

MISE EN ÉVIDENCE DES DEUX ESPÈCES JUMELLES A ET B DU COMPLEXE *Aedes detritus* (HALIDAY, 1833) SUR LE LITTORAL ATLANTIQUE FRANÇAIS

BRUTUS L.*, RIANDEY M.F.**. GUILLOTEAU J*. MONTENY N.**. SANNIER C.** ET MARJOLET M.*

Summary : IDENTIFICATION OF TWO SIBLING SPECIES A AND B OF *Aedes detritus* COMPLEX ON ATLANTIC COASTLINE IN FRANCE.

The electrophoretic analysis of five natural populations of *Aedes detritus* has shown that the two sibling species A and B of the complex, described in 1977 in an other geographical area by Pasteur *et al.*, cohabit on atlantic coastline in France.

KEY WORDS : Culicidae. *Aedes detritus*. sibling species. isozyme analysis. France.

Résumé

En se basant sur une analyse de la structure génétique de populations d'*Aedes detritus*, les auteurs signalent la présence, sur le littoral atlantique français, des deux espèces jumelles A et B décrites auparavant par Pasteur *et al.* 1977 dans une autre aire géographique.

MOTS CLÉS : Culicidae. *Aedes detritus*. espèces jumelles. isoenzymes. France.

INTRODUCTION

Chez les Arthropodes, l'existence de complexe d'espèces a permis de préciser certaines données concernant la dynamique des populations (Coluzzi *et al.*, 1976), la sensibilité aux insecticides (Philippon *et al.*, 1990) ou la transmission d'agents pathogènes (White, 1974 - Lanzaro *et al.*, 1993). Par ailleurs, lorsque ces espèces appartenant à un même complexe vivent en conditions sympatriques, l'étude de leur répartition respective peut avoir des implications sur les méthodes de lutte. *Aedes detritus* (Haliday, 1833) est l'un des Culicidés halophiles les plus vulnérants rencontrés sur les côtes de la région paléarctique. Or, Pasteur *et al.* (1977 et 1978) ont mis en évidence, par analyse enzymatique, l'existence de formes sympatriques et sexuellement isolées (espèces jumelles A et B) au sein de ce taxon, en Camargue et en Afrique du nord.

Afin de compléter les études visant à vérifier si la sympatrie couvre l'ensemble de l'aire de répartition du complexe, nous avons analysé cinq populations naturelles de ce moustique en provenance des côtes bretonnes du littoral atlantique français.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a porté sur 548 adultes d'*Aedes detritus* issus de stades immatures (n = larves de stade IV ou nymphes) prélevés en 1992 dans cinq

sites marécageux sur le littoral atlantique des départements du Morbihan -56-, Loire-Atlantique -44- et Vendée -85-. Les prélèvements réalisés à la passoire ou au plateau émaillé ont été effectués en janvier dans le marais de la Guerche à l'Île d'Yeu -85- (n = 119); au mois de mars dans les marais de Séné -56- (n = 124) et ceux de Mesquer -44- (n = 117); en avril dans le marais breton à Bourneuf -44- (n = 73); en juin à Ambon -56- (n = 115).

Les imagos sont soumis à l'analyse électrophorétique en gels d'amidon selon la méthode de Smithies (1955), adaptée par Second et Trouslot (1980) et déjà standardisée dans notre laboratoire en utilisant les systèmes tampons "NaOH-citrate-histidine" de Brewer (1970). Les systèmes enzymatiques étudiés sont l' α -Glycérophosphate déshydrogénase (α -Gpd), les Glutamate - oxaloacétate transaminases (Got 1 et 2), la Phosphoglucomutase (Pgm) et la Glucose - phosphate isomérase (Gpi).

Un "témoin de migration" a été utilisé, dont la mobilité électrophorétique est connue. Il s'agit de la souche Tunis d'*Aedes detritus* (autogène, appartenant à l'espèce A).

Les deux espèces A et B du complexe *Aedes detritus* se distinguent par deux locus codant respectivement pour l' α -Gpd et la Got 2 (Pasteur *et al.*, 1977). L'espèce A est caractérisée par l'association qui ne souffre aucune exception en Camargue des phénotypes α -Gpd¹⁰⁰⁻¹⁰⁰ et Got 2^{R-R}. Les populations du littoral atlantique sont étudiées dans l'hypothèse de la panmixie conformément à l'équilibre de Hardy-Weinberg par le test statistique du χ^2 avec si besoin la correction de Yates et un risque d'erreur égal à 1%.

* Laboratoire de Parasitologie et Pathologie exotique, Faculté de Médecine, 44035 NANTES.

** Laboratoire de Lutte contre les Insectes Nuisibles, ORSTOM, 93140 BONDY.

RÉSULTATS

Sur les côtes atlantiques, le locus de l' α -Gpd comporte trois allèles codominants, α -Gpd¹⁰⁰, α -Gpd¹³⁰ et α -Gpd¹⁷⁰. L'allèle 170 est spécifique des exemplaires recueillis sur l'île d'Yeu et l'on peut parler d'allèle "privé" dont la signification (effet de fondation ou avantage adaptatif aux conditions insulaires ?) fait actuellement l'objet d'un complément d'étude. La répartition des phénotypes α -Gpd observés au sein des populations du littoral atlantique, indiquée dans le tableau I, montre qu'il existe un fort déficit d'hétérozygotes α -Gpd¹⁰⁰⁻¹³⁰ dans les trois populations de Séné, Ambon et Bourgneuf. Ce déficit existe dans tous les gîtes où l'on rencontre les allèles 100 et 130 au locus α -Gpd. La proportion d'hétérozygotes ne suit pas la loi de Hardy-Weinberg. Bien qu'une contre-sélection des hétérozygotes dans une population panmictique pourrait se traduire par de forts déficits chez ces derniers, les résultats obtenus semblent plutôt confirmer l'existence de deux formes sympatriques sexuellement isolées au sein du complexe *Aedes detritus*.

La Glutamate - oxaloacétate transaminase 2 est la seule enzyme qui ait, dans les conditions expérimentales utilisées, une mobilité électrophorétique en direction de la cathode. Pasteur *et al.* (1977) signalent que la Got 2 migre très peu vers la partie anodique du gel : les bandes électrophorétiques s'avèrent très difficiles à distinguer et le pH de migration est à 7,4. Dans nos expériences, le pH était à 6. On peut en déduire que le point isoélectrique de la Got2 se situe entre ces deux valeurs. Les gels obtenus montrent qu'il existe au moins 3 allèles codominants pour ce locus; les allèles Got2¹⁰⁰, Got2⁷⁰ et Got2²⁰. On peut considérer que l'allèle Got2²⁰ correspond à l'allèle^R (rapide) observé par Pasteur *et al.* (1977). Si l'on classe les exemplaires étudiés selon leur appartenance à l'une des deux espèces jumelles A et B en fonction de leur phénotype α -Gpd, les populations résultantes sont en équilibre de Hardy-Weinberg au locus Got2 (tableau II). Seule celle de Bourgneuf présente un déficit d'hétérozygotes au sein de l'espèce B ($\chi^2_{3ddl} = 39,179$), mais le test ne porte que sur 62 échantillons.

En ce qui concerne les systèmes enzymatiques Got1, Pgm et Gpi, les cinq populations d'*A. detritus* du littoral atlantique se comportent comme les spécimens précédemment étudiés par Verdier (1978) et Pasteur *et al.* (1977) en Afrique du Nord et en Camargue, et Bullini et Coluzzi (1973) en Toscane. Par ailleurs, on observe au locus Pgm les bandes échos typiques des Culicidés mentionnées par Bullini et Coluzzi (1973). A l'exception de la population de Séné qui présente un excès d'hétérozygotes au locus Got1 ($\chi^2_{3ddl} = 14,384$)

pouvant s'expliquer par un phénomène de superdominance, toutes les populations classées selon leur phénotype α -Gpd sont en équilibre de Hardy-Weinberg à ces trois locus.

DISCUSSION

Sur le littoral atlantique français (comme dans le Sud de la France ou en Afrique du nord) l'étude du locus α -Gpd permet la ségrégation des populations d'*Aedes detritus* en deux espèces A et B. Dans chacun des sites étudiés, les populations testées sont en grande majorité composées d'individus présentant le phénotype α -Gpd¹³⁰⁻¹³⁰ et appartiennent à l'espèce B du complexe. Des individus présentant le phénotype α -Gpd¹⁰⁰⁻¹⁰⁰ et appartenant donc à l'espèce A ont été récoltés en faible proportion dans les trois gîtes hyperhalins étudiés. En revanche, cette espèce n'a pas été observée dans les deux gîtes hypohalins. Cette observation coïncide parfaitement avec celles effectuées par Guilvard (1983). Bien que les deux espèces puissent tolérer les mêmes conditions mésologiques, l'espèce A semble davantage inféodée aux milieux très halophiles (Pasteur *et al.*, 1977). La présente étude met donc en évidence l'existence des deux espèces jumelles du complexe *Aedes detritus* sur les côtes atlantiques françaises. Dans les populations atlantiques appartenant à l'espèce A (phénotype α -Gpd¹⁰⁰⁻¹⁰⁰) l'association avec le phénotype Got2²⁰⁻²⁰ est constante et identique à celle observée avec le phénotype Got2^{R-R} au sein des populations de Camargue (Pasteur *et al.*, 1977).

CONCLUSION

L'espèce A du complexe *Aedes detritus* est présente sur le littoral atlantique français mais dans des proportions assez faibles (maximum 7,8%) qui semblent très inférieures à celles retrouvées dans la sud de la France (76%, Pasteur *et al.*, 1977) ou en Afrique du nord (97,6%, Pasteur *et al.*, 1978). Sous réserve d'études plus complètes portant sur la variabilité saisonnière des indices de fréquence des deux espèces jumelles, il pourrait exister un gradient nord-sud en ce qui concerne la répartition de l'espèce A : le littoral atlantique français au niveau de la péninsule bretonne constituant à ce titre la limite nord de cette répartition.

Gîtes larvaires	α Gpd 100-100	α Gpd 100-130	α Gpd 130-130	α Gpd 130-170	Total
SÉNÉ (Morbihan) gîte hyperhalin	2 (0,07) (*)	2 (5,85)	122 (120,7)	0	126
AMBON (Morbihan) gîte hyperhalin	9 (0,7)	0 (16,59)	106 (97,7)	0	115
BOURGNEUF (Loire-Atlantique) gîte hyperhalin	5 (0,35)	0 (9,28)	65 (60,35)	0	70
MESQUER (Loire-Atlantique) gîte hypohalin	0	0	115	0	115
ILE D'YEU (Vendée) gîte hypohalin	0	0	114	4	118

(*) Les chiffres entre parenthèses figurent les effectifs attendus dans l'hypothèse de la panmixie. Valeurs des χ^2 : Séné = 55,8 - Ambon = 115,7 - Bourgneuf = 71,4

Tableau I. – Le complexe *Aedes detritus* (Haliday, 1833).
Distribution des génotypes au locus α Gpd dans les populations du littoral atlantique français.

Locus	Allèles	Espèce B					Espèce A
		Séné	Mesquer	Ambon	Ile d'Yeu	Bourgneuf	
Got 1	180	0,075	0,028	0,005	0,009	0,015	0,094
	130	0,702	0,748	0,811	0,752	0,801	0,906
	87	0,223	0,224	0,184	0,239	0,184	–
	<i>Effectifs</i>	n = 121	n = 107	n = 106	n = 117	n = 68	n = 16
Got 2	100	0,013	0,009	0,005	0,004	0,016	–
	70	0,907	0,977	0,976	0,983	0,944	–
	20	0,080	0,014	0,019	0,013	0,040	1,000
	<i>Effectifs</i>	n = 119	n = 108	n = 106	n = 119	n = 62	n = 16
Pgm	170	0,041	0,037	0,038	0,102	0,042	–
	150	0,004	–	–	–	–	–
	140	0,804	0,862	0,830	0,761	0,814	1,000
	115	0,135	0,092	0,127	0,120	0,144	–
	85	0,016	–	0,005	0,017	–	–
	<i>Effectifs</i>	n = 122	n = 109	n = 106	n = 117	n = 59	n = 16
Gpi	140	0,996	1,000	0,995	1,000	0,985	1,000
	120	0,004	–	0,005	–	0,015	–
	<i>Effectifs</i>	n = 121	n = 117	n = 106	n = 119	n = 68	n = 16

Tableau II. – Fréquences alléliques aux locus Got 1 et 2, Pgm et Gpi dans les populations d'*Aedes detritus* du littoral atlantique.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le Pr J.A. Rioux et Mme M. Lambert, Laboratoire d'Ecologie Médicale et Pathologie Parasitaire (Montpellier), pour la fourniture des souches de collection. Remerciements à Mme N. Pasteur pour la relecture du texte.

RÉFÉRENCES

- BREWER G.J. : An introduction to isozymes techniques. 1970. Acad. Press, New York, 185 p.
- BULLINI L. et COLUZZI M. : Electrophoretic studies on gene-enzyme systems in Mosquitoes (Diptera, Culicidae). *Parassitologia*, 1973, 15 (3), 220-248.
- COLUZZI M., BIANCHI-BULLINI A.P. et BULLINI L. : Speciazione nel complesso mariae del genere *Aedes* (Diptera, Culicidae). *Atti Ass. Genet. Ital.*, 1976, 21, 218-223.
- GUILVARD E. : Le complexe *Aedes (Ochlerotatus) detritus* (Haliday, 1833) en Camargue. Contribution à l'étude éco-physiologique de l'autogénèse dans l'espèce *A*. Thèse Doctorat d'Etat, 1983, USTL, 275 p.
- LANZARO G.C., OSTROVSKA K., HERRERO M.V., LAWYER P.G. et WARBURG A. : *Lutzomyia longipalpis* is a species complex : genetic divergence and interspecific hybrid sterility among three populations. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1993, 48 (6), 839-847.
- PASTEUR N., RIOUX J.A., GUILVARD E., PECH-PÉRIÈRES M.J., VERDIER J.M. : Existence chez *Aedes (Ochlerotatus) detritus* (Haliday, 1833) (Diptera-Culicidae) de Camargue de deux formes sympatriques et sexuellement isolées (espèces jumelles). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1977, 52 (3), 325-337.
- PASTEUR N., VERDIER J.M., RIOUX J.A., GUILVARD E., PÉRIÈRES J. : Le complexe *Aedes detritus* (Haliday, 1833) : existence des deux espèces jumelles en Afrique du Nord. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1978, 53 (6), 761-763.
- PHILIPPON B., REMME J.H., WALSH J.F., GUILLET P. et ZERBO D.G. : Entomological results of vector control in the onchocerciasis control programme. *Acta Leidensia*, 1990, 59 (1 et 2), 79-94.
- SECOND G. et TROUSLOT P. : Electrophorèse d'enzymes de riz (*Oryza sp.*). Travaux et Documents de l'ORSTOM, 1980, Paris, 88 p.
- SMITHIES O. : Zone electrophoresis in starch gels. Group variations in the serum proteins of normal human adults. *Biochem. J.*, 1955, 61, 629-641.
- VERDIER J.M. - Biologie comparée de deux espèces jumelles. Un exemple chez les arthropodes hématophages. Les espèces *A* et *B* du complexe *Aedes (Ochlerotatus) detritus* (Haliday, 1833) (Diptera-Culicidae). Thèse Doctorat d'Etat, 1978, USTL, 109 p.
- WHITE G.B. : *Anopheles gambiae* complex and disease transmission in Africa. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1974, 68 (4), 278-301.

Accepté le 19 avril 1994