre populations sont environ trois fois plus faibles.

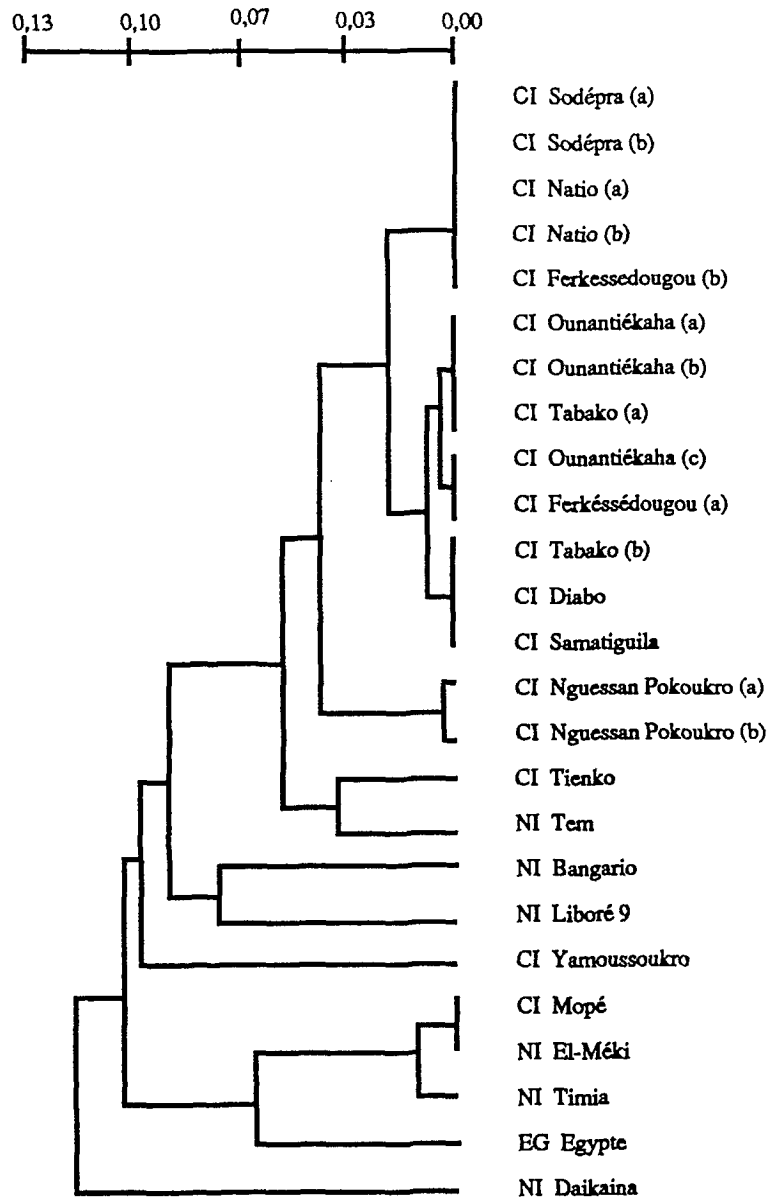


Figure 9

Dendrogramme (UPGMA) construit à partir des distances génétiques de Nei chez *B. truncatus* (codage minimisant). CI, NI et EG signifient respectivement Côte d'Ivoire, Niger et Niger.

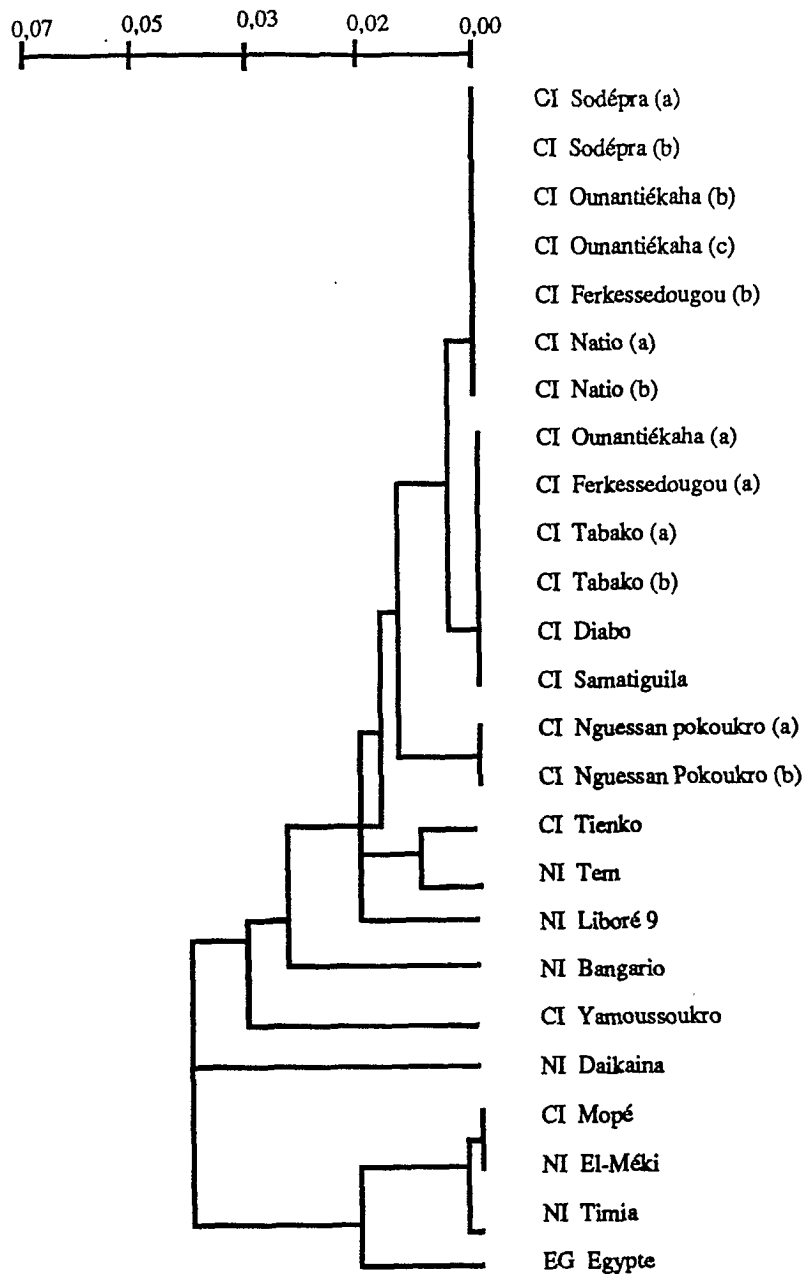


Figure 10

Dendrogramme (UPGMA) construit à partir des distances génétiques de Nei chez *B. truncatus* (codage hétérozygote fixé). CI, NI et EG signifient respectivement Côte d'Ivoire, Niger et Nigér.

On distingue successivement:

- + le groupe Timia, El-Meki, Mopé, Egypte,
- + la populations de Daikaina,
- + La population de Yamoussoukro,
- + la population de Bangario,
- + le groupe Liboré, Tem, Tienko,
- + Les autres populations ivoiriennes divisées en deux sous groupes.

Très peu de modifications sont observées par rapport au regroupement de populations obtenu dans le cas du codage minimisant (Bangario s'isole de Liboré, quelques populations de Côte d'Ivoire changent de sous groupe).

#### 1.2.2. Analyse factorielle des correspondances.

- **Codage minimisant:** la projection des individus dans le plan formé par les axes 1 et 2 est donnée à la figure 11. Ce plan représente 21% de l'inertie totale. 13 points individus sont représentés alors que 393 sont superposés. Suivant l'axe 1, on peut distinguer 4 groupes de populations:

- + la population de Yamoussoukro,
- + les autres populations ivoiriennes, moins celle de Mopé,
- + Les populations du Niger, moins celle de Daikaina et plus celles de Mopé et d'Egypte,
- + La population de Daikaina.

Comme dans le cas du dendrogramme, les populations de Côte d'Ivoire apparaissent peu différenciées. Hormis celles de Mopé et de Tienko, les populations forment un ensemble dans lequel on peut distinguer deux sous-unités en fonction de la fréquence de l'allèle NP-1b<sup>110</sup>. Les populations nigériennes apparaissent relativement assez différenciées. On retrouve les groupes (Liboré/Bangario, Tem) alors que Timia et El-Méki sont séparées. La Figure 12 représente la projection dans le premier plan factoriel des allèles responsables de la position des points individus observée sur la figure 11. Les autres dimensions de l'analyse ne sont pas représentées car elles n'apportent pas d'information supplémentaire.

- **Codage "hétérozygote fixé":** la projection des individus dans le plan constitué par les axes 1 et 2 est donnée à la Figure 13. Ce plan représente 28% de l'inertie totale. 14 points individus sont représentés, et 392 sont superposés. Suivant l'axe 1, on peut distinguer 4 groupes de populations:

- + le groupe Timia, El-Méki, Mopé,
- + la population d'Egypte,
- + les autres populations du Niger et celle de Tienko,
- + les autres populations de Côte d'Ivoire.

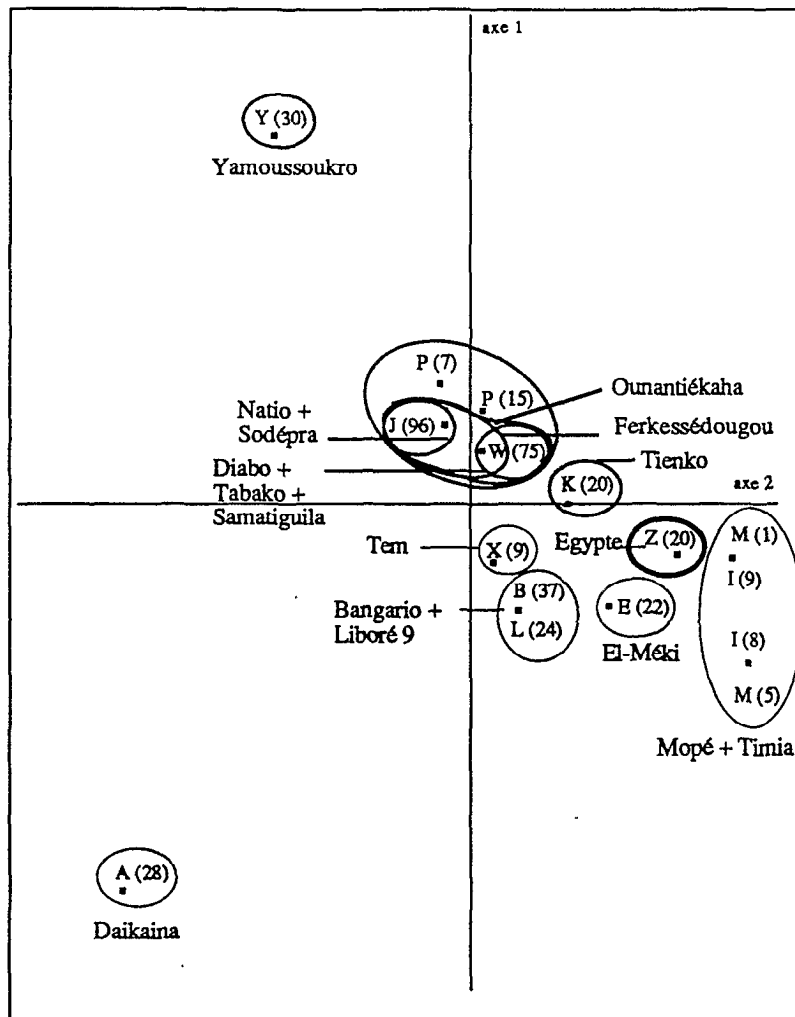


Figure 11

AFC chez *B. truncatus* (codage minimisant). Projection des points (individus) dans le premier plan factoriel. Les ellipsoïdes représentent les populations. Les lettres correspondant aux initiales des populations sont suivies du nombre de points (individus) superposés, mis entre parenthèses. Y = Yamoussoukro; P = Nguessan Pokoukro; J = Sodépra (29) + Ferkessédougou (28) + P (1) + Ounantiékaha (8) + Natio (30); W = P (2) + Ounantiékaha (22) + Ferkessédougou (2) + Diabo (8) + Tabako (25) + Samatiguila (15) + Timia (1); K = Tienko; Z = Egypte; X = Tem; B = Bangario; L = Liboré; M = Mopé; E = El-Méki; I = Timia.

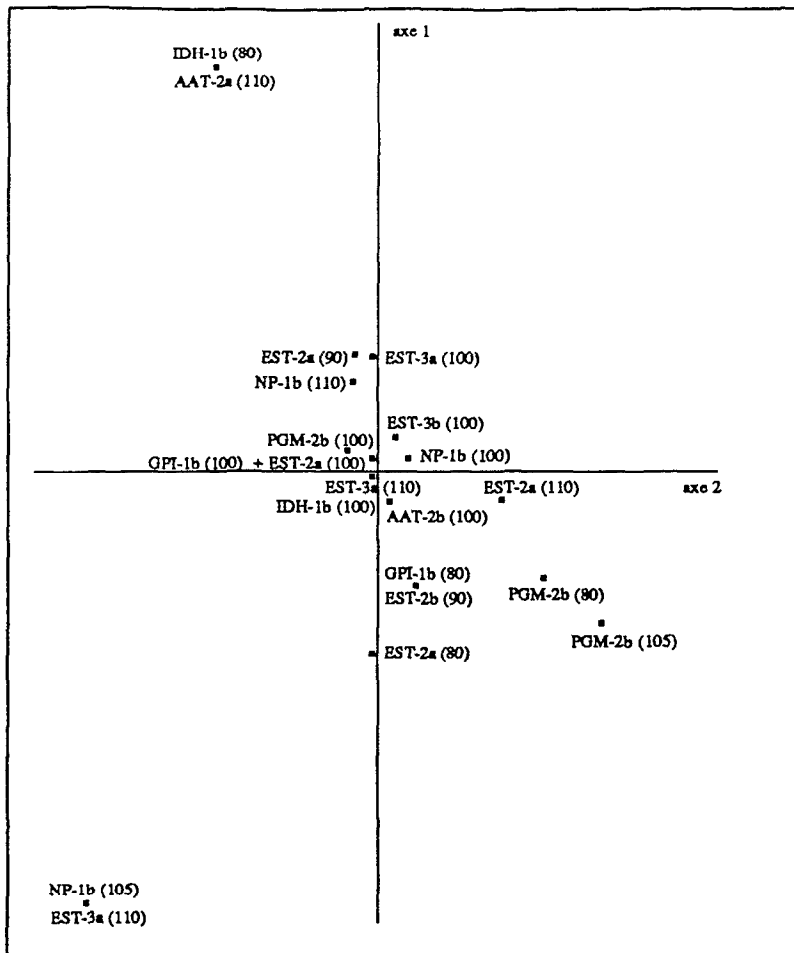


Figure 12

AFC chez *B. truncatus* (codage minimisant). Projection des points (allèles) dans le premier plan factoriel.

La Figure 14 représente la projection dans le premier plan factoriel des allèles responsables de la position des points individus observés sur la Figure 13. Les autres dimensions ne sont pas représentées car elles ne fournissent pas d'information supplémentaire. Comme dans le cas du codage minimisant, les populations nigériennes apparaissent relativement très différenciées, alors que celles de Côte d'Ivoire excepté Mopé et Tienko, forment un petit ensemble. Contrairement au codage minimisant, les populations de Daikaina et de Yamoussoukro sont moins isolées des autres populations au profit du groupe Timia, El-Méki, Mopé.

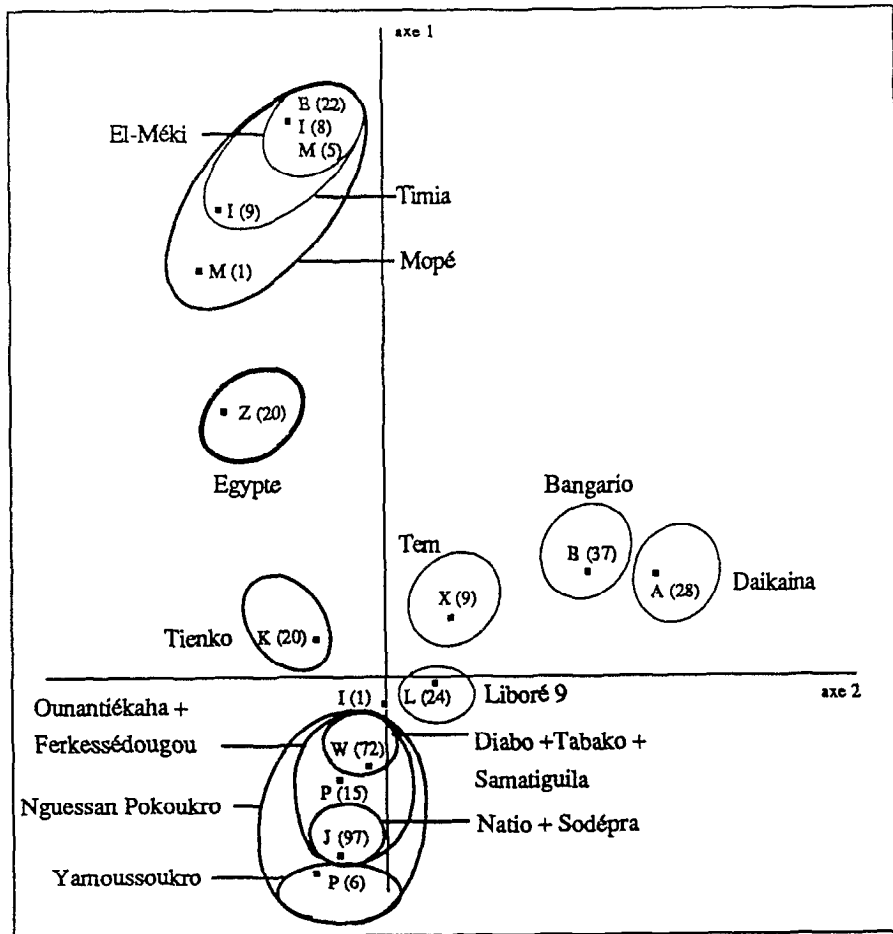


Figure 13

AFC chez *B. truncatus* (codage hétérozygote fixé). Projection des points (individus) dans le premier plan factoriel. Les ellipsoïdes représentent les populations. Les lettres correspondant aux initiales des populations sont suivies du nombre de points (individus) superposés, mis entre parenthèses. M = Mopé; I = Timia; E = El-Méki; Z = Egypte; K = Tienko; B = Bangario; A = Daikaina; L = Liboré 9; X = Tem; W = Ounantiékaha (22) + Ferkessédougou (2) + Tabako (25) + Diabo (8) + Samatiguila (15); J = Sodépra (29) + Nguessan Pokoukro (2) + Ferkessédougou (28) + Natio (30) + Ounantiékaha (2); P = Nguessan Pokoukro; Y = Yamoussoukro.

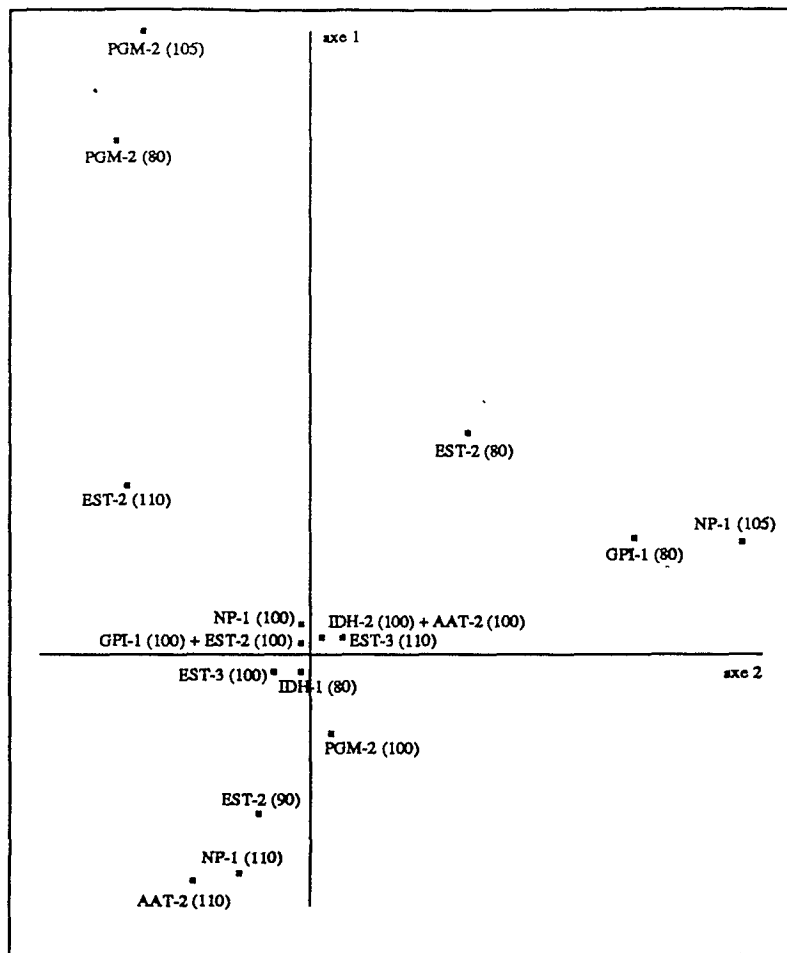


Figure 14  
AFC chez *B. truncatus* (codage hétérozygote fixé). Projection des points (allèles) dans le plan factoriel.

## 2. Discussion et conclusion

De nombreux organismes présentent une structuration géographique des populations résultant de la discontinuité des habitats. Plusieurs modèles mathématiques ont été développés pour analyser les conséquences de telles structures (revue dans Slatkin, 1985). Ces modèles ont montré que la différenciation génétique entre populations dépendait de plusieurs facteurs, dont le mode de distribution spatiale des

populations, la distance géographique entre elles, leur effectif, le niveau et l'origine du flux de gènes, les cycles d'extinction/recolonisation (Slatkin, 1985; Wade & McCauley, 1988; MacCauley, 1991). Dans les conditions normales, le flux de gènes a une extension réduite, ainsi les populations isolées par de longues distances ont peu de chance d'être reliées par un flux de gènes direct (Slatkin, 1985). Sokal & Watenberg (1983) ont pu construire des corrélogrammes exprimant des corrélations entre distances géographiques et fréquences géniques. Par ailleurs d'autres études ont montré une faible relation entre distances géographiques et distances génétiques (Slatkin & Maruyama, 1975). En absence de migration entre populations subdivisées, la différenciation génétique peut résulter d'une évolution différentielle par dérive génétique. En revanche, Wright (1931) utilisant un modèle de structuration spatiale des populations ("island model") a montré que si une fraction  $m$  d'une population était remplacée par des migrants, il n'y aurait pas de différenciation significative si le produit  $N \times m$  était supérieur à 1,  $N$  étant l'effectif de la population. Dans le cas des populations qui connaissent des cycles d'extinction/recolonisation, ce phénomène peut augmenter ou diminuer la différenciation suivant l'origine et le nombre des colonisateurs, la taille des populations, le taux de migration et la vitesse d'extinction (McCauley, 1991).

La distance génétique entre populations peut être reliée à l'intensité de flux de gènes entre elles. Ainsi, une faible distance génétique est interprétée comme un flux de gènes élevé alors qu'une distance génétique élevée traduirait un faible flux de gènes (Slatkin, 1985). Cependant, la divergence entre deux populations peut refléter des phénomènes de sélection et de mutation, indépendamment du flux de gènes. Les données dont nous disposons dans cette étude nous ont permis de discuter de l'importance des flux de gènes entre populations à partir des distances génétiques de Nei et des AFC. Les distances génétiques observées entre les populations de *B. truncatus* (0,000 à 0,072 avec le codage "hétérozygote fixé"; 0,000 à 0,189 avec le codage minimisant) et de *B. globosus* (0,000 à 0,288) sont faibles et on ne sait pas si elles sont significativement différentes entre elles. Ces distances sont tout à fait comparables à ce qui est observé chez d'autres espèces de bulins et de planorbes habitant les mêmes types de milieux. Les distances de Nei varient de 0,000 à 0,300 chez *B. cernicus* (Rollinson *et al.*, 1990), de 0,001 à 0,258 chez *Biomphalaria pfeifferi* (Bandoni *et al.*, 1990) et de 0,000 à 0,180 chez *Biomphalaria glabrata* (Mulvey *et al.*, 1988a).

La nette différenciation entre les populations de *B. globosus* du Niger et de Côte d'Ivoire pourrait s'expliquer par l'éloignement géographique qui interrompt les échanges entre les deux groupes de populations.

En Côte d'Ivoire, la différenciation des populations d'Elevi et de Man par rapport aux autres populations pourrait s'expliquer aussi par

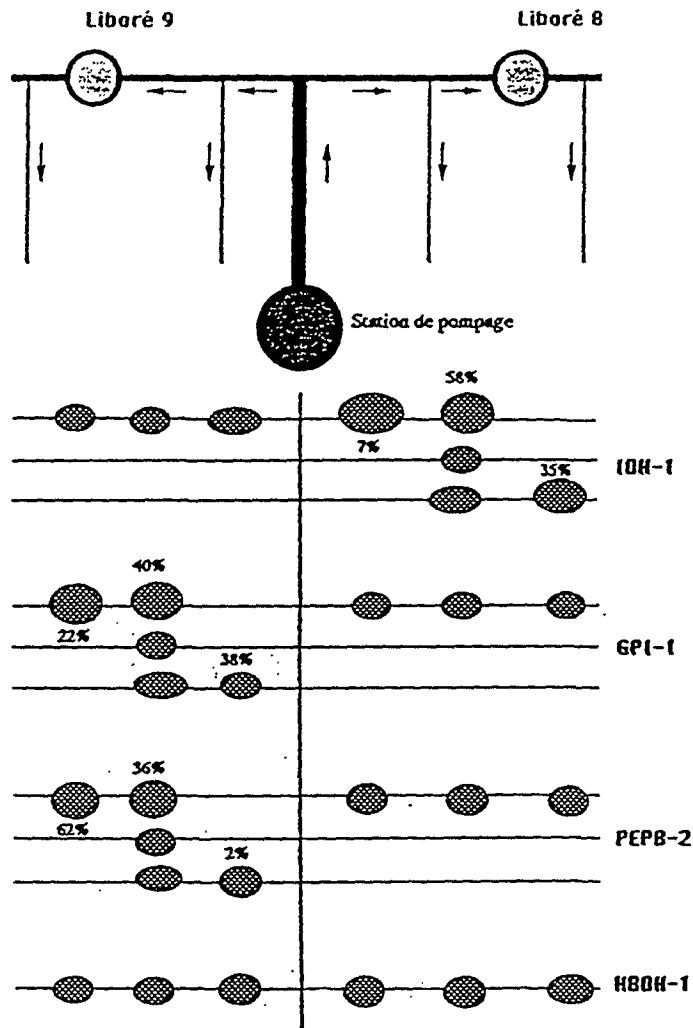
l'isolement par la distance car le nombre de populations est faible et elles sont relativement distantes les unes des autres. Cette distribution des populations pourrait réduire les migrations entre elles, favorisant leur évolution différentielle par dérive génétique. Les autres populations sont très peu différenciées. En particulier, on n'observe pas une séparation entre les populations du Nord et du Centre de la Côte d'Ivoire, bien que la distance géographique les séparant soit élevée (supérieure à 200 km). L'explication pourrait être un flux de gènes (actuel ou fossile) relativement élevé entre ces populations de zones préforestières et de savane guinéo-soudanienne. A une échelle plus restreinte, l'étude des fréquences alléliques a cependant montré la présence d'allèles privés dans des populations, ce qui n'est pas favorable à l'hypothèse de flux de gènes élevé, actuel.

Au Niger, nous avons étudiés trois populations de *B. globosus* dont deux sont très rapprochées (2 km) et la dernière plus éloignée (100 km). La différenciation génétique est faible, mais plus élevée entre les deux populations rapprochées que ce qui est observé en Côte d'Ivoire, entre les populations formant le groupe zone préforestière/savane. Comme en Côte d'Ivoire, bien que la différenciation soit faible, les populations possèdent des allèles privés.

Un cas particulier est observé entre les deux populations rapprochées (Liboré 8 et Liboré 9). Ces deux populations sont issues de deux canaux d'irrigation secondaires distants de deux kilomètres, mais on peut les caractériser par la présence ou l'absence respective d'un allèle au niveau de trois locus (PEPB-2, GPI-1 et IDH-1; cf. Tableau 6). Ces observations obtenues à partir des échantillons de 1989 ont été confirmées sur les échantillons de 1991. Ces résultats ne sont pas favorables à l'hypothèse d'un flux de gènes actuel et élevé entre ces populations. D'autres observations chez *B. globosus* et d'autres mollusques d'eau douce ont suggéré l'existence d'un flux de gènes élevé entre populations, entretenu par transport passif le long des rivières (Marti *et al.*, 1985; Woolhouse, 1988a, b), par l'action des crues (Ndifon & Ukoli, 1989) ou même par celle des oiseaux (Wright, 1977; Boag, 1986). Nos résultats suggèrent que lorsque les populations appartiennent à différents cours d'eau ou sont isolées dans différents canaux d'irrigation, le flux de gènes est faible. Il est probable qu'il soit réduit aux seules périodes de grandes crues qui ne sont pas observées toutes les années, permettant aux populations même rapprochées de diverger temporairement (par exemple, fixation de différents allèles par le fait de la dérive génétique).

Chez *B. truncatus*, il a été nécessaire de tenir compte des deux types de codage pour l'analyse de la différenciation génétique entre les populations. En effet, que ce soit par la distance génétique ou par l'AFC, certaines observations changent. En particulier, les distances entre populations sont

trois fois plus élevées avec le codage minimisant qu'avec l'autre type de codage. Cette augmentation de la distance est due à l'augmentation du nombre de locus diagnostiques considérés.



Représentation schématique du périmètre irrigué de Liboré;  
Fréquences génotypiques à Liboré 8 et Liboré 9 (1989).  
Planche 3

On passe dans plusieurs cas du simple allèle diagnostique (par ex., GPI-<sup>180</sup> à Bangario) dans le cas du codage "hétérozygote fixé", à un locus entièrement diagnostique (par ex., GPI-1b à Bangario) dans le cas du codage minimisant. Certaines observations sont cependant conservées dans les deux types de codage et peuvent être considérées comme plus fiables. Premièrement, les distances génétiques entre les populations de *B. truncatus* sont plus faibles que celles observées entre les populations de *B. globosus*. Deuxièmement, la différenciation est plus élevée entre les populations nigériennes qu'entre les populations ivoiriennes. Troisièmement, certaines populations se différencient par rapport aux autres (Mopé et Tienko en Côte d'Ivoire, Daikaina, El-Meki et Timia au Niger). La distance génétique relativement faible entre les populations de *B. truncatus* est due au fait que la proportion de locus invariables chez cette espèce est élevée. Par exemple, la population égyptienne ne se distingue de celle de Côte d'Ivoire que pour deux locus. La conséquence de ce phénomène est que, dès qu'une population possède un ou deux allèles privés, elle se différencie significativement des populations voisines; c'est le cas de Daikaina, Yamoussoukro, Tienko et Mopé. L'AFC montre cependant qu'il existe une unité entre la majorité des populations du Niger d'une part et celles de Côte d'Ivoire d'autre part. Chez les populations de *B. truncatus* de Côte d'Ivoire, on trouve le même cas de figure que chez *B. globosus*. Les populations de Mopé (forêt) et de Yamoussoukro (limite forêt/zone préforestière) sont très différenciées entre elles, et par rapport aux autres populations. Les particularités du milieu forestier (distances géographique élevée entre populations) pourraient expliquer cette différenciation. Les autres populations sont peu différenciées suggérant au moins l'existence d'un faible flux de gènes épisodique, comme dans le cas de *B. globosus*. Les populations du Niger de *B. truncatus* sont plus différenciées que les populations ivoiriennes, ce qui suggère un flux de gènes encore plus faible. La séparation entre les populations de zone saharienne (Timia et El-Méki) et celles de l'Ouest du Niger peut être attribuée à l'éloignement géographique. Entre les populations de l'Ouest, la distance géographique peut être encore évoquée car elles sont toutes distantes d'au moins 100 km.

Malgré le faible polymorphisme dans les populations de *B. truncatus* et *B. globosus*, il existe des locus et des allèles diagnostiques de ces populations permettant de distinguer plusieurs groupes aussi bien au Niger qu'en Côte d'Ivoire. Cette différenciation traduit un niveau de flux génétique faible et épisodique entre les populations, dû:

- soit à l'éloignement géographique,

- soit à des barrières physiques, telle que la forêt, la discontinuité entre différents types de collections d'eau ou différents canaux d'irrigations

- soit à d'autres facteurs tels que la taille des populations, les variations de densité des populations et les éventuels cas d'extinction/recolonisation.

## CHAPITRE V

### ETUDE DES RELATIONS ENTRE ALLOZYMES ET TYPES DE MILIEUX

#### 1. Introduction

Chez de nombreux organismes, les allozymes montrent une variation géographique. Aussi, deux hypothèses majeures ont été avancées pour expliquer la variation génétique (Lewontin, 1974; Selander & Ochman, 1983). Selon l'hypothèse neutraliste, la divergence génétique observée à l'échelle moléculaire est non sélective. La variation géographique des allozymes résulterait de phénomènes de dérive génétique liés à la taille finie des populations, conduisant à la fixation d'allèles différents (Kimura & Ohta, 1971; Nei, 1975). L'hypothèse sélectionniste admet que les variables environnementales ont un effet sélectif sur les allozymes. La divergence entre populations résulterait d'adaptations différentes à l'environnement (Mayr, 1963; Nevo *et al.*, 1981). Il ne fait plus de doute que de nombreuses molécules protéiques sont soumises directement ou indirectement à l'action de la sélection; en revanche d'autres molécules protéiques varient conformément aux prédictions de la théorie neutraliste (Ohta, 1977). La grande inconnue est alors la proportion de la variabilité génétique maintenue par la sélection (Lewontin, 1974). Plus on augmente le nombre de locus examinés, plus l'effet moyen de la sélection devient mineur (Hillis & Moritz, 1990).

Chez des gastéropodes terrestres, quelques études ont montré une forte corrélation de certains allozymes aux variables climatiques (Nevo *et al.*, 1981; Mazon *et al.*, 1988). Ces auteurs soutiennent que les facteurs climatiques ont un effet sélectif sur les allozymes. En revanche, Selander & Ochman (1983) ont montré chez d'autres gastéropodes terrestres que la structuration géographique était plutôt le fait d'une distribution au hasard des allozymes due à la discontinuité entre régions géographiques. Chez les bulins, la distribution des espèces est certainement influencée par des

variables climatiques (Brown, 1980; Sellin & Boudin, 1981; Doumenge *et al.*, 1987). Au niveau intraspécifique, le polymorphisme enzymatique est faible et les variations observées entre les populations sont le plus souvent attribuées aux effets de la dérive génétique (Rollinson, 1985). Les populations de *B. truncatus* et de *B. globosus* étudiées colonisent divers systèmes bioclimatiques et divers types de collections d'eau. Dans ce chapitre, nous nous proposons de tester s'il existe des relations entre les allozymes mis en évidence et les types de milieux. Les effets de l'environnement sont habituellement testés directement sur les différents allozymes (Nevo & Bar, 1976; Nevo *et al.*, 1981). Le faible polymorphisme chez les bulins, nous a conduit à utiliser la méthode des analyses factorielles des correspondances qui considère l'ensemble des allèles. Dans le premier plan factoriel de l'AFC, les populations appartenant au même type de milieu sont délimitées et on vérifie que les surfaces correspondant aux différents types de milieux sont séparées entre elles. Cette méthode risque de ne pas détecter de différence si une petite proportion de locus seulement est soumise à la sélection.

## 2. Résultats et discussion

### 2.1. Cas des populations de *B. globosus*

Dans l'étude de la relation avec les systèmes bioclimatiques, trois groupes de populations peuvent être distingués sur le premier plan factoriel (Figure 15):

- les populations de savane sahélienne,
- les populations de forêt,
- les populations de zone préforestière et de savane guinéo-soudanienne.

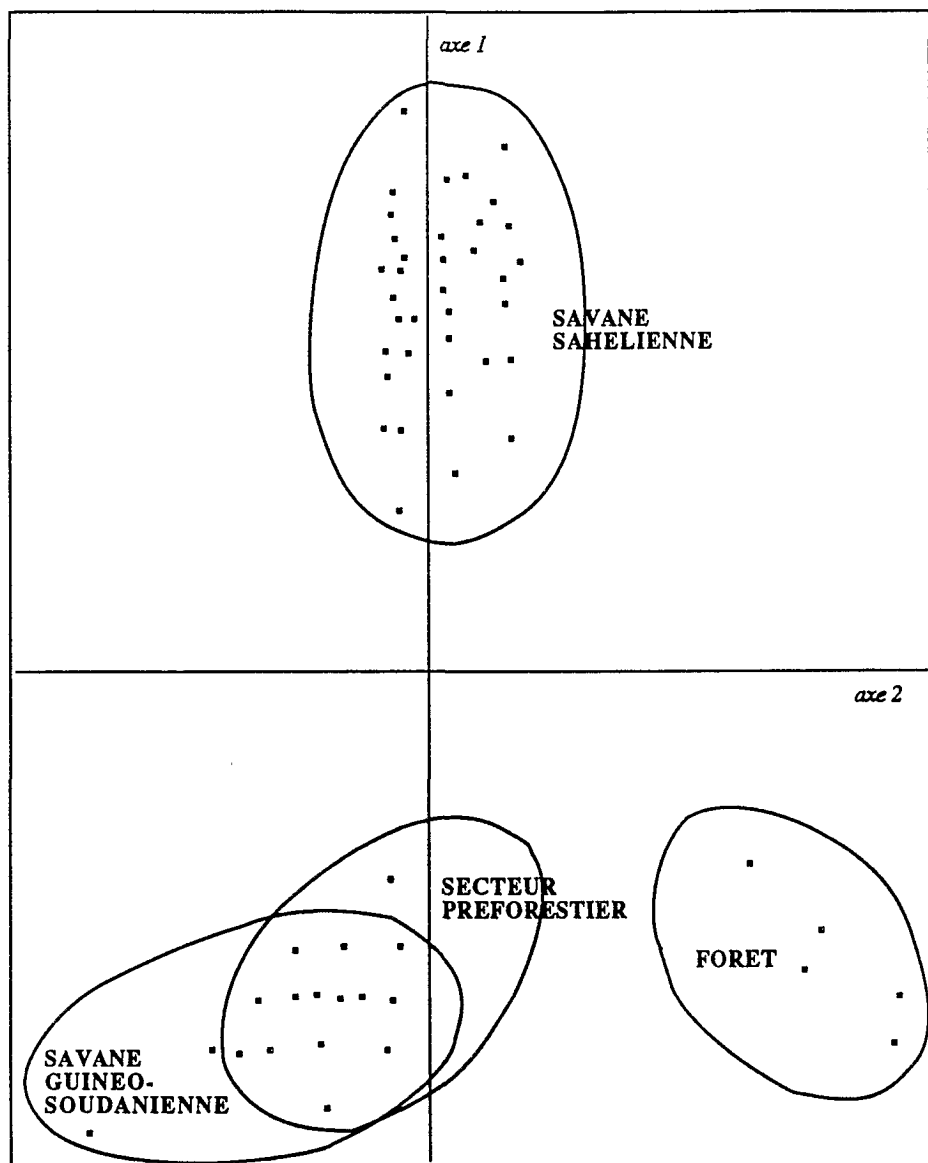
Dans l'étude de la relation avec la pluviométrie, deux groupes de populations peuvent être distingués (Figure 16):

- les populations recevant entre 400 et 900 mm de pluie par an,
- les populations recevant entre 900 et 1200 ou entre 1200 et 1600 mm de pluie par an.

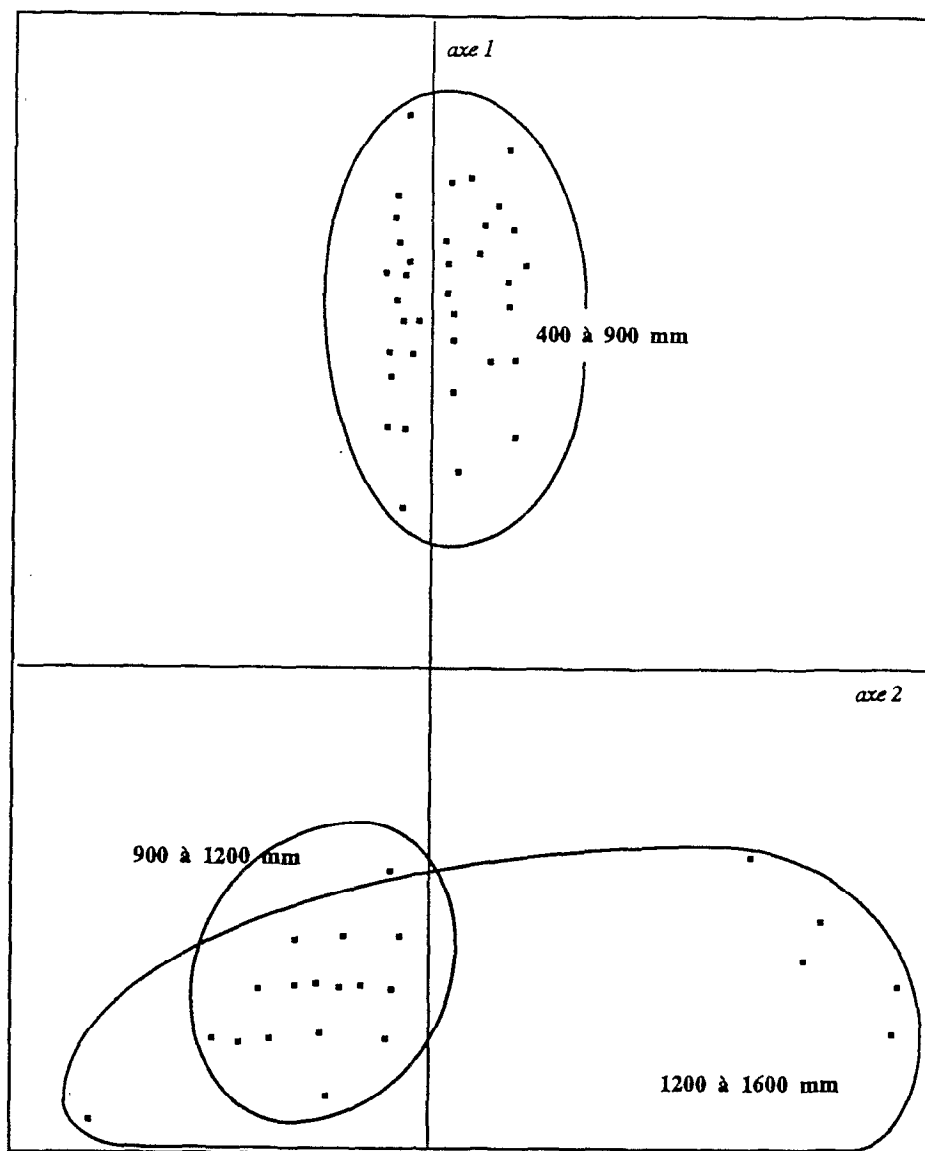
Dans l'étude des relations avec les types de collection d'eau, l'axe 1 (Figure 17) permet de distinguer deux groupes:

- les populations de canaux d'irrigation,
- les populations de rivières et ruisseaux qui ne sont pas totalement séparées de celles des étangs, barrages et mares.

Les résultats chez *B. globosus* indiquent que quel que soit le facteur du milieu analysé, on observe globalement deux groupes représentant, d'une part les populations du Niger, et d'autre part celles de Côte d'Ivoire, séparées nettement en deux-sous groupes lorsque l'on considère les systèmes bioclimatiques (Figure 15).



**Figure 15**  
 AFC chez *B. globosus*. Projection des points (individus) dans le premier plan factoriel. Relation allozymes/systèmes bioclimatiques.



**Figure 16**  
 AFC chez *B. globosus*. Projection des points (individus) dans le premier plan factoriel. Relation allozymes/pluviométrie.

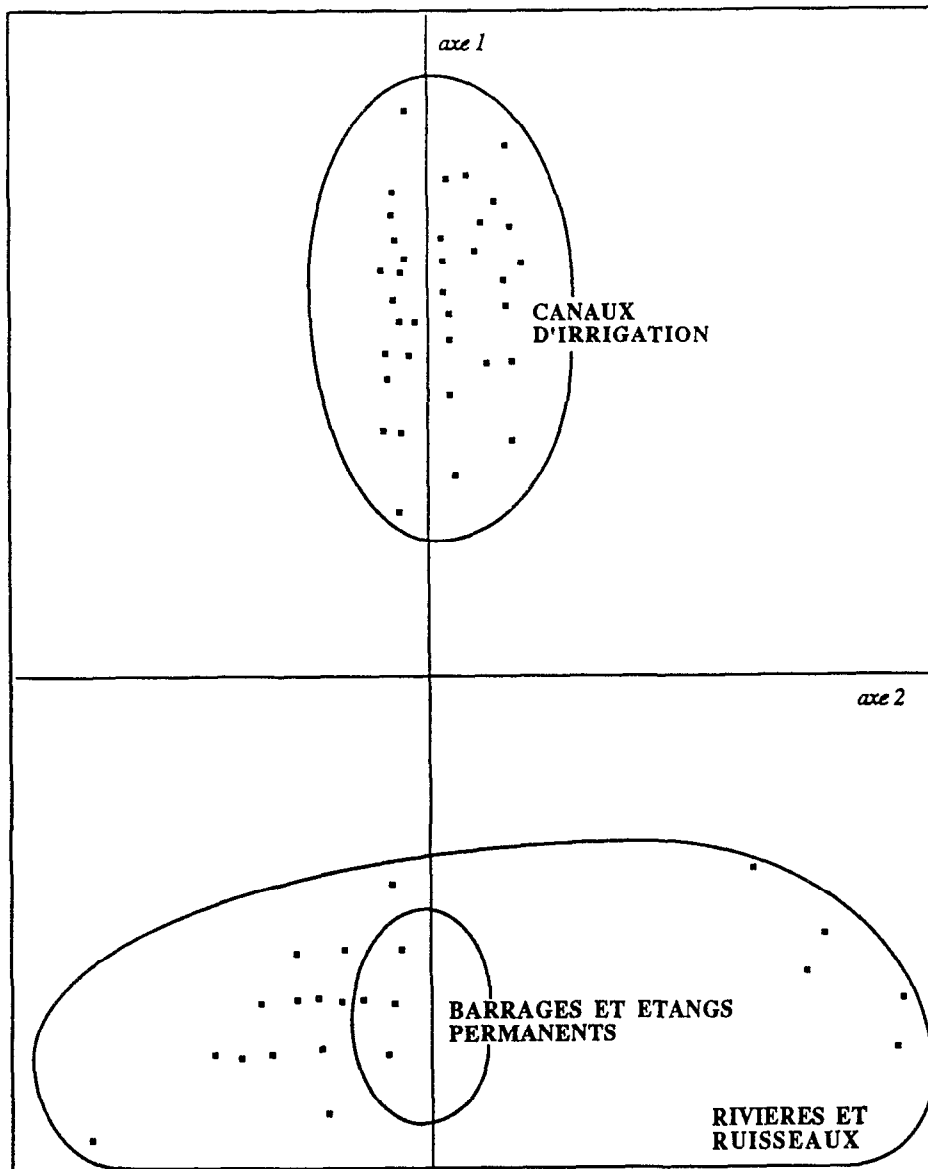


Figure 17  
 AFC chez *B. globosus*. Projection des points (individus) dans le premier plan factoriel. Relation  
 allozymes/types de collection d'eau

L'action sélective des variables climatiques sur les allozymes aboutit à une déviation des fréquences génotypiques par rapport aux fréquences théoriques de l'équilibre de Hardy-Weinberg (Nevo *et al.*, 1981). Cependant, les tests utilisés sont souvent peu robustes pour détecter de tels déséquilibres (Hartl, 1980). Dans cette étude, les populations de *B. globosus* ont rarement été en déséquilibre de Hardy-Weinberg, mais ce résultat n'est pas suffisant pour éliminer l'existence probable d'une action sélective des milieux sur les allozymes testés. Deux interprétations sont donc possibles: (i) une liaison entre ces allozymes et les types de milieux délimités, ou (ii) une séparation des populations uniquement en fonction des facteurs géographiques.

## 2.2. Cas des populations de *B. truncatus*

Nous avons analysé les relations entre allozymes et milieux en tenant compte des deux types de codage. Les résultats étant comparables, nous présentons ceux obtenus en utilisant le codage minimisant.

Dans l'étude des relations avec les systèmes bioclimatiques, trois groupes de populations peuvent être distingués sur le premier plan factoriel (Figure 18):

- les populations de savane sahélienne,
- les populations de zone saharienne,
- les populations de secteur préforestier et de savane guinéo-soudanienne, imparfaitement séparées.

Dans l'étude des relations avec la pluviométrie, trois groupes de populations peuvent être distingués sur le premier plan factoriel (Figure 19):

- les populations recevant entre 400 et 900 mm de pluie par an,
- les populations recevant entre 400 et 100 mm,
- les populations recevant entre 900 et 1200 mm non complètement séparées de celles recevant entre 1200 et 1600 mm de pluie par an.

Dans l'étude des relations avec les types de collection d'eau. (Figure 20), seul le groupe des populations de mares permanentes s'isole des autres. Les populations de mares temporaires apparaissent comme un sous-ensemble de celles des canaux d'irrigation. Des populations de rivières, de canaux d'irrigation, et de barrages et étangs permanents ne sont pas séparées.

Les facteurs analysés chez *B. truncatus*, semblent séparer trois groupes correspondant respectivement aux populations du Nord du Niger, de l'Ouest du Niger et de Côte d'Ivoire chez lesquelles deux sous-groupes se différencient. Comme dans le cas de *B. globosus*, cette distribution se superpose à la zonation géographique des allozymes et on ne peut pas dans ce cas séparer les différents effets.

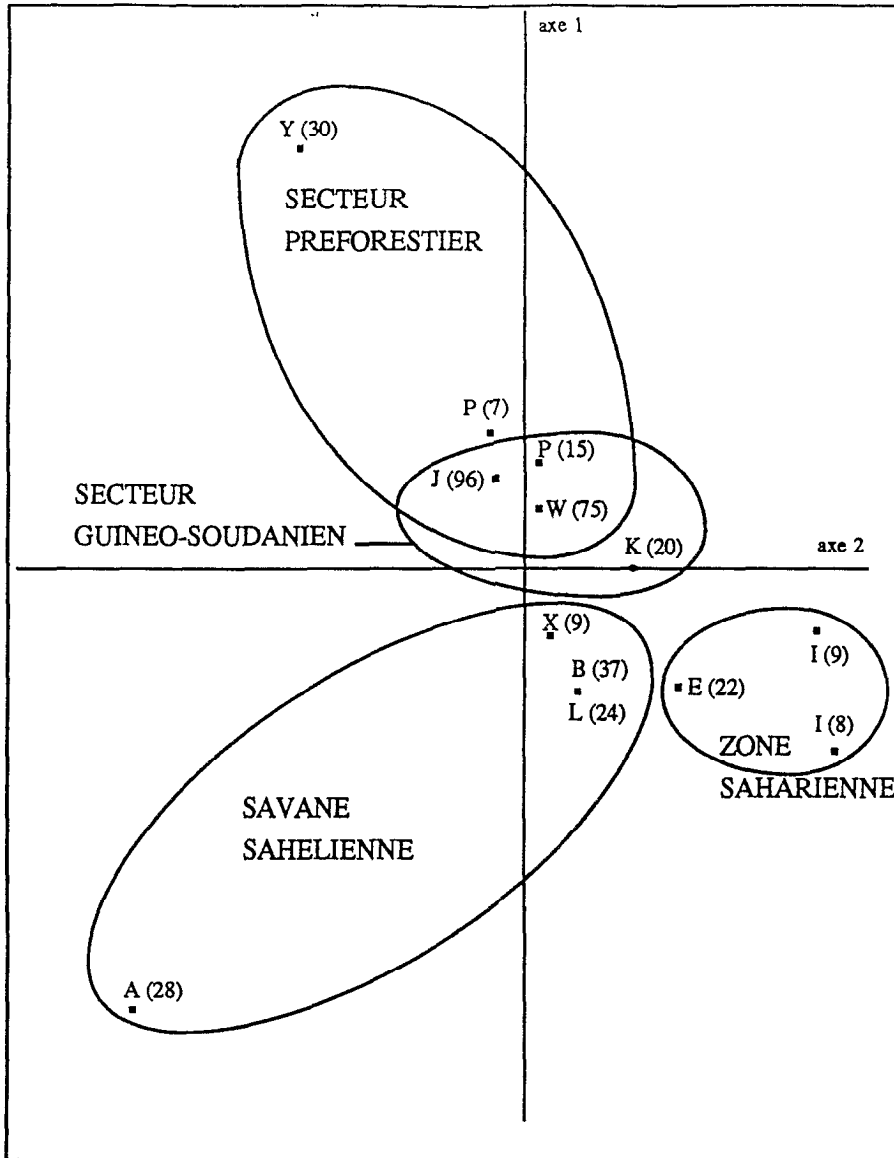


Figure 18  
 AFC chez *B. truncatus*. Projection des points (individus) dans le premier plan factoriel. Relation allozymes/systèmes bioclimatiques.

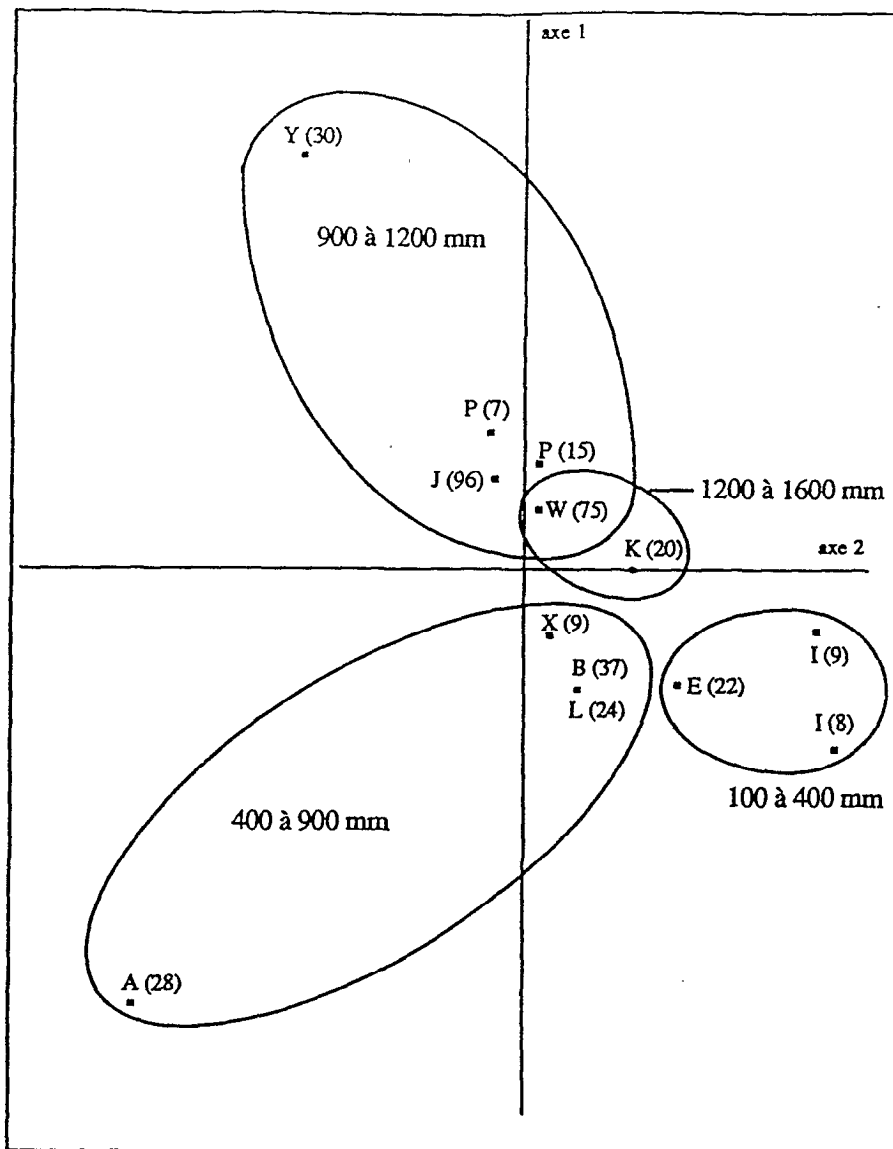


Figure 19  
 AFC chez *B. truncatus*. Projection des points (individus) dans le premier plan factoriel. Relation  
 allozymes/pluviométrie.

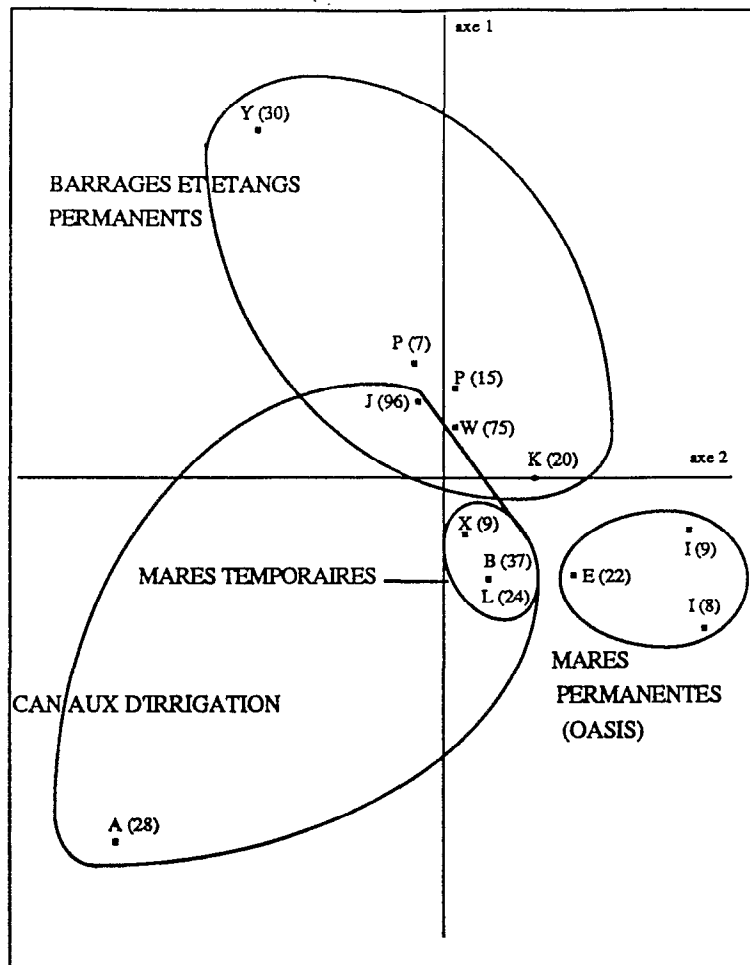


Figure 20

AFC chez *B. truncatus*. Projection des points (individus) dans le premier plan factoriel. Relation allozymes/types de collection d'eau.

### 3. Conclusion

Chez les deux espèces, les populations étudiées ne s'inscrivent pas toutes dans un continuum géographique, la distribution observée des allozymes peut aussi bien refléter un effet sélectif des différents types de milieux qu'une zonation géographique au hasard, due au faible flux de gènes entre ces groupes de populations. Les proportions des génotypes observés dans les populations de *B. globosus* ne sont pas en accord avec l'existence d'une sélection intense sur les allozymes.

**TROISIEME PARTIE**

**SYSTEMES DE REPRODUCTION  
CHEZ  
*B. TRUNCATUS* ET *B. GLOBOSUS***



## TECHNIQUES UTILISEES

### 1. Elevage de mollusques au laboratoire

#### 1.1. Conditions d'élevage de mollusques au laboratoire

Les mollusques sont élevés dans une enceinte dont la température est de 25 à 26° C, et la photopériode de 12 heures de lumière/12 heures d'obscurité. L'eau d'élevage provient d'une résurgence karstique (source du Lez). Les mollusques sont nourris par des feuilles de laitue ébouillantées (une à deux minutes dans de l'eau bouillante). Les bulins sont contenus dans des bacs en plastique d'environ deux litres (élevages de masse) ou dans des boîtes de 150 ml (élevage individuel ou développement d'une ponte).

Les élevages de masse ont pour but de conserver des souches de mollusques au laboratoire pour des expérimentations ultérieures. L'élevage individuel est nécessaire soit pour conserver des mollusques vierges après la maturité sexuelle, soit pour les isoler afin de mesurer la variabilité de paramètres individuels. L'eau et la laitue sont renouvelées dans les bacs deux fois par semaine et tous les deux jours, dans les boîtes. Les mollusques pondent soit sur les parois des bacs et boîtes, soit sur des morceaux de polystyrène qu'on laisse flotter à la surface de l'eau. Pour développer une nouvelle génération, les pontes sont récoltées et mises à incuber dans des boîtes. Les jeunes éclos peuvent s'y développer avant d'être remis en bac, ou en boîte individuelle, vers l'âge de 15 jours.

#### 1.2. Croisements contrôlés

Les jeunes individus encore vierges sont isolés. La maturité sexuelle est caractérisée par le début de pontes par autofécondation. Les individus sont alors marqués, et mis en couples. L'individu jouant le rôle femelle pendant un accouplement se fixe à un support et porte l'individu jouant le rôle mâle sur sa coquille. Les nombres de copulations comme mâle et comme femelle de chaque individu peuvent être notés pendant la période d'observation.

### 2. Mesure des paramètres démographiques

L'individu s'autofécondant ou allofécondé est isolé dans une boîte. Le nombre de pontes déposées et le nombre d'oeufs par ponte sont comptés pendant la période d'observation. Le jour de dépôt d'une ponte, le nombre d'embryons vivants est compté par observation sous une loupe binoculaire. La ponte éclot après une période d'incubation variable en fonction des individus. Le taux d'éclosion est le rapport entre le nombre d'individus éclos et le nombre d'embryons vivants dans la ponte. Le taux de survie entre deux dates est le rapport entre le nombre d'individus encore vivants à la deuxième date et le nombre d'individus qui était vivants à la première date. La croissance à chaque date est estimée par la mesure de la taille (longueur de la coquille) d'individus pris au hasard.

## CHAPITRE II

### ETUDE DU SYSTEME DE REPRODUCTION CHEZ *B. TRUNCATUS*.

#### 1. Introduction

La connaissance du système de reproduction chez *B. truncatus* était nécessaire pour proposer une interprétation génotypique des résultats d'électrophorèse enzymatique (cf. 2<sup>ème</sup> Partie); d'autre part, les données de la littérature concernant la reproduction chez *B. truncatus* étaient controversées. Les Basommatophores sont tous hermaphrodites, la reproduction est possible par autofécondation ou par allofécondation (Franc, 1968; Duncan, 1975, Geraerts & Joosse, 1984). L'analyse des systèmes de reproduction au laboratoire a montré que, chez plusieurs espèces de Planorbidés, l'allofécondation était de règle (Paraense, 1955; Paraense & Deslandes, 1956; Mulvey & Vrijenhoek, 1981b; Rudolph, 1983; Rudolph & Bailey, 1985; Vianey-Liaud *et al.*, 1987; Rollinson *et al.*, 1989; Jarne *et al.*, 1991). Une des raisons favorisant l'allofécondation est l'existence d'une dépression d'autofécondation (Charlesworth & Charlesworth, 1987) comme cela a été montré chez *Biomphalaria glabrata* (Vianey-Liaud, 1976) et chez *B. globosus* (Jarne *et al.*, 1991). Chez *B. truncatus*, un des caractères importants à considérer dans l'étude du système de reproduction est l'aphallie.

Rappelons que les individus aphylliques ont un appareil reproducteur hermaphrodite incomplet: la partie mâle est dépourvue de l'organe copulateur, du *vas deferens*, et la prostate est atrophiée (Larambergue, 1939) (cf. Figure 2). Les proportions des individus aphylliques et ephylliques sont très variables dans les populations naturelles (Larambergue, 1939; Jarne, 1990). La reproduction peut être uniparentale (individus vierges isolés) par autofécondation; alternativement, elle peut se faire par allofécondation, les individus ephylliques copulent alors comme mâle et femelle et les aphylliques uniquement comme femelle (Larambergue, 1939).

Le système de reproduction peut aussi être déduit de l'étude de la structure génétique des populations. Malgré le faible polymorphisme enzymatique chez les espèces de *Biomphalaria* et de *Bulinus* (cf. 2<sup>ème</sup> partie), les fréquences génotypiques ne sont généralement pas significativement différentes de celles attendues sous les hypothèses de l'équilibre de Hardy-Weinberg (Jelnes, 1986; Wright & Rollinson, 1984; Rollinson *et al.*, 1990; Mulvey & Vrijenhoek, 1981a; Mulvey *et al.*, 1982, 1988a; Woodruff *et al.*, 1985), excepté chez *B. forkalii* (Mimpfoundi & Greer, 1990a) et chez *Biomphalaria pfeifferi* (Bandoni *et al.*, 1990; Mimpfoundi & Greer, 1990b). Un déficit en hétérozygotes a été observé chez ces dernières espèces et a été attribué à l'autofécondation même si d'autres hypothèses tel que l'effet Wahlund ne peuvent pas être exclues (Zouros & Foltz, 1984; Gaffney *et al.*, 1990).

Rappelons que chez *B. truncatus*, le polymorphisme enzymatique est très faible (Jelnes, 1986; Wright & Rollinson, 1981; Mimpfoundi & Greer, 1990d). Les quelques cas de polymorphisme observés sont constitués par la présence d'un "hétérozygote fixé" et l'un des homozygotes attendus, l'autre homozygote étant absent (Nascetti & Bullini, 1980; Paggi *et al.*, 1978; Aru *et al.*, 1980; voir aussi Planche 2). De plus, on observe fréquemment à plusieurs locus uniquement des phénotypes "hétérozygotes fixés" (bandes multiples). Deux possibilités peuvent être envisagées pour expliquer ces observations: (i) la transmission des phénotypes à bandes multiples inclut la ségrégation des allèles; l'observation de "l'hétérozygotie fixée" indiquant que les locus diploïdes homologues sont homozygotes pour des allèles différents (Adams & Allard, 1977); (ii) la transmission des phénotypes à bandes multiples se fait sans ségrégation des allèles responsables, et la reproduction uniparentale est alors parthénogénétique. L'hypothèse parthénogénétique a été favorisée par Jelnes (1978, 1986), uniquement sur la base de données électrophorétiques.

Le but de cette étude a été de clarifier le mode de reproduction chez *B. truncatus*, en vérifiant la stabilité des phénotypes à bandes multiples à plusieurs locus entre des individus et leurs descendants uniparentaux, et en recherchant les preuves de l'autofécondation et de l'allofécondation à l'aide de marqueurs enzymatiques.

## 2. Protocole expérimental

Tout au long de l'étude les mollusques ont été élevés dans les conditions indiquées au Chapitre I. L'électrophorèse enzymatique en gel d'amidon a été réalisée selon les techniques décrites dans la "2<sup>ème</sup> Partie". La préparation d'extraits d'enzyme de *B. truncatus* a été possible pour des individus âgés de 15 jours ou plus. Les systèmes enzymatiques révélés ont été: glucose phosphate isomerase (GPI), estérase (EST), isocitrate déshydrogenase (IDH), hydroxybutyrate déshydrogenase (HBDH), nucleoside phosphorylase (NP), phosphoglucomutase (PGM) et aspartate aminotransférase (AAT).

### Expérience 1.

Elle consistait à tester la stabilité dans la descendance d'individus de phénotypes à bandes multiples. Les souches de bulins étudiées provenaient de quatre origines: Bangario au Niger, Natio et Yamoussoukro en Côte d'Ivoire et une population Egyptienne. Les populations étudiées présentaient des phénotypes à bandes multiples à au moins un des locus suivants: GPI-1, EST-2, HBDH-1, IDH-1, AAT-2, NP-1 et PGM2. Cependant, certains de ces locus pouvaient présenter un phénotype à bande unique dans une population et un phénotype à plusieurs bandes dans d'autres. Les populations ont été étudiés uniquement pour des locus présentant des bandes multiples (Tableau 15).

Pour chaque localité, cinq individus vierges, issus de la première génération de laboratoire ( $GE_1$ ) et âgés de 10 jours ont été prélevés et isolés. Ces 20 mollusques ont été élevés jusqu'à maturité sexuelle (dépot de pontes). Cinq pontes ont été prélevées par individu. Chaque ponte a été incubée individuellement et les descendants ( $GE_2$ ) ont été élevés jusqu'à une taille de 5 à 6mm. 20 descendants par individu ( $GE_1$ ) préalablement isolé, ont été analysés par électrophorèse enzymatique et les phénotypes allozymiques ont été comparés à ceux des parents.

### Expérience 2

Cette expérience a été menée pour vérifier (i) si l'allofécondation a lieu et (ii) si la reproduction uniparentale s'effectue par autofécondation ou par parthénogénèse. Nous avons utilisé des individus de Bangario (B) et d'Egypte (E) car les locus GPI-1 et EST-2 étaient diagnostiques des deux populations (cf. 2<sup>ème</sup> Partie). Au cours de cette expérience, l'observation dans la descendance de croisements entre individus B et E d'individus portant les allèles des deux populations devait constituer la preuve de l'allofécondation et la ségrégation de ces phénotypes "hybrides" par

reproduction uniparentale devait être en faveur de l'autofécondation. En revanche, l'absence de ségrégation devait indiquer la parthénogénèse.

Le protocole expérimental est schématisé à la Figure 21. Douze individus (P) euphalliques et vierges de chacune des deux populations ont été isolés. Ils ont été élevés individuellement jusqu'à maturité sexuelle. Quatre couples B/B, quatre couples E/E et quatre couples E/B (couples mixtes) ont été constitués à partir d'individus tirés au hasard. Les copulations ont été contrôlés pendant cinq jours et les individus ont été ensuite isolés. Pendant ces cinq jours, le nombre de copulations comme mâle et comme femelle ont été notés cinq fois par jour, à intervalle de deux heures. Ce protocole sous-estime le nombre réel de copulations puisqu'aucune observation n'a été menée la nuit. Le nombre de copulations femelles par individu a été comparé entre les trois groupes de couples par un test de Kruskal-Wallis, car la taille de l'échantillon était faible (Sherrer, 1984). Nous avons ensuite séparé les copulations des couples E/B en deux groupes (E "femelle", B "femelle") et le nombre de copulations a été comparé cette fois-ci entre quatre groupes (E/E, B/B, E/B "femelle" et B/E "femelle") par le même test que précédemment.

Les locus EST-2 et GPI-1 étaient monomorphes dans chacune des deux populations. Ainsi, le succès des croisements n'a été analysé que dans les couples mixtes. Les cinq premières pontes de chaque individu (P) ont été récoltées et incubées individuellement. Les descendants de première génération ( $G_1$ ) ont été élevés pendant deux semaines. Cinq d'entre eux ont ensuite été tirés au hasard dans la descendance de chaque parent et retenus pour l'analyse électrophorétique.

**Tableau 15.** Locus à bandes multiples étudiés dans chaque population. 80/100, 90/100 et 100/110 représentent les couples d'allèles fixés.

Locus	Population	Nombre de bandes
GPI-1	Bangario	3 (80/100)
AAT-2	Yamoussoukro	3 (100/110)
PGM-2	Egypte	2 (80/100)
NP-1	Natio	3 (100/110)
EST-2	Bangario	2 (80/100)
	Natio	2 (90/100)
	Egypte	2 (100/110)
IDH-1	Natio	3 (100/110)
	Bangario	3 (100/110)
	Egypte	3 (100/110)
HBDH-1	Natio	3 (100/110)
	Bangario	3 (100/110)
	Egypte	3 (100/110)

Les phénotypes "hybrides" aux locus GPI-1 et EST-2 ont été observés chez les descendants d'un seul individu. Tous les autres descendants vierges de cet individu E ont été isolés et élevés jusqu'à maturité sexuelle. Chez ces derniers, cinq pontes ont été prélevées par individus et incubées individuellement. Tous les individus ( $G_1$ ) ont alors été analysés pour leur phénotype aux locus EST-2 et GPI-1. Les descendants uniparentaux (20, 21 et 23 individus  $G_2$ ) respectivement de trois individus  $G_1$ , double-hétérozygotes, ont été analysés par électrophorèse. Nous avons testé la ségrégation Mendélienne (1 E: 2 EB: 1 B) des allèles aux locus EST-2 et GPI-1 chez les descendants  $G_2$  à l'aide du test de  $X^2$ .

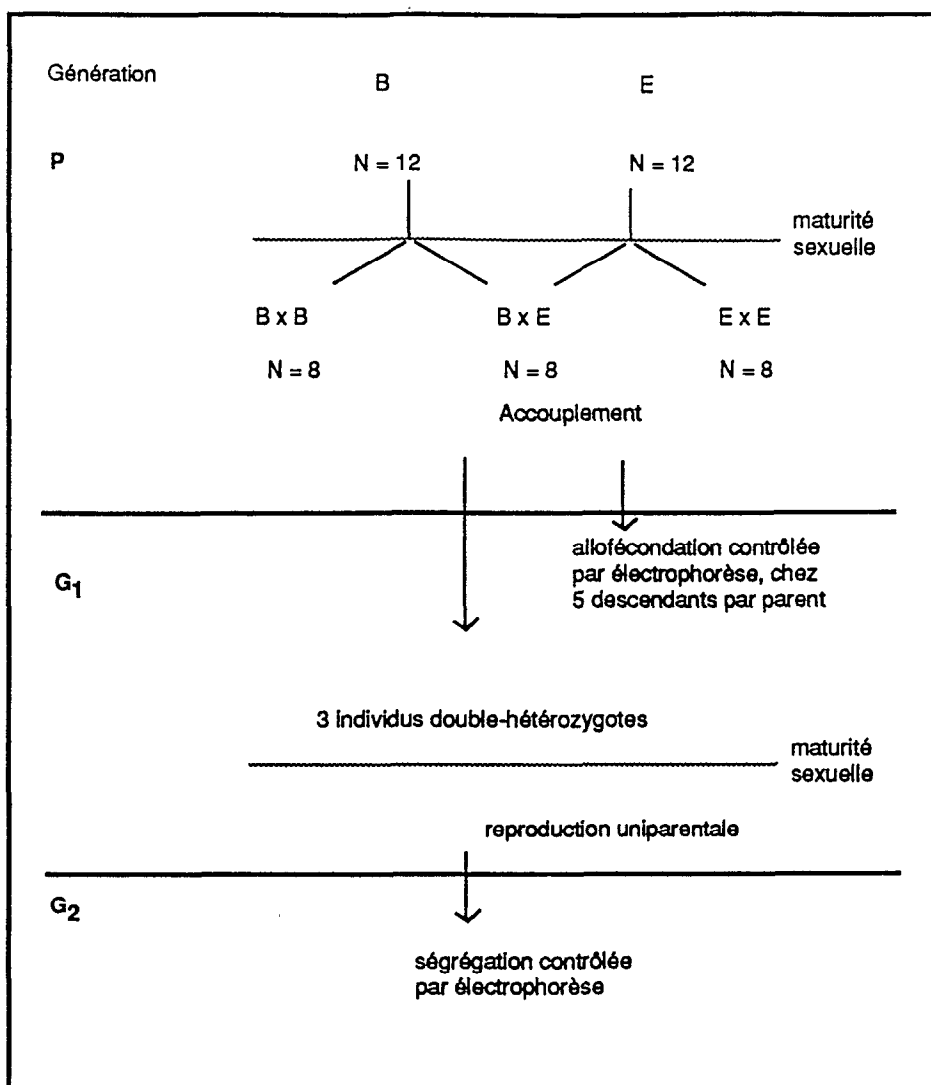


Figure 21  
 Protocole expérimental (expérience 2). B = Bangario; E = Egypte; P = parents;  
 G<sub>1</sub> = descendants des couples E x B; G<sub>2</sub> = descendants des individus G<sub>1</sub> par autofécondation;  
 N = nombre d'individus formant chaque groupe.

### 3. Résultats

#### Expérience 1

Les phénotypes à bandes multiples révélés aux sept locus étudiés ont été comparés entre les parents et leurs descendants uniparentaux. Aucune différence n'a été observée entre les phénotypes des parents et ceux de leurs descendants, ce qui montre bien une stabilité dans la transmission de ces phénotypes par reproduction uniparentale.

#### Expérience 2

L'étude expérimentale des copulations a montré que le temps de copulation variait de 2 à 4 heures. La copulation a été observée chez 9 des 12 couples étudiés. Les deux partenaires ont copulé au moins une fois comme mâle et comme femelle dans quatre couples (Tableau 16). Des copulations ont été observées chez les trois types de couples (E/E, B/B et E/B). Le nombre moyen de copulations femelles n'est significativement différent, ni entre les trois types de couples comparés ( $H_{(2)} = 2,7; p > 25\%$ ), ni entre les quatre types de couples ( $H_{(3)} = 3,2; p > 25\%$ ).

L'électrophorèse a été réalisée chez les descendants des couples mixtes. Les descendants de sept individus sur huit n'ont présenté que le phénotype maternel, bien que trois d'entre eux aient copulé comme femelle (Tableau 17).

Ces descendants étaient donc des produits de reproduction uniparentale. Le huitième individu (P) avait 14 descendants présentant son propre phénotype et 8 descendants double-hétérozygotes. Ce dernier individu s'était donc reproduit par allofécondation et par reproduction uniparentale. La ségrégation mendélienne des allèles a été analysée chez les descendants uniparentaux ( $G_2$ ) de trois individus double-hétérozygotes (Figure 22, Tableau 18). Les valeurs du  $X^2$  indiquent que l'hypothèse nulle d'une ségrégation mendélienne des allèles aux deux locus dans les trois groupes de descendants  $G_2$  ne peut être rejetée.

**Tableau 16.** Nombre de copulations femelle et mâle des individus pendant cinq jours d'observation. E/E, B/B et E/B représentent respectivement les couples Egypte/Egypte, Bangario/Bangario et Egypte/Bangario. Les valeurs sont indiquées pour un seul membre du couple, celles de l'autre membre s'en déduisent.

Paires	Nombre de copulations pendant 5 jours:	
	comme mâle	comme femelle
E1	1	1
E2		
E3	0	1
E4		
E5	0	2
E6		
E7	1	2
E8		
B1	0	1
B2		
B3	0	0
B4		
B5	0	0
B6		
B7	1	1
B8		
E9	2	1
B9		
E10	0	0
B10		
E11	2	0
B11		
E12	0	1
B12		

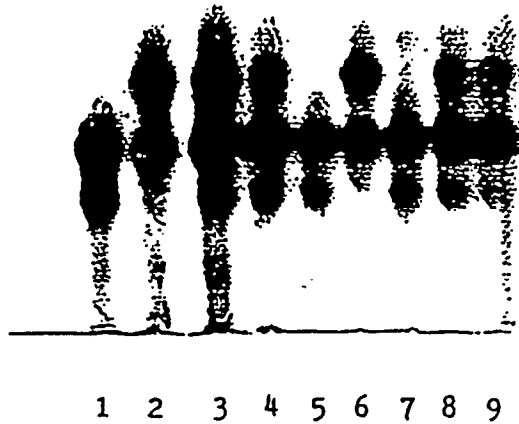
**Tableau 17.** Résultat des croisements entre individus de Bangario (B) et d'Égypte (E).

Parent	Nombre de copulations femelles	Nombre de descendants analysés	Nombre de descendants hétérozygotes
E9	1	20	0
B9	2	20	0
E10	0	20	0
B10	0	20	0
E11	0	20	0
B11	2	20	0
E12	1	22	8
B12	0	20	0

#### 4. Discussion et conclusion

L'expérience 1 a montré la stabilité des phénotypes à bandes multiples par reproduction uniparentale. L'observation d'un seul phénotype à bandes multiples par locus dans les populations naturelles n'est donc pas due à un échantillonnage trop faible. Dans l'expérience 2, nous avons observé un faible succès de l'allofécondation dans les croisements entre individus de Bangario et d'Égypte. D'autre part, la ségrégation des allèles aux locus EST-2 et GPI-1 a été obtenue chez trois individus  $G_1$  double-hétérozygotes. Les proportions des différents phénotypes ont été conformes aux prédictions théoriques sous l'hypothèse d'une ségrégation mendélienne des allèles. L'ensemble de ces résultats corrobore ceux obtenus par études cytologiques et marqueurs pigmentaires par Larambergue (1939) et s'oppose fermement à une reproduction par parthénogénèse chez *B. truncatus*. Nos résultats corroborent aussi ceux de nombreux travaux chez des mollusques d'eau douce, montrant la ségrégation mendélienne des allèles dans la descendance par autofécondation chez d'individus hétérozygotes, à l'aide de marqueurs

isoenzymatiques (Mulvey & Vrijenhoek, 1981a, 1984; Dillon, 1986; Rudolph & Burch, 1987) ou de marqueurs pigmentaires (Larambergue, 1939; Paraense, 1955; Cain, 1956).



*Figure 22*

*Electromorphes de plusieurs individus au locus EST-2. 1: individu de Bangario, "père"; 2: individu d'Égypte, "mère"; 3: descendant "hybride" de parents 1 et 2; 4 à 9: descendants uniparentaux de l'individu 3; 4, 8 et 9: type "hybride"; 5 et 7: type Bangario; 6: type égyptien.*

**Tableau 18.** Analyse de la ségrégation mendélienne aux locus EST-2 et GPI-1 chez les descendants uniparentaux de trois individus double-hétérozygotes. Le nombre de phénotypes observé comprend de gauche à droite, le type égyptien, le type Bangario et le type "hybride". NS = non significatif.

INDIVIDUS	LOCUS				
	EST-2		GPI-1		
	phénotypes observés	X <sup>2</sup> (1)		phénotypes observés	X <sup>2</sup> (1)
I	6/4/10	0,4	NS	3/7/10	1,16 NS
II	7/5/11	0,39	NS	5/8/10	1,17 NS
III	4/5/12	0,52	NS	6/6/9	0,80 NS

Puisque la ségrégation des allèles a lieu chez *B. truncatus*, l'observation de l'"hétérozygotie fixée" dans les populations indique que les locus diploïdes homologues du tétraploïde sont homozygotes pour des allèles différents. La quasi-homozygotie des locus diploïdes homologues chez *B. truncatus* a été expliquée par les effets conjugués de la dérive génétique et de l'autofécondation (cf. 2<sup>ème</sup> Partie). Au tableau 19, nous proposons une interprétation allélique des phénotypes observés au locus GPI-1 dans les expériences 1 et 2, de même que le mécanisme de la formation des gamètes et des zygotes par autofécondation. Chez les espèces tétraploïdes présentant une ségrégation disomique des allèles, les deux locus diploïdes homologues sont génétiquement indépendants (Allendorf & Thorgaard, 1984). Le nombre de combinaisons alléliques chez les gamètes est alors plus faible que dans le cas d'une ségrégation tétrasomique (Lumaret, 1981). Si nous considérons le cas où les locus diploïdes homologues sont homozygotes respectivement des allèles (1) et (2), tous les gamètes formés seront diploïdes de type (1 2) et les descendants par autofécondation auront le même génotype que les parents (Tableau 19). Cette hypothèse montre bien comment l'hétérozygotie fixée peut être maintenue chez des descendants par reproduction autoféconde.






L'analyse des croisements entre individus de Bangario et d'Egypte montre que certains individus mis en couple ne copulent pas pendant la période d'observation. Ce type de résultat avait été obtenu par Larambergue (1939). Pour les autres individus, le nombre de copulations comme femelle avec des partenaires de leur propre population ne diffère pas significativement de celui avec des partenaires de l'autre population.

Cependant, un échantillon plus élevé est souhaitable pour confirmer ces résultats. Au moins cinq individus sur les huit constituant les paires E/B ont copulé comme femelle, un seul individu cependant a été allofécondé. Le succès des croisements est donc faible si on se réfère à d'autres espèces chez lesquelles la copulation est généralement suivie de l'allofécondation (revue dans Jarne *et al.*, sous presse). Deux hypothèses peuvent expliquer ce dernier résultat:

- la première concerne l'isolement reproducteur entre les deux populations. Le croisement entre individus d'origines géographiques éloignées aboutit souvent à un isolement reproductif partiel (Paraense, 1956, 1959; Mulvey & Vrijenhoek, 1984). L'isolement reproducteur se manifeste soit par une réduction du nombre d'œufs pondus, soit par une production de pontes mixtes, contenant des descendants d'autofécondation et d'allofécondation. L'isolement reproducteur peut être unilatéral, par exemple, les individus d'une population sont allofécondés normalement par ceux de l'autre population alors que le résultat inverse ne se produit pas (Paraense, 1959).

- la deuxième hypothèse prend en compte le système de reproduction. Si l'une au moins des deux populations de *B. truncatus* se reproduit de préférence par autofécondation, elle n'utilisera pas l'allospérme et une incompatibilité reproductrice apparente sera observée. Larambergue (1939) et Brown (1980) ont suggéré que l'aphallie chez *B. truncatus* favorisait l'autofécondation, avec une augmentation probable du taux d'autofécondation avec le taux d'individus aphalliques dans les populations, mais cette hypothèse n'a jamais été testée. Le travail de Jarne *et al.* (1992b) indique aussi que *B. truncatus* se reproduirait au moins partiellement par autofécondation.

Les deux hypothèses peuvent être valides. S'il y a une forte sélection pour l'autofécondation, l'isolement reproductif ne peut pas être mis en évidence. Le système de reproduction devrait être analysé entre individus de la même population pour éliminer le critère géographique. Cependant les marqueurs électrophorétiques ne sont pas suffisamment polymorphes chez *B. truncatus* pour être utilisés dans de telles études. Un marqueur pourrait être fourni par la technique des empreintes digitales ADN (Jarne *et al.*, 1990, 1992a).

	Une bande (parent égyptien)	Bande multiple (parent Bangario)	
zymogramme des parents			
Interprétation allélique	1 1 1 1	1 1 2 2	<u>Expérience 1</u>
Génotype des gamètes	1 1	1 2	
Génotypes des descendants uniparentaux	1 1 1 1	1 1 2 2	
Génotype des parents	1 1 1 1	1 1 2 2	<u>Expérience 2</u>
Génotype de l'"hybride" G <sub>1</sub>		1 1 1 2	Allofécondation
Zymogramme des individus G <sub>1</sub>			
Génotype des gamètes		1 1 et 1 2	Autofécondation
Génotypes des descendants G <sub>2</sub> par autofécondation	1 1 1 1, 1 1 1 2 and 1 1 2 2		(ségrégation)
Zymogrammes des descendants G <sub>2</sub>			

**Tableau 19.** Interprétation allélique des électromorphes observés au locus GPI-1 et génotypes des gamètes formés dans chaque cas, dans les expériences 1 et 2, lorsque la ségrégation chromosomique est disomique. 1 et 2 représentent deux allèles différents. Les individus d'Égypte sont homozygotes pour l'allèle 1 aux deux locus diploïdes homologues, alors que les individus de Bangario ont fixé l'allèle 1 à un locus homologue et l'allèle 2 à un autre. Les zymogrammes hybrides sont reconnus par la faible intensité de la bande la plus lente.

## SYSTEMES DE REPRODUCTION ET ISOLEMENT REPRODUCTEUR CHEZ *B. GLOBOSUS*

### 1. Introduction

Les résultats de la structure génétique des populations ont montré un déficit en hétérozygotes dans la population de *B. globosus* d'Elevi. La reproduction par autofécondation peut être la cause de ce déficit, mais d'autres explications sont aussi possibles (cf. 2<sup>ème</sup> Partie). Le premier but de cette étude a été de vérifier si l'autofécondation pouvait être le système de reproduction dans la population de *B. globosus* d'Elevi.

Le deuxième point concerne l'isolement reproducteur chez *B. globosus*. Une des principales conséquences du flux de gènes entre populations est l'homogénéisation des fréquences alléliques (Slatkin, 1985) et des caractères phénotypiques. Cependant les populations éloignées ont peu de chances d'échanger directement des gènes, ce qui peut être à l'origine de la formation de races géographiques. Dans le genre *Bulinus*, plusieurs variants intraspécifiques ont été distingués sur la base de caractères morphologiques, anatomiques, biochimiques et/ou du degré de susceptibilité aux schistosomes (Mandahl-Barth, 1965; Berrie, 1973; Mutani *et al.*, 1983; Fryer *et al.*, 1987; Vera, 1991). La susceptibilité des mollusques aux schistosomes a une base génétique même si le déterminisme demeure inconnu dans la plupart des cas (Richards, 1976). Parmi les perspectives de lutte contre les mollusques hôtes intermédiaires, la possibilité de lutte biologique par introduction de mollusques originaires de populations allopatriques moins susceptibles que les mollusques locaux a été évoquée (Hubendick, 1958; Wright, 1977; Minchella & Lo Verde, 1983). Dans des conditions naturelles, les populations de mollusques présentant des niveaux de susceptibilité différents peuvent être mises ensembles lors de l'aménagement de collections d'eau. Pour apprécier l'évolution du gène de résistance aux schistosomes dans tous ces cas, il semble important d'évaluer la variabilité des paramètres de la valeur sélective et l'interfertilité entre individus de populations différentes. Il est alors nécessaire de tester si la différenciation entre ces populations peut entraîner un isolement reproducteur entre elles.

Fryer *et al.* (1987) ont abordé ce problème en utilisant deux populations de *B. globosus* du Nord du Nigeria. Malgré l'existence de différences de morphologie, d'isoenzymes et de susceptibilité à une souche de *Schistosoma haematobium*, les croisements entre individus des deux populations ont abouti à des descendants "hybrides". Cependant, cette étude a été limitée à l'observation des individus "hybrides". Paraense (1956, 1959) a mené une étude semblable chez *Biomphalaria glabrata*, et a montré que l'isolement reproducteur entre populations augmentait avec la distance géographique qui les séparait (de quelques centaines à quelques milliers de km). Ces études ont montré aussi que l'isolement reproducteur pouvait être unilatéral (cf. Chapitre II).

Le problème est plus complexe chez les organismes hermaphrodites autoféconds. En effet, lorsque le croisement entre individus n'aboutit pas à l'allofécondation, ces individus peuvent se reproduire par autofécondation. L'échec de la fécondation croisée peut être due à l'incompatibilité génétique entre les populations étudiées, mais peut aussi être due au fait que l'une des populations au moins se reproduit régulièrement par autofécondation. Des marqueurs génétiques polymorphes dans les populations sont nécessaires pour trancher entre les deux alternatives (cf. Chapitre II). Le problème peut aussi être analysé en comparant la descendance de couples d'individus de la même population avec celle de couples d'individus originaires de populations différentes. Les populations qui se reproduisent par fécondation croisée, subissent généralement une baisse de valeur sélective en régime d'autofécondation (Charlesworth & Charlesworth, 1987). Cette dépression d'autofécondation s'exprime par une reproduction réduite et une viabilité plus faible des descendants. L'importance de l'autofécondation peut alors être mise en évidence par une étude de la dépression d'autofécondation. Une telle étude a montré que la reproduction dans la population de Daikaina se faisait par allofécondation (Jarne *et al.*, 1991). Dans la présente étude, nous analysons le système de reproduction dans la population d'Elevi en comparant la dépression d'autofécondation dans cette population à celle de la population de Daikaina. L'isolement reproducteur a été étudié par l'analyse du succès des croisements entre des individus d'Elevi et de Daikaina.

## 2. Matériel biologique

La population de *B. globosus* d'Elevi a été échantillonnée dans une petite rivière en zone forestière de la Côte d'Ivoire, et celle de Daikaina récoltée dans un périmètre irrigué situé en savane sahélienne au Niger. Les deux populations présentent quelques caractères distinctifs. La couleur du manteau est très noire chez les individus d'Elevi alors qu'elle

est brune chez ceux de Daikaina; ces derniers débutent la ponte tardivement (64 jours en moyenne), contre (47 jours) chez les individus d'Elevi (cf. Chapitre IV). Deux locus (EST-2 et PGM-1) sont totalement diagnostiques des deux populations (cf. 2<sup>ème</sup> Partie).

### 3. Protocole expérimental

Les systèmes de reproduction à Elevi et l'isolement reproducteur entre individus d'Elevi et de Daikaina ont été analysés au cours de la même expérience.

Le protocole expérimental est donné à la Figure 23. Les parents sauvages étaient constitués de deux lots de quinze *B. globosus* récoltés à Elevi (E) pour le premier et à Daikaina (D) pour le second en Février 1990. Ils ont été ensuite isolés individuellement dans des boîtes en plastique de 150ml. Après quelques jours, deux pontes issues de chaque individu ont été prélevées et incubées séparément dans des boîtes de 150 ml. Après éclosion, les jeunes ont été élevés jusqu'à l'âge de quinze jours.

Deux individus ont été tirés au hasard dans chaque boîte cylindrique pour constituer un lot de 60 descendants ( $G_1$ ) par population. Ces derniers ont été élevés séparément dans des boîtes de 150ml jusqu'à maturité sexuelle. A 95 jours, la plupart des mollusques avaient atteint la maturité sexuelle. 40 individus sexuellement mûrs par population ont alors été tirés au hasard, et leur nombre de pontes et d'oeufs ont été notés pendant 11 jours. Pendant cette période, une ponte a été prélevée par individu, chez 20 mollusques tirés au hasard par population. Ces pontes ont été incubées individuellement. Pour chacune de ces pontes, nous avons relevé le temps d'incubation, le nombre d'oeufs, le pourcentage d'oeufs qui éclosent, la survie et la taille des jeunes ( $G_2$ ) à 8, 15 et 30 jours.

Dans chaque groupe de 40 individus  $G_1$  âgés alors de 106 jours, 20 individus ont été tirés au hasard pour constituer 10 couples. Les 20 individus restant par groupe ont été utilisés pour constituer 20 autres couples dits mixtes, car un membre du couple est d'Elevi et un autre est de Daikaina. 10 couples mixtes ont été tirés au hasard, les individus d'Elevi y ont été étudiés comme "femelle". Pour les 10 couples mixtes restants, les individus d'Elevi étaient étudiés comme "mâle". Ce protocole a été mené pour s'assurer de l'indépendance des analyses entre comportement mâle et femelle. Les couples ont été conservés pendant 5 jours. Le nombre de copulations femelle et mâle des individus a été relevé cinq fois chaque jour, tous les 2 heures. En effet, la durée d'une copulation est d'environ 2 à 4 heures. Ensuite, les individus "femelles" ont été isolés et leur nombre de pontes et d'oeufs a été relevé pendant 11 jours. Deux pontes ont été prélevées par "femelle", le premier et le onzième jour de la période d'isolement, et incubées individuellement. Nous avons relevé le temps

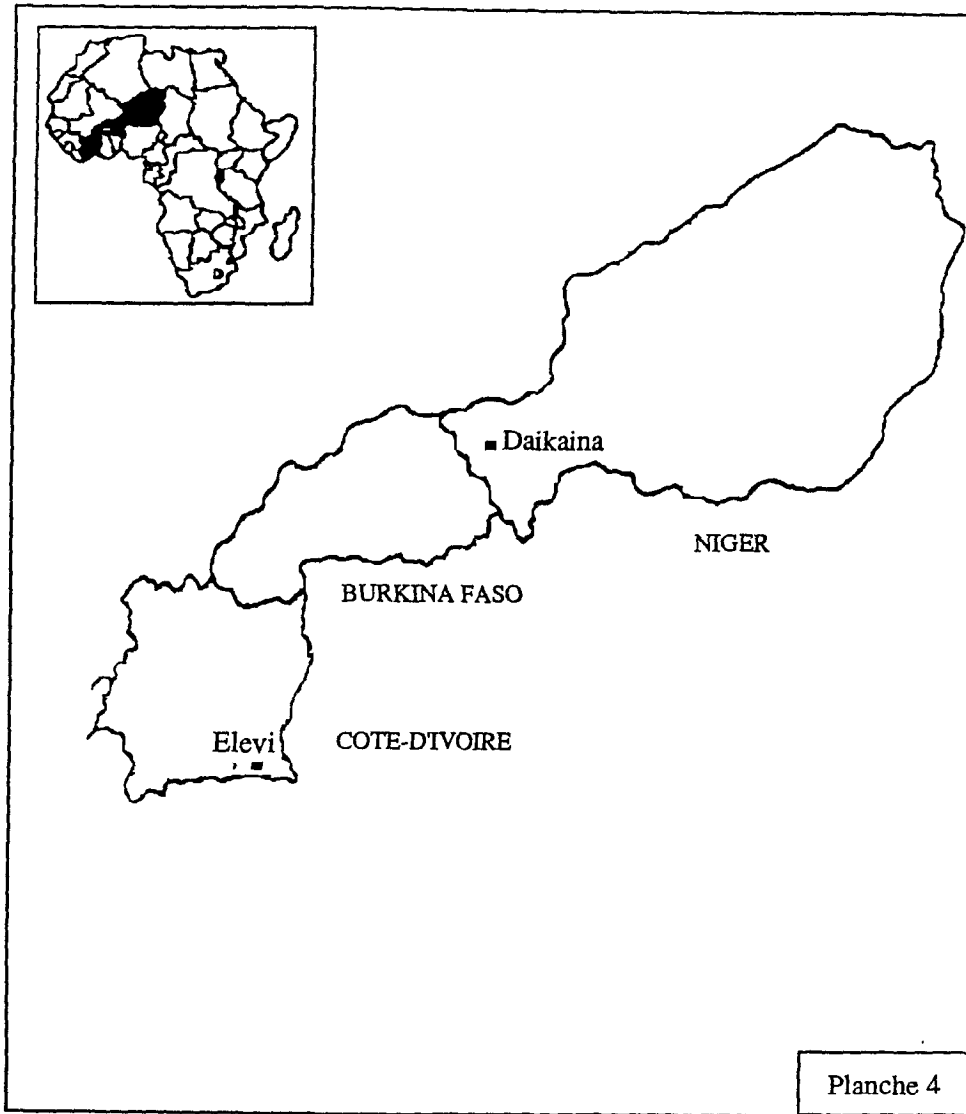
d'incubation, le nombre d'oeufs par ponte, le pourcentage d'oeufs qui éclosent, la survie et la taille des jeunes  $G_2$  à 8, 15 et 30 jours.

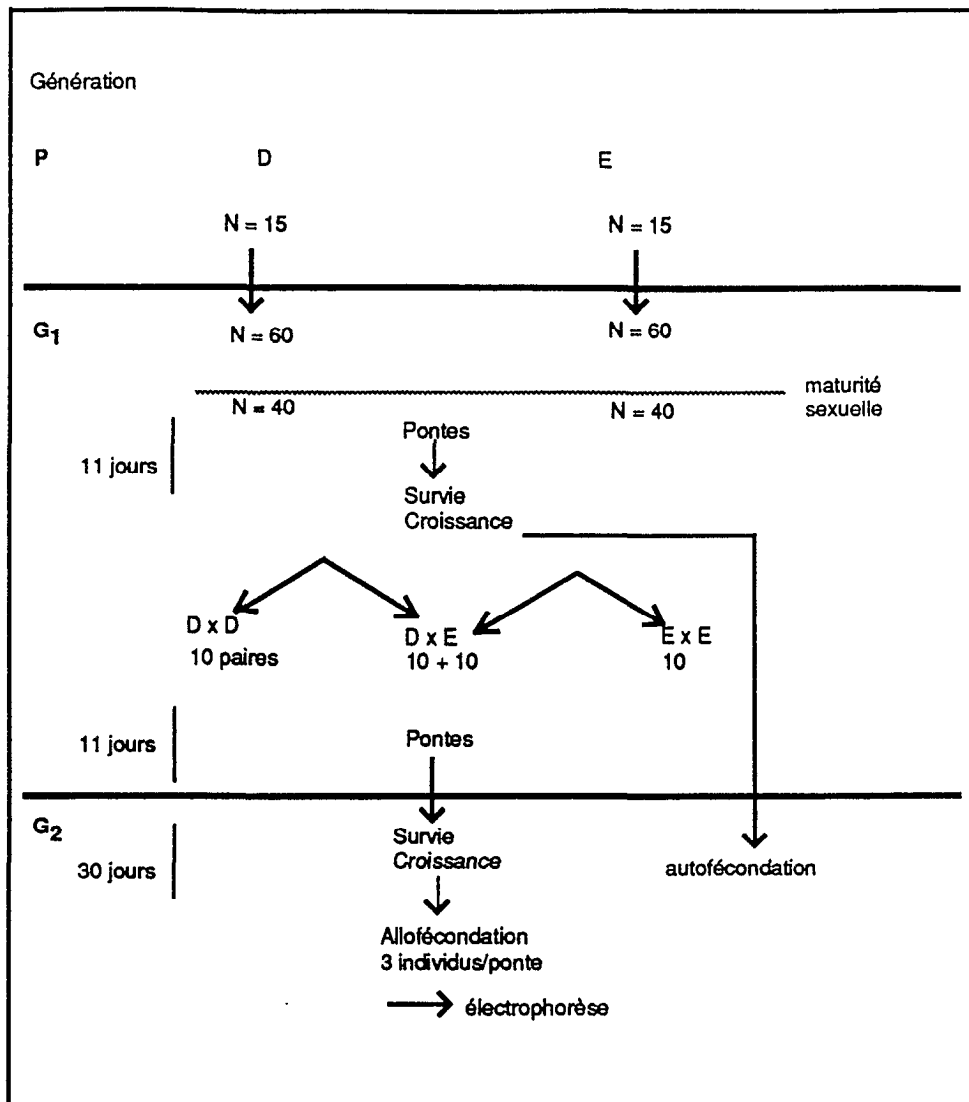
Les marqueurs électrophorétiques ont été utilisés pour tester si les individus "femelles" des couples mixtes se reproduisaient par allofécondation ou par autofécondation. Les individus d'Elevi sont tous homozygotes EST-2<sup>80</sup>, alors que ceux de Daikaina sont tous homozygotes EST-2<sup>100</sup> (cf. 2ème Partie). Les descendants issus du croisement devaient donc être tous hétérozygotes EST-2<sup>80/100</sup>. Pour chaque ponte isolée de ces "femelles", trois descendants âgés de 30 jours ont été tirés au hasard. Ces individus ainsi que leurs parents respectifs ont été analysés par électrophorèse pour leur génotype au locus EST-2. Lorsque les trois descendants d'une femelle se sont révélés provenir de reproduction par autofécondation, trois autres descendants ont été analysés pour vérifier ce résultat.

Nous avons utilisé l'analyse de variance (ANOVA) à un facteur pour tester l'homogénéité de taille (juste avant les croisements) entre les deux groupes d'individus  $G_1$ , et entre les deux sous-groupes de chaque population, ainsi que pour comparer le nombre de copulations femelles des quatre groupes d'individus, et le nombre total des copulations femelles des individus d'Elevi et des individus de Daikaina, indépendamment de l'origine du partenaire mâle. Les paramètres relevés avant les croisements (le nombre de pontes, le nombre d'oeufs, le temps d'incubation des pontes, la taille des jeunes  $G_2$ ) ont été comparés à l'aide d'une ANOVA à un facteur. Le taux d'éclosion des oeufs et la survie des descendants ont été analysés par une ANOVA adaptée à l'analyse du taux de survie (McCullagh & Nelder, 1983).

Les résultats électrophorétiques ont montré que parmi les couples mixtes, un individu Daikaina "femelle" et sept individus Elevi "femelle" se sont reproduits par autofécondation après les croisements. La suite des analyses a été réalisée à partir de cinq groupes (Daikaina/Daikaina, Elevi/Elevi, "mâle" Elevi/"femelle" Daikaina, "mâle" Daikaina/"femelle" Elevi et Elevi autofécondé). Les paramètres relevés après les croisements ont été analysés de la même manière que ceux relevés avant les croisements. Toutes les analyses ont été menées dans les conditions décrites par Sokal & Rohlf (1981). Les conditions d'utilisation de l'analyse de variance étaient généralement réunies.

La valeur sélective moyenne de chaque groupe ( $W$ ) a été estimée de la manière suivante:  $W = v.f$ ,  $v$  étant le rapport du nombre de descendants  $G_2$  encore vivants à 30 jours par le nombre d'oeufs que contenait la ponte, et  $f$ , le nombre d'oeufs pondus pendant les 11 jours. La dépression d'autofécondation (Jarne *et al.*, 1991) a été estimée de la façon suivante:  $d = 1 - (W_s/W_c)$ ,  $W_s$  et  $W_c$  étant respectivement les valeurs sélectives en autofécondation et en allofécondation.





**Figure 23**  
 Protocole expérimental. D = Daikaina; E = Elevi; P = parents sauvages; G<sub>1</sub> = première génération; G<sub>2</sub> = deuxième génération; N = nombre d'individus.

#### 4. Résultats

##### Autofécondation

Le nombre de pontes n'est pas significativement différent entre les deux populations alors que le nombre d'oeufs est plus élevé chez les individus d'Elevi (Tableau 20). Le taux d'éclosion et la survie avant 15 jours sont plus élevés chez les individus d'Elevi. En revanche, la survie à 30 jours et la taille à 15 jours sont plus élevées chez les individus de Daikaina. Les autres paramètres ne sont pas significativement différents.

##### Allofécondation

La taille (L) mesurée à 106 jours est significativement plus grande chez les individus de Daikaina (L = 12,2 mm) que chez ceux d'Elevi (L = 11,6 mm) ( $F_{1,39} = 7,55$ ). Cependant, elle n'est pas significativement différente entre les deux sous-groupes de Daikaina ( $F_{1,39} = 1,65$ ) et d'Elevi ( $F_{1,39} = 0,21$ ). Nous pouvons conclure à l'homogénéité des sous-groupes constitués.

Le nombre de copulations femelles n'est pas significativement différent entre les 4 groupes d'individus comparés (Tableau 21). En revanche, le nombre total des copulations femelles des individus de Daikaina est plus élevé que celui des individus d'Elevi alors que le nombre total de copulations mâles n'est pas significativement différent entre les deux populations (Tableau 22).

Un exemple de résultat d'électrophorèse montrant des parents homozygotes et leurs descendants homozygotes ou hétérozygotes au locus EST-2 est fourni à la Figure 24. L'analyse des descendants des couples mixtes a montré que 9 "femelles" Daikaina et 3 "femelles" Elevi se sont reproduites par allofécondation. Ces individus sont passés de l'autofécondation à l'allofécondation en moins de 6 jours, et ont conservé de l'allosperme pendant au moins 11 jours.

Tableau 20. Paramètres relevés pendant la phase de reproduction par autofécondation des individus de Daikaina et d'Elevi. Les moyennes sont données avec leur écart-type entre parenthèses. Les valeurs de F sont données avec leurs degrés de liberté entre parenthèse. NS = non significatif; \* =  $p < 0,1$ ; \*\* =  $p < 0,01$ ; \*\*\* =  $p < 0,001$ ; jrs = jours.

		DAIKAINA	ELEVI	Valeurs de F	
<b>Nombre de pontes</b>					
/individu/11 jrs		14, (2,02)	15,7 (1,77)	2,16 (1 & 79)	NS
<b>Nombre d'oeufs</b>					
/individu/11 jrs		197,7 (8,75)	228,5 (6,67)	4,84 (1 & 79)	*
<b>Temps d'incubation (jrs)</b>					
		7,7 (0,85)	7,8 (0,76)	0,26 (1 & 79)	NS
<b>Survie</b>					
	0 jrs	0,726 (0,454)	0,972 (0,205)	71 (1 & 79)	***
	8 jrs	0,772 (0,821)	0,867 (0,382)	6,15 (1 & 79)	*
	15 jrs	0,917 (0,343)	0,936 (0,332)	0,72 (1 & 79)	NS
	30 jrs	0,947 (0,299)	0,867 (0,428)	7,95 (1 & 79)	**
<b>Taille (mm)</b>					
	8 jrs	1,62 (0,49)	1,48 (0,47)	3,75 (1 & 39)	NS
	15 jrs	2,87 (0,74)	2,39 (0,74)	7,53 (1 & 39)	**
	30 jrs	4,66 (0,91)	4,25 (0,89)	2,52 (1 & 39)	NS

Les croisements ont abouti à l'allofécondation de presque tous les individus de Daikaina alors que peu d'individus d'Elevi se sont reproduits par allofécondation.

Tous les paramètres relevés après les croisements sont donnés au Tableau 23. La seule valeur significativement différente entre les cinq groupes comparés est le taux de survie, avec une survie à 15 jours très faible chez les individus de "mère" Daikaina et de "père" Elevi. Les valeurs sélectives sont données au tableau 24. Ces valeurs ne peuvent pas être comparées statistiquement. Cependant, elles sont toutes semblables, exceptée la valeur sélective des individus de Daikaina lorsqu'ils s'autofécondent. En effet, une forte dépression d'autofécondation ( $d = 0,39$ ) est observée dans la population de Daikaina, alors qu'elle est très faible dans celle d'Elevi ( $d = 0,04$ ).

**Tableau 21.** Nombre total de copulations femelles des individus en fonction de l'origine du partenaire mâle. Les valeurs moyennes correspondant à cinq jours d'observation sont données avec leur écart-type.  $F_{3,34} = 3,06$  (non-significatif).

	MALE	D	E
FEMELLE			
D		2,00 (0,66)	2,40 (1,26)
E		1,20 (1,03)	1,70 (0,48)

**Tableau 22.** Nombre total de copulations des individus de chaque population indépendamment de l'origine du partenaire. Les valeurs moyennes correspondant à cinq jours d'observation sont données avec leur écart-type entre parenthèse. Les valeurs de F sont données avec leurs degrés de liberté entre parenthèse. \* =  $p < 0,05$ ; NS = non-significatif.

	DAIKAINA	ELEVI	Valeurs de F	
Copulations femelles	2,20 (1.01)	1.45 (0.82)	6.65 (1 & 39)	*
Copulations mâles	2,00 (1,38)	1.65 (0.87)	0.92 (1 & 39)	NS

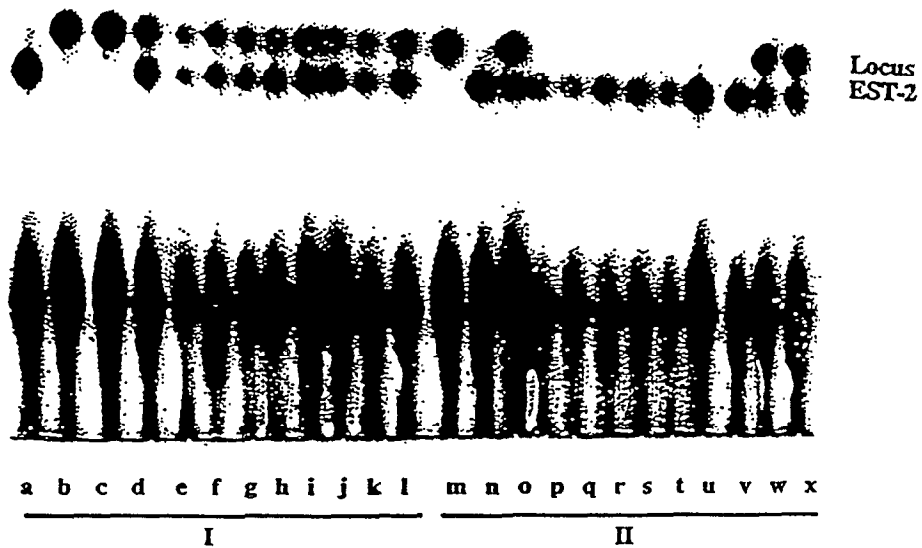


Figure 24

Résultat d'électrophorèse enzymatique montrant au locus EST-2, les phénotypes des parents et de leurs descendants issus de croisements entre individus d'Elevi et de Daikaina. I: croisements entre individus "mâle" Elevi et "femelle" Daikaina: a = parent E (EST-2<sup>80/80</sup>); b = parent D (EST-2<sup>100/100</sup>); c à l = descendants de dix différents couples; c (EST-2<sup>100/100</sup>) est produit par autofécondation alors que d à l (EST-2<sup>80/100</sup>) sont produits par allofécondation. II: croisements entre individus "mâle" Daikaina et "femelle" Elevi: m = parent D (EST-2<sup>100/100</sup>); n = parent E (EST-2<sup>80/80</sup>); o à x = descendants de 10 différents couples; o et x (EST-2<sup>80/100</sup>) ont été produits par allofécondation alors que p à v (EST-2<sup>80/80</sup>) ont été produits par autofécondation.

**Tableau 23.** Paramètres relevés après les croisements. D = Daikaina; E = Elevi; E (auto) = E autofécondé. Les moyennes sont données avec leur écart-type entre parenthèses. Les valeurs de F sont données avec leurs degrés de liberté entre parenthèses. NS = non-significatif; \*\*\* =  $p < 0,001$ .

MALE		D		E		Valeurs de F		
FEMELLE		D	E	D	E	E (auto)		
Nombre de pontes/ individu/11 jours		14,8 (1,93)	16,7 (2,34)	16,2 (1,75)	17,6 (1,91)	16,1 (1,62)	0,60 (4 & 38)	NS
Nombre d'oeufs/ individu/11 jours		247,0 (7,90)	173,3 (6,03)	281,3 (8,34)	241,1 (8,16)	275,3 (4,38)	2,26 (4 & 38)	NS
Temps d'incubation (jours)		7,7 (0,97)	8,0 (0,00)	7,6 (1,10)	7,9 (0,82)	7,8 (0,60)	0,65 (4 & 77)	NS
Survie	éclosion	0,826 (0,405)	0,995 (0,225)	0,821 (0,524)	0,936 (0,336)	0,930 (0,255)	2,73 (4 & 73)	NS
	8 jours	0,821 (0,367)	0,923 (0,321)	0,829 (0,344)	0,886 (0,333)	0,880 (0,322)	1,31 (4 & 73)	NS
	15 jours	0,957 (0,287)	0,966 (0,235)	0,812 (0,470)	0,913 (0,410)	0,994 (0,138)	6,65 (4 & 73)	***
	30 jours	0,971 (0,213)	0,982 (0,192)	0,941 (0,314)	0,898 (0,376)	0,904 (0,382)	2,37 (4 & 73)	NS
Taille (mm)	8 jours	1,53 (0,47)	1,52 (0,45)	1,53 (0,48)	1,51 (0,49)	1,47 (0,41)	0,21 (4 & 77)	NS
	15 jours	2,47 (0,59)	2,63 (0,59)	2,54 (0,63)	2,43 (0,62)	2,37 (0,63)	0,71 (4 & 76)	NS
	30 jours	3,86 (0,75)	4,61 (0,91)	4,12 (0,83)	4,03 (0,96)	3,79 (0,82)	1,63 (4 & 76)	NS

**Tableau 24.** Valeurs sélectives (W) pendant la phase d'autofécondation, et pendant les croisements entre individus de la même population et individus des deux populations.

	DAIKAINA (femelle)	ELEVI (femelle)
DAIKAINA (mâle)	155.61	150.51
ELEVI (mâle)	146.29	161.47
Autofécondation	92.92	155.39

## 5. Discussion et conclusion

Cette étude montre que le croisement entre individus de populations différentes n'aboutit pas forcément à l'allogécondation. Les individus "femelle" d'Elevi se sont reproduits en majorité par autofécondation après les croisements. Rappelons que ce faible taux d'allogécondation peut signifier un isolement reproducteur unilatéral lorsque les individus d'Elevi copulent comme femelle. Cependant, nos résultats montrent aussi que les individus de Daikaina ont une valeur sélective plus faible en autofécondation qu'en allogécondation alors que ceux d'Elevi ont à peu près la même valeur sélective sous les deux régimes de reproduction. Ce résultat suggère que la population d'Elevi se reproduit par autofécondation, ce qui expliquerait le faible taux d'allogécondation dans les couples mixtes lorsque les individus d'Elevi sont "femelles".

Des exemples d'isolement reproducteur entre populations éloignées géographiquement sont connus chez les Basommatophores (cf. Chapitre II). D'autre part, bien que la plupart des Basommatophores se reproduisent par allogécondation (Geraerts & Joosse, 1984), les

possibilités d'autofécondation ne peuvent pas être exclues dans certaines populations.

Si une population A se reproduit par allofécondation et une population B par autofécondation, un isolement reproducteur apparent serait observé lorsqu'on croise les deux populations.

Le premier argument en faveur de ce point de vue vient de l'étude de la dépression d'autofécondation. La valeur de  $d$  est élevée à Daikaina. Jarne *et al.* (1991) ont obtenu une valeur encore plus élevée, basée sur un plus grand nombre de paramètres. En revanche, la valeur de  $d$  est très faible chez les individus d'Elevi. Ces résultats suggèrent que l'allofécondation est de règle dans la population de Daikaina alors que la population d'Elevi se reproduirait au moins partiellement par autofécondation. Des expériences portant sur plusieurs générations chez les individus d'Elevi, et l'utilisation de marqueurs polymorphes sont nécessaires pour confirmer ce résultat. Malheureusement le polymorphisme enzymatique est faible à Elevi. Le locus EST-2 utilisé dans cette étude est monomorphe à Elevi (cf. 2<sup>ème</sup> Partie).

L'étude de la dépression d'autofécondation indique que l'allofécondation est de règle dans la population de Daikaina. Cette suggestion est confortée par les résultats de l'étude de la structure génétique des populations. En effet, l'équilibre de Hardy-Weinberg a été vérifié aux locus polymorphes à Daikaina, alors qu'un déficit en hétérozygotes a été obtenu à l'unique locus polymorphe à Elevi dans les échantillons de 1988 et de 1990 (cf. 2<sup>ème</sup> Partie). Plusieurs causes peuvent expliquer un déficit en hétérozygotes (Zouros & Foltz, 1984; Gaffney *et al.*, 1990). Cependant l'autofécondation semble être une cause majeure chez les Basommatophores, et a été avancée comme première explication du déficit en hétérozygotes (Bandoni *et al.*, 1990; Mimpfoundi & Greer, 1990) même si certaines alternatives telles que l'effet Wahlund ne peuvent pas être exclues (Bandoni *et al.*, 1990; Jarne & Delay, 1991).

Rappelons que le déficit en hétérozygotes n'a pas été observé en général chez *B. globosus* (Wright & Rollinson, 1979; Jelnes, 1986). De plus, l'étude des croisements entre individus de la même population à l'aide de marqueurs pigmentaires (Rudolph, 1983; Rudolph & Bailey, 1985) et l'étude de dépression d'autofécondation (Jarne *et al.*, 1991) ont suggéré que *B. globosus* se reproduisait principalement par allofécondation. Nos résultats montrent que l'autofécondation peut être sélectionnée dans certaines populations de *B. globosus*, et ce résultat pourrait être généralisé à d'autres Basommatophores (revue dans Jarne *et al.*, sous presse).

Les Basommatophores ont développés plusieurs caractéristiques qui limitent l'autofécondation (revue dans Jarne *et al.*, sous presse), dont un comportement copulatoire très actif (Rudolph, 1979; Duivenboden, 1984). Les copulations ont généralement lieu dès que les couples sont formés, surtout si les individus ont été préalablement isolés. Dans cette étude, les

individus d'Elevi ont moins copulé que ceux de Daikaina. Ce résultat pourrait être interprété comme un relâchement de l'activité copulatoire suite à la sélection de l'autofécondation. Cependant, cela peut aussi bien indiquer la variabilité de l'activité copulatoire entre deux populations comme c'est le cas pour d'autres caractères. Des analyses supplémentaires sont nécessaires pour vérifier si les différences observées proviennent d'un échantillonnage non représentatif des populations ou si elles traduisent des adaptations différentes des populations aux différentes conditions de milieux. Les résultats obtenus dans la deuxième partie de l'expérience (différences de succès des croisements) peuvent aussi être expliqués par une différence de comportement copulatoire. Les individus de Daikaina ont plus copulé comme femelle, et ceux d'Elevi comme mâle dans les couples mixtes. Rollinson *et al.* (1989) ont obtenu un résultat semblable chez *B. cernicus* en utilisant trois lignées marquées à un locus GPI. Les individus d'une lignée ont copulé beaucoup plus comme femelle alors que ceux des deux autres lignées copulaient beaucoup plus comme mâle. Cependant ces lignées ont été obtenues à la suite d'une sélection pour l'homozygotie au locus GPI. La sélection de ces allèles a probablement induit celle des autres locus impliqués dans le comportement copulatoire. D'autre part, Rollinson *et al.* (1989) n'ont pas mesuré la valeur sélective des individus des différentes lignées. Il n'est donc pas possible de savoir si l'autofécondation était sélectionnée dans les lignées qui copulaient davantage comme mâle. D'autre part, notre étude concerne deux populations différentes. Il est peu probable que l'aptitude à copuler comme femelle soit sélectionnée dans une population et que l'aptitude à copuler comme mâle le soit dans l'autre. Nos résultats sur les valeurs sélectives ont indiqué que l'autofécondation était sélectionnée dans la population d'Elevi et l'allofécondation dans celle de Daikaina.

Les individus de Daikaina ont pondu peu d'oeufs entre 95 et 106 jours d'âge. Cela s'est passé probablement ainsi avant 95 jours puisque les individus de Daikaina avaient débuté la ponte en moyenne 17 jours plus tard que ceux d'Elevi. D'autre part, les individus d'Elevi avaient une taille plus petite que celle de ceux de Daikaina à 106 jours. Ce résultat peut être interprété en termes de compensation entre l'allocation de ressources pour la reproduction et l'allocation de ressource pour la survie et la croissance (Stearns, 1976). Des résultats semblables ont été obtenus chez *Biomphalaria glabrata* lorsque les individus pigmentés et les individus albinos ont été comparés (Vianey-Liaud, 1989), chez *B. truncatus* entre aphalliques et euphalliques (Jarne *et al.*, 1992b) et chez *Lymnaea peregra* entre populations de différents environnements (Lam & Calow, 1989). Notons que la différence de taille entre individus de Daikaina et d'Elevi à 106 jours n'était que de 0,6 mm. Cette différence n'a probablement eu aucune influence sur les croisements. Vianey-Liaud (1990) a en effet montré chez *Biomphalaria glabrata* que les individus étaient capables de se

croiser et de se reproduire par allofécondation lorsque la différence de taille était élevée (11 mm contre 19 mm).

En définitive, notre étude ne montre pas clairement un isolement reproducteur entre les populations de Daikaina et d'Elevi. La raison majeure est que l'autofécondation, au moins partielle, pourrait être le système de reproduction dans la population d'Elevi. De plus, le fait que les croisements "femelle" Daikaina/"mâle" Elevi aient abouti à l'allofécondation indique qu'il n'y a probablement pas d'isolement reproducteur entre les deux populations.

#### CHAPITRE IV

### ETUDE DE LA REPRODUCTION CHEZ LES DESCENDANTS DE CROISEMENTS INTERPOPULATIONS

#### 1. Introduction

Nous avons montré que les descendants issus de couples mixtes entre *B. globosus* de Daikaina et d'Elevi avaient une survie et une croissance comparable à celles des descendants témoins issus de croisements entre couples d'individus Elevi/Elevi et Daikaina/Daikaina. D'autre part, les individus d'Elevi ont pondu précocement par rapport à ceux de Daikaina. Chez d'autres organismes, il a été montré que si les croisements entre individus de populations d'origines géographiques éloignées donnaient des descendants viables, la fertilité de ces derniers pouvait être très différente de celle des individus des populations d'origines (revue dans Dobzhansky & Pavlovsky, 1967). Le but de la présente étude a été d'évaluer les caractéristiques de la reproduction chez les individus "hybrides" Elevi/Daikaina, notamment la fertilité (pontes et oeufs produits) et l'âge de début de ponte.

#### 2. Protocole expérimental

Cette étude a été menée sur les descendants de deuxième génération (G<sub>2</sub>) issus des croisements entre couples d'individus Daikaina/Daikaina, Elevi/Elevi, Daikaina "mâle"/Elevi "femelle" et Elevi "mâle"/Daikaina "femelle". Ils ont été conservés après l'étude du taux de survie réalisée au Chapitre III. 20 individus vierges, âgés de 31 jours ont été échantillonnés

parmi les descendants de chacun des quatre groupes. Ils ont été isolés individuellement dans des boîtes de 150 ml. La date de naissance de chaque individu correspond à la date d'éclosion de la ponte qui a été relevée dans l'expérience du Chapitre III. Chez chaque individu isolé, l'âge de début de ponte, le nombre de pontes et le nombre d'oeufs produits par autofécondation les 30 premiers jours de pontes ont été relevés. Les descendants de couples mixtes ont été ensuite analysés par électrophorèse au locus EST-2, pour déterminer s'ils étaient effectivement "hybrides". L'âge de début des pontes, le nombre de pontes et le nombre d'oeufs ont été comparés entre les quatre groupes d'individus par le test de Kruskal-Wallis car les hypothèses de normalité des groupes et d'égalité des variances étaient rejetées (Sherrer, 1984). Quelques individus n'ayant pas pondu, les effectifs des groupes comparés étaient finalement de 17, 17, 18 et 20. Nous avons utilisés ensuite le test non-paramétrique de comparaisons multiples, adapté aux groupes à effectifs inégaux de Noether (1976), pour tester la différence de moyenne entre les groupes pris deux à deux (Sherrer, 1984).

### 3. Résultats

L'âge de début de ponte, le nombre de pontes et le nombre d'oeufs ont été significativement différents entre les quatre groupes d'individus (Tableau 25, A). Ces paramètres ont été ensuite comparés entre ces groupes pris deux à deux (Tableau 25, B):

- les individus de Daikaina ont pondu significativement plus tardivement que ceux des trois autres groupes. Les deux groupes d'individus "hybrides" ont alors débuté la ponte précocement, et à un âge comparable à celui des individus originaires d'Elevi,
- les individus originaires de Daikaina ont déposé un nombre de pontes significativement inférieur à celui des deux groupes d'"hybrides". En revanche, chez les individus originaires d'Elevi, le nombre de pontes a été significativement inférieur à celui des "hybrides" de père Elevi/mère Daikaina mais a été comparable à celui des "hybrides" de père Daikaina/mère Elevi. Le nombre de pontes n'a pas présenté de différence significative entre les autres paires de groupes,
- les individus de la souche de Daikaina ont produit significativement moins d'oeufs que les "hybrides" de père Elevi et de mère Daikaina. Le nombre d'oeufs n'a pas été significativement différent entre les autres paires de groupes.

**Tableau 25.** Etude de la reproduction chez les descendants "hybrides". **A:** Test d'homogénéité des moyennes des paramètres mesurés entre les quatre groupes d'individus. Les moyennes sont données avec leur écart-type entre parenthèses. D1 = Daikaina; D2 = "hybride" de mère Daikaina; E1 = Elevi; E2 = "hybride" de mère Elevi;  $H_{(3)}$  = valeur du khi carré du test de Kruskal-Wallis pour 3 degrés de liberté; Nb. = nombre; jrs = jours. **B:** test non-paramétrique de comparaisons multiples des paramètres précédents entre les mêmes groupes d'individus, pris deux à deux. a = âge de 1ère ponte; b = nombre de pontes; c = nombre d'oeufs. + et - désignent respectivement différence significative pour ( $\alpha = 0,05$ ) et différence non significative pour les paramètres a, b et c entre paires de groupes.

**A**

	D1	D2	E1	E2	$H_{(3)}$
Age de 1ère ponte (jrs)	64,7 (9,7)	49,1 (3,9)	48,2 (3,9)	52,0 (3,1)	39,7 ***
Nb. de pontes/30 jrs	25,1 (8,7)	36,2 (8,2)	32,3 (3,8)	37,8 (4,3)	24,6 ***
Nb. d'oeufs/30 jrs	278,8 (135,0)	408,4 (130,5)	332,3 (53,6)	367,1 (71,4)	10,9 **

**B**

	D2	E1	E2
D1	a + b + c +	a + b - c -	a + b + c -
D2		a - b - c -	a - b - c -
E1			a - b + c -

#### 4. Discussion et conclusion

Le premier résultat de cette étude concerne l'âge de début de ponte. Les individus de Daikaina débutent la ponte tardivement par rapport à ceux d'Elevi. Ce résultat obtenu sur les individus de deuxième génération de laboratoire confirme ce qui a été observé chez ceux de la première génération (cf. Chapitre III). L'âge de début de ponte chez les individus "hybrides" est de type précoce, et est comparable à celui des individus de la souche d'Elevi. Ce résultat suggère l'existence d'un contrôle génétique de l'âge de début de ponte avec une probable dominance du/des gène(s) déterminant la reproduction précoce. La reproduction précoce peut être considérée comme avantageuse dans les populations de bulins car la dynamique des populations dépend étroitement des conditions hydriques, la période de mise en eau pouvant être saisonnièrement très réduite (Brown, 1980; Cantrell, 1981). La reproduction précoce chez les hôtes intermédiaires de parasites est aussi considérée comme faisant partie de mécanismes d'adaptation au parasitisme car elle leur permet de développer une descendance avant une éventuelle castration parasitaire (Minchella, 1985; Ruiz, 1991).

Le deuxième résultat concerne la fertilité des individus. Les "hybrides" ont eu un nombre de pontes et un nombre d'oeufs globalement supérieurs à ceux des individus témoins des populations de Daikaina et d'Elevi. Ce résultat reflète probablement l'effet hétérosis ou vigueur "hybride" qui peut être observé lorsqu'on croise deux races géographiques ou deux espèces différentes et se traduit par une augmentation de la survie, de la croissance et de la fertilité de ces "hybrides" (Shull, 1914). Deux principales hypothèses ont été avancées pour expliquer l'effet hétérosis: il pourrait résulter soit d'une combinaison fortuite de quelques "bons gènes", soit de l'hétérozygotie (Falconer, 1981). L'hétérozygotie se manifeste par le mécanisme de la dominance ou de la superdominance. L'hypothèse de dominance considère l'hétérosis comme l'inverse de la dépression de consanguinité. En effet, chez l'hybride peu de gènes récessifs se retrouvent à l'état homozygotes (Castle, 1906). L'hypothèse de superdominance est basée sur la supériorité des génotypes hétérozygotes réalisés chez l'hybride par rapport aux génotypes homozygotes respectifs des parents (Shull, 1914; Dobzhansky, 1952). Une corrélation positive entre le niveau d'hétérozygotie et la valeur sélective (fertilité et viabilité) des individus a été observée chez certains organismes, variant parfois avec le stade de développement, mais elle a été absente chez d'autres, ce qui suggère que l'hétérosis ne dépend pas uniquement du niveau d'hétérozygotie (Mitton & Grant, 1984; Zouros & Foltz, 1987). Il n'est pas facile de mettre en évidence l'importance relative des différentes hypothèses. D'après Mitton & Grant (1984), environ 70 à 80% des effets de l'hétérosis sont dus à l'hétérozygotie, 15 à 20%, dus aux combinaisons spécifiques de gènes et le

reste, à des causes non décelables. Le croisement entre des individus originaires de différentes races géographiques n'aboutit pas forcément à une augmentation de la valeur sélective des "hybrides". Dans certains cas, une dépression due à la non compatibilité des génomes chez des races géographiques a été observée (Dobzhansky & Pavlovsky, 1967; Vrijenhoek, 1985).

Les descendants des croisements entre *B. globosus* de Daikaina et d'Elevi se sont reproduits précocement et ont eu une fertilité supérieure à celle des descendants témoins des deux populations.



**QUATRIEME PARTIE**

**GENETIQUE DE LA SUSCEPTIBILITE  
CHEZ *B. TRUNCATUS* ET *B. GLOBOSUS***



## CHAPITRE I

### TECHNIQUES D'INFESTATION DES MOLLUSQUES AU LABORATOIRE

Les oeufs de *Schistosoma haematobium* filtrés d'urines de bilharziens ont été reçus de Côte d'Ivoire, sur de petites lamelles de filtre de nytrel baignant dans du liquide physiologique. Ils ont été transférés dans un cristalliseur contenant de l'eau de source et ont été exposés à une lumière artificielle. L'éclosion est induite par le double choc osmotique et thermique. Les jeunes bulins de 2 à 4 mm de taille ont été individuellement mis en contact avec un lot de 5 miracidiums, dans des cupules de Dispo-Trays pendant 4 heures à 26°C.

## CHAPITRE II

### SUSCEPTIBILITE DES "HYBRIDES" INTERPOPULATIONS DE *B. GLOBOSUS* A *S. HAEMATOBIIUM*

#### 1. Introduction

La variabilité géographique de la susceptibilité des mollusques aux schistosomes est connue depuis fort longtemps (Cram, 1953). De nombreuses études récentes ont mis en évidence une forte adaptation des schistosomes aux mollusques locaux par rapport aux mollusques originaires de populations allopatriques (Wright, 1977; Mutani *et al.*, 1983; Wright & Rollinson, 1984; Xia, 1990; Vera, 1991). Cette présence de populations de mollusques susceptibles et de populations de mollusques résistants aux schistosomes est intéressante parce qu'il semble possible *a priori* d'introduire des mollusques résistants dans une population de mollusques sensibles (Hubendick, 1958; Richards, 1970; Woodruff, 1978). De plus, Richards & Merritt (1972) et Richards (1973, 1975) ont montré que la susceptibilité des mollusques aux schistosomes avait un

déterminisme génétique d'où l'éventualité de transfert de gène de résistance aux schistosomes d'une population à une autre par croisement entre individus résistants et individus susceptibles. Cependant, malgré l'avantage que les individus résistants ont d'échapper aux pressions parasitaires, le gène de résistance n'est pas fixé dans les populations de mollusques. Il y aurait donc un désavantage sélectif lié à la résistance (coût de la résistance) du mollusque (Wright, 1971). Cette hypothèse a été testée par Minchella & Loverde (1983). Ces auteurs ont alors montré qu'en présence de *Schistosoma mansoni* et des *Biomphalaria glabrata* susceptibles, les *B. glabrata* résistants accusaient une baisse considérable de la reproduction (nombre d'oeufs produits). Plusieurs études préliminaires doivent donc être menées au laboratoire avant une éventuelle introduction de mollusques résistants. En particulier: (i) si les deux populations de mollusques mises en contact présentent une incompatibilité reproductrice, elles ne pourront pas former une seule population. Toutefois, les mollusques résistants introduits pourraient être capables d'éliminer les mollusques locaux par compétition et s'adapter au nouveau biotope. (ii) Si les individus des deux populations échangent des gènes, les gènes de résistance pourraient introgresser le génome des individus susceptibles et la population hybride pourrait s'adapter aux conditions du milieu. Il est donc nécessaire dans un premier temps de tester la possibilité de croisements entre individus des deux populations, et la susceptibilité des "hybrides" au parasite.

Dans le modèle *Biomphalaria glabrata*/*S. mansoni*, Richards (1973) a montré à partir de souches de parasites et de mollusques sélectionnées au laboratoire, que chez les individus susceptibles à l'état juvénile, la résistance à l'état adulte était déterminée par un seul gène dominant. En revanche, la susceptibilité à l'état juvénile a un déterminisme complexe, dépendant d'au moins quatre groupes de gènes. Nous ne connaissons aucune étude portant sur le déterminisme génétique de la susceptibilité des mollusques dans le modèle bulins/schistosomes. Chez *B. globosus*, nous avons montré que le croisement entre individus originaires de populations éloignées géographiquement, caractérisés par des locus diagnostiques, aboutissait à une descendance "hybride" ayant une survie et une croissance comparable à celle des descendants des populations parentes (cf. 3<sup>ème</sup> Partie, Chapitre III). De plus, leur fertilité était meilleure que celle des populations parentes (cf. 3<sup>ème</sup> Partie, Chapitre IV). Le but de la présente étude a été d'évaluer la susceptibilité des descendants "hybrides" issus de croisements entre individus originaires de deux populations présentant une différence élevée de niveau de susceptibilité à *S. haematobium*.

## 2. Matériel biologique

Nous avons utilisé les populations de *B. globosus* de Daikaina (Niger) et d'Akakronzipris (Côte d'Ivoire) pour plusieurs raisons:

- la population de *B. globosus* de Daikaina est très faiblement susceptible à *S. haematobium* du Niger et d'autres origines (Vera, 1991) alors que celle d'Akakronzipris est très susceptible à *S. haematobium* du Sud de la Côte d'Ivoire (NGoran, comm. pers.),

- les deux populations de *B. globosus* peuvent être caractérisées par deux locus diagnostiques EST-2 et PGM-1 (cf. 2<sup>ème</sup> Partie). Leurs descendants "hybrides" seront alors hétérozygotes à ces deux locus.

La population de *S. haematobium* utilisée est sympatrique à *B. globosus* d'Akakronzipris. Les oeufs de schistosomes ont été obtenus à partir d'urines de onze malades prélevées à Akakronzipris par E. K. Ngoran (CEMV de Bouaké).

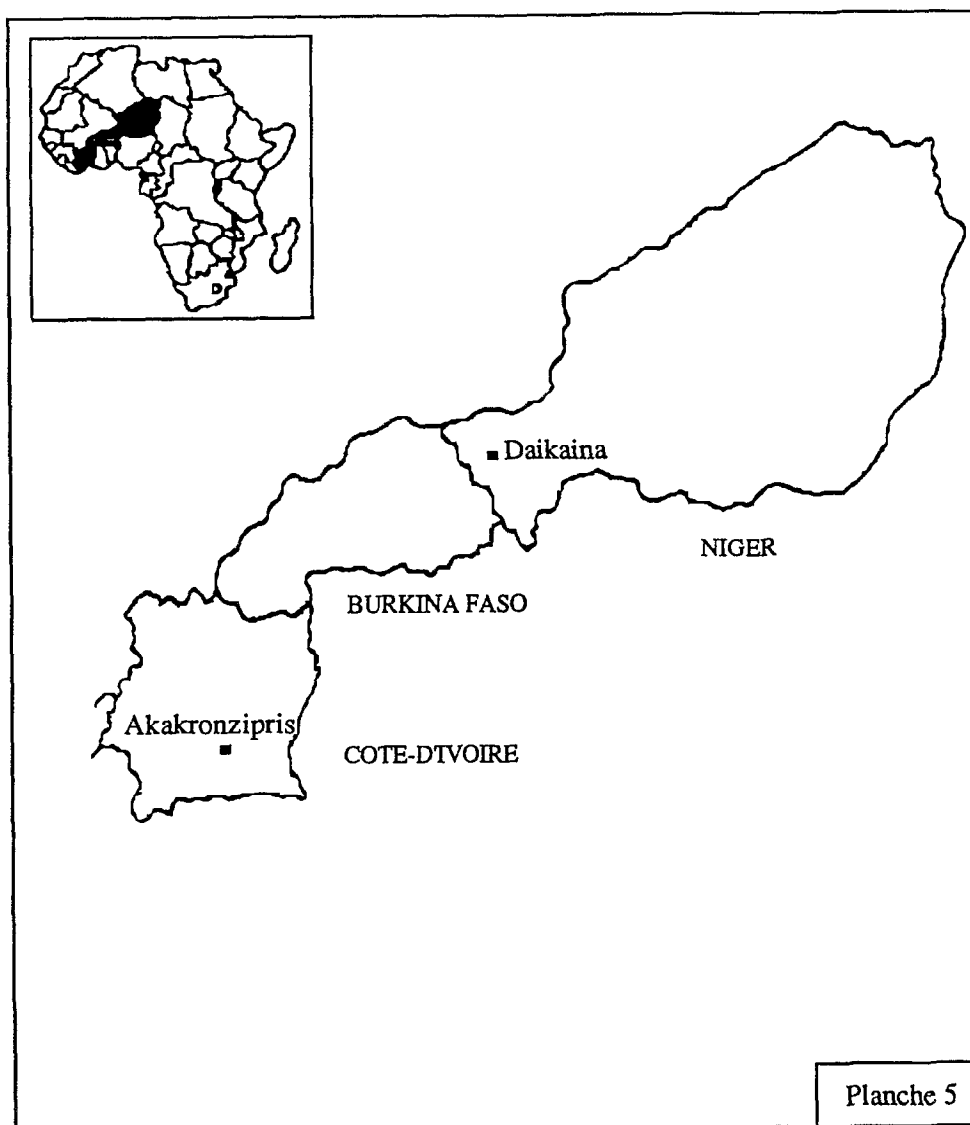
### 3. Protocole expérimental

Les parents sauvages étaient constitués de deux lots de mollusques comprenant 21 individus d'Akakronzipris (A) et 30 individus de Daikaina (D), tous récoltés en Mars 1991. Ces mollusques ont été isolés dans des boîtes de 150ml. Une ponte a été récoltée par individu et a été incubée individuellement. Les jeunes éclos ont été élevés dans les mêmes boîtes jusqu'à l'âge de 15 jours. 2 à 3 individus par ponte ont été tirés au hasard pour constituer deux lots de 60 descendants A et de 60 descendants D. Ces individus de première génération (G<sub>1</sub>) encore vierges ont été isolés individuellement dans des boîtes de 150ml et ont été élevés jusqu'à maturité sexuelle. L'âge de début de la ponte par autofécondation de ces individus a été noté.

A 120 jours, la plupart des mollusques étaient sexuellement murs. Parmi ces derniers, 40 individus A et 40 individus D ont été tirés au hasard dans chaque lot pour la suite de l'expérience. Parmi les 40 individus A, 20 individus ont été tirés au hasard pour constituer 10 couples A/A. Le même protocole a été suivi à partir des 40 individus D pour constituer 10 couples D/D. 20 couples A/D (couples mixtes) ont été constitués à partir des individus restants. Pendant cinq jours, les copulations femelles des individus ont été relevées cinq fois par jour, toutes les deux heures. Tous les individus ont ensuite été isolés. Deux pontes ont été prélevées par individu, et ont été incubées séparément jusqu'à l'éclosion des jeunes de deuxième génération (G<sub>2</sub>).

A 15 jours, deux individus ont été tirés au hasard parmi les descendants G<sub>2</sub> issus de chaque ponte des couples mixtes et analysés par électrophorèse pour les locus EST-2 et PGM-1. Cette étude avait pour but de vérifier si les descendants des couples mixtes étaient effectivement

"hybrides" et possédaient alors les allèles des deux populations. Le cas échéant, les descendants étaient éliminés.



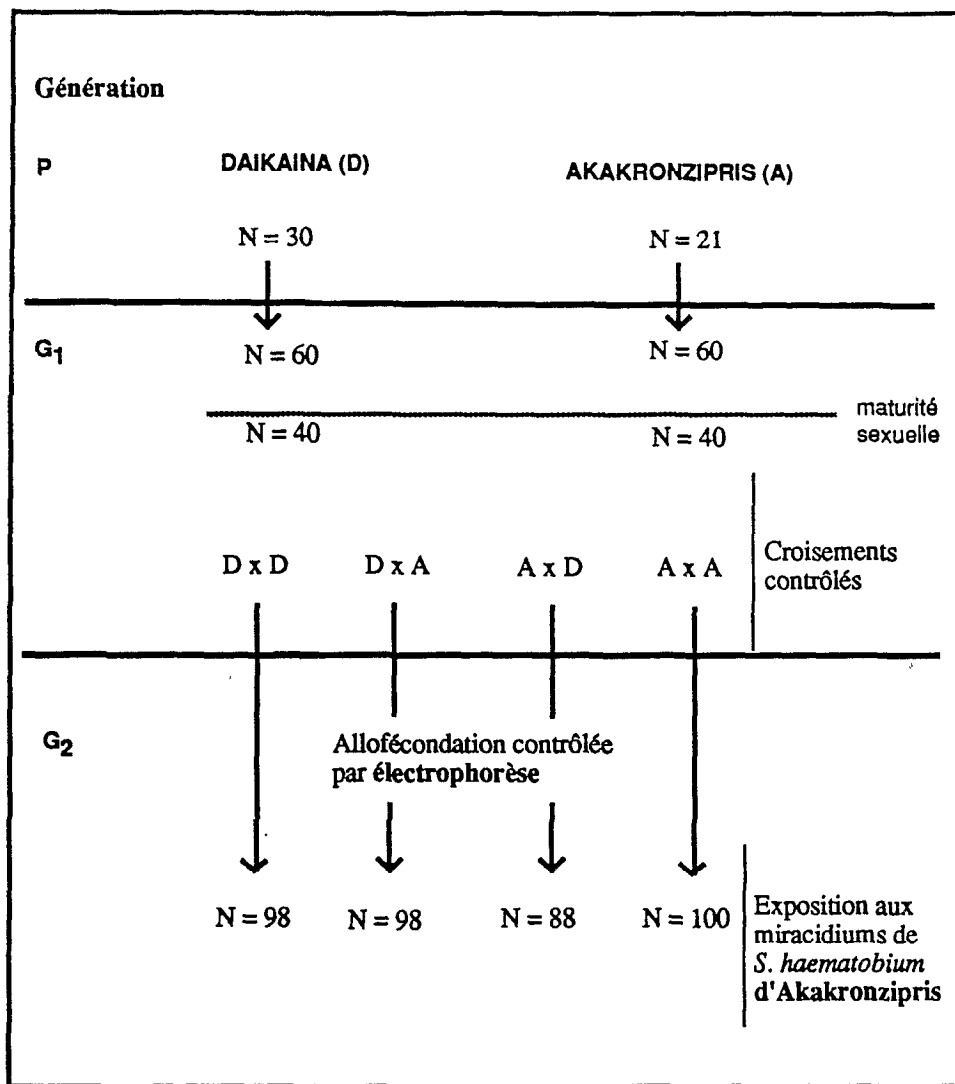


Figure 25

Protocole expérimental. D = Daikaina; E = Elevi; P = parents sauvages; G<sub>1</sub> = première génération; G<sub>2</sub> = deuxième génération; N = nombre d'individus.

Après ce contrôle, les descendants retenus des 4 groupes de "mères" ont été exposés aux miracidiums de *S. haematobium*: 4 à 8 descendants par "mère", de taille 2 à 4 mm ont été exposés individuellement à la dose de 5 miracidiums par mollusque.

A partir du 30<sup>ème</sup> jour post-infestation, les mollusques ont été contrôlés individuellement pour l'émission de cercaires et ce jusqu'au 60<sup>ème</sup> jour. Le taux de susceptibilité des descendants d'une mère représente le rapport du nombre de descendants parasités, par le nombre de descendants exposés survivants. La durée de la période prépatente chez les individus a été notée. Elle représente l'intervalle de temps qui sépare la date d'exposition des mollusques et la date de première émission cercarienne.

L'âge de début de la ponte a été comparé chez les individus  $G_1$  par une analyse de variance à un facteur. Le nombre de copulations femelles des individus "mères", la durée de la période prépatente et le taux de susceptibilité des descendants  $G_2$  ont été comparés entre les groupes par le test de Kruskal-Wallis. En cas de non homogénéité des groupes, le test non-paramétrique de comparaisons multiples de Noether (1976) a été utilisé pour déterminer les paires de groupes qui différaient significativement pour les variables comparées.

#### 4. Résultats

L'âge de début de ponte n'est pas significativement différent entre les individus de Daikaina (72,2 jours) et ceux d'Akakronzipris (78,3 jours) ( $F_{1,113} = 0,89$ ).

Le tableau 26 indique le nombre de "mères" isolées, et le nombre de "mères" retenues après la ponte et le contrôle de l'allofécondation. Le nombre de descendants exposés aux miracidiums, survivants et survivants parasités pour chaque mère est donné au tableau 27.

Le nombre de copulations femelles des parents, la durée de la période prépatente et le taux de susceptibilité des descendants sont significativement différents entre les quatre groupes (Tableau 28 A). Les groupes ont été ensuite comparés deux à deux (Tableau 28 B):

- le nombre de copulations femelles des individus D dans les couples D/D est significativement supérieur à celui des individus A dans les couples A/A et A/D,
- la durée de la période prépatente chez les descendants des couples D/D est significativement supérieure à celle qui est observée chez les descendants des couples A/A et des couples A "femelle"/D "mâle",
- les descendants des couples D/D sont très significativement moins susceptibles que les descendants des couples A/A et les "hybrides" de mère A ( $p < 0,001$ ). Les "hybrides" de mère D sont significativement moins

susceptibles que les descendants A/A ( $p < 0,01$ ) et les "hybrides" de mère A.

Nous avons considéré ensuite les deux catégories de "mâles" et nous avons tester si le taux de susceptibilité des descendants dépendait de l'origine de l'individu "mère". La valeur obtenue du  $X^2$  (9,19; ddl = 1) est significative ( $p = 0,002$ ), indiquant un effet de l'origine de l'individu femelle sur le taux de susceptibilité des descendants.

**Tableau 26.** Nombre d'individus "mères" retenus à chaque phase de l'expérience. 1 = mère D issue de couple D/D; 2 = mère A issue de couple A/D; 3 = mère D issue de couple D/A; 4 = mère A issue de couple A/A.

Mère	Nombre d'individus:		
	isolés	ayant pondu	allofécondés
1	20	19	19
2	20	14	11
3	20	15	14
4	20	18	18

**Tableau 27.** Résultat de l'exposition des quatre groupes de descendants aux miracidiums de *S. haematobium*. 1 = descendants issus des croisements D/D; 2 = descendants "hybrides" de mère A; 3 = descendants "hybrides" de mère D; 4 = descendants issus des croisements A/A; N<sub>i</sub>, N<sub>s</sub> et N<sub>p</sub> signifient respectivement nombre de descendants exposés, nombre de survivants et nombre de survivants parasités.

Mère	1			2			3			4		
	N <sub>i</sub>	N <sub>s</sub>	N <sub>p</sub>	N <sub>i</sub>	N <sub>s</sub>	N <sub>p</sub>	N <sub>i</sub>	N <sub>s</sub>	N <sub>p</sub>	N <sub>i</sub>	N <sub>s</sub>	N <sub>p</sub>
1	6	6	0	8	6	6	7	7	0	5	5	4
2	5	5	0	8	8	6	7	7	1	5	5	3
3	5	5	0	8	8	5	7	4	0	5	4	4
4	5	5	0	8	5	4	7	7	4	5	5	5
5	5	5	0	8	7	6	7	4	3	5	5	5
6	5	5	1	8	7	3	7	7	3	5	5	4
7	5	5	0	8	7	6	6	6	0	5	5	5
8	6	6	0	8	3	1	7	7	2	5	5	3
9	5	5	2	8	7	3	8	8	3	7	7	3
10	6	6	0	8	8	4	7	7	0	6	6	3
11	5	5	0	8	8	5	7	7	0	6	6	5
12	5	5	0				7	7	1	6	6	3
13	5	5	0				7	7	0	6	6	1
14	5	4	1				7	7	3	6	6	3
15	5	5	0							6	6	3
16	5	5	0							6	6	2
17	5	5	0							6	6	1
18	5	5	0							6	6	5
19	5	5	0									
<b>Total</b>	<b>98</b>	<b>97</b>	<b>4</b>	<b>88</b>	<b>74</b>	<b>49</b>	<b>98</b>	<b>92</b>	<b>20</b>	<b>100</b>	<b>99</b>	<b>62</b>

**Tableau 28.** Copulations femelles des parents, durée de la période prépatente et taux d'infestation des descendants. **A:** Test d'homogénéité des groupes. A = Akakronzipris; D = Daikaina;  $H(3)$  = khi carré du test de Kruskal-Wallis; \*\* =  $p < 0,01$ ; \*\*\* =  $p < 0,001$ . **B:** Test non-paramétrique de comparaisons multiples sur le taux de susceptibilité des descendants. Les groupes (1, 2, 3 et 4) peuvent être identifiés à partir du Tableau 28 A. - = différence non-significative; + =  $p < 0,05$ ; + + =  $p < 0,01$ ; + + + =  $p < 0,001$ .

**A**

Mâle Femelle Groupes	D		A		$H(3)$
	1	2	3	4	
Copulations femelles	2,5 (1,14)	1,8 (0,89)	1,45 (0,68)	1,65 (1,08)	14,44 **
Période prépatente (jours)	42,5 (1,00)	40,3 (4,67)	38,8 (1,73)	38,5 (2,96)	29,24 ***
Taux de susceptibilité	0,045 (0,112)	0,655 (0,216)	0,224 (0,246)	0,648 (0,275)	40,25 ***

**B**

	2	3	4
1	+ + +	-	+ + +
2		+	-
3			+ +

## 5. Discussion et conclusion

Nos résultats montrent que l'âge de début de ponte ne diffère pas significativement entre les individus de Daikaina et d'Akakronzipris. La valeur obtenue pour les individus de Daikaina est légèrement supérieure à celle qui a été observée pour la même population dans l'expérience du Chapitre IV de la 3<sup>ème</sup> Partie. Cette différence peut provenir du fait qu'il s'agit de différents échantillons récoltés à intervalle d'un an. De plus, les effectifs (18 et 46) de ces échantillons sont très différents.

Les individus D copulent plus comme femelle que les individus A. Un résultat semblable avait été obtenu lorsque les individus de Daikaina avaient été croisés à ceux d'Elevi. L'intérêt de ce résultat a été discuté au Chapitre III de la 3<sup>ème</sup> Partie.

La durée de la période prépatente est plus grande chez les individus de Daikaina. Ce résultat peut être interprété comme une mauvaise compatibilité des individus de Daikaina en accord avec Frandsen (1979), Southgate *et al.* (1980) et Minchella & Loverde (1985) qui considèrent qu'une courte période prépatente est l'indice d'une bonne compatibilité du système hôte-parasite. Cependant, Touassem & Jourdane (1986) ont montré que la durée de la période prépatente pouvait présenter des variations en fonction des facteurs abiotiques sans aucun rapport avec la compatibilité.

La réussite du cycle parasitaire chez le mollusque est la résultante de la susceptibilité du mollusque et de l'infectivité du parasite (Wright, 1971; Combes, 1985). Dans notre cas, les quatre groupes de mollusques ayant été infestés par la même population de *S. haematobium*, nous interprétons le succès de l'infestation en terme de susceptibilité du mollusque.

65% de descendants issus des croisements A/A ont été susceptibles à leur population locale de *S. haematobium*. Ce niveau de susceptibilité est voisin du taux 71% obtenu par Ngoran (comm. pers.) chez la même population d'hôte et de parasite. En revanche, les descendants des couples D/D ont présenté un très faible taux de susceptibilité à *S. haematobium* d'Akakronzipris. Des résultats comparables ont déjà été obtenus lorsque *B. globosus* de Daikaina a été confronté à *S. haematobium* de trois localités au Niger: Kourfin Koura (7,7%), Damou Kaodi (0%) (Vera, 1991) et Bangario (0%) (Njiokou, données non publiées) et une localité de Côte d'Ivoire, Mopé (0%) (Véra, 1991). L'ensemble de ces données confirme une faible susceptibilité des individus de Daikaina à plusieurs populations de *S. haematobium*. Des descendants "hybrides" de mère A ou de mère D sont susceptibles au parasite. Lorsque l'individu mère est originaire de la population A, les descendants ont un taux élevé de susceptibilité. Les "hybrides" de "mère" D ont un taux de susceptibilité plus élevé que celui des descendants de couples D/D mais la différence n'est

pas significative. L'ensemble de ces observations ne conduit pas à une interprétation génétique simple. Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de ce type de résultats. En effet, les taux de susceptibilité des individus de Daikaina et d'Akakronzipris suggèrent l'existence d'un polymorphisme des gènes responsables de la susceptibilité dans les deux populations. Les croisements ont donc été réalisés entre des individus qui n'étaient pas tous homozygotes pour les gènes étudiés. De plus, Richards & Merritt (1972) ont montré dans le cas du couple *Biomphalaria glabrata*/*S. mansoni* que la susceptibilité des individus à l'état juvéniles dépendait d'un système multigénique, des individus même résistants pouvant porter des facteurs de susceptibilité. Ainsi, chez des individus sélectionnés et dont la descendance par autofécondation était à 100% résistante, les descendants issus de leurs croisements pouvaient présenter des individus susceptibles. Si un tel déterminisme existe chez *B. globosus*, de tels résultats peuvent être attendus.

Notons qu'un effet de l'origine de l'individu mère sur le succès de l'infestation des descendants a été observé. En effet, les descendants "hybrides" ont eu un taux de susceptibilité globalement comparable à celui des descendants de même origine que leur mère. Ce résultat suggère l'existence d'un déterminisme de type cytoplasmique, par exemple, mitochondrial.

L'ensemble de ces résultats montrent qu'il n'est pas facile de prévoir l'évolution des gènes de résistance en cas d'introduction de mollusques résistants dans des populations de mollusques susceptibles. Il semble en effet que le parasite soit capable d'infester des mollusques "hybrides". Un autre résultat à l'avantage du parasite concerne l'âge de début de ponte. En effet, les croisements entre individus de Daikaina et d'Elevi ont montré que le gène de reproduction précoce était dominant chez les mollusques "hybrides" (cf. Chapitre IV de la 3<sup>ème</sup> Partie). La reproduction précoce des hôtes intermédiaires est avantageuse pour le parasite puisqu'elle permet le maintien des individus susceptibles.

### CHAPITRE III

## ANALYSE COMPAREE DE LA SUSCEPTIBILITE DE *B. TRUNCATUS* A *S. HAEMATOBIIUM*

### 1. Introduction

L'étude de la structure génétique a montré que les populations de *B. truncatus* de Côte d'Ivoire peuvent être caractérisées par leur phénotype au locus NP-1. Certaines populations ont fixé le phénotype à une bande, d'autres le phénotype à trois bandes et d'autres enfin possèdent les deux phénotypes (cf. 2<sup>ème</sup> Partie). Rappelons qu'aucun individu à phénotype intermédiaire n'a été observé dans les populations mixtes, ce qui suggère l'existence de deux sous-populations. La population de *B. truncatus* de Ferkessédougou possède les deux phénotypes. D'autre part, le rôle de ces bulins dans la transmission de la population locale de *S. haematobium* a été mis en évidence par l'observation des individus parasités naturellement (Sonon, 1987) et par l'infestation expérimentale des individus (Ngoran, comm. pers.). La présente étude a été menée dans le but d'évaluer la susceptibilité des deux sous-populations à *S. haematobium*.

## 2. Matériel biologique

Les deux types d'individus de la population de *B. truncatus* de Ferkessédougou ont été séparés dès la première génération et ont été maintenus pendant un an au laboratoire avant l'expérience.

La population de *S. haematobium* utilisée est originaire de Natio, et est supposée être la même que celle de Ferkessédougou, ville voisine appartenant au même système épidémiologique. Les oeufs de *S. haematobium* ont été obtenus à partir d'urines de 11 malades prélevés par K. E. Ngoran en Septembre 1991.

## 3. Protocole expérimental

Douze bulins jeunes et vierges (parents) tirés au hasard par population ont été isolés dans des boîtes de 150 ml. Ils ont été élevés jusqu'à maturité sexuelle. Deux pontes ont été récoltées par parent et incubées individuellement. Les parents ont été étudiés par électrophorèse pour confirmer leur phénotype au locus NP-1. Les descendants par autofécondation conservent le phénotype parental (cf. 3<sup>ème</sup> Partie, Chapitre II). Après éclosion, les descendants ont été élevés dans des boîtes de 150 ml. 4 à 6 descendants de 2 à 4 mm de taille par parent ont été exposés individuellement aux miracidiums à la dose de 5 miracidiums par mollusque. Les descendants de chaque parent ont été élevés ensemble. A partir du 30<sup>ème</sup> jour post-infestation, les mollusques ont été individuellement contrôlés pour l'émission de cercaires jusqu'au 60<sup>ème</sup> jour. Le nombre de descendants émettant des cercaires par parent et la durée de la période prépatente chez ces descendants ont été notés. La proportion de descendants parasités par parent a été comparée entre les

deux sous-groupes par une ANOVA adaptée à l'analyse des fréquences (McCullagh & Nelder, 1983). La durée de la période prépatente du parasite chez les individus a été comparée dans les deux groupes par une ANOVA à un facteur.

#### 4. Résultats

Le détail du nombre d'individus exposés, survivants, et survivants parasités par sous-population est fourni au Tableau 29. Le taux de descendants parasités par parent est significativement plus élevé dans le sous-groupe présentant le phénotype à trois bandes que dans l'autre sous-groupe (Tableau 30). La durée de la période prépatente n'est pas significativement différente entre les deux sous-populations (Tableau 30).

#### 5. Discussion et conclusion

Les deux sous-populations de *B. truncatus* ont présenté des individus susceptibles à *S. haematobium*. Le taux moyen de susceptibilité des deux phénotypes qui est de 53% est voisin de la valeur 44% obtenue par Ngoran (comm. pers.). Cependant, la sous-population caractérisée par le phénotype à trois bandes a été significativement plus susceptible que l'autre sous-population, ce qui suggère un rôle plus important dans la transmission de la schistosomiase. Nous devons cependant mentionner que la production cercarienne n'a pas été évaluée. En effet, un faible taux de mollusques susceptibles peut être compensé par une production cercarienne élevée (Frandsen, 1979; Mutani *et al*, 1983). D'autre part, les individus ayant été élevés pendant un an au laboratoire, les fréquences d'individus susceptibles ou d'individus résistants au parasite ont pu présenter des divergences par rapport à celles de l'échantillon d'origine. Une étude portant sur des individus de première génération de laboratoire, et associant la production cercarienne des individus parasités est nécessaire pour vérifier ce résultat.

La durée de la période prépatente est comparable entre les deux sous-populations. Cette notion a été discutée au Chapitre II.

**Tableau 29.** Tableau de données sur l'exposition des descendants des deux sous-populations de *B. truncatus* aux miracidiums de *S. haematobium*. NP (1) = phénotype à une bande; NP (3) = phénotype à trois bandes.  $N_i$ ,  $N_s$  et  $N_p$  représentent les nombres de descendants infestés, de survivants, et de survivants parasités respectivement.

NP (1)				NP (3)			
Parent	$N_i$	$N_s$	$N_p$	Parent	$N_i$	$N_s$	$N_p$
1	6	6	4	1	5	0	?
2	4	0	?	2	5	5	4
3	6	6	2	3	5	5	2
4	5	5	1	4	5	4	3
5	4	4	0	5	5	1	1
6	6	5	0	6	5	5	4
7	5	5	1	7	5	5	5
8	3	3	2	8	5	0	?
9	4	4	1	9	5	0	?
10	4	4	2	10	5	5	3
11	6	6	2	11	5	5	4
12	5	5	2	12	5	4	4
<b>Total</b>	<b>58</b>	<b>53</b>	<b>17</b>		<b>60</b>	<b>39</b>	<b>30</b>

**Tableau 30.** Susceptibilité des deux sous-populations de *B. truncatus* à *S. haematobium*. NP (1) = phénotype à une et NP (3) = phénotype à trois bandes. Les moyennes sont données avec leur écart-type entre parenthèses; Les valeurs de F sont données avec leur degré de liberté entre parenthèses. NS = non-significatif; \*\*\* =  $p < 0,001$ .

	NP (1)	NP (3)	Valeurs de F	
Taux de susceptibilité	0,320 (0,226)	0,769 (0,201)	15,31 (1 & 18)	***
Période prépatente (jours)	39,4 (2,6)	40,4 (3,6)	1,01 (1 & 46)	NS

Quelques études ont montré que des mollusques résistants et des mollusques susceptibles à une souche de schistosome donnée pouvaient être caractérisés par des allozymes ou par leur pigmentation (Richards, 1973; Michelson, 1981; Rollinson *et al.*, 1990). Cependant, les études de ségrégation n'ont mis en évidence aucune liaison entre ces caractères et la susceptibilité des mollusques (Richards, 1970; Mulvey & Woodruff, 1985). La connaissance de plus en plus de groupes de liaisons chez *Biomphalaria glabrata* permet d'espérer la mise en évidence de liaisons entre les marqueurs utilisés et les gènes de résistance des mollusques hôtes intermédiaires (Mulvey *et al.*, 1988b).

## CONCLUSIONS GENERALES.

Les bulins hôtes intermédiaires de schistosomes du groupe à oeuf à éperon terminal vivent dans différents systèmes bioclimatiques, colonisent divers types de collection d'eau et présentent une variabilité saisonnière de la densité des populations. De plus, la même espèce de bulin peut servir d'hôte intermédiaire à plusieurs espèces de schistosomes, ces derniers pouvant présenter des hybrides naturels entre eux. Enfin, pour un même couple bulin/schistosome, la susceptibilité des mollusques varie en fonction des populations. Le compartiment mollusque semble donc jouer un rôle prépondérant dans l'hétérogénéité des situations épidémiologiques prévalant en Afrique de l'Ouest et représente donc, à cet égard, le point focal de notre problématique. Notre approche a été réalisée par l'étude du polymorphisme enzymatique chez les populations de *B. truncatus* et de *B. globosus* du Niger et de Côte d'Ivoire, et des systèmes de reproduction chez les deux espèces de bulins. Les résultats de nos recherches contribuent au plan fondamental, à la compréhension de l'évolution des structures génétiques des populations chez les bulins, et, de façon plus appliquée, à la compréhension du fonctionnement des foyers de schistosomoses (relation génotypes/milieus, génotypes/susceptibilité, approche de lutte biologique par transfert de gène de résistance aux schistosomes).

Le marqueur isoenzymatique s'est révélé être un outil de choix pour apprécier la variabilité génétique des populations de bulins et pour contrôler les croisements entre individus de populations différentes. Il est cependant souhaitable d'investir d'autres marqueurs moléculaires génomiques (RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism, RAPD: Random Amplified Polymorphic DNA) ou cytoplasmiques (ADN mitochondrial) pour explorer le génome de façon approfondie notamment chez *B. truncatus* où le polymorphisme enzymatique dans les populations semble très faible. En ce qui concerne les croisements entre individus de la même population, nous avons proposé l'utilisation de marqueurs plus variables tels que l'ADN minisatellite mise au point chez *B. globosus* par Jarne *et al.* (1990, 1992a). Notre travail met donc en exergue l'importance des marqueurs génétiques qui devraient dorénavant être pris en compte dans toute étude épidémiologique.

## 1. ETUDE DE LA STRUCTURE GENETIQUE DES POPULATIONS

### - Au plan fondamental:

**Variation intrapopulation:** cette étude a mis en évidence une variabilité génétique faible chez *B. globosus* et très faible chez *B. truncatus*, aussi bien par le nombre de locus polymorphes par population que par le nombre d'allèles identifiés par locus. Ce niveau de polymorphisme est cependant légèrement supérieur à ce qui a été observé chez ces espèces par d'autres auteurs (Wright & Rollinson, 1979, 1981; Jelnes, 1986). Ceci est très probablement dû à un échantillonnage intensif des populations de bulins, à l'utilisation des individus sauvages et à la prise en compte d'un nombre de locus enzymatiques plus élevé. La faible variabilité génétique a été expliquée à partir des **critères écologiques et des systèmes de reproduction des bulins:**

- critères écologiques: chez les deux espèces, la structure discrète des populations, les fluctuations de la densité des populations avec des possibilités d'extinction et de recolonisation sont des caractéristiques pouvant entraîner des pertes d'allèles par dérive génétique.

- systèmes de reproductions: chez *B. globosus*, la faible variabilité génétique a été attribuée essentiellement aux raisons écologiques car les populations sont en général en équilibre de Hardy-Weinberg, la reproduction se faisant par allofécondation. Une exception est fournie par la population d'Elevi qui est en déséquilibre de Hardy-Weinberg et dans laquelle un rôle de l'autofécondation a été suspecté.

Chez *B. truncatus*, la faible variabilité génétique a été expliquée par une action conjuguée de la dérive génétique et de l'autofécondation. Le taux d'individus aphasiques est généralement élevé dans les populations, ce qui augmente les possibilités d'autofécondation.

Cependant, la tétraploidie maintient à travers l'"hétérozygotie fixée" une diversité allélique élevée permanente pouvant compenser la faible variabilité génétique chez *B. truncatus*.

L'étude des variations temporelles des structures génotypiques chez *B. globosus* a montré que **des échantillons prélevés à intervalle de six mois à deux ans pouvaient présenter des modifications significatives de fréquences alléliques dans 37% des cas.** Ces modifications peuvent être induites aussi bien par des facteurs stochastiques (fluctuations aléatoires de la taille des populations) que par des facteurs sélectifs.

**Variation interpopulation:** Malgré le faible polymorphisme enzymatique, il existe des locus et des allèles diagnostiques permettant de caractériser des populations. Plusieurs facteurs peuvent expliquer la différenciation génétique ainsi observée entre populations. **L'éloignement géographique semble être un critère majeur pour expliquer la différenciation**

relativement élevée entre les populations de *B. truncatus* et de *B. globosus* du Niger et de Côte d'Ivoire. Dans le même pays, ce critère peut encore être valable pour expliquer la différenciation entre certaines populations, notamment au Niger entre plusieurs populations de *B. truncatus* (Timia, Liboré, Daikaina et Bangario) toutes distantes d'au moins 100 km et toutes différenciées entre elles, et en Côte d'Ivoire entre la population de *B. globosus* d'Elevi très différenciée par rapport à celles du Centre et du Nord. Cependant d'autres facteurs tels que les barrières physiques (courant d'eau dans les canaux d'irrigation) pouvant isoler des populations, les variations de la densité des populations, les éventuels cas d'extinction/recolonisation, peuvent jouer un rôle dans la différenciation des populations. Il n'apparaît pas clairement de relation entre la distance génétique et la distance géographique. Ainsi d'autres populations relativement éloignées ne sont pas différenciées: un exemple est fourni par les populations de *B. truncatus* et de *B. globosus* du Centre et du Nord de la Côte d'Ivoire échantillonnées le long du transect Nord-Sud et dont on ne peut pas mettre en évidence une relation entre la distance génétique et l'éloignement géographique. Une des explications pourrait être l'existence d'un flux de gènes élevé entre ces populations. Cependant, la présence de quelques allèles privés dans ces populations ne corrobore pas cette hypothèse. L'absence de différenciation pourrait alors être d'origine historique, par exemple une absence de différenciation entre les populations colonisatrices ou une colonisation à partir de la même population.

#### - Au plan appliqué

Relation génotypes/milieus: l'intérêt immédiat de l'étude de la structure génétique de populations données est de fournir des marqueurs génétiques permettant de caractériser ces populations. Cette étude démontre que les populations de bulins peuvent être caractérisées par leurs fréquences alléliques aux locus polymorphes. Ces marqueurs peuvent-ils être corrélés aux grands ensembles bioclimatiques et aux types de collections d'eau ?

#### *Relation avec les systèmes bioclimatiques:*

Chez *B. globosus*, les allozymes permettent de séparer trois groupes de populations correspondant aux populations de savane sahélienne, de forêt et de zone préforestière et savane guinéo-soudanienne réunies. Chez *B. truncatus*, les trois groupes de populations séparées correspondent à celles de la zone saharienne, de la zone sahélienne et celles de la zone préforestière et de la savane guinéo-soudanienne réunies.

#### *Relation avec les types de collection d'eau*

Chez *B. globosus*, deux groupes de populations sont séparés par les allozymes, correspondant aux populations des canaux d'irrigation d'une

part et celles des rivières et ruisseaux non séparées de celles des étangs, barrages et mares.

Chez *B. truncatus*, on distingue les populations des mares permanentes et le groupe des autres populations.

Les allozymes semblent donc être distribués en fonction des systèmes bioclimatiques, mais cette répartition est moins nette en fonction des types de collection d'eau. **Il est important de noter que l'étude menée ne nous permet pas de dire si cette distribution des allozymes reflète une action sélective des différents milieux sur les allozymes ou tout simplement une zonation géographique des allozymes due à la discontinuité entre les populations.** Cependant avec l'anthropisation de plus en plus poussée des biotopes des mollusques, par le développement de barrages, et la lutte chimique contre les mollusques, il convient de s'interroger sur le devenir des structures génétiques des populations. Notamment, on peut craindre le développement de populations présentant des adaptations aux modifications de l'environnement, d'où l'intérêt de l'étude des relations entre génotypes des mollusques et milieux occupés.

**Un exemple de l'effet de l'anthropisation sur la structuration spatiale des populations de mollusques est fourni chez *B. globosus* au Niger dans le périmètre irrigué de Liboré, où deux populations (Liboré 8 et Liboré 9) isolées dans des canaux d'irrigation distants de 2 km seulement présentent une différenciation caractérisée par l'existence d'allèles diagnostiques à trois locus.** Nos observations montrent que les croisements entre les individus des deux populations aboutissent à des descendants viables, ce qui montre que la différenciation résulte uniquement de l'isolement physique dans les différents canaux d'irrigation.

**Ces observations doivent être prises en compte dans les stratégies d'échantillonnage des populations naturelles:** dans le même périmètre irrigué, des populations rapprochées peuvent présenter une différenciation génétique relativement élevée; d'autre part d'une saison à l'autre, les structures génétiques peuvent varier significativement. Ces caractéristiques devraient être prises en compte pendant l'établissement des protocoles d'échantillonnage.

## 2. ETUDE DES SYSTEMES DE REPRODUCTION

### - Au plan fondamental

Chez *B. truncatus*, l'étude des croisements a mis en évidence la **ségrégation d'allèles chez des individus hétérozygotes.** Ceci nous a conduit à **rejeter l'hypothèse de parthénogénèse proposée par Jelnes (1978, 1986), la reproduction uniparentale se faisant par autofécondation.** Nous confirmons le système de reproduction (autofécondation et allofécondation) défini chez *B. truncatus* par Larambergue (1939). Nos

résultats suggèrent de plus une prépondérance de l'autofécondation sur l'allofécondation. Nous avons alors proposé une interprétation génotypique des résultats d'électrophorèse chez cette espèce polyploïde en prenant en compte le système de reproduction et le type de ségrégation chromosomique.

Chez *B. globosus*, nous avons montré que le mode de reproduction pouvait présenter des variations entre les populations. En effet, l'étude des valeurs sélectives suggère que la population de Daikaina se reproduit par allofécondation comme l'avait montré Jarne *et al.* (1991) alors que celle d'Elevi se reproduit au moins partiellement par autofécondation. Ces résultats corroborent ceux de l'étude de la structure génétique.

Un autre résultat concerne l'étude de l'isolement reproducteur entre populations éloignées géographiquement. Nos résultats chez *B. globosus* suggèrent qu'il n'y a pas d'isolement reproducteur entre les populations du Niger et de Côte d'Ivoire. Pour certains individus qui n'ont pas été allofécondés pendant les croisements interpopulations, nous émettons l'hypothèse d'une sélection de l'autofécondation. L'utilisation de marqueurs plus polymorphes du type minisatellites (Jarne *et al.*, 1991) permettant de caractériser les différents individus d'une même population est nécessaire pour confirmer ces résultats. **Les descendants "hybrides" survivent et grandissent aussi bien que les descendants des populations d'origine. De plus, leur reproduction est meilleure.**

*Ces résultats présentent des applications systématiques. En effet, malgré les différences de morphologie, de susceptibilité aux schistosomes, et la présence des locus diagnostiques entre les populations de B. globosus de Côte d'Ivoire et du Niger, la compatibilité reproductive entre elles montre que leur isolement géographique n'a pas abouti à la spéciation. Il s'agit donc de la même espèce.*

Ces résultats sont importants car ces populations présentent des différences de susceptibilité aux schistosomes. On peut alors mettre en place une étude de la génétique de la susceptibilité du mollusque au schistosome.

Chez *B. globosus*, les descendants "hybrides" issus des croisements entre individus de Daikaina et d'Akakronzipris sont susceptibles à *S. haematobium* d'Akakronzipris, **le taux de susceptibilité des individus reflétant celui de la population d'origine de l'individu mère. Cette étude montre un fort effet du génotype maternel sur la susceptibilité des descendants.** Le déterminisme de la susceptibilité ne semble pas, *a priori*, être de type mendélien simple. L'explication pourrait être l'existence d'un déterminisme multigénique, l'existence de polymorphisme de ces gènes dans les populations étudiées ou enfin un contrôle de type cytoplasmique, par exemple mitochondrial. D'autres investigations sont nécessaires avant une discussion plus poussée de ces résultats.

**Deux sous-populations de *B. truncatus* de Ferkessédougou caractérisées au niveau d'un locus enzymatique présentent des taux différents de**

susceptibilité à *S. haematobium*. Il est nécessaire que cette étude soit menée sur des descendants de première génération pour confirmer ces résultats. Nous avons attiré l'attention sur le fait que l'existence d'une différence de susceptibilité entre des individus caractérisés par des génotypes différents n'implique pas l'existence de liaison entre ces marqueurs. Si le déterminisme génétique de la susceptibilité est connu, une étude de ségrégation de ces caractères chez des individus hétérozygotes est nécessaire pour rechercher ces liaisons.

**- Au plan appliqué:**

**a) Impact sur les foyers  
*dynamique des populations***

L'étude des systèmes de reproduction a mis en évidence entre les populations, des différences au niveau des paramètres démographiques (âge de début de ponte, nombre d'oeufs pondus, survie) et au niveau du mode de reproduction. Il convient de s'interroger si cette variation est retrouvée en population naturelle car elle aurait une incidence sur la dynamique des populations. Par exemple, une reproduction précoce peut être considérée comme avantageuse pour un hôte intermédiaire car elle lui permet de produire une descendance avant une éventuelle castration parasitaire: ce mode permet de perpétuer le génotype "mollusque susceptible aux schistosomes" dans les populations.

L'allofécondation est généralement considérée comme avantageuse chez les organismes hôtes, car elle permet de produire des génotypes variés parmi lesquels certains pourront échapper aux pressions parasitaires.

L'autofécondation peut également présenter un avantage pour les organismes chez lesquels la densité des populations présente des variations saisonnières, en effet, les individus peuvent se retrouver seuls pour la reproduction. Cette situation peut être retrouvée notamment dans les mares temporaires où la durée de mise en eau peut être très réduite (Mouchet, comm. pers.). L'autofécondation peut aussi être importante au moment de la recolonisation des points d'eau et de la mise en place des peuplements. On peut se demander si la prépondérance de l'autofécondation chez *B. truncatus* ne ferait pas de cette espèce un excellent colonisateur en milieu naturel. On devra désormais prendre en compte toutes ces conclusions dans les études menées sur le terrain.

***impact sur la transmission***

**- Variabilité génétique des mollusques et leur susceptibilité: Rôle du mollusque dans la transmission**

La réussite de l'infestation des mollusques est la résultante de la susceptibilité des mollusques et de l'infestivité du parasite (Wright, 1971;

Combes, 1985). On peut s'interroger sur le rôle joué par le mollusque hôte intermédiaire dans la transmission.

Nos résultats sur la structure génétique des populations ont montré que les populations de mollusque présentent des différences génétiques entre elles. L'infestation des descendants "hybrides" chez *B. globosus* a montré un effet hautement significatif du génotype du mollusque sur la susceptibilité. Un résultat certes préliminaire montre une différence de susceptibilité entre deux sous-populations de *B. truncatus*. L'ensemble de ces observations témoigne d'un rôle important du génotype du mollusque dans la compatibilité globale observée.

Ces résultats nous interpellent sur la méthodologie de l'étude de la susceptibilité des mollusques aux schistosomes. La variabilité génétique mise en évidence dans les populations de mollusques hôtes intermédiaires doit être prise en compte. Il semble alors nécessaire de pouvoir identifier le nombre de parents sauvages fournissant les descendants à infester et de contrôler les descendance de façon à pouvoir analyser les variances intra-groupes et inter-groupes sur les résultats obtenus. Ces protocoles pourront en même temps permettre une comparaison plus rigoureuse entre les résultats de différentes expériences.

#### b) Impact sur la mise en place des stratégies de lutte malacologique

Malgré des précédents anciens, la lutte biologique est encore très peu développée car elle nécessite la connaissance de la biologie des organismes indésirables et des organismes utilisés pour lutter contre eux, (c'est-à-dire leur diversité génétique, la structuration des populations et les facteurs d'évolution des structures génétiques de ces populations).

Chez les mollusques hôtes intermédiaires de schistosomes, l'existence d'individus susceptibles et d'individus résistants au parasite a été à la base du développement de l'idée de mener une lutte biologique par introduction de mollusques résistants dans les populations de mollusques susceptibles. Les travaux de Minchella & Loverde (1983) et de Richards (1973, 1975) montrent que plusieurs paramètres doivent être contrôlés au laboratoire avant toute introduction de mollusques résistants. **Il nous a semblé important d'analyser en particulier, les systèmes de reproduction, les paramètres démographiques chez les descendants "hybrides" et leur susceptibilité aux schistosomes.**

*les systèmes de reproduction:* la première difficulté c'est l'autofécondation. En effet si les populations étudiées se reproduisent par autofécondation, on ne peut pas transférer le gène de résistance par la reproduction. Par exemple chez *B. truncatus*, l'aptitude à la reproduction croisée est faible, ce qui n'est pas favorable à de telle manipulation. Ainsi, si des individus résistants sont introduits dans une population d'individus susceptibles au parasite, ils doivent pouvoir éliminer par compétition les individus susceptibles. Les résultats de Minchella & Loverde (1983) au laboratoire montrent que chez *Biomphalaria glabrata*, les individus résistants sont

défavorisés au niveau de la reproduction lorsqu'ils sont en présence des individus susceptibles parasités par *S. mansoni*. **Qu'en est -il chez les bulins au laboratoire et sur le terrain ?**

Si les individus résistants introduits peuvent se croiser avec les individus susceptibles, on peut s'interroger sur **la survie, la croissance, la reproduction et la susceptibilité des descendants "hybrides" engendrés**. Nos résultats chez *B. globosus* ont montré que la survie et la croissance des descendants "hybrides" étaient comparables à celles des descendants des deux populations et leur reproduction était même meilleure. Ces résultats devraient être testés sur le terrain.

Les résultats préliminaires sur la susceptibilité des descendants "hybrides" sont complexes à exploiter. Il semble que certains individus "hybrides" soient susceptibles au parasite. Notons cependant que les individus parents n'étaient pas homozygotes pour les gènes de résistance ou de susceptibilité. Les individus homozygotes pour ces caractères pourront être obtenus par sélection au laboratoire. On pourra alors tester plus rigoureusement la susceptibilité des descendants "hybrides".

La connaissance du déterminisme génétique de la susceptibilité chez les bulins est aussi nécessaire pour avancer dans l'analyse des conditions préalables à l'introduction des mollusques résistants.

Des investigations au laboratoire couplées à des essais sur le terrain sont donc encore nécessaires pour juger de la faisabilité de la lutte biologique par introduction de mollusques résistants.

## BIBLIOGRAPHIE

- ADAMS, W.T. & ALLARD, R.W. 1977. Effect of polyploidy on phosphoglucose isomerase diversity in *Festuca microstachys*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **74**: 1652-1656.
- ALLARD, R.W. & KAHLER, A.L. 1971. Allozyme polymorphism in plant populations, Stadler, Symp. University of Missouri, **3**: 9-24.
- ALLENDORF, F.W. & THORGAARD, G.H. 1984. Tetraploidy and the evolution of Salmonid fishes. In: *Evolutionary Genetics of Fishes* (B. J. Turner, ed.), Plenum Publishing Corporation, 1-53.
- ANDERSON, R.M. 1991. Populations and infectious diseases: ecology or epidemiology? *Journal of Animal Ecology*, **60**: 1-50.
- APPLETON, C.C. 1974. The population fluctuations of five freshwater snails species in the eastern Transvaal lowveld, and their relationship to known bilharzia transmission pattern. *South Africa Journal of Science*, **70**: 145-150.
- APPLETON, C.C. 1978. Review of literature on abiotic factors influencing the distribution and live cycle of bilharziasis intermediate hosts snails. *Malacological Review*, **11**: 1-25.
- ARRU, E., NASCETTI, G., ORECCHIA, P. & PAGGI, L. 1980. Studi morfologici e genetici su alcune popolazioni di *Mandahlbarthia truncata* (Gastropoda: Planorbidae) della Sardegna. *Parassitologia*, **22**: 275-279.
- ASHLOCK, P.D. 1972. Monophyly again. *Systematic Zoology*, **21**: 430-438.
- BANDONI, S. M., MULVEY, M., KOECH, D. K. & LOKER, E. S. 1990. Genetic structure of Kenyan populations of *Biomphalaria pfeifferi* (Gastropoda: Planorbidae). *Journal of Molluscan Studies*, **56**: 383-391.
- BAYSSADE-DUFOUR, C.H., CABARET, J., NGENDAHAYO, L.D., ALBARET, J.L., CARRAT, C. & CHABAUD, A.G. 1989. Identification of *S. haematobium*, *S. bovis* and *S. curassoni* by multivariate analysis of cercarial papillae indices. *International Journal for Parasitology*, **19**: 839-846.
- BENZECRI, J.P. 1973. *L'analyse des données. Tome 2: l'analyse des correspondances*, 619 p., (Dunod ed.), Paris.
- BERREBI, P. 1988. Génétique des populations marines: le modèle "flet" (*Platichthys flesus* L. 1758, Téléostéen, Pleuronectidae). Thèse de doctorat d'état, Université de Montpellier II, France.
- BERREBI, P., LEVEQUE, C., CATTANEO-BERREBI, G., AGNESE, J.F., GUEGUAN, J.F. & MACHORDOM, A. 1990.

- Diploid and tetraploid African *Barbus* (Osteichthyes, Cyprinidae): on the coding of differential gene expression. *Aquatic Living Resources*, 3: 313-323.
- BERRIE, A.D. 1973. Snails, schistosomes and systematics: some problems concerning the genus *Bulinus*. In: *Taxonomy and Ecology* (V.H. Heywood, ed.), Academic Press, London, 5: 173-188.
- BETTERTON, C., NDIFON, G.T. & TAN, R.M. 1988. Schistosomiasis in Kano State, Nigeria II. Field studies on aestivation in *Bulinus rohlfsi* (Clessin) and *B. globosus* (Morelet) and their susceptibility to local strains of *Schistosoma haematobium* (Bilharz). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 82: 571-579.
- BIOCCA, E., BULLINI, L., CHABAUD, A.G., NASCETTI, G., ORECCHIA, P. & PAGGI, L. 1979. Subdivisione su base morfologia e genetica del genere *Bulinus* in tre generi : *Bulinus* Muller, *Physopsis* Krauss e *Mandahlbarthia* gen. nov. *Rendiconti della Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali, Accademia Nazionale dei Lincei, Serie 866*: 276-282.
- BOAG, D.A. 1986. Dispersal in pond snails: potential role of waterfowl. *Canadian Journal of Zoology*, 64: 904-909.
- BROMOND, P., MOUCHET, F., CHEVALIER, P., SELLIN, E., VERA, C. & SELLIN, B. 1990. Flux génique entre *Schistosoma bovis* et *S. curassoni* au Niger. VII<sup>ème</sup> Congrès International de Parasitologie, Paris du 20 au 24 Août 1990. *Bulletin de la Société Française de Parasitologie*, Tome 8 (supplément 2): 708.
- BROWN, S.D. 1976. A tetraploid freshwater snail (Planorbidae: *Bulinus*) in the highlands of Kenya. *Journal of Natural History*, 10: 257-267.
- BROWN, S.D., 1980. *Freshwater snails of Africa and their medical importance*. Taylor & Francis Ltd, London.
- BROWN, S.D. & SHAW, K.M. 1989. Freshwater snails of the genus *Bulinus truncatus/tropicus* complex in Kenya: tetraploid species. *Journal of Molluscan Studies*, 55: 509-532.
- BROWN, S.D. & BURCH, J.B. 1967. Distribution of cytologically different populations of the genus *Bulinus* (Basommatophora: Planorbidae) in Ethiopia. *Malacologia*, 6: 189-198.
- BROWN, S.D. & WRIGHT, C.A. 1972. On a polyploid complex of freshwater snails (Planorbidae: *Bulinus*) in Ethiopia. *Journal of Zoology, London*, 167: 97-132.
- BUNDY, D.A.P. 1988. Population ecology of intestinal helminth infections in human communities. *Philosophical Transaction of The Royal Society, London, B*, 321: 405-420.
- BURCH, J.B. 1964. Cytological Studies of Planorbidae. (Gastropoda: Basommatophora). 1. The African subgenus *Bulinus* s.s. *Malacologia*, 1: 387-400.

- BURCH, J.B. & HUBER, J.M., 1966, Polyploidy in mollusks. *Malacologia*, **5**: 41-43.
- BURCH, J.B. & LINSAY, G.K. 1970. An immuno-cytological study of *Bulinus* S.S. (Planorbidae: Basommatophora). *Malacological Review*, **3**: 1-18.
- BURCH, J.B. 1967. Some species of the genus *Bulinus* in Ethiopia, possible intermediate hosts of schistosomiasis haematobia. *Ethiopian Medical Journal*, **5**: 245-257.
- BUTH, D.G. 1983. Duplicate isozyme loci in fishes: origins, distribution, phyletic consequences and locus nomenclature. In: *Isozymes: Current Topics in Biological and Medical Research*, (M. C. Rattazzi, J. G. Scandalios, & G. S. Whitt, eds), **10**: 381-400.
- CAIN, G.L. 1956. Studies on cross-fertilization and self-fertilization in *Lymnaea stagnalis appressa* Say. *Biological Bulletin*, **111**: 45-52.
- CANTRELL, M.A. 1981. Bilharzia snails and water level fluctuations in tropical swamp. *Oikos*, **36**: 226-232.
- CASTLE, W.E., CARPENTER, F.W., CLARK, A.H., MAST, S.O. & BARROWS, W.M. 1906. The effect of inbreeding, crossbreeding, and selection upon the fertility and viability of *Drosophila*. *Proceeding of American Academy of Arts and Sciences*, **41**: 731-786.
- CHARLESWORTH, D. & CHARLESWORTH, B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**: 237-268.
- COCHRAN, W. 1954. Some methods for strengthening the commun chi square tests, *Biometrics*, **10**: 417-451.
- COMBES, C. 1985. L'analyse de la compatibilité schistosomes/mollusques vecteurs. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, **78**: 742-746.
- COOLES, G.C. 1970. Enzyme electrophoresis and speciation of *Schistosoma* intermediate hosts. *Parasitology*, **61**: 19-25.
- CRAM, E.B. 1953. Evidence concerning geographic strains of human schistosomes and their molluscan intermediate hosts. In: *Tharpar Commeration Volume*. University of Lucknow: 51-62.
- CROMBIE, J.A. & ANDERSON, R.M. 1985. Population dynamics of *Schistosoma mansoni* in mice repeatedly exposed to infection. *Nature*, **315**: 491-493.
- DESPRES, L. 1991. Histoire évolutive des schistosomes. Phylogénies moléculaires: coévolution et capture d'hôtes. Modèle fixation par gonochorie. Thèse de doctorat de l'université de Montpellier II, France.
- DILLON, R. T., Jr. 1986. Inheritance of isozyme phenotypes at three loci in the freshwater snail, *Goniobasis proxima*: mother-offspring analysis and an artificial introduction. *Biochemical Genetics*, **24**: 281-290.

- DOBZHANSKY, T. 1952. Nature and origine of heterosis. In: *Heterosis* (Gowen, J ed.) Ames: Iowa State College Press: 218-223.
- DOBZHANSKY, T. & PAVLOVSKY, O. 1967. Experiment of the incipient species of *Drosophila paulistaurum* complex. *Genetics*, **55**: 141-156.
- DOUMENGE, J.P., MOTT, K.E., CHEUNG, C., VILLENAVE, D., CHAPUIS, C., PERRIN, M.F. & REAUD-THOMAS, G. 1987. *Atlas of the global distribution of schistosomiasis*. Presses Universitaires de Bordeaux, Centre d'Etudes de Géographie Tropicale (C.N.R.S.)/World Health Organization.
- DUIVENBODEN, Y.A. Van. 1984. Sexual behaviour of the hermaphrodite freshwater snail *Lymnaea stagnalis*. Thesis, Free University, Amsterdam.
- DUNCAN, C. J. 1975, Reproduction. In: *Pulmonates* (V. Fretter and J. F. Peake, eds), Academic Press, London, **1**: 309-365.
- ELDIN, M. 1971. In: Le milieu naturel de Côte d'Ivoire. Le climat. *Mémoire ORSTOM*, **50**: 77-108.
- ELDIN, M. 1979. Eléments généraux du climat: précipitations mensuelles. In: *Atlas de la Côte d'Ivoire*, éditée par l'Association de l'Atlas de Côte d'Ivoire, B.P. 8863, Abidjan.
- FALCONER, D.S. 1981. *Introduction to quantitative genetics*, 2nd ed. New York, Longman.
- FALCONER, D.S. 1989. *Introduction to quantitative genetics*, 3rd ed. New York, Longman.
- FERRIS, S.D. & WHITT, G.S. 1977. Loss of duplicate gene expression after polyploidisation. *Nature*, **265**: 258-260.
- FRANC, A. 1968. *Classe des Gastéropodes*. In: *Traité de Zoologie* (P.P. Grassé ed.), Masson, Paris **3**: 2-893.
- FRANSEN, F. 1979. Studies on the relationships between *Schistosoma* and their intermediate hosts. IV. The genus *Bulinus* and *S. bovis* from Morocco. *Journal of Helminthology*, **53**: 349-355.
- FRANSEN, F., BENNIKE, T. & CRIDLAND, C.C. 1978. Studies on *Schistosoma intercalatum* Fisher, 1934 and its intermediaire host in the Kisangani area, Zaïre. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale*, **58**: 21-31.
- FRYER, S.E., ROLLINSON, D. & PROBERT, A.J. 1987. Studies on the morphology and crossbreeding ability of two populations of *Bulinus globosus* from Northern Nigeria. *Journal of Molluscan studies*, **53**: 153-162.
- GAFFNEY, P.M., SCOTT, T.M. KOEHN, R.K. & DIEHL, W.L. 1990. Interrelationships of heterozygosity, growth rate and heterozygote deficiencies in the coot clam, *Mulinia lateralis*. *Genetics*, **124**: 687-699.

- GERAERTS, W.P.M. & JOOSSE, J. 1984. Freshwater snails (Basommatophora). In: *The Mollusca* (A.S. Tompa, N.H. Verdonk & J.A.M. Van der Biggelaar, eds), Academic Press, London, 7: 142-208.
- GOLDMAN, M.A., LOVERDE, P.T. & CHRISMAN, C.L., 1983. Hybrid origin of polyploidy in freshwater snails of the Genus *Bulinus* (Mollusca: Planorbidae). *Evolution*, 37: 592-600.
- GOLDMAN, M.A., LOVERDE, P.T., CHRISMAN, C.L. & FRANKLIN, D.A. 1984. Chromosomal evolution in planorbid snails of the genera *Bulinus* and *Biomphalaria*. *Malacologia*, 25: 427-446.
- HAMILTON, W.D. 1980. Sex versus non sex versus parasite. *Oikos*, 335: 282-290.
- HARTL, D.L. 1980. *Principles of Population Genetics*. Sinauer associates, INC, Sunderland, Massachusetts.
- HASWELL-ELKINS, M.R., ELKINS, D.B. & ANDERSON, R.M. 1987. Evidence for predisposition in humans to infection with *Ascaris*, hookworms, *Enterobius* and *Trichuris* in South Indian fishing community. *Parasitology*, 95, 323-338.
- HILLIS, D.M. & MORITZ, C. 1990. *Molecular Systematic*. Sinauer Associates, INC., Sunderland, Massachusetts, USA.
- HUBENDICK, B. 1958. A possible method of schistosome vector control by competition between, resistant and susceptible strains. *Bulletin of the World Health Organisation*, 18: 1113-1116.
- JARNE, P., 1990. Systèmes de reproduction et structures génétiques des populations chez des gastéropodes hermaphrodites des eaux douces. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier, France.
- JARNE, P. & DELAY, B. 1990. Population genetics of *Lymnaea peregra* (Müller) (Gastropoda: Pulmonata) in lake Geneva. *Journal of Molluscan Studies*, 56, 317-321.
- JARNE, P. & DELAY, B. 1990. Inbreeding depression and self-fertilization in *Lymnaea peregra* (Gastropoda: Pulmonata). *Heredity*, 64: 169-175.
- JARNE, P. & DELAY, B. 1991. Populations genetics of freshwater snails. *Trends in Ecology and Evolution*, 6: 383-386.
- JARNE, P., DELAY, B., BELLEC, C. ROIZES, G. & CUNY, G. 1990. DNA fingerprinting in schistosome vector snails. *Biochemical Genetics*, 28: 577-583.
- JARNE, P., FINOT, L., DELAY, B. & THALER, L. 1991. Self-fertilization versus cross-fertilization in the hermaphrodite freshwater snail *Bulinus globosus*. *Evolution*, 45: 1136-1146.
- JARNE, P., DELAY, B., BELLEC, C. ROIZES, G. & CUNY, G. 1992a. Analysis of mating systems in the schistosome-vector

- hermaphrodite snail *Bulinus globosus* by DNA fingerprinting. *Heredity*, **68**: 141-146.
- JARNE, P., FINOT, L., BELLEC, C. & DELAY, B. 1992b. Aphally versus euphally in selfing hermaphrodite snails from the species *Bulinus truncatus* (Pulmonata: Planorbidae). *American Naturalist*, **139**: 424-432.
- JARNE, P., VIANEY-LIAUD, M. & DELAY, B. Selfing and outcrossing in hermaphrodite freshwater gastropods (Basommatophoran) : where, when and why. *Biological Journal of the Linnaean Society*, sous presse.
- JELNES, J.E. 1977. An electrophoretic character useful to the distinction between *B. tropicus* and *B. permembranaceus* (Gastropoda: Planorbidae). *Steenstrupia*, **4**: 139-141.
- JELNES, J.E. 1978. Experimental taxonomy of *Bulinus* (Gastropoda: Planorbidae). I. Electrophoretic studies on esterases and phosphoglucose isomerase of *B. truncatus*. *Archiv für Molluskenkunde*, **109**: 237-248.
- JELNES, J.E. 1979a. Experimental taxonomy of *Bulinus* (Gastropoda: Planorbidae). I. Electrophoresis studies on esterase and phosphoglucose isomerase of *B. truncatus*. Organ distribution geographical variation and taxonomy implication. *Archiv für Molluskenkunde*, **109**: 237-248.
- JELNES, J.E. 1979b. Experimental taxonomy of *Bulinus* (Gastropoda: Planorbidae). II. Recipes for horizontal starch gel electrophoresis of ten enzymes in *Bulinus* and description of internal standard systems an of two new species of the *Bulinus forskalii* complex. *Journal of chromatography*, **170**: 403-411.
- JELNES, J.E. 1979c . Taxonomy studies on *Bulinus* using isoenzyme electrophoresis with special reference to the *Africanus* group on Kano Plain, Kenya. *Malacology*, **18**: 147-149.
- JELNES, J.E. 1986. Experimental taxonomy of *Bulinus* (Gastropoda: Planorbidae): the West and North african species reconsidered base on an electrophoretic study of several enzymes per individual. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **87**: 1-26.
- JOURDANE, J. & THERON, A. 1987. Larval development : eggs to cercarial. In: *The biology of schistosomes*. (Rollinson, D. & Simpson, A. eds.). Academy Press, London, 83-113.
- JOURDANE, J. & MAS-COMA, S. 1990. La schistosomose à *Schistosoma intercalatum*: problèmes épidémiologiques et biologiques en relation avec son extension actuelle en Afrique. In: *Les schistosomiases: Actes de la conférence internationale sur les schistosomiases*, Niamey, Niger, 30 Janvier-3 Février, 1990.
- KIMURA, M. 1979. The neutral theory of molecular evolution. *Sci Amer*. **24**: 98-126.

- KIMURA, M. & OHTA, T. 1971. *Theoretical aspects of population genetics*. Princeton University Press, Princeton.
- LAM, P.K.S. & CALOW, P. 1989. Intraspecific life-history variation in *Lymnaea peregra* (Gastropoda: Planorbidae). I. Field study. *Journal of Animal Ecology*, **58**: 571-588.
- LARAMBERGUE, M. de. 1939. Etude de l'autofécondation chez les gastéropodes pulmonés. Recherche sur l'aphallie et la fécondation chez *Bulinus (Isidora) contortus* Michaux. *Bulletin Biologique de la France et de la Belgique*, **73**: 19-231.
- LEVIN, D. 1975. Pest pressures and recombination systems in plants. *American Naturalist*, **109**: 437-451.
- LEWONTIN, R.C. 1974. *The genetic basis of Evolutionary Change*. Columbia University Press, New York.
- LIVELY, C.M. 1987. Evidence for a New Zealand snail for maintenance of sex by parasitism. *Nature*, **328**: 519-521.
- LUMARET, R. 1981. Structure génétique d'un complexe polyploïde *Dactylis glomerata* L. Relation entre le polymorphisme enzymatique et certains aspects de la biologie, de l'écologie et de l'évolution de l'espèce. Thèse de doctorat d'état, Université de Montpellier II, France.
- MCCAULEY, D.E. 1991. Genetic consequences of local population extinction and recolonization. *Trends in Ecology and Evolution*, **6**: 5-8.
- MCCULLAGH, P. & NELDER, J.A. 1983. *Generalized Linear Models* 1st edition. Chapman & Hall, Cambridge University Press.
- MANDAHL-BARTH, G. 1957. Intermediate hosts of *Schistosoma*. African *Biomphalaria* and *Bulinus*. 2. *Bulletin of the World Health Organization*, **17**: 1-35.
- MARTI, H.P., TANNER, M., DEGREMONT, A.A. & FREYVOGEL, T.A. 1985. Studies of the ecology of *Bulinus globosus*, the intermediate host of *Schistosoma haematobium* in Ifakara area, Tanzania. *Acta Tropica*, **42**: 171-187.
- MARTI, H.P. & TANNER, M. 1988. Field observations on the influence of low velocities on drifting of *Bulinus globosus*. *Hydrobiologia*, **157**: 119-123.
- MAYR, E. 1963. *Animal Species and Evolution*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- MAZON, L.I., VICARIO, A., de PANCORBO, M.A.M., AGUIRRE, A.I., ESTOMBA, A. & LOSTAO, C.M. 1988. North/South differentiation in the distribution of *Cepaea nemoralis* in Spain. *Heredity*, **61**: 189-197.
- MICHELSON, E.H. & DUBOIS, L. 1981. An isoenzyme marker possibly associated with susceptibility of *Biomphalaria glabrata* populations to *Schistosoma mansoni*. *Acta Tropica*, **38**: 419-426.

- MIMPFOUNDI, R. & GREER, G.J. 1989. Allozymes comparison among species of the *Bulinus forskalii* group (Gastropoda: Planorbidae) in Cameroun. *Journal of Molluscan Studies*, 55: 405-410.
- MIMPFOUNDI, R. & GREER, G. J., 1990a. Allozyme variation among populations of *Bulinus forskalii* (EHRENBERG, 1831) (Gastropoda: Planorbidae) in Cameroon. *Journal of Molluscan Studies*, 56: 363-371.
- MIMPFOUNDI, R. & GREER, G. J., 1990b. Allozyme variation among populations of *Biomphalaria pfeifferi* (KRAUSS, 1848) (Gastropoda: Planorbidae) in Cameroon. *Journal of Molluscan Studies*, 56: 461-467.
- MIMPFOUNDI, R. & GREER, G.J. 1990c. Allozyme variation among populations of *Biomphalaria camerounensis* (Boettger, 1941) (Gastropoda: Planorbidae) in Cameroun. *Journal of Molluscan Studies*, 56: 373-381.
- MIMPFOUNDI, R. & GREER, G. J., 1990d. Allozyme comparison and ploidy levels among species of the *Bulinus truncatus/tropicus* complex (Gastropoda: Planorbidae). *Journal of Molluscan studies*, 56: 63-68.
- MINCHELLA, D.J. 1985. Host life-history variation in response to parasitism. *Parasitology*, 90: 205-216.
- MINCHELLA, D.J. & LOVERDE, P.T. 1983. Laboratory comparisons of the relative success of *Biomphalaria glabrata* stocks which are susceptible and insusceptible to infection with *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 86: 335-384.
- MITTON, J.B. & GRANT, M.C. 1984. Association among protein heterozygosity, growth rate, and developmental homeostasis. *Annual Review of Ecology and Systematic*, 15: 479-499.
- MOUAHID, A. & THERON, A. 1986. *Schistosoma bovis*: patterns of cercarial emergence from snails of the genera *Bulinus* and *Planorbarius*. *Experimental Parasitology*, 62: 389-393.
- MOUCHET, F. 1987. Epidémiologie de la Schistosomose urinaire dans un foyer naturel à transmission saisonnière du sahel nigérien. Perspective de lutte. Diplôme d'Etudes Approfondies, Paris VI, 77 P.
- MOUCHET, F., VERA, C., BREMOND, P., DEVIDAS, A. & SELLIN, B., 1990. La schistosomose urinaire dans le massif saharien de l'Aïr (République du Niger). *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 83: 249-256.
- MOTT, K.E. 1990. Lutte contre la schistosomiase et contraste. In: *Les schistosomoses*: Actes de la conférence internationale O.C.C.G.E. Niamey, 30 Janvier - 2 Février.

- MULVEY, M. & VRIJENHOEK, R. C. 1981a. Genetic variation among laboratory strains of the planorbid snail *Biomphalaria glabrata*. *Biochemical Genetics*, **19**: 1169-1182.
- MULVEY, M. & VRIJENHOEK, R. C. 1981b. Multiple paternity in the hermaphroditic snail *Biomphalaria obstructa*. *The Journal of Heredity*, **72**: 308-312.
- MULVEY, M. & VRIJENHOEK, R.C. 1982. Population structure in *Biomphalaria glabrata*: examination of an hypothesis for the patchy distribution of susceptibility to schistosomes. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **31**: 1195-1200.
- MULVEY, M. & VRIJENHOEK, R.C. 1984. Genetics of *Biomphalaria glabrata*: linkage analysis and crossing compatibility among laboratory strains. *Malacologia*, **25**: 513-524.
- MULVEY, M. & WOODRUFF, D.S. 1985. Genetic of *Biomphalaria glabrata*: Linkage analysis of genes for pigmentation, Enzymes, and Resistance to *Schistosoma mansoni*. *Biochemical Genetics*, **22**: 877-889.
- MULVEY, M., NEWMAN, M.C. & WOODRUFF, D.S. 1988a. Genetic differentiation among West Indian populations of the schistosome-transmitting snail *Biomphalaria glabrata*. *Malacologia*, **29**: 309-317.
- MULVEY, M., WOODRUF, D.S. & CARPENTER, M.P. 1988b. Linkage relationships of seven enzymes and two pigmentation loci in the snail *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Heredity*, **79**: 473-476.
- MUTANI, A., CHRISTENSEN, N.O. & FRANDSEN, F. 1983. Studies on the relationship between *Schistosoma* and their intermediate hosts. V. The genus *Bulinus* and *Schistosoma bovis* from Iringa, Tanzania. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, **69**: 483-487.
- NASCETTI, G. & BULLINI, L. 1980. Genetic differentiation in the *Mandahlbarthia truncata* complex (Gastropoda: Planorbidae). *Parassitologia*, **22**: 269-274.
- NATARAJAN, R., BURCH, J.B. & GISMANN, A. 1965. Cytological studies of Planorbidae (Gastropoda: Basommatophora). II. Some african Planorbinae, Planorbininae and Bulininae. *Malacologia*, **2**: 239-251.
- NDIFON, G.T. & UKOLI, F.M.A. 1989. Ecology of freshwater snails in south-western Nigeria. I: Distribution of habitat preferences. *Hydrobiologia*, **171**: 231-253.
- NEI, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, **106**: 283-292.
- NEI, M. 1975. *Molecular Populations Genetics and Evolution*. American Elsevier, New York.
- NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**: 583-590.

- NEI, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press.
- NEI, M., MARUYAMA, T. & CHAKRABORTY, R. 1975. The bottleneck, effect and genetic variability in populations. *Evolution*, **29**: 1-10.
- NEVO, E., BAR, Z. 1976. Natural selection of genetic polymorphism along climatic gradients. In: *Population genetics and Ecology* (Karlin S. and Nevo eds). Academic Press. New-York: 159-184.
- NEVO, E., BAR-EL, C., BAR, ZE'EV & BEILES, A. 1981. Genetic structure and climatic correlates of desert land snails. *Oecologia*, **48**: 199-208.
- N'GORAN, K.E. 1987. Situation épidémiologique des schistosomoses en zone rurale du Centre de la Côte d'Ivoire. Influence d'un barrage à vocation agropastorale. Thèse de doctorat 3ème cycle, CEMV de Bouaké, Université Nationale de Côte d'Ivoire.
- NJIOKOU, F., BELLEC, C., JARNE, P., FINOT, L. & DELAY, B. Mating system analysis using electrophoresis in the self-fertile hermaphrodite species *Bulinus truncatus* (Gastropoda: Planorbidae). *Journal of Molluscan Studies*, soumis.
- NJIOKOU, F., BELLEC, C. N'GORAN, K.E., YAPI, Y.G., DELAY, B. & JARNE, P. Comparative fitness and reproductive isolation between two *Bulinus globosus* (Gastropoda: Planorbidae) population. *Journal of Molluscan Studies*, Sous presse.
- NOETHER, G.E. 1976. *Introduction to statistics A nonparametric approach*, 2nd edition, Houghton Mifflin Co., Boston.
- OHNO, S. 1970. Evolution by gene duplication. *Springer-Verlag*, New York.
- OHTA, T. 1977. Extension of neutral mutation drift hypothesis. In: *Molecular Evolution and Polymorphism*. National Institute of Genetics, Mishima.
- PAGGI, L., ORECCHIA, P., BULLINI, L., NASCETTI, G. & BIOCCA, E. 1978. Studi morfologici, biologici e biochimici su una nuova specie di *Bulinus* (Gastropoda: Planorbidae). *Parassitologia*, **20**: 1-6.
- PARAENSE, W.L. 1955. Self and cross-fertilization in *Australorbis glabratus*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **53**: 285-291.
- PARAENSE, W.L. 1956. A genetic approach to the systematic of planorbid molluscs. *Evolution*, **10**: 403-407.
- PARAENSE, W.L. 1959. One-sided reproductive isolation between geographically remote populations of planorbid snail. *American Naturalist*, **93**: 93-101.
- PARAENSE, W.L. 1976. The sites of cross and self-fertilization in planorbid snails. *Review of Brazilian Biology*, **36**: 535-539.

- PASTEUR, N., PASTEUR, G., BONHOMME, F., CATALAN, J., & BRITTON-DAVIDIAN, J. 1987. *Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines*. Lavoisier, Paris.
- RICHARDS, C.S. 1970. Genetic of a molluscan vector of schistosomiasis. *Nature, London* 227: 806-810.
- RICHARDS, C.S. 1973. Susceptibility of adult *Biomphalaria glabrata* to *Schistosoma mansoni* infection. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 22: 748-756.
- RICHARDS, C.S. 1975. Genetic factors in susceptibility in *Biomphalaria glabrata* for different strains of *Schistosoma mansoni*., *Parasitology*, 70: 231-241.
- RICHARDS, C.S. 1976. Genetic aspects of host-parasites relationships. In: Symposia of British Society of Parasitology, (A.E.R. Taylor & R. Muller, eds), 14: 45-54.
- RICHARDS, C.S. & MERRITT, J.W., JR. 1972. Genetic factors in susceptibility of juvenile *Biomphalaria glabrata* to *Schistosoma mansoni* infection. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 21: 425-434.
- ROLLINSON, D. 1984. Recent advances in the characterisation of Schistosomes of Man and their Intermediate Hosts. *Tropical Disease Research Serie, OMS*, 5: 401-441.
- ROLLINSON, D. 1985. Biochemical genetics in the study of schistosomes and their intermediate hosts. *Parasitology*, 27: 123-139.
- ROLLINSON, D. & WRIGHT, C.A. 1984. Population studies on *Bulinus cernicus* from Mauritius. *Malacologia*, 25: 447-463.
- ROLLINSON, D., KANE, R.A., LINES, J.R.L. 1989. An analysis of fertilization in *Bulinus cernicus* (Gastropoda: Planorbidae). *Journal of Zoology, London*, 217: 295-310.
- ROLLINSON, D., KANE, R. A., WARLOW, A., SOUTHGATE, V. R. & GOPAUL, A. R. 1990. Observations on genetic diversity of *Bulinus cernicus* (Gastropoda: Planorbidae) from Mauritius. *Journal of Zoology, London*, 222: 19-26.
- ROLLINSON, D., SOUTHGATE, V.R., VERCRUYSSSE, J. & MOORE, P.J. 1990. Observations on natural and experimental interactions between *Schistosoma bovis* and *S. curassoni* from West Africa. *Acta Tropica*, 47: 101-114.
- ROSS, G.C. 1977. Analysis by isoelectric focusing of PGI in *Schistosoma* sp. and their intermediate hosts. *Proceedings of Analytic Chemical Society*, 14: 76-79.
- RUDOLPH, P.H. 1979. An analysis of copulation of *Bulinus (Physopsis) globosus* (Gastropoda: Planorbidae). *Malacologia*, 19: 147-155.

- RUDOLPH, P.H. 1983. Copulatory activity and sperm production in *Bulinus (Physopsis) globosus* (Gastropoda: Planorbidae). *Journal of Molluscan Studies*, **49**: 125-132.
- RUDOLPH, P.H. & BAILEY, J.B. 1985. Copulation as females and use of allosperm in the freshwater snail genus *Bulinus* (Gastropoda: Planorbidae). *Journal of Molluscan Studies*, **51**: 267-275.
- RUDOLPH, P. H. & BURCH, J. B. 1987. Inheritance of alleles at ten loci of the freshwater snail *Stagnicola elodes* (Basommatophora: Lymnaeidae) *Genetical Research*, **49**: 201-206.
- RUIZ, G.M. 1991. Consequences of parasitism to marine invertebrates: host evolution? *American Zoology*, **31**: 831-839.
- SALADIN, B., DEGREMONT, A. & WEISS, N. 1976. Isoelectric focusing in the taxonomy of Bulinid snails. *Acta Tropica*, **33**: 376-379.
- SAME-EKOBO, A. 1984. Faune malacologique du Cameroun. Thèse de doctorat d'Etat, Université de Rennes, France.
- SCHERRER, B. 1984. *Biostatistique*. (Gaëtan Morin, ed.), Quebec.
- SCHIFF, C.J. 1964. Studies on *Bulinus (physopsis) globosus* in Rhodesia. III. Bionomics of a natural population in a temporal habitat. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, **58**: 240-255.
- SELANDER, R.K. 1976. Genetic variation in natural populations. In: *Molecular Evolution*. (F. Ayala ed.), Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts: 21-45.
- SELANDER, R.K. & KAUFMAN, D.W. 1973. Self-fertilization and genetic population structure in a colonizing land snail. *Proceeding of the National Academy of Science, USA*, **70**: 1186-1190.
- SELANDER, R.K. & OCHMAN, H. 1983. The genetic structure of populations as illustrated by molluscs. In: *Isozymes: Current Topics in Biology and Medical Research*, Genetic and Evolution, **10**: 93-123.
- SELLIN, B. 1988. Epidémiologie, pathologie et contrôle des schistosomoses au Niger. *Symposium Franco-Chinois sur les schistosomoses*, (16-22 Mai 1988), Perpignan, France.
- SELLIN, B. & BOUDIN, C. 1981. Les schistosomiases en Afrique de l'Ouest. *Etudes médicales, Mars*: 1-87.
- SELLIN, B., REY, J.L., SIMONKOVICH, E., SELLIN, E & MOUCHET, F. 1986. Essai de lutte par chimiothérapie contre *Schistosoma haematobium* en zone irriguée sahélienne au Niger. *Médecine Tropicale*, **46**: 21-30.
- SHE, J.X. AUTEM, M., KOTULAS, G., PASTEUR, N. & BONHOMME, F. 1987. Multivariate analysis of genetic exchanges between *Solea aegyptica* and *Solea senegalensis* (Teleost. Soleidae) *Biological Journal of Linnnean Society*, **32**: 357-371.
- SHULL, G.H. , 1914. Duplicate genes for capsule form in *Bursa bursa pastoris*. *Z. Ind. Abst. Vererb.*, **12**: 97-149.

- SLATKIN, M. 1985. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematic*, 16: 393-430.
- SLATKIN, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 236: 787-792.
- SLATKIN, M. & MARUYAMA, T. 1975. The influence of gene flow in genetic distance. *American Naturalist*, 109: 597-601.
- SNEATH, P.H.A & SOKAL, R.R. 1973. *Numerical taxonomy*. W. H. Freeman and Co San Francisco.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. 1969. *Biometrie: the principles and practice of statistics in biological research*. (W. H. Freeman ed.), San Francisco.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. 1981. *Biometry*, 2nd edition. (Freeman & Comp. ed.), New York.
- SOKAL, R.R. & WATENBERG, D.E. 1983. A test of spatial autocorrelation analysis using an isolation-by-distance model. *Genetics*, 105: 219-237.
- SONON, A.B. 1987. Les populations des schistosomes du groupe (HIB). Aspects biologiques et épidémiologiques . Etude le long d'un transect Nord-Sud en Côte d'Ivoire: Cas de Ferkessédougou - Tiengarakaha, Tabako, N'guessan Pokoukro et Lolobo. Memoire de DEA, CEMV de Bouaké, Université d'Abidjan.
- SOULE, M. 1973. The epistasis cycle: a theory of marginal population. *Annual Review of Ecology and Systematic*, 4: 165-187.
- SOUTHGATE, V.R. & ROLLINSON, D. 1980. Interaction of *Schistosoma haematobium* and *S. intercalatum* in Loum, Cameroun. *Proceedings of the Third European Multicolloquium of Parasitology*: abstract n° 24.
- SOUTHGATE, V.R. & KNOWLES, R.J. 1975. Studies on *Schistosoma bovis* from geographical areas. *Proceedings of the second European Multicolloquium of Parasitology*, Trogir: 135-142.
- SOUTHGATE, V.R., ROLLINSON, D., ROSS, G.C. & KNOWLES, R.J. 1980. Observation on an isolate of *S. bovis* from Tanzania. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 63: 241-249.
- STEARNS, S.C. 1976. Life history tactics : a review of the ideas. *Quarterly Review of Biology*, 51: 3-47.
- STEBBINS, G.L. 1950. *Variation and Evolution in plants*. (Columbia, University Press ed.), New York.
- STEBBINS, G.L. 1977. *Process of Organic Evolution*, 3rd ed. Prencetice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- SWOFFORD, D.L. & SELANDER, R.B. 1989. A computer program for analysis of allelic variation in genetics and biochemical systematic. (D.L. Swofford ed.), Illinois Natural history Survey.
- TOUASSEM, R. 1987. Eggs polymorphism of *Schistosoma bovis*. *Veterinary Parasitology*, 23: 185-191.

- TOUASSEM, R. & JOURDANE, J. 1986. Etude de la compatibilité de *Schistosoma bovis* du Soudan et d'Espagne vis-a-vis de de *Bulinus truncatus* de Tunisie et *Planorbarius metidjensis* du Maroc. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **61**: 43-54.
- VERA, C. 1991. Contribution à l'étude de la variabilité génétique des schistosomes et de leurs hôtes intermédiaires: polymorphisme de la compatibilité entre diverses populations de *Schistosoma haematobium*, *S. bovis* et *S. curassoni* et les bulins hôtes potentiels en Afrique de l'Ouest. Thèse de doctorat, Université de Montpellier II.
- VERA, C., JOURDANE, J., SELLIN, B. & COMBES, C. 1990. Genetic variability in the compatibility between *Schistosoma haematobium* and its potential vectors in Niger. *Tropical Medicine and Parasitology*, **41**: 143-148.
- VIANEY-LIAUD, M. 1976. Influence de l'isolement et de la taille sur la fécondité du planorbe *Australorbis glabratus* (Gastéropode Pulmoné). *Bulletin Biologique de la France et de la Belgique*, **110**: 5-29
- VIANEY-LIAUD, M. 1989. Growth and fecundity in a black-pigmented and albino strain of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae). *Malacological Review*, **22**: 25-32.
- VIANEY-LIAUD, M. 1990. Biologie de la reproduction de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Mollusque, Gastéropode, Planorbidae). Thèse de doctorat d'Etat de l'Université de Montpellier II, France.
- VRIJENHOEK, R.C. 1985. *Animal population disturbance: The effects of local extinctions and recolonisation in heterozygosity and fitness*. In: (Pickett STA, White P. eds.), *Natural disturbance: The patch dynamics perspectives*. New York, Academic, 265-285.
- WADE, M.J. & McCAULEY, D.E. 1988. Extinction and recolonisation: their effects on the genetic differentiation of local populations. *Evolution*, **42**: 995-1005.
- WOODRUFF, D.S. 1978. Biological control of schistosomiasis by genetic manipulation of intermediate host snail populations. *Proceedings of the International Conference on Schistosomiasis*, **2**: 755.
- WOODRUFF, D. S., MULVEY, M. & YIPP, M. W. 1985. Population genetics of *Biomphalaria straminea* in Hong Kong. *The Journal of Heredity*, **76**: 355-360.
- WOOLHOUSE, M.E.J. 1988a. Passive dispersal of *Bulinus globosus*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, **82**: 315-317.
- WOOLHOUSE, M.E.J. 1988b. A mark-recapture method for ecological studies of schistosomiasis vector snail populations. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, **82**: 485-497.

- WRIGHT, C.A. 1971. *Flukes and snails*. (Georges Allen & Unwin ed.), London.
- WRIGHT, C.A. 1977. Co-evolution of Bulinid snails and african schistosomes. In: *Medicine in a tropical environment*, (Gear, J.H., ed.), Capetown, Balkema: 291-300.
- WRIGHT, C.A., SOUTHGATE, V.R., VAN WIJK, H.B. & MOORE, P.J. 1974. Hybrids between *Schistosoma heamatobium* and *S. intercalatum* in Cameroun. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **68**: 413-414.
- WRIGHT, C.A. & ROSS, G.C. 1965. Electrophoretic studies in some planorbid eggs proteins. *Bulletin of World Health Organisation*, **32**: 702-712.
- WRIGHT, C.A. & ROLLINSON, D. 1979. Analysis of enzymes in the *Bulinus africanus* group (Mollusca: Planorbidae) by isoelectric focusing. *Journal of Natural History*, **15**: 873-885.
- WRIGHT, C. A. & ROLLINSON, D. 1981. Analysis of enzymes in the *Bulinus tropicus/truncatus* complex (Mollusca: Planorbidae). *Journal of Natural History*, **15**: 873-885
- WRIGHT, S. 1931. Evolution in mendelian populations. *Genetics*, **16**: 97-159.
- WRIGHT, S. 1978. *Evolution and the genetics of populations. Vol. 4. Variability within and among natural populations*. (University of Chicago Press ed.), 580 p.
- WU, S.K. 1972. Comparative studies on a polyploid series of the African genus *Bulinus*. *Malacological Review*, **5**: 95-163.
- WURZINGER, K.H. & SALIBA, E.K. 1979. A cytological and electrophoretic comparison of Jordanian *Bulinus* with three other tetraploid *Bulinus* populations. *Malacological Review*, **12**: 583-591.
- XIA, M. 1990. Contribution à l'étude du développement et de la variabilité génétique de *Schistosoma japonicum*. Thèse de Doctorat, Université de Perpignan, France.
- ZOUROS, E. & FOLTZ, D.W. 1984. Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve molluscs. *Malacologia*, **25**: 583-591.
- ZOUROS, E. & FOLTZ, D.W. 1987. The use of allelic isozyme variation for the study of heterosis. In: *Isozymes: Current Topics in Biological and Medical Research*, **13**: 1-59.

## ANNEXES

### ANNEXES 1: COMPOSITION DES TAMPONS D'ELECTROPHORESE

#### - TRIS CITRATE pH 8/8 (TC 8)

##### Tampon d'électrodes

Tris	75,6 g
Acide citrique, monohydrate	30,0 g
H <sub>2</sub> O	1000 ml

ajuster à pH 8

##### Tampon de gel

Dilution au 1/29 du tampon d'électrodes; ajuster à pH 8

#### - TRIS CITRATE pH 6,7/6,3

##### Tampon d'électrodes

Tris	27,0 g
Acide citrique, monohydrate	18,0 g
H <sub>2</sub> O	1000 ml

ajuster à pH 6,3

##### Tampon de gel

Tris	0,97 g
Acide citrique monohydrate	0,63 g
H <sub>2</sub> O	1000 ml

ajuster à pH 6,7

#### - TRIS EDTA ACIDE BORIQUE (TEB) pH 8,1/8,6

##### Solution mère

Tris	25,44 g
EDTA	0,12 g
Acide borique	9,28 g
H <sub>2</sub> O	1000 ml

##### Tampon d'électrodes

Dilution au 1/2 de la solution mère; ajuster à pH 8,6

##### Tampon de gel

Dilution au 1/14 de la solution mère; ajuster à pH 8,1

#### - TRIS CITRATE BORATE NAOH (TCB) pH 8,2/8,7

##### Tampon d'électrodes

Acide borique	18,5 g
NaOH	2,4
H <sub>2</sub> O	1000 ml
ajuster à pH 8,2	
<u>Tampon de gel</u>	
Tris	9,2 g
Acide citrique monohydrate	1,05 g
H <sub>2</sub> O	1000 ml
ajuster à pH 8,7	

**- TRIS EDTA ACIDE BORIQUE (TEB) pH 9/9**

Tampon d'électrodes

Tris	31,62 g
EDTA	1,23 g
Acide borique	4,86 g
H <sub>2</sub> O	1000 ml
ajuster à pH 9	

Tampon de gel

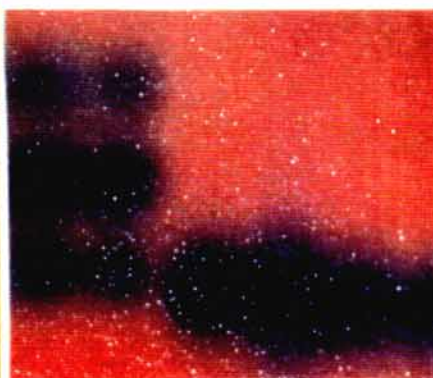
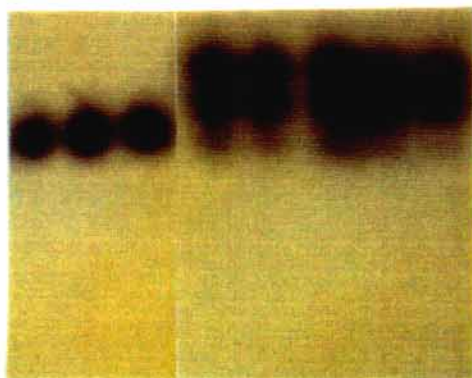
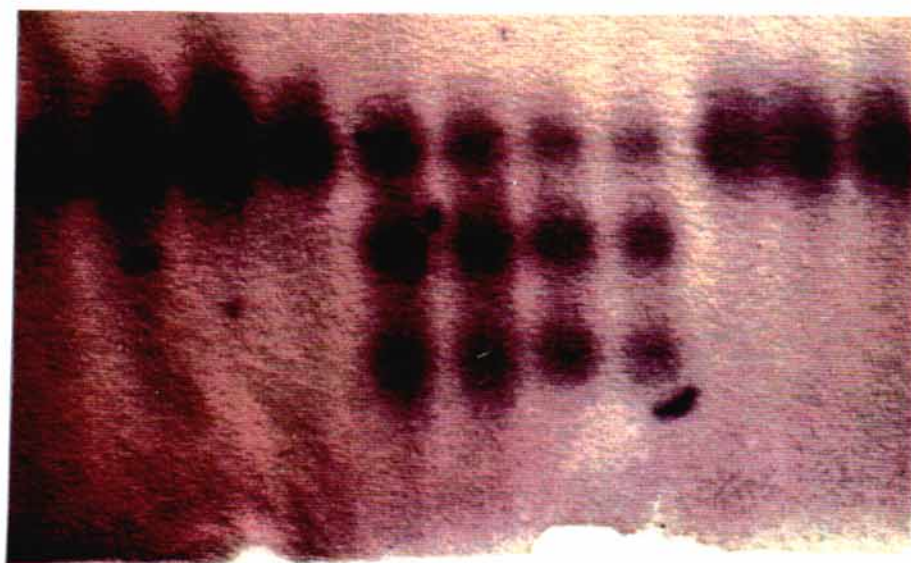
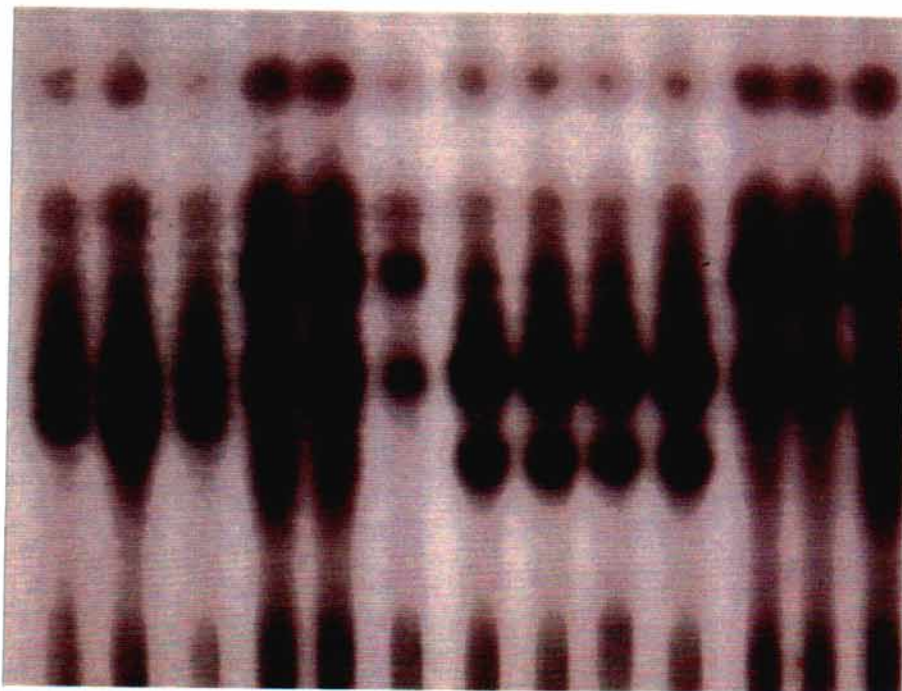
Tris	10,54 g
EDTA	0,41 g
Acide borique	0,54 g
H <sub>2</sub> O	1000 ml
ajuster à pH 9	

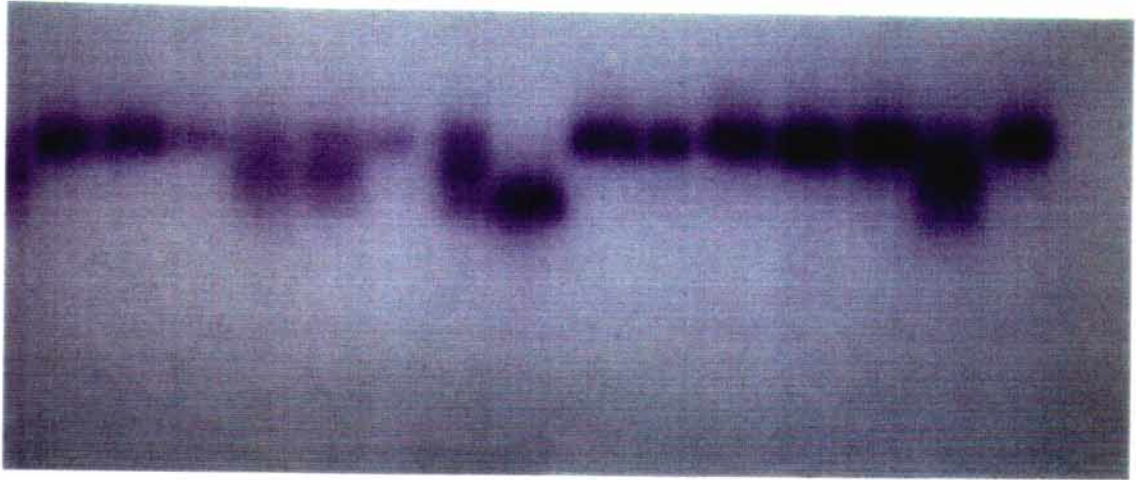
**ANNEXE 2: SOLUTION DE BROYAGE DES BULINS (1 litre)**

Tris	1,2 g
EDTA	0,37 g
H <sub>2</sub> O	1000 ml
NADP en solution de 1% dans H <sub>2</sub> O	4 ml

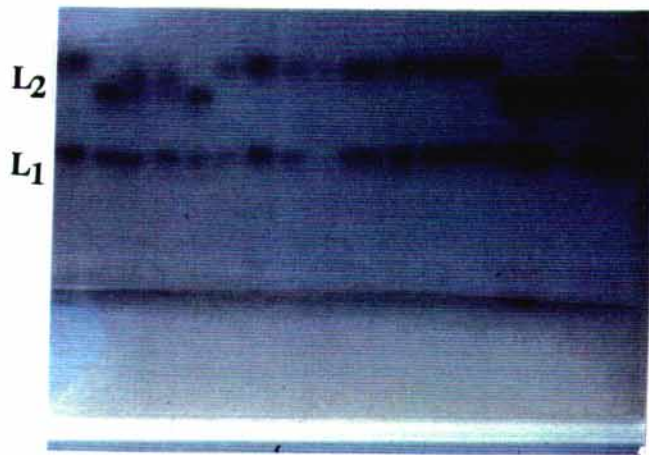
**ANNEXE 3: SOLUTION ALCOOLIQUE POUR FIXATION DES GELS (1 litre)**

Ethanol	400 ml
Acide acétique	100 ml
H <sub>2</sub> O	500 ml

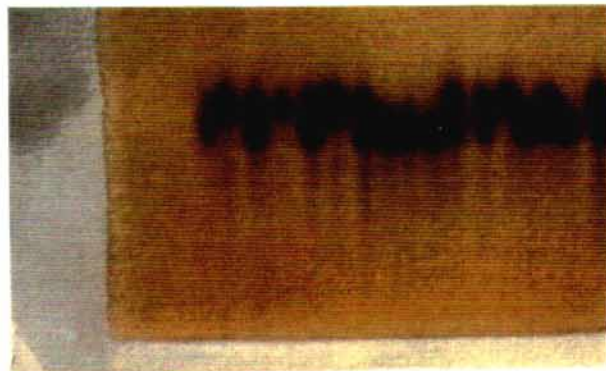




**E**



**F**



**G**

#### ANNEXE 4: QUELQUES ELECTROMORPHES DES BULINS

##### *B. truncatus*

**A:** Variation géographique de l'EST-2

De gauche à droite: trois premiers individus, originaires de Natio, phénotype EST-2<sup>90/100</sup>: type le plus fréquent en Côte d'Ivoire; 3<sup>ème</sup> au 6<sup>ème</sup> individu, EST-2<sup>100/110</sup>: type rencontré en Côte d'Ivoire uniquement chez les individus de Tienko; 7<sup>ème</sup> à 10<sup>ème</sup> individu, originaires de Bangario, EST-2<sup>80/100</sup>: type le plus fréquent au Niger; 11<sup>ème</sup> à 13<sup>ème</sup> individus, originaires d'Egypte, EST-2<sup>100/110</sup>.  
Tous ces individus ont le phénotypes EST-3<sup>100/110</sup>.

**B:** Les deux phénotypes connus au locus GPI-1:

- trois bandes: GPI-1<sup>80/100</sup>, phénotype rencontré uniquement chez les individus de Bangario.
- une bande: GPI-1<sup>100/100</sup>, phénotype rencontré dans les autres populations.

**C:** Les deux phénotypes identifiés au locus NP-1 en Côte d'Ivoire: individus de Ferkessédougou, une bande: NP-1<sup>100/100</sup>, trois bandes: NP-1<sup>100/110</sup>.

**D:** Les deux phénotypes identifiés au locus AAT-2:

- trois bandes, AAT-2<sup>100/110</sup>, phénotype rencontré uniquement chez les individus de Yamoussoukro
- une bande, individus de Natio, AAT-2<sup>100/100</sup>, phénotype rencontré dans toutes les autres populations.

*B. globosus*

**E:** Polymorphisme au locus IDH-1 chez les individus de Liboré 8:

- bande lente: IDH-1<sup>100/100</sup>
- bande rapide: IDH-1<sup>120/120</sup>,
- trois bandes: hétérozygote IDH-1<sup>100/120</sup>.

**F:** La peptidase B chez les individus de Liboré 9.

L<sub>1</sub>: locus PEPB-1, monomorphe dans toutes les populations,

L<sub>2</sub>: locus PEPB-2, polymorphe à Liboré 9:

- Bande lente: PEPB-2<sup>60/60</sup>
- Bande rapide: PEPB-2<sup>100/100</sup>,
- trois bandes: hétérozygote PEPB-2<sup>60/100</sup>.

**G:** Polymorphisme au locus GPI-1 à Daikaina:

- bande lente: GPI-1<sup>100/100</sup>
- bande rapide: GPI-1<sup>120/120</sup>,
- trois bandes: hétérozygote GPI-1<sup>100/120</sup>.

ANNEXE 5: MATRICE DE DISTANCES GENETIQUES ENTRE  
 ECHANTILLONS DE *B. GLOBOSUS*.  
 (Voir Tableau 6 pour l'identification des échantillons).

Echant.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
1 AKa	****	.001	.000	.135	.133	.028	.024	.025	.058	.013	.021	.020	.022	.022	.051	.239	.219	.229	.262	.278	.197	.197	.201
2 AKAb		****	.000	.138	.136	.030	.026	.027	.054	.007	.011	.010	.025	.025	.033	.232	.212	.222	.255	.271	.191	.190	.195
3 AKAc			****	.134	.132	.026	.023	.024	.053	.005	.011	.011	.021	.021	.029	.230	.210	.220	.253	.269	.189	.188	.193
4 ELVa				****	.005	.112	.109	.109	.185	.126	.150	.174	.106	.106	.116	.197	.192	.198	.276	.279	.253	.252	.257
5 ELVb					****	.110	.107	.107	.183	.124	.148	.172	.104	.104	.114	.212	.205	.212	.274	.277	.251	.250	.255
6 SAK						****	.003	.004	.067	.019	.043	.064	.004	.005	.001	.245	.223	.233	.266	.282	.202	.201	.206
7 KAKa							****	.000	.063	.016	.039	.060	.001	.001	.004	.235	.218	.227	.261	.277	.197	.196	.200
8 KAKb								****	.062	.017	.040	.061	.002	.002	.003	.238	.219	.228	.261	.277	.198	.197	.202
9 KAM									****	.051	.059	.066	.066	.066	.065	.177	.159	.168	.290	.216	.140	.139	.143
10 TIE										****	.005	.015	.015	.015	.022	.219	.200	.210	.243	.259	.180	.179	.184
11 OMAa											****	.004	.037	.037	.046	.226	.207	.217	.250	.265	.186	.186	.190
12 OMAb												****	.058	.058	.068	.241	.221	.231	.264	.280	.200	.199	.204
13 ODS													****	.000	.007	.233	.214	.223	.256	.272	.193	.193	.197
14 FRC														****	.008	.232	.213	.223	.256	.272	.195	.195	.197
15 KAM															****	.248	.229	.238	.272	.288	.207	.206	.211
16 MA1a																****	.001	.000	.035	.040	.055	.056	.052
17 MA1b																	****	.000	.029	.035	.043	.044	.041
18 MA1c																		****	.029	.035	.050	.052	.048
19 LI9a																			****	.001	.047	.049	.045
20 LI9b																				****	.061	.063	.056
21 LI8a																					****	.000	.000
22 LI8b																						****	.000
23 LI8c																							****

**ANNEXE 6: MATRICE DE DISTANCES GENETIQUES ENTRE ECHANTILLONS DE *B. TRUNCATUS* (codage minimisant).  
(Voir Tableau 10 pour l'identification des échantillons).**

Echant.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1 SOBa	####	.000	.044	.063	.019	.013	.005	.010	.000	.000	.000	.021	.035	.035	.137	.071	.109	.035	.109	.148	.109	.071	.092	.109	.109
2 SOBb	####	.044	.063	.019	.013	.005	.010	.000	.000	.000	.000	.021	.035	.035	.137	.071	.109	.035	.109	.148	.109	.071	.092	.109	.109
3 NPKa	####	.003	.027	.027	.030	.028	.041	.044	.044	.027	.031	.031	.133	.067	.105	.031	.132	.145	.105	.047	.088	.105	.105		
4 NPKb	####	.027	.031	.041	.034	.038	.063	.063	.028	.027	.027	.128	.063	.100	.027	.140	.140	.100	.063	.063	.100	.100			
5 OUXa	####	.000	.004	.001	.015	.019	.019	.000	.002	.002	.101	.038	.074	.002	.102	.113	.074	.038	.037	.074	.074				
6 OUXb	####	.001	.000	.010	.013	.013	.000	.004	.004	.103	.040	.077	.004	.101	.115	.077	.040	.039	.077	.077					
7 DUNC	####	.000	.003	.005	.005	.005	.013	.013	.113	.049	.086	.013	.101	.125	.066	.049	.049	.086	.086						
8 FERa	####	.007	.010	.010	.001	.007	.007	.104	.043	.060	.007	.100	.118	.090	.043	.043	.060	.090	.090						
9 FERb	####	.000	.000	.017	.031	.031	.132	.067	.104	.031	.107	.144	.104	.067	.087	.104	.104								
10 MATa	####	.000	.021	.035	.035	.137	.071	.109	.035	.109	.148	.109	.071	.092	.109	.109									
11 MATb	####	.021	.035	.035	.137	.071	.109	.035	.109	.148	.109	.071	.092	.109	.109										
12 TABa	####	.001	.001	.100	.037	.073	.001	.103	.111	.073	.037	.056	.073	.073											
13 TABb	####	.000	.098	.035	.071	.000	.109	.109	.071	.035	.034	.071	.071												
14 DIA	####	.098	.035	.071	.000	.109	.109	.071	.035	.034	.071	.071													
15 MSP	####	.104	.177	.078	.150	.001	.110	.072	.014	.110	.066														
16 TIE	####	.109	.035	.109	.109	.071	.035	.034	.071	.035															
17 YAH	####	.071	.189	.148	.109	.131	.148	.148																	
18 SAN	####	.109	.109	.071	.035	.034	.071	.071																	
19 BAI	####	.148	.109	.071	.107	.109	.148																		
20 ELN	####	.109	.071	.015	.109	.071																			
21 BAN	####	.035	.066	.071	.109																				
22 TEN	####	.031	.035	.071																					
23 TIM	####	.068	.046																						
24 LIB	####	.109																							
25 EGY	####																								

ANNEXE 7: MATRICE DE DISTANCES GENETIQUES ENTRE  
 ECHANTILLONS DE *B. TRUNCATUS* (codage "hétérozygote fixé").  
 (Voir Tableau 10 pour l'identification des échantillons).

Echant	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1 S00a	####	.000	.014	.021	.005	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.003	.011	.009	.050	.024	.039	.010	.039	.067	.039	.025	.037	.025	.038
2 S00b	####	.014	.020	.004	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.003	.011	.008	.058	.024	.038	.010	.038	.067	.039	.022	.036	.024	.038
3 NPLa	####	.000	.000	.005	.000	.007	.013	.012	.014	.004	.009	.007	.035	.023	.037	.009	.079	.044	.037	.021	.034	.023	.034		
4 NPLb	####	.009	.006	.012	.009	.019	.018	.021	.004	.003	.005	.053	.021	.034	.007	.072	.042	.035	.017	.032	.021	.034			
5 OUMa	####	.000	.000	.030	.004	.003	.005	.000	.000	.000	.045	.012	.026	.000	.036	.054	.026	.010	.024	.012	.025				
6 OUMb	####	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.045	.010	.024	.000	.032	.032	.024	.030	.021	.010	.023				
7 OUMc	####	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.002	.000	.040	.015	.029	.001	.034	.057	.030	.013	.027	.015	.029					
8 FERa	####	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.045	.012	.026	.000	.034	.054	.027	.011	.024	.013	.026					
9 FERb	####	.000	.000	.002	.009	.007	.056	.023	.037	.009	.038	.045	.037	.021	.035	.023	.037								
10 NATA	####	.000	.001	.009	.006	.056	.022	.036	.008	.036	.045	.037	.020	.034	.022	.036									
11 NATb	####	.004	.011	.009	.050	.024	.039	.010	.039	.067	.039	.025	.037	.025	.039										
12 TABa	####	.000	.000	.042	.009	.023	.000	.034	.051	.023	.007	.021	.009	.023											
13 TABb	####	.000	.043	.011	.025	.000	.038	.052	.025	.009	.022	.011	.024												
14 BIA	####	.041	.008	.022	.000	.036	.050	.022	.007	.020	.009	.022													
15 NOP	####	.045	.072	.042	.042	.000	.049	.032	.000	.045	.017														
16 TIE	####	.036	.010	.038	.052	.025	.009	.022	.024	.010															
17 TAH	####	.024	.066	.061	.053	.036	.050	.038	.052																
18 SHI	####	.037	.051	.024	.008	.022	.010	.023																	
19 BAI	####	.066	.039	.025	.042	.038	.052																		
20 ELI	####	.053	.036	.005	.052	.024																			
21 BAK	####	.009	.020	.025	.039																				
22 TER	####	.012	.009	.022																					
23 TIR	####	.033	.011																						
24 LIB	####	.038																							
25 EGY	####																								

**ANNEXE 8: COMPOSITION DES GROUPES DE POPULATIONS  
IDENTIFIEES DANS L'ETUDE DES RELATIONS  
GENOTYPES/MILIEUX**

**Systèmes bioclimatiques**

Forêt: Mopé et Elevi.

Zone préforestière: Yamoussoukro, Nguessan Pokoukro, Diabo, Tabako, Akakronzipris, Sakiare, Manikro et Kan.

Zone guinéo-soudanienne: Fronan, Odienné nord, Odienné sud, Tiémé, Ounantiékaha, Sodépra, Ferkessédougou, Natio, Tienko et Samatiguila.

Savane sahélienne: Daikaina, Liboré 8, Liboré 9, Bangario et Tem.

Zone saharienne: El-Méki et Timia.

**Pluviométrie annuelle**

1600-1200 mm: Odienné nord, Odienné sud, Tiémé, Man, Elevi, Mopé, Tienko et Samatiguila.

1200-900 mm: Natio, Sodépra, Ferkessédougou, Ounantékaha, Diabo, Tabako, Nguessan Pokoukro, Manikro, Kan, Fronan, Sakiare et Akakronzipris.

900-400 mm: Daikaina, Liboré 8, Liboré 9, Bangario et Tem.

400-100 mm: El-Méki et Timia.

**Les types de collection d'eau**

Canaux d'irrigation: Liboré 8, Liboré 9, Daikaina et Natio.

Barrage et étangs permanents: Sodépra, Nguessan Pokoukro, Ounantiékaha, Ferkessédougou, Tienko, Yamoussoukro, Diabo, Fronan et Manikro.

Mares temporaires: Bangario, Tem.

Rivières et ruisseaux: Tabako, Samatiguila, Odienné nord, Odienné sud, Tiémé, Kan, Man, Sakiare, Akakronzipris et Elevi.

Gueltas (mares permanentes): Timia et El-Méki.

ISBN : 2-7099-1110-8  
Éditions de l'ORSTOM  
72, route d'Aulnay  
93143 BONDY Cedex