

Etude du complexe *Simulium damnosum* en Afrique de l'Ouest

III. Etude de la morphologie larvaire des cytotypes présents en Côte d'Ivoire*

Daniel QUILLÉVÉRE***

Pierre RAZET****

et Marie-Madeleine LE PIVER*****

RÉSUMÉ.

Sur les sept cytotypes du complexe *Simulium damnosum* identifiés en Afrique de l'Ouest, six sont présents en Côte d'Ivoire. Après un exposé rapide des techniques d'étude morphologique utilisées en microscopie optique comme en microscopie électronique à balayage, les auteurs décrivent le matériel étudié et les divers caractères morphologiques larvaires utilisables. Il apparaît que les tubercules dorsaux et les écailles tégumentaires sont très différents selon la paire cytotaxonomique considérée et parfois même selon le cytotype. Bille et Yah ont de grands tubercules dorsaux et des écailles postérieures de deux types, un type piliforme et un type spatuliforme. Bandama et Soubré n'ont pas de tubercules dorsaux et leurs écailles sont de petite taille, surtout chez Bandama dont les écailles postérieures sont piriformes et les écailles antérieures arrondies. Chez Nile et Sirba les tubercules dorsaux sont de taille variable et les écailles postérieures sont toutes lancéolées et allongées, les écailles thoraciques étant spatuliformes. L'implantation des soies prémandibulaires diffère également selon la paire cytotaxonomique considérée. Les autres caractères morphologiques étudiés (sclérite anal, pièces buccales, capsule céphalique) n'ont montré aucun caractère morphologique constant.

ABSTRACT.

Six of the seven known West-African *Simulium damnosum* complex cytotypes are present in Ivory Coast. After a brief account of the morphological study techniques used in light and scanning-electron microscopy, the authors describe the material collected and the different larval morphological characters available. It appears that the dorsal bumps and the tegumentary scales differ markedly with the cytotaxonomic pairs considered and sometimes with the individual cytotype. Bille and Yah have large dorsal bumps and the posterior scales are of two shapes: one hair-shaped and the other spatula-shaped. Bandama and Soubré have no dorsal bumps and the scales are small, particularly in Bandama where the posterior scales are pear-shaped and the anterior ones rounded. In Nile and Sirba the dorsal bumps are variable and the posterior scales are lanceolate and elongated, while those on the thorax are spatula-shaped. The implantation of the premandibular setae is also distinct for each cytotaxonomic pair. The anal sclerites, mouth-parts and head-capsules were also studied but no constant morphological differences could be found.

* Ce travail a bénéficié d'une subvention de l'Organisation Mondiale de la Santé. Les deux premières parties ont paru in: Cah. O.R.S.T.O.M., série Ent. méd. et Parasitol., vol. XIII, n° 2 et n° 3.

** Entomologiste médical de l'O.R.S.T.O.M., Mission O.R.S.T.O.M. auprès de l'O.C.C.G.E., B.P. 1500 Bouaké, Côte d'Ivoire

*** Directeur de l'U.E.R. des Sciences Biologiques, Laboratoire de Zoologie, Faculté des Sciences, 35000 Rennes, France.

**** Technicienne du C.N.R.S., Laboratoire de Zoologie, Faculté des Sciences, 35000 Rennes, France.

1. LE COMPLEXE *SIMULIUM DAMNOSUM* EN CÔTE D'IVOIRE.

Lors de notre étude de la répartition géographique des cytotypes en Côte d'Ivoire (Quillévééré et Pendriez, 1975) nous avons signalé la présence de Nile, Sirba, Bandama, Soubré et Yah sur les divers gîtes larvaires prospectés. Depuis lors, de nouvelles déterminations nous ont permis de découvrir en janvier 1976, un gîte situé dans la région de Sassandra et peuplé par le cytotype Bille. Vajime (comm. person.) a également déterminé en mars des larves appartenant au cytotype Bille sur le cours amont du Cavally. A l'heure actuelle six des sept cytotypes Ouest-Africains décrits ont donc été observés en Côte d'Ivoire, le septième « Diéguera » n'étant connu pour l'instant que de son gîte de description au Mali septentrional (Vajime & Dunbar, 1975).

Rappelons brièvement que les six cytotypes présents en Côte d'Ivoire ont été rassemblés en trois « espèces » par Vajime (1972) compte-tenu de leurs affinités chromosomiques. Ces trois espèces à savoir « Bille-Yah », « Bandama-Soubré » et « Nile-Sirba » se distinguent par la présence d'inversions chromosomiques fixes caractéristiques. A l'intérieur de chacune des « espèces » les cytotypes se différencient par une ou plusieurs inversions flottantes (Quillévééré, 1975). Par la suite Vajime & Dunbar (1975) ont décrit huit espèces différentes à partir des sept cytotypes Ouest Africains, le cytotype Sirba étant divisé en deux espèces. Cette nomenclature nous paraît pour le moins prématurée et dans l'état actuel de nos connaissances sur le complexe *S. damnosum* nous jugeons préférable de nous en tenir à l'hypothèse formulée par Vajime en 1972.

2. TECHNIQUES D'ÉTUDE MORPHOLOGIQUE.

2.1. Microscopie optique.

Les larves récoltées sur le terrain sont fixées vivantes dans du Carnoy modifié. Elles sont colorées au Feulgen au laboratoire et ouvertes pour le prélèvement des glandes séricigènes servant à la détermination chromosomique. Le reste du corps de la larve est placé dans de l'alcool à 70° pour étude morphologique.

Les larves ainsi obtenues sont placées dans une solution de Marc André à froid durant 24 heures. Ensuite les organes internes et le tissu adipeux sont enlevés. La capsule céphalique, la cuticule larvaire et les ébauches branchiales sont conservées.

Les différentes pièces sont alors montées dans du P.V.A. Chaque lame porte trois lamelles. L'une recouvre le sclérite anal, la couronne postérieure de crochets,

les papilles rectales, les ébauches branchiales. La seconde abrite la cuticule de la larve, enfin sous la troisième sont placées la capsule céphalique déroulée et les différentes pièces buccales.

L'observation se fait au microscope Orthoplan de Leitz équipé d'un tube à dessin et d'un appareil photographique.

2.2. Microscopie électronique.

Pour étudier notre matériel au microscope électronique à balayage, les larves ont été fixées dans de l'alcool éthylique à 70° ou du Duboscq Brasil. Elles ont été ensuite déshydratées par des bains d'alcool successifs et enfin par des bains d'acétone.

Les pièces bien chitinisées étaient simplement séchées à l'air libre alors que les pièces plus fragiles étaient séchées dans un appareil à point critique utilisant du gaz carbonique liquide sous forte pression. Cet appareil nous a permis d'obtenir en particulier des larves entières dont les tubercules dorsaux gardaient leur aspect naturel.

Après séchage les pièces étaient collées au vernis sur une pastille métallique et métallisées à l'or dans un évaporateur type SEE 4B. L'observation se faisait sur l'écran cathodique du microscope type Jeol J.S.M. S1 couplé avec un appareil photographique.

3. MATÉRIEL ÉTUDIÉ.

3.1. Obtention de larves des divers cytotypes.

En ce qui concerne les études de microscopie optique nous avons utilisé les larves au dernier stade après détermination chromosomique. Nous avons donc pu observer séparément les six cytotypes et ce sur toute leur zone de répartition.

En ce qui concerne la microscopie électronique nous avons utilisé des larves entières afin de pouvoir étudier en particulier les tubercules. Nous n'avons donc pu séparer les cytotypes mais seulement les différentes « espèces » qui se trouvent dans des biotopes différents. Dans la grande majorité des cas l'espèce « Nile-Sirba » peuple les cours d'eau de savane, l'espèce « Bandama-Soubré » les grands cours d'eau de forêt et l'espèce « Bille-Yah » les petites rivières de forêt.

3.2. Caractères morphologiques étudiés.

Les caractères morphologiques que nous avons retenus pour cette étude sont :

- L'aspect général de la larve, tubercules, écailles.
- Le sclérite anal et la couronne de crochets.
- L'hypostome et l'échancrure ventrale.
- Les diverses pièces buccales (prémandibules, mandibules, maxilles).

4. RÉSULTATS OBTENUS.

4.1. Aspect général des larves, tubercules et écailles.

Nous avons déjà noté lors d'un précédent travail (Quillévéré, 1974) la grande variabilité morphologique des larves du complexe *S. damnosum* en Côte d'Ivoire. Dès 1970 Disney avait signalé au Cameroun en zone de forêt des larves de *S. damnosum* couvertes d'écailles très allongées en forme de poil. Garms & Vajime en 1975 signalaient également au Liberia la différence d'aspect entre les larves des cytotypes Yah et Bandama. Cependant jusqu'à présent aucun travail d'ensemble n'avait été fait sur les divers cytotypes et aucune observation au microscope électronique n'avait pu être menée à l'exception des travaux de Raybould *et al.*, 1971 et de Williams *et al.*, 1973 sur des larves de Simuliidae d'Afrique de l'Est.

La variabilité morphologique des larves des divers cytotypes Ouest-Africains apparaît nettement si l'on compare par exemple le cytotype Bandama au cytotype Yah (voir planche I, 2 et 4). Nous avons poursuivi cette étude au microscope à balayage ainsi qu'au microscope optique.

Les planches I et II regroupent les cuticules larvaires des six cytotypes présents en Côte d'Ivoire ainsi que les cuticules d'un hybride « intra-spécifique » Bille/Bandama et d'un hybride « intraspécifique » Bandama/Soubré. On peut remarquer immédiatement des différences nettes en ce qui concerne les tubercules dorsaux et le revêtement d'écailles tégumentaires.

Chez Bille et Yah les tubercules dorsaux sont toujours bien développés (pl. I, 1.2. pl. VII, 25) et les écailles sont denses et de grande taille. Les écailles thoraciques sont plus étroites chez Bille que chez Yah (respectivement 4 et 7 μ) (pl. III, 9. 10.). Les écailles du dernier segment abdominal sont similaires et de deux types (pl. V, 17. 18). Certaines écailles sont longues et effilées en forme de poil, quelques autres très disséminées sont de grande taille (longueur 40 μ largeur 10 μ) et spatuliformes (pl. VII, 28).

Chez Bandama et Soubré les tubercules dorsaux sont toujours très réduits et pratiquement inexistants (pl. I, 4. pl. II, 5). Les écailles sont peu denses et de petite taille. Les écailles thoraciques sont plus arrondies chez

Bandama que chez Soubré (pl. III, 12. pl. IV, 13); elles mesurent en moyenne 13 μ de longueur chez Bandama (pl. VIII, 29) et 20 μ chez Soubré pour une largeur similaire de 6 μ . Les écailles abdominales du dernier segment sont également différentes chez Bandama et Soubré. Chez Bandama elles sont piriformes terminées par une ou deux pointes et mesurent 14 μ de long sur 10 μ de large (pl. V, 20, pl. VIII, 30). Chez Soubré elles sont spatuliformes et mesurent 20 μ de long sur 9 μ de large (pl. VI, 21).

Chez Nile et Sirba les tubercules dorsaux sont très variables. Chez Nile ils sont de taille moyenne ou de petite taille parfois même inexistants. Chez Sirba ils peuvent être bien développés comme chez Yah ou de petite taille comme chez Nile (pl. II, 7.8. pl. VII, 27). Les écailles thoraciques bien qu'ayant le même aspect sont plus étroites chez Nile (4 μ) que chez Sirba (6 μ) (pl. IV, 15.16. pl. VIII, 31). Les écailles abdominales postérieures sont similaires dans les deux cytotypes (pl. VI, 23-24); elles sont lancéolées et allongées (36 μ de longueur).

L'hybride Bandama/Soubré a un aspect identique à celui de Bandama et Soubré (pl. II, 6). Les écailles thoraciques ont une forme intermédiaire entre celles de Bandama et de Soubré alors que les écailles abdominales postérieures sont du type Bandama (pl. IV, 14. pl. VI, 22).

L'hybride Bille/Bandama a un aspect général intermédiaire entre celui de Bille et celui de Bandama (pl. I, 3). Les tubercules sont peu marqués mais les écailles sont denses et de taille plus grande que chez Bandama. Les écailles thoraciques sont de forme intermédiaire entre Bille et Bandama, il en est de même pour les écailles du dernier segment abdominal (pl. III, 11, pl. V, 19). Il est aussi à noter que chez cet hybride on retrouve comme chez Bille deux types d'écailles postérieures, cependant la différence entre les deux types est moins nette que précédemment. Il y a de petites écailles spatulées (longueur 21 μ largeur 6 μ) et de grandes écailles spatulées (longueur 27 μ largeur 10 μ).

4.2. Autres caractères étudiés.

4.2.1. HYPOSTOME ET ÉCHANCRURE VENTRALE.

Nous n'avons noté aucun caractère constant en ce qui concerne l'hypostome ou l'échancrure ventrale de la capsule céphalique. Tout au plus on peut remarquer que chez Bille et Yah le bord supérieur de l'hypostome est bien droit alors qu'il est concave chez Bandama, Soubré, Nile et Sirba. Cela est dû aux dents externes de l'hypostome qui sont plus ou moins développées.

4.2.2. PRÉMANDIBULES.

La disposition des soies sur les prémandibules est intéressante à noter :

— Chez « Bille-Yah » les grandes soies sont très robustes et séparées par une douzaine de soies plus petites de taille variable (pl. IX, 33).

— Chez « Bandama-Soubré » les grandes soies nettement moins longues et moins robustes que précédemment sont séparées par une vingtaine de petites soies de taille assez régulière (pl. IX, 34).

— Chez « Nile-Sirba » les grandes soies sont bien développées et séparées seulement par une dizaine de soies de taille variable (pl. IX, 35).

Il faut cependant noter que cette étude a pu être faite seulement au microscope à balayage car au microscope optique le grossissement est insuffisant et de plus les soies s'agglutinent dans le milieu de montage. Ce caractère n'a donc été observé que sur un nombre restreint d'individus, le microscope électronique ne permettant pas l'étude d'aussi nombreuses préparations que le microscope optique. Ces larves n'ayant pas été identifiées par leurs chromosomes mais seulement par leurs gîtes d'origine, nous n'avons indiqué que la paire cytotoxonomique considérée sans préciser le cytotype.

4.2.3. MANDIBULES, SCLÉRITE ANAL, ÉBAUCHES BRANCHIALES.

Nous n'avons pu observer aucun caractère morphologique constant permettant de séparer les cytotypes d'après les mandibules, le sclérite anal ou les ébauches branchiales.

5. DISCUSSION.

Il apparaît donc que les seuls caractères morphologiques intéressants que nous ayons pu découvrir, et qui peuvent permettre de séparer les divers cytotypes sont les tubercules dorsaux et les écailles tégumentaires. Ces caractères ont été vérifiés sur de nombreux exemplaires en provenance de gîtes larvaires répartis sur toute la Côte d'Ivoire. Pour notre part nous en tiendrons pour l'instant à la détermination chromosomique qui reste de loin la plus précise et la plus sûre. Cependant ces caractères morphologiques ne sont pas inutiles car ils permettront sur le terrain avec un microscope ordinaire d'avoir une bonne idée des cytotypes présents. En zone de forêt il n'y a pas de confusion possible entre la paire « Bille-Yah » et la paire « Bandama-Soubré ». En zone de savane la remontée du cytotype Soubré en

saison des pluies (Quillévéré & Pendriez 1975) peut poser certains problèmes compte tenu de la variabilité des tubercules dorsaux chez Nile. A partir des écailles la détermination reste difficile car les écailles thoraciques de Nile et Soubré sont similaires. Les écailles postérieures sont différentes mais chez Soubré certaines écailles peuvent aussi être étirées en forme de poil, bien qu'en moindre nombre que chez Nile.

Nous avons pour notre part à diverses reprises séparé les larves récoltées sur un gîte à partir des tubercules et des écailles. Dans tous les cas la détermination chromosomique des larves a confirmé la détermination morphologique.

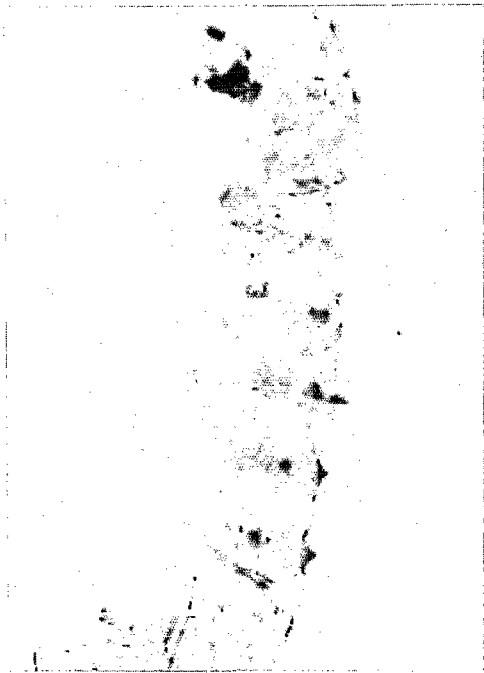
6. CONCLUSION.

L'étude des caractères morphologiques larvaires des différents membres Ouest-Africains du complexe *Simulium damnosum* au microscope optique comme au microscope électronique à balayage nous a permis de mettre en évidence des caractères morphologiques intéressants. Ces caractères permettent dans la plupart des cas une séparation des divers cytotypes larvaires présents sur un gîte. Il apparaît cependant que si la séparation des paires cytotoxonomiques ne pose guère de problème, la détermination des cytotypes doit être effectuée prudemment, les variations locales des populations pouvant être importantes. Nous avons pu observer nous-mêmes sur les caractères chromosomiques de nombreuses variations des spectres d'inversions flottantes selon les zones considérées. C'est pourquoi ces caractères observés en Côte d'Ivoire doivent être confirmés sur des larves en provenance d'autres pays d'Afrique de l'Ouest si on veut généraliser les déterminations morphologiques.

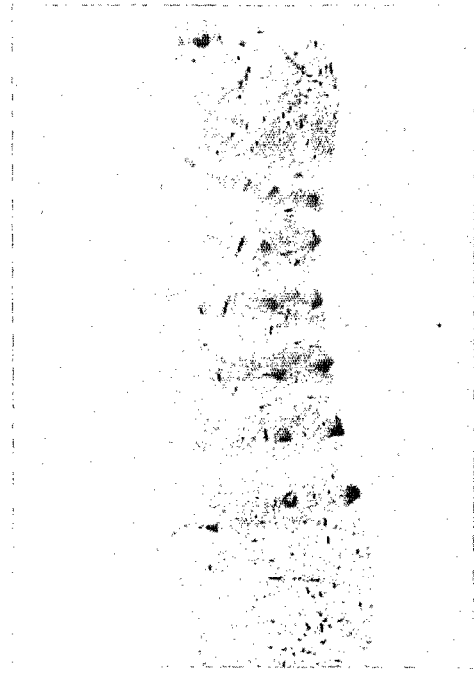
REMERCIEMENTS.

C'est avec plaisir que nous remercions ici, Monsieur Philippon, Entomologiste médical de l'O.R.S.T.O.M., Directeur de l'Institut de Recherches sur l'Onchocercose de Bouaké, pour nous avoir dirigé et conseillé tout au long de ce travail. Nous tenons aussi à remercier Monsieur Picheral Maître Assistant en Biologie cellulaire (Rennes) pour nous avoir initiés à la technique du « point critique ». Monsieur Steinard du laboratoire de Zoologie (Rennes) a développé et tiré sur papier les films au microscope à balayage; Monsieur Diallo Souleymane, Auxiliaire de laboratoire (Bouaké) a effectué les montages morphologiques des larves pour leur étude au microscope optique; Messieurs Sechan et Pendriez Techniciens d'entomologie médicale O.R.S.T.O.M. à l'I.R.O. de Bouaké nous ont aidé à illustrer cette note de nombreuses photos au microscope optique et à récolter un important matériel d'étude; nous les remercions tous vivement.

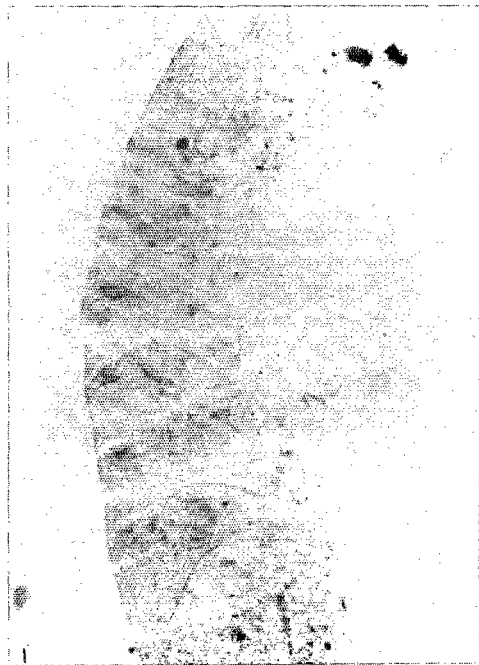
Manuscrit reçu au S.C.D. de l'O.R.S.T.O.M. le 10 juin 1976



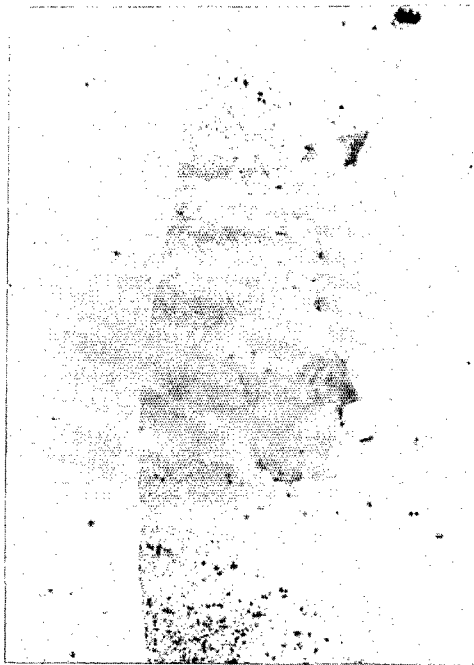
1



2



3



4

PLANCHE I. — 1: Cuticule larvaire de Bille ($\times 200$). 2: Cuticule larvaire de Yah ($\times 200$). 3: Cuticule larvaire d'un hybride Bille - Bandama ($\times 200$). 4: Cuticule larvaire de Bandama ($\times 200$).

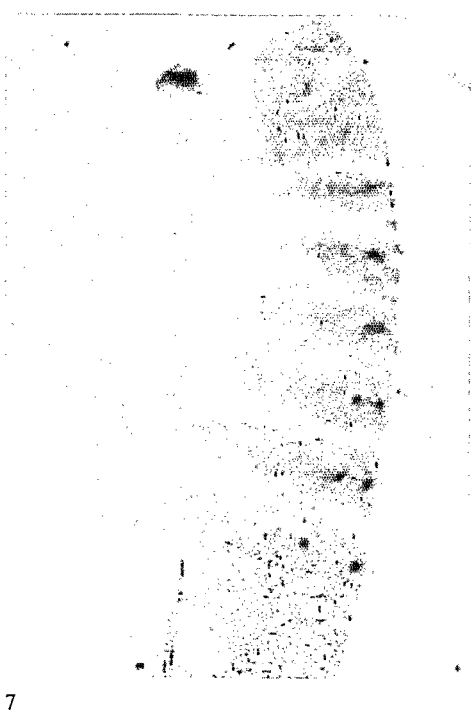
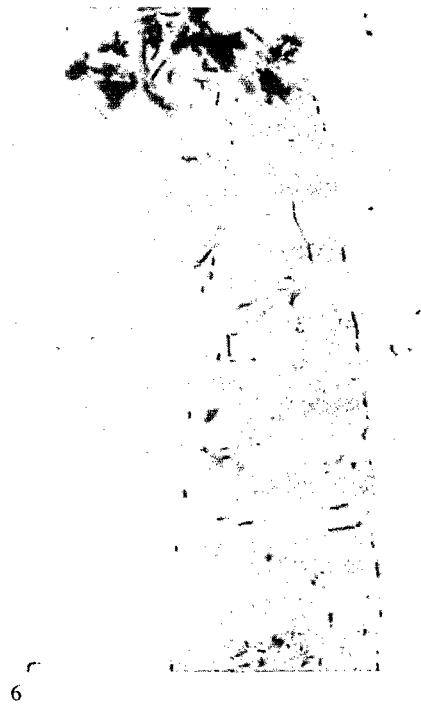
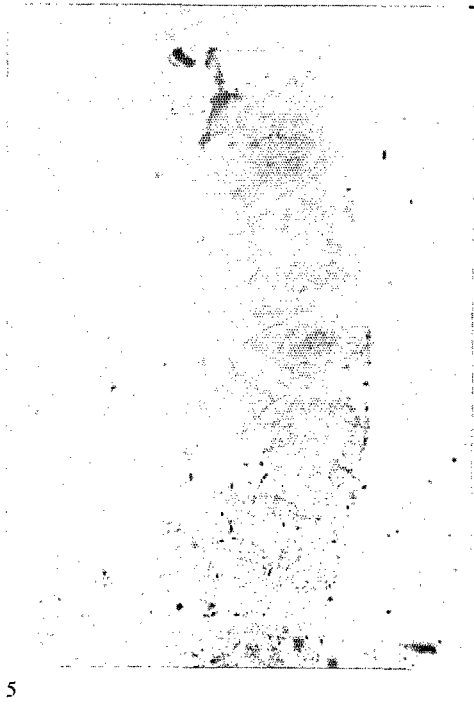
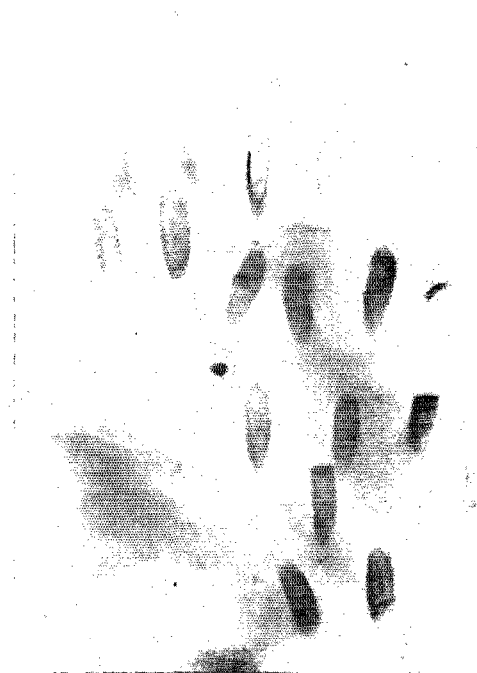


PLANCHE II. — 5: Cuticule larvaire de Soubre ($\times 200$). 6: Cuticule larvaire d'un hybride Bandama - Soubre ($\times 200$).
7: Cuticule larvaire de Nile ($\times 200$). 8: Cuticule larvaire de Sirba ($\times 200$).



9



10

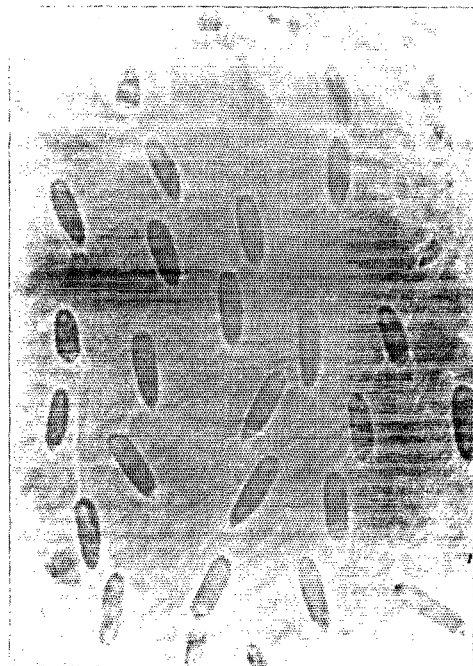


11

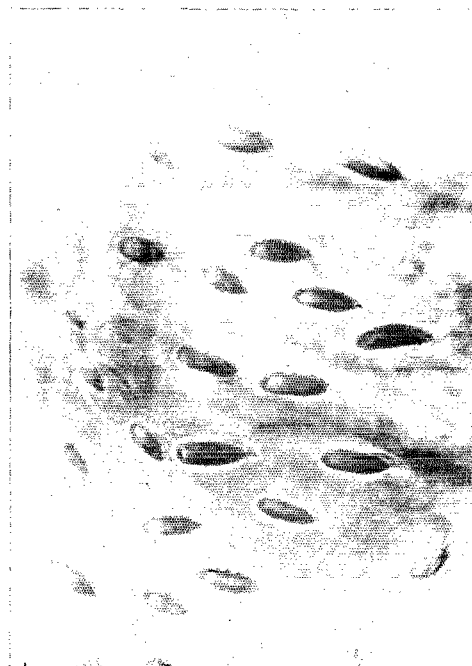


12

PLANCHE III. — 9 : Bille, écailles thoraciques ($\times 5000$). 10 : Yah, écailles thoraciques ($\times 5000$). 11 : Hybride Bille - Bandama, écailles thoraciques ($\times 5000$). 12 : Bandama, écailles thoraciques ($\times 5000$).



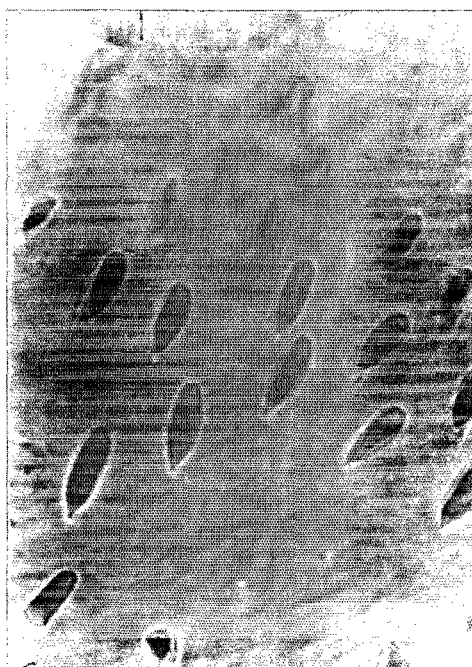
13



14



15



16

PLANCHE IV. — 13 : Soubre, écailles thoraciques ($\times 5000$). 14 : Hybride Bandama - Soubre, écailles thoraciques ($\times 5000$).
15 : Nile, écailles thoraciques ($\times 5000$). 16 : Sirba, écailles thoraciques ($\times 5000$).



17



18



19

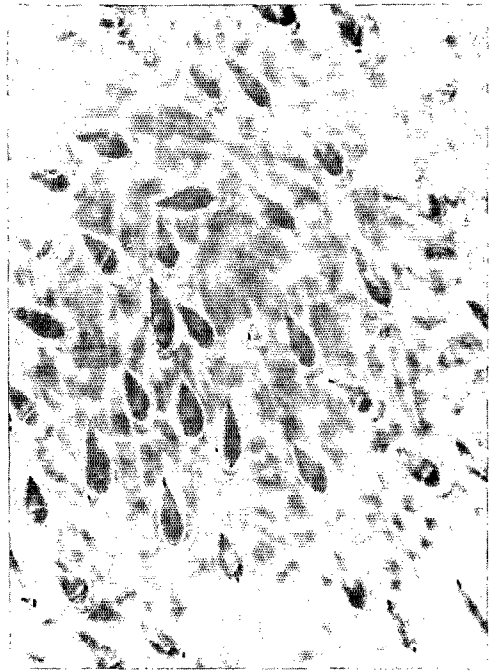


20

PLANCHE V. — 17: Bille, écailles du dernier segment abdominal ($\times 5000$). 18: Yah, écailles du dernier segment abdominal ($\times 5000$). 19: Hybride Bille - Bandama, écailles du dernier segment abdominal ($\times 5000$). 20: Bandama, écailles du dernier segment abdominal ($\times 5000$).



21



22

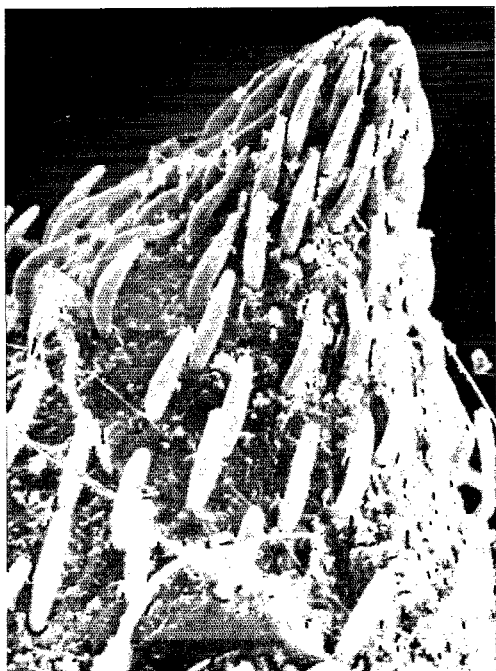


23

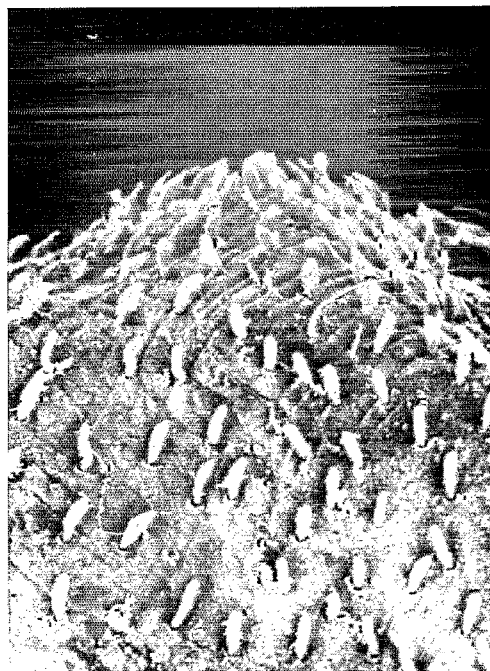


24

PLANCHE VI. — 21 : Soubre, écailles du dernier segment abdominal ($\times 5000$). 22 : Hybride Bandama - Soubre, écailles du dernier segment abdominal ($\times 5000$). 23 : Nile, écailles du dernier segment abdominal ($\times 5000$). 24 : Sirba, écailles du dernier segment abdominal ($\times 5000$).



25



26



27



28

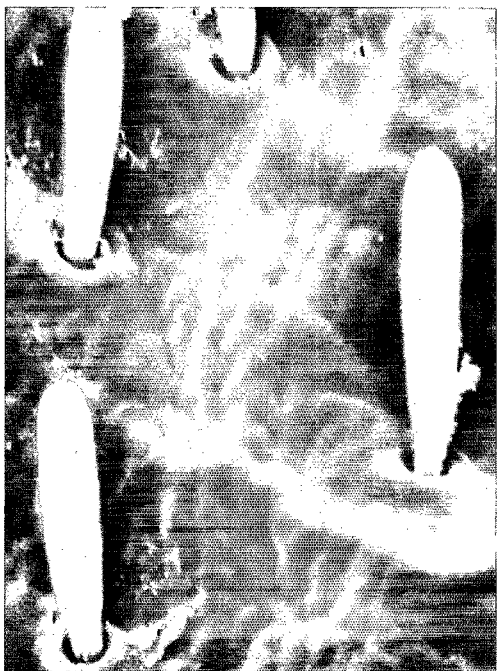
PLANCHE VII. — 25 : Bille-Yah, tubercule dorsal ($\times 5000$). 26 : Bandama-Soubré, tubercule dorsal ($\times 5000$). 27 : Nile-Sirba, tubercule dorsal ($\times 5000$). 28 : Yah, écaille postérieure spatuliforme ($\times 70.000$).



29



30

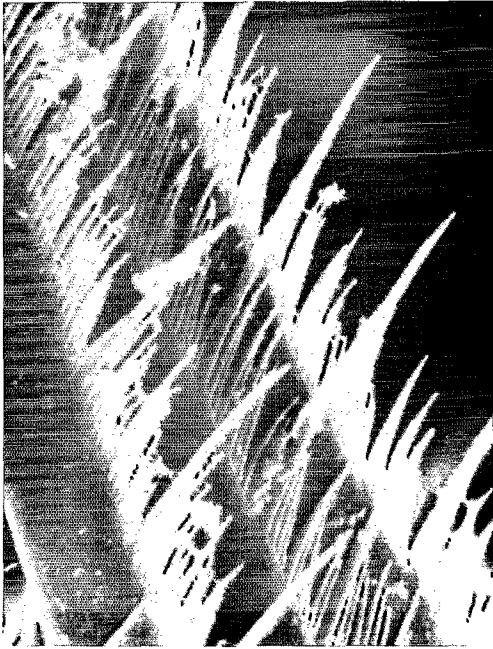


31

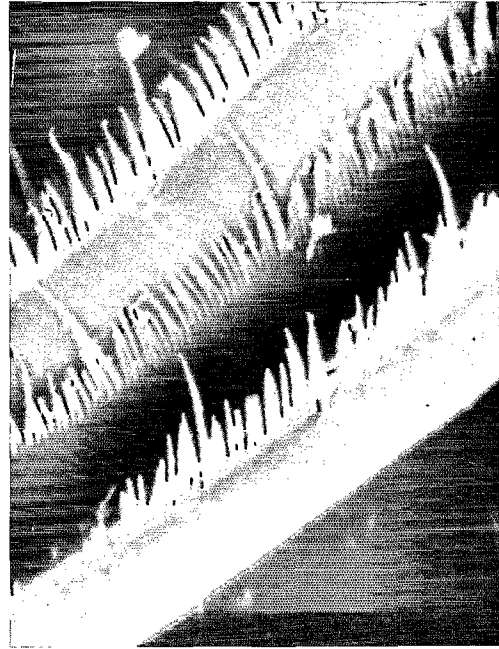


32

PLANCHE VIII. — 29 : Bandama, écaille thoracique ($\times 350.000$). 30 : Bandama, écaille postérieure ($\times 350.000$). 31 : Nile, écailles thoraciques ($\times 100.000$). 32 : Nile, écailles abdominales ($\times 100.000$).



33



34



35

PLANCHE IX. — 33: Bille-Yah, prémandibules ($\times 100.000$). 34: Bandama-Soubre, prémandibules ($\times 100.000$). 35: Nile-Sirba, prémandibules ($\times 100.000$).

BIBLIOGRAPHIE

- DISNEY (R.H.L.), 1970. — A note on variation within *Simulium damnosum* in the forest zone of West Cameroon. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **64** : 129-130.
- GARMS (R.) & VAJIME (Ch. G.), 1975. — On the Ecology and Distribution of the Species of the *Simulium damnosum* Complex in Different Bioclimatic Zones of Liberia and Guinea. *Z. Tropenmed. Parasit.*, **26** : 375-380.
- QUILLÉVÉRÉ (D.), 1974. — Etude cytotaxonomique du complexe *Simulium damnosum* en Afrique Occidentale. III. Cartes chromosomiques et répartition géographique des cytotypes. *Rapport ronéotypé OCCGE., Centre Entomologique de l'Onchocose*, n° 79/Oncho/Tech/74, 41 p.
- QUILLÉVÉRÉ (D.), 1975. — Etude du complexe *Simulium damnosum* en Afrique du l'Ouest. I. Techniques d'étude. Identification des cytotypes. *Cah. ORSTOM., sér. Ent. méd. Parasitol.*, vol. XIII, n° 2 : 87-100.
- QUILLÉVÉRÉ (D.) & PENDRIEZ (B.), 1975. — Etude du complexe *Simulium damnosum* en Afrique de l'Ouest. II. Répartition géographique des cytotypes en Côte d'Ivoire. *Cah. ORSTOM., sér. Ent. méd. Parasitol.*, vol. XIII, n° 3 : 165-172.
- RAYBOULD (J.N.), HAINES (J.R.), SMITH (V.G.F.) & WILLIAMS (T.R.), 1971. — Scanning electron microscope studies of larval cuticular patterns in African phoretic Simuliidae. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **65** : 25.
- VAJIME (Ch. G.), 1972. — Le complexe *Simulium* (Edwardsellum) *damnosum* : rapport sur les études cytotaxonomiques effectuées jusqu'en 1972. *WHO/Oncho/72.100* : 4-13.
- VAJIME (Ch. G.) & DUNBAR (R.W.), 1975. — Chromosomal identification of eight species of the subgenus Edwardsellum near and including *Simulium* (Edwardsellum) *damnosum* Theobald (Diptera : Simuliidae). *Z. Tropenmed. Parasit.*, **26** (1) : 11-138.
- WILLIAMS (T.R.), RAYBOULD (J.N.) & COTTRELL (J.), 1973. — Ultrastructure of the patterned cuticles of some larval Lewisellum (Diptera : Simuliidae). *Trans R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **67** : 34.