**SUR LA DIFFÉRENCIATION DES FEMELLES
DU SOUS-GENRE *LARROUSSIUS* NITZULESCU, 1931
(Diptera-Phlebotomidae) de la région méditerranéenne.**

N. LÉGER*, B. PESSON**, G. MADULO-LEBLOND*** et E. ABONNENC***

RÉSUMÉ. L'étude morphologique de la région distale des conduits des spermathèques a mis en évidence l'existence de diverticules dont l'aspect varie selon les espèces. Ce critère est utilisé pour la diagnose des femelles du sous-genre *Larroussius* appartenant à la faune méditerranéenne.

About the differentiation of females from *Larroussius* s. gen. Nitzulescu, 1931 in the Mediterranean region.

SUMMARY. The observation of the distal part of spermathecal ducts shows basal dilatations whose form varies with species. This character can be used for specific identification of females belonging to Mediterranean species of *Larroussius*.

Les phlébotomes du sous-genre *Larroussius* forment un groupe relativement homogène et numériquement important avec 26 espèces actuellement connues (Lewis, 1982).

Leur rôle dans la transmission des leishmanioses viscérales justifie l'intérêt de leur étude.

Si la diagnose des mâles, dont les caractères morphologiques sont souvent bien tranchés, ne pose pas trop de problèmes, celle des femelles reste délicate, s'appuyant parfois uniquement sur des critères de cohabitation avec les mâles, de peu de valeur pour les espèces sympatriques.

C'est pourquoi ayant à notre disposition un matériel important en provenance de divers pays méditerranéens, il nous a paru intéressant de comparer entre elles les femelles des espèces rencontrées dans ces régions, dans l'espoir de découvrir de nouveaux critères de différenciation susceptibles d'en faciliter l'identification.

* U.E.R. de Pharmacie de Reims, F 51096 Reims.

** U.E.R. de Pharmacie de Strasbourg, F 67048 Strasbourg.

*** U.E.R. de Pharmacie de Paris XI, F 92290 Chatenay-Malabry.

**** 4 passage Catinat, F 95210 Saint Gratien.

Accepté le 23 décembre 1982.

I — Les espèces étudiées

D'après Lewis (1982), la liste, par ordre alphabétique, des espèces méditerranéennes de *Larroussius* actuellement connues s'établit comme suit :

Phlebotomus ariasi Tonnoir 1921 ;

P. chadlii Rioux, Juminer et Gibily 1966 (femelle inconnue) ;

P. kandelakii Shchurenkova 1929 ;

P. langeroni Nitzulescu 1930 (femelle inconnue) ;

P. longicuspis Nitzulescu 1930 ;

P. major Annandale 1910 ;

P. mariae Rioux, Croset, Léger et Bailly-Choumara 1974 (femelle inconnue) ;

P. perfiliewi Parrot 1930 ;

P. perniciosus Newstead 1911 ;

P. tobbi Adler et Theodor 1930.

Certaines de ces espèces comportent plusieurs sous-espèces dont l'individualisation, sur le plan morphologique, est parfois délicate.

Nous avons exclu de cette liste *P. mascittii* Grassi 1908, classé par Theodor (1958) dans le sous-genre *Adlerius* et qu'Artemiev (1980) a proposé d'inclure parmi les *Larroussius*, position adoptée « provisoirement » par Lewis dans sa récente revue du genre *Phlebotomus* (1982). Pour notre part nous nous refusons à adopter ce point de vue, les femelles de *P. mascittii* ne possédant pas les caractères utilisés par Nitzulescu (1931) pour définir le sous-genre *Larroussius*, à savoir : les spermathèques annelées, à col plus ou moins long, et le pharynx armé de petites pointes, comme chez *P. major*. Si l'appartenance de *P. mascittii* au sous-genre *Adlerius* peut être discutée du fait de la morphologie un peu particulière des spermathèques, rien n'autorise à rattacher cette espèce au sous-genre *Larroussius*.

Compte tenu des espèces connues seulement par les mâles, notre étude a donc porté sur les 7 femelles de la région méditerranéenne actuellement décrites.

II — Les critères de différenciation utilisés

L'identification des *Phlebotomus* femelles repose essentiellement sur la morphologie de l'armature pharyngienne et des spermathèques. Le premier critère est souvent d'interprétation délicate. Outre des variations individuelles souvent importantes, l'orientation, variable au montage, du pharynx dont la section est triangulaire explique certaines divergences dans les descriptions qui intéressent tantôt la plaque dorsale, tantôt les plaques latérales, parfois même l'ensemble des trois. La dissection fine de ces pièces avec mise à plat des trois volets et l'observation des préparations obtenues en contraste de phase, en contraste interférentiel ou en microscopie à balayage, permet une meilleure utilisation de ce caractère.

Les descriptions des spermathèques ont surtout trait à la morphologie des réservoirs et des processus terminaux. A quelques exceptions près les conduits, en particulier dans leur portion distale peu visible sur les montages *in toto*, sont négligés. Or lorsqu'on effectue leur dissection après un éclaircissement peu traumatisant et maintenant les conduits dilatés, on s'aperçoit qu'il existe à ce niveau des différences morphologiques significatives. L'examen minutieux de la zone de jonction des canaux des spermathèques et du vagin s'est révélé particulièrement précieux pour la diagnose des espèces.

III — Les techniques employées

Les exemplaires étudiés ont été traités de plusieurs façons.

A — Montage permanent dans le baume du Canada, après coloration (Abonnenc, 1972) :

Les résultats obtenus varient beaucoup d'un échantillon à l'autre. Le corps des spermathèques est plus ou moins coloré et surtout la partie distale des conduits, rarement nette, est le plus souvent rétractée.

B — Montage dans la gomme au chloral (Abonnenc, 1972) :

Les spermathèques et leurs conduits apparaissent beaucoup mieux. Cependant à la longue leur réfringence s'atténue et au bout de quelques mois les préparations même lutées, ne sont pas supérieures à celles obtenues avec la technique précédente.

Nous avons essayé de pratiquer cette technique après avoir fait subir au matériel un éclaircissement préalable par la potasse à 20 %. Ceci nous permet de confirmer la nocivité de ce traitement pour les conduits des spermathèques, fait déjà signalé par Lewis (1982).

C — Dissection dans le liquide de Marc André (Abonnenc, 1972) :

Les phlébotomes frais ou conservés dans l'alcool, sont directement mis dans le liquide. L'éclaircissement peut se faire soit à froid (2 à 8 heures), soit à l'ébullition (1 à 2 minutes). C'est cette dernière technique qui nous a donné les meilleurs résultats. Les échantillons ainsi traités se dissèquent aisément et les spermathèques ne se rétractent pas. La tête est sectionnée. Le pharynx, une fois sorti, est ouvert à l'aide de minuties et les trois volets sont disposés à plat, la face interne tournée vers le haut. Après avoir sectionné le tégument au niveau de l'avant dernier segment abdominal, on tire à l'aide d'une pince fine sur l'extrémité postérieure. Les spermathèques sortent. On les oriente en déroulant soigneusement les conduits. L'observation immédiate se fait entre lame et lamelle au contraste de phase. Il est également possible de faire un montage permanent dans la gomme au chloral. Mais il faut savoir que ces préparations s'altèrent et que l'aspect des structures les plus fragiles évolue rapidement. Ainsi la striation des conduits peut complètement disparaître en quelques heures. Certains pharynx ont été traités pour l'observation en microscopie à balayage.

IV — Le résultat des observations

— *Phlebotomus (Larroussius) ariasi* Tonnoir, 1921 (fig. 1).

1) Provenance des exemplaires étudiés : France (Hérault).

2) Techniques d'étude : montage *in toto* dans le baume du Canada, dissection dans le liquide de Marc-André.

3) Aspect des spermathèques : l'individualisation des femelles de cette espèce est relativement facile du fait des deux particularités morphologiques déjà signalées par d'autres auteurs (Nitzulescu 1930 ; Raynal et Le Gac 1933, 1934 ; Zariquiey, 1937) à savoir :

— faisant suite à un réservoir court de 10 à 14 anneaux, l'existence d'un processus terminal relativement court et épais (18 à 27 μm de long), ne présentant pas de rétrécissement au dessous de la tête qui est sphérique et à peine renflée ;

— un conduit individuel renflé en fuseau dans sa moitié distale. La paroi de ce renflement distal est souvent décrite comme étant plissée dans le sens longitudinal (Rioux et coll., 1969). La dissection après traitement par le liquide de Marc-André à l'ébullition fait apparaître une structure gauffrée, en nid d'abeille, aspect déjà suggéré par les dessins de Parrot (1935) et Theodor (1958).

FIG. 1. — *Phlebotomus ariasi* : A - spermathèques ;
B - détail des conduits des spermathèques ; C - pharynx.

Contrairement à ce qui est généralement représenté sur les dessins la partie étroite du conduit est nettement striée. En outre, la dissection confirme l'absence de conduit commun, chaque conduit débouchant séparément dans le vagin.

4) Aspect du pharynx : la plaque dorsale pharyngienne est armée sur une surface qui correspond à environ $1/5^e$ de la longueur totale, de denticules punctiformes disposés de façon irrégulière en avant et de rangées transversales de petites saillies finement denticulées (formations en peignes) en arrière.

— *Phlebotomus (Larroussius) kandelakii* Shchurenkova, 1929 (fig. 2).

1) Provenance de l'exemplaire étudié : Russie (communiqué par Dolmatova).

2) Technique d'étude : montage dans le baume du Canada.

3) Aspect des spermathèques : le corps est remarquable par son étroitesse et le nombre élevé d'anneaux (40). Le cou du processus terminal est grêle et la tête est très renflée.

Contrairement à ce que représente Perfiliev (1966), le conduit, large, est très nettement strié et légèrement dilaté à la base. Cette dilatation basale mériterait d'être étudiée de plus près, après dissection, ce que, ne disposant que d'un seul exemplaire déjà monté, nous n'avons pu faire.

FIG. 2. — *Phlebotomus kandelakii* : A - spermathèques ;
B - pharynx.

4) Aspect du pharynx : le pharynx est armé sur son 1/4 postérieur de rangées incurvées de stries transversales, servant d'assise à des denticules punctiformes plus ou moins gros. En avant de ces rangées et sur la partie médiane, on voit des séries de denticules aigus dirigés vers l'arrière.

— *Phlebotomus (Larrousius) longicuspis* Nitzulescu, 1930 (fig. 3).

1) Provenance des exemplaires étudiés : Maroc.

2) Techniques d'étude : montages dans le baume du Canada et dans la gomme au chloral, dissection dans le liquide de Marc-André : microscopie à balayage.

3) Aspect des spermathèques : le corps de la spermathèque comporte 10 à 12 segments. Le processus terminal présente un cou grêle dont le diamètre diminue progressivement de la base à l'extrémité distale et une petite tête arrondie.

Au conduit strié de la spermathèque est annexé en dérivation un bulbe sub-terminal légèrement bilobé, à parois épaisses, délimitant des loges internes, qui s'ouvre largement dans le conduit jusqu'à l'abouchement avec l'atrium génital, si bien qu'il est difficile de dire si cette formation représente une annexe du conduit ou un diverticule du vagin.

4) Aspect du pharynx : il est orné sur un quart de la longueur totale de rangées transversales de petits peignes, les peignes antérieurs présentant des dents plus marquées que les postérieurs (fig. A).

FIG. 3. — *Phlebotomus longicuspis* : A - spermathèques ; B - réservoirs annexés aux conduits des spermathèques (détail) ; C - pharynx.

— *Phlebotomus (Larroussius) major* Annandale 1910 (fig. 4).

1) Provenance des exemplaires étudiés : Grèce (Andros). Nous les avons rattachés à la sous-espèce *syriacus*.

2) Techniques d'étude : montages dans le baume du Canada et dans la gomme au chloral, dissection dans le liquide de Marc-André.

3) Aspect des spermathèques : le corps de la spermathèque est formé de 12 à 16 segments. Le processus terminal est relativement long avec un cou étroit et cylindrique et une tête plutôt ovale.

Il existe autour du cou un manchon toujours net et généralement bien colorable par la fuschine. Bien que cette formation soit quelquefois visible chez d'autres femelles de *Larroussius*, elle n'est jamais aussi nette.

Les conduits sont d'abord striés puis légèrement plissés et, avant d'arriver à l'atrium génital, ils se réunissent pour former un conduit commun d'une longueur égale environ au tiers de celle des conduits individuels. Cette disposition, déjà observée par Parrot (1935), est exceptionnelle dans le genre *Phlebotomus* où, d'après Perfiliev (1966) qui ne fait pas état de la description de Parrot, elle ne se rencontrerait que dans les deux sous-genres : *Euphlebotomus* et *Anaphlebotomus*. Elle n'apparaît que sur les exemplaires disséqués dans le liquide de Marc-André. Sur les montages *in toto*, cette partie est affaissée et les conduits individuels semblent déboucher séparément à l'extérieur.

FIG. 4. — *Phlebotomus major* : A - spermathèques ; B - conduit commun des spermathèques ; C - pharynx.

4) Aspect du pharynx : l'armature pharyngienne, caractéristique, est très développée. Elle est formée en arrière de séries de peignes munis de dents épaisses. En avant une zone triangulaire porte des mamelons plus marqués, garnis d'épines longues et grêles. Sur les montages *in toto*, on voit sur les bords les ornements en forme d'écailles portés par les volets ventraux.

— *Phlebotomus (Larrousius) perfiliewi* Parrot, 1930 (*fig. 5*).

1) Provenance des exemplaires étudiés : Grèce (Corfou).

2) Techniques d'étude : montages dans le baume du Canada et la gomme au chloral, dissection dans le liquide de Marc-André.

3) Aspect des spermathèques : le corps de la spermathèque, qui comporte une quinzaine d'anneaux, porte un processus terminal grêle avec un cou rétréci à la partie distale et une petite tête plutôt ovale.

Le conduit de la spermathèque est strié. Il débouche dans une grande poche asymétrique, aux parois épaisses et fripées. Les deux poches, indépendantes l'une de l'autre, s'ouvrent côte à côte dans l'atrium génital, par de larges orifices.

4) Aspect du pharynx : la partie postérieure, étroite, est garnie de rangées sensiblement horizontales de denticules plus courts sur les bords que dans la région médiane. L'insertion de la première rangée de dents apparaît nettement perpendiculaire à l'axe longitudinal du pharynx (*fig. 1B*).

FIG. 5. — *Phlebotomus perfiliewi* : A - spermathèques ; B — diverticules de la base des conduits des spermathèques (détail) ; C - pharynx.

— *Phlebotomus (Larroussius) perniciosus* Newstead, 1911 (fig. 6).

- 1) Provenance des exemplaires étudiés : France (Alpes maritimes, Corse), Maroc.
- 2) Techniques d'étude : montages dans le baume du Canada et dans la gomme au chloral, dissection dans le liquide de Marc-André.
- 3) Aspect des spermathèques : corps, processus terminal et conduit sont strictement identiques à ceux de *P. longicuspis*, les femelles des deux espèces étant généralement réputées comme étant indifférenciables (Theodor, 1958 ; Lewis, 1982).

L'examen de la partie terminale du conduit permet toutefois de lever l'incertitude. En effet le réservoir situé en dérivation est caractéristique. Les parois en sont très épaisses et réfringentes. La lumière est étroite, de forme conique, très pointue, s'ouvrant par un orifice circulaire dans la partie sub-terminale du conduit. Les deux conduits débouchent indépendamment à l'extérieur, mais ils sont réunis par un anneau chitineux bien développé si bien qu'il est difficile de les séparer l'un de l'autre. Pour voir clairement ces particularités morphologiques, il convient d'examiner les préparations aussitôt après la dissection. Au cours de la conservation dans la gomme au chloral, la lumière du diverticule a tendance à s'élargir et son aspect se rapproche de celui observé chez *P. longicuspis*, bien qu'il ne devienne jamais cordiforme et n'engaine pas le conduit.

- 4) Aspect du pharynx : le pharynx présente une armature composée en arrière de rangées transversales de peignes et en avant de denticules filiformes, disposés par petits groupes et descendant plus sur les bords qu'au centre.

FIG. 6. — *Phlebotomus perniciosus* : A - spermathèques ; B - détail de la base des conduits des spermathèques (en haut : aussitôt après la dissection ; en bas : après séjour dans la gomme au chloral) ; C - pharynx.

— *Phlebotomus (Larroussius) tobbi* Adler et Theodor, 1930 (*fig. 7*).

- 1) Provenance des exemplaires examinés : Grèce (Corfou).
- 2) Techniques d'étude : montages dans le baume du Canada et dans la gomme au chloral, dissection dans le liquide de Marc-André.
- 3) Aspect des spermathèques : le corps de la spermathèque, de petite taille, comporte une douzaine de segments.

Le processus terminal est relativement long et étroit et se termine par une tête très petite.

Les conduits, annelés, sont plus longs (en moyenne 215 μm) que dans les autres espèces. Ils se terminent par un renflement asymétrique, l'élargissement intéressant la partie externe. Bien que les deux orifices soient indépendants l'un de l'autre, ils sont entourés d'un anneau chitineux commun qui les rend solidaires au moment de la dissection.

- 4) Aspect du pharynx : il est très voisin de celui de *P. perfiliewi* mais avec des rangées de denticules plus arquées et une plaque armée s'avancant en pointe vers l'avant (*fig. 2B*).

FIG. 7. — *Phlebotomus tobbi* : A - spermathèques ; B - dilatations de la base des conduits des spermathèques (détail) ; C - pharynx.

FIG. A. — Pharynx de *Phlebotomus longicuspis* en microscopie à balayage.

1

2

FIG. B. — Pharynx en contraste interférentiel.
1) *Phlebotomus perfiliewi* ; 2) *Phlebotomus tobbi*.

V — Discussion

L'identification des femelles des sept espèces du sous-genre *Larroussius* étudiées ici repose essentiellement sur l'examen de la zone correspondant à la partie distale des conduits des spermathèques, à l'endroit où s'effectue la jonction avec l'atrium génital.

Perfiliev (1966) précise que ces conduits s'ouvrent à la face dorsale d'un diverticule en forme de vessie du vagin, au niveau duquel la paroi de l'organe est fortement chitinisée et présente des stries longitudinales. Il décrit un canal étroit faisant communiquer ce diverticule avec l'extérieur et s'ouvrant, comme la vulve, dorsalement par rapport à la plaque postgénitale.

Les formations que nous avons décrites apparaissent tantôt comme débouchant dans le conduit (*P. perniciosus*), tantôt comme s'ouvrant directement dans le vagin (*P. tobbi*). Parfois il est difficile de trancher entre l'appartenance au diverticule vaginal ou au conduit (*P. perfiliewi*).

Il semble que l'aspect de la lumière de ces formations soit souvent en rapport avec la forme de l'extrémité des valves péniennes du mâle : large renflement symétrique dans l'axe du conduit chez *P. ariasi*, poche triangulaire en dérivation à l'extérieur chez *P. perfiliewi*, pointe aiguë chez *P. perniciosus*.

Nous émettons l'hypothèse que c'est à cet endroit que viennent prendre appui les valves péniennes au moment de l'accouplement, tandis que les filaments génitaux pénètrent dans les conduits. Il est fréquent d'observer à ce niveau des dépôts noirs qui pourraient résulter d'une mélanisation post-traumatique apparaissant chez les femelles ayant déjà participé à un accouplement.

L'inconvénient de ce critère de différenciation est de n'apparaître nettement que sur les échantillons convenablement traités et après dissection. Il est rarement utilisable sur des préparations déjà montées.

Cependant son intérêt est évident dans le cadre d'études éthologiques et parasitologiques dans des régions où il existe plusieurs espèces sympatriques de *Larroussius*. Nous l'avons utilisé dans un travail sur le terrain, en Grèce, où les populations de *P. major*, *P. perfiliewi* et *P. tobbi* étaient étroitement mêlées et où il nous a été d'une grande utilité.

BIBLIOGRAPHIE

- ABONNENC E. : Les Phlébotomes de la région éthiopienne (Diptera, Psychodidae). *Mem. O.R.S.T.O.M.*, 1972, n° 55, 289 p.
- ADLER S. E., THEODOR O. et LOURIE E. M. : On sandflies from Persia and Palestine. *Bull. Ent. Res.*, 1930, 21, 529-539.
- ANNANDALE N. : The Indian species of Papataci fly (*Phlebotomus*). *Res. Indian Mus.*, 1910, 2, 101-104.
- ARTEMIEV M. M. : Révision des phlébotomes du sous-genre *Adlerius* (Diptera, Phlebotominae, *Phlebotomus*) (en russe). *Zool. Zh.*, 1980, 59, 1177-1192.
- GRASSI B. : Intorno ad un nuovo Flebotomo. *Atti Accad. naz. Lincei Res.*, 1908, 17, 681-682.
- LEWIS D. J. : A taxonomic review of the genus *Phlebotomus* (Diptera, Psychodidae). *Bull. Brit. Mus. Nat. Hist. (Ent.)*, 1982, 45, 121-209.
- NITZULESCU V. : *Phlebotomus langeroni* n. sp. et *P. langeroni* var. *longicuspis* n. var. de Douar-Shott (Tunisie). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1930, 8, 547-553.
- NITZULESCU V. : Sur le *Phlebotomus ariasi* Tonnoir 1921. Sa présence en France. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1930, 8, 530-539.
- NITZULESCU V. : Essai de classification des phlébotomes. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1931, 9, 271-275.
- PARROT L. : Note sur les phlébotomes. *Phlebotomus perfiliewi* n. sp. *Arch. Institut Pasteur Alger.*, 1930, 8, 383-385.

- PARROT L. : Notes sur les phlébotomes. XIV. Phlébotomes de Grèce. *Arch. Inst. Pasteur Alger.*, 1935, 13, 249-255.
- PERFILIEV P. P. : Diptera. Famille des Phlebotomidae (en russe). *Fauna SSSR*, 1966, 93, 382 p. (1968 : traduction anglaise par Israel program of scientific translations, Jérusalem).
- RAYNAL J., LE GAC P. : Sur trois Phlébotomes femelles capturés dans les Pyrénées à Capvern et pouvant être rapportés à *Phlebotomus ariasi* femelle. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 1933, 26, 652-660.
- RAYNAL J., LE GAC P. : Sur la présence de *Phlebotomus ariasi* ♀ et ♂ à Capvern. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 1934, 27, 467-473.
- RIOUX J. A., GOLVAN Y. J. : Épidémiologie des leishmanioses dans le sud de la France. *INSERM*, Paris, 1969, Monogr. n° 37, 223 p.
- SHCHURENKOVA A. I. : Une nouvelle espèce de *Phlebotomus* pour l'U.R.S.S., *Phlebotomus kandelakii* n. sp. (en russe). *Medskaya Parazit.*, 1929, 1, 892-899.
- THEODOR O. : Psychodidae-Phlebotominae. Der Fliegen der Palearktischen region. Stuttgart, 1958, 55 p.
- TONNOIR A. L. : Une nouvelle espèce européenne du genre *Phlebotomus* (*Phlebotomus ariasi*). *Ann. Soc. Entomol. Belg.*, 1921, 61, 53-56.
- ZARIQUIEY A. R. : Contribution à l'étude de la femelle de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1937, 15, 409-418.

Cette étude a bénéficié d'un appui financier du Programme spécial PNUD/Banque mondiale/OMS pour la Recherche et la Formation concernant les Maladies tropicales.