



SUR L'ETAT ACTUEL DU VARIANT EST-AFRICAINE D'EAU SAUMATRE
D'ANOPHELES GAMBIAE Giles¹

par

H. E. Paterson

The South African Institute for Medical Research
Johannesburg

Introduction

On a signalé de temps en temps, ces trente dernières années, l'existence d'une forme d'Anopheles gambiae se reproduisant dans les estuaires d'Afrique orientale où les eaux ont une salinité supérieure aux limites normales de tolérance de la forme typique (Mackay, 1935; Muirhead-Thomson, 1951; de Meillon, 1947 et autres). Les communications se rapportant apparemment à cette forme couvrent une zone allant de St Lucia, Natal (de Meillon, 1947) à la Somalie (Maffin, 1960), et une forme semblable ou identique se rencontre dans l'île Maurice (Jepson et al., 1947; Halcrow, 1957). Il a été démontré que cette forme de la côte orientale n'est pas identique à A. melas Theob. sensu Muirhead-Thomson (1948) qui occupe un biotope analogue sur la côte occidentale de l'Afrique (de Meillon, 1947; Muirhead-Thomson, 1951). Il n'existe apparemment aucun caractère morphologique net permettant de distinguer cette forme de A. gambiae s.str.

La présente communication expose les résultats de certaines expériences de croisement effectuées dans le but de préciser la situation de la forme d'eau saumâtre dans la nature.

¹ Cette recherche a été exécutée pendant une mission de l'auteur en qualité de consultant à court terme de l'OMS dans les laboratoires de l'East African Institute of Malaria and Vector-Borne Diseases d'Amani (Tanganyika).

Technique et résultats

Les A. gambiae s.str. utilisés dans ces expériences provenaient de :
a) la colonie entretenue à Amani, constituée par Shute (Shute, 1956) avec des moustiques provenant à l'origine de Kisumu (K); b) d'une colonie constituée à partir des oeufs de femelles sauvages capturées à Muheza, village situé à environ 25 milles de Tanga à l'intérieur des terres sur le chemin de fer menant à Arusha (M). Les moustiques de la forme se reproduisant en eau saumâtre provenaient d'une colonie, entretenue à Amani, qui avait été constituée par Kuhlrow. Les premiers moustiques provenaient de Tanga (T).

Les croisements directs et réciproques suivants ont été faits dans des cages cubiques mesurant environ 30 cm de côté : $K\overset{\uparrow\uparrow}{\sigma\sigma} \times T\overset{\circ\circ}{++}$ et $M\overset{\uparrow\uparrow}{\sigma\sigma} \times T\overset{\circ\circ}{++}$. Les cages ont été maintenues dans une chambre normalement éclairée sans régulation de l'humidité ni de la température.

Les oeufs F_1 sont éclos en eau douce et la méthode utilisée pour nourrir ensuite les larves est celle décrite par Shute (1956).

Les quatre croisements ont donné des générations F_1 . Le tableau 1 présente le résultat de chaque croisement.

TABLEAU 1. RESULTATS DES CROISEMENTS

Croisement (F_1)	Nombre d'oeufs pondus	Pourcentage d'éclosions	Pourcentage de larves du premier stade parvenant à maturité
TK	4276	30,7	8,7
KT	2486	40,7	14,7
TM	1056	21,9	14,8
MT	541	42,9	22,8

Note : TK = Tanga $\overset{\uparrow\uparrow}{\sigma\sigma}$ x Kisumu $\overset{\circ\circ}{++}$,
KT = Kisumu $\overset{\uparrow\uparrow}{\sigma\sigma}$ x Tanga $\overset{\circ\circ}{++}$,
TM = Tanga $\overset{\uparrow\uparrow}{\sigma\sigma}$ x Muheza $\overset{\circ\circ}{++}$,
MT = Muheza $\overset{\uparrow\uparrow}{\sigma\sigma}$ x Tanga $\overset{\circ\circ}{++}$.

Bien que le régime alimentaire des larves ait permis d'obtenir des adultes sains lorsqu'il était appliqué aux parents, les adultes hybrides obtenus étaient pour la plupart très faibles, beaucoup étant incapables de voler en dépit du fait que les pupes dont ils émergeaient étaient grandes et actives. Le nombre d'oeufs hybrides éclos était moindre que chez les formes parentales. La proportion des sexes dans les générations F_1 s'écartait du rapport attendu 1:1, comme le montre le tableau 2.

TABLEAU 2. PROPORTION DES SEXES DANS LES GENERATIONS HYBRIDES F_1

Croisement (F_1)	Mâles	Femelles	$\chi^2(1)$	P
TK	26	82	29,04	< 0,001
KT	103	14	67,70	< 0,001
TM	8	23	7,29	< 0,010
MT	31	22	1,53	0,25 > P > 0,20 *

* = chiffre non significatif.

Il convient d'observer que, même si l'écart trouvé dans le croisement $M^{\circ\circ} \times T^{++}$ était dû au hasard, il va dans le même sens que le croisement correspondant $K^{\circ\circ} \times T^{++}$.

On a constaté que les mâles de la génération hybride provenant des croisements $T^{\circ\circ} \times M^{++}$ et $T^{\circ\circ} \times K^{++}$ (déficients en mâles) avaient des testicules dégénérés. Ceux-ci étaient si réduits qu'ils n'étaient guère plus épais que les canaux déficients et apparaissaient nettement incapables de spermatogénèse (voir les croisements opérés par Muirhead-Thomson, 1948, entre A. melas et A. gambiae s.str.). Les testicules de la génération F_1 dans les croisements réciproques étaient apparemment de taille normale et la spermatogénèse s'effectuait.

Idéalement, il aurait fallu faire des croisements de retour avec les mâles hybrides afin d'étudier leur fertilité. Toutefois, étant donné la faiblesse

générale des hybrides, il n'a été possible de procéder à cette expérience que dans le cas des femelles F_1 du croisement $T\overset{\uparrow}{\sigma}\sigma \times K\overset{\circ}{+}$ dont on possédait huit individus relativement robustes; ces femelles ont été croisées en retour avec des mâles Kisumu.

Trois de ces femelles sont mortes dans les neuf premiers jours. Les autres apparaissaient gravides à ce moment. L'une d'elles a été sacrifiée et disséquée. Elle avait été fécondée et ses ovaires contenaient des oeufs que l'on a jugés être à la fin du stade 4 de Christophers ou au début du stade 5 (Christophers, 1911). Les autres femelles n'ont pas produit d'oeufs au cours des sept jours suivants (l'expérience a été alors interrompue, les femelles étant mortes accidentellement).

Les ovaires des hybrides nouvellement éclos paraissaient petits, mais normaux dans la mesure où l'on pouvait en juger sans étude spéciale.

Etant donné la communication de Holstein (1957) signalant la stérilité dans la génération F_1 de moustiques résultant du croisement entre colonies de A. gambiae d'eau douce provenant de différentes régions du Tanganyika, il a été décidé de croiser les colonies Kisumu et Muheza. Les tableaux 3 et 4 montrent les résultats du croisement $M\overset{\uparrow}{\sigma} \times K\overset{\circ}{+}$.

TABLEAU 3. RESULTATS DU CROISEMENT $M\overset{\uparrow}{\sigma} \times K\overset{\circ}{+}$

Expérience	Nombre d'oeufs pondus	Pourcentage d'éclosions	Pourcentage de larves au 1er stade parvenant à maturité
1	131	71,8	67,0
2	136	30,1	*
Total	267	50,6	-

* Observation inachevée faute de temps.

TABLEAU 4. PROPORTION DES SEXES DANS LA GENERATION F_1 DU CROISEMENT $Mo^0 \rightarrow K^+$

Mâles	Femelles	$\chi^2(1)$	P
24	39	1,36	$0,25 > P > 0,1^*$

* Ecart non significatif par rapport à 1:1.

Les testicules des mâles F_1 de ce croisement ont été examinés et trouvés apparemment normaux.

Bien qu'on n'ait consacré que peu de temps à l'étude des caractères morphologiques qui pourraient permettre de distinguer les deux formes, on a fait une étude de leurs oeufs. Il a été constaté que les oeufs étaient très semblables morphologiquement mais que la longueur moyenne de l'échantillon de la colonie de Tanga était significativement supérieure à la moyenne des échantillons des colonies de A. Gambiae s.str. Le tableau 5 résume ces différences.

TABLEAU 5. LONGUEUR DES OEUFS

	n	\bar{x} (mm)	σ	$\sigma_{\bar{x}}$	Coeff. de var. (%)	Intervalle de varia- tion (mm)
K	100	0,481	0,0196	0,00196	4,1	0,429 à 0,525
T	100	0,575	0,0172	0,00172	3,0	0,525 à 0,627
M	100	0,490	0,0252	0,00252	5,1	0,397 à 0,531
KT*	100	0,545	0,0234	0,00234	4,3	0,435 à 0,589
TK*	50	0,488	0,0179	0,00253	3,7	0,454 à 0,531

* Oeufs des F_1 $\frac{00}{++}$.

On notera qu'il existe une différence significative entre les longueurs des oeufs des échantillons K, M et T ($P < 0,01$), et que les moyennes des échantillons d'oeufs F_1 des croisements K ♂♂ et T ♀♀ et T ♂♂ x K ♀♀ sont significativement différentes des moyennes des échantillons K et T ($P < 0,05$). Cette constatation est quelque peu inattendue car on considère que les caractères des oeufs sont en général d'origine maternelle. Il est possible que les différences soient dues à des erreurs d'échantillonnage, en dépit des efforts qui ont été faits pour réduire ces dernières au minimum. Il est également remarquable que les moyennes des deux échantillons d'oeufs de A. gambiae s.str. soient significativement différentes. La petitesse des oeufs de la colonie de Kisumu pourrait être exceptionnelle et résulter d'une influence sélective s'étant exercée pendant les nombreuses années écoulées depuis l'établissement de la colonie.

Des travaux préliminaires visant à déterminer les valeurs CL_{50} de la tolérance à la salinité chez les populations parentales et hybrides indiquent que les hybrides présentaient une tolérance intermédiaire aux salinités élevées.

Discussion

A strictement parler, le problème ne pourra être résolu que lorsqu'on saura s'il existe un échange de gènes entre le patrimoine génique de A. gambiae s.str. et celui de la forme d'eau salée dans une localité où les deux coexistent et où par conséquent il existe des possibilités d'hybridation. En d'autres termes, il est nécessaire de savoir si les deux formes se croisent et donnent des descendants féconds, lorsqu'elles peuvent le faire dans la nature.

Il est rare qu'on puisse en faire la démonstration et nous devons nous contenter de trouver une réponse au problème par des méthodes moins directes.

Ainsi, nous pouvons affirmer d'emblée que nous n'avons pas affaire à deux sous-espèces car les deux formes coexistent dans plusieurs localités. A Dar-es-Salaam, nous savons qu'elles ont coexisté sans rien perdre de leur originalité (à en juger par le fait que les deux formes ont conservé leurs caractères distinctifs) pendant au moins quatorze ans (Mackay, 1935; Muirhead-Thomson, 1951)

bien que toutes les possibilités d'hybridation aient existé. En tenant compte de l'abondance relative des deux formes, il ne nous reste que deux explications possibles : ou bien il s'agit de formes polymorphes d'une espèce unique, ou bien il s'agit de deux espèces distinctes.

Etant donné la mise en évidence d'une stérilité au moins partielle dans les générations F_1 des croisements entre les deux formes et le caractère relativement inviable de ces hybrides, il est très peu probable qu'il s'agisse d'une seule espèce polymorphe. Ces données, ajoutées aux autres indices de différences génétiques entre les formes, indiquent qu'on a affaire à deux espèces biologiques distinctes. Cette conclusion n'est pas contredite par les renseignements provenant d'études sur le terrain (Muirhead-Thomson, 1951; Iyengar, 1961), qui indiquent que nous avons affaire à deux populations distinctes ayant des modes de comportement différents. Ces différences de comportement se résument dans les différences qui existent entre les deux formes en ce qui concerne leur potentiel en tant que vecteurs du paludisme et leurs réactions différentes aux pulvérisations de dieldrine à Pemba.

Il convient ici de rappeler la situation tout à fait analogue qui existe sur la côte occidentale de l'Afrique tropicale. Les faits connus (Muirhead-Thomson, 1948; Bruce-Chwatt, 1950; et autres) permettent d'affirmer l'existence de deux formes bien définies par la différence de leur réaction aux eaux salées, pendant les stades immatures, l'une se reproduisant en eau douce et l'autre dans l'eau saumâtre des estuaires. Il n'a pas été fait d'expérience précise de croisement mais les travaux de Muirhead-Thomson (1948) et Bruce-Chwatt (1950), s'ils diffèrent dans le détail, montrent bien que les hybrides F_1 des deux formes sont au moins partiellement stériles et ils n'interdisent pas la possibilité de leur stérilité complète. Fox (voir Marchal, 1959) affirme, sans s'étendre sur la question, que les expériences de croisement qu'il a effectuées entre les deux formes ont produit des générations F_1 et F_2 entièrement fertiles. Cette affirmation ne peut être acceptée sans confirmation car elle contredit les travaux susmentionnés de Muirhead-Thomson et de Bruce-Chwatt. Elle ne contient pas de détails expérimentaux et certains aspects de cette brève communication sont discutables (par exemple l'auteur affirme que la morphologie des oeufs F_1 est intermédiaire et il ne fait aucune allusion aux formes

de recombinaison dans la génération F_2 lorsqu'il étudie le caractère du peigne larvaire).

Si l'on accepte les faits significatifs suivants : 1) les formes sont souvent sympatriques et l'occasion d'hybridation existe; 2) les hybrides F_1 produits par le croisement entre les formes sont au moins partiellement stériles; 3) il existe des différences morphologiques et physiologiques entre les deux formes; et si l'on utilise un argument semblable à celui employé plus haut pour les formes de la côte orientale, on arrive à la conclusion que ces formes représentent deux espèces distinctes.

Ainsi, il existe des preuves en faveur de la subdivision de A. gambiae en au moins trois espèces soeurs, et il n'est nullement impossible que d'autres espèces soeurs du même complexe soient découvertes ultérieurement. De nombreuses anomalies observées pendant les campagnes d'éradication peuvent s'expliquer par l'hypothèse que les A. gambiae d'eau douce représentent en fait une paire d'espèces soeurs différant l'une de l'autre par leur comportement.

Enfin, je voudrais apporter mon appui à Mattingly (1955) quand il demande que les termes "espèce" et "sous-espèce" soient employés dans leur acception biologique stricte telle qu'elle est définie dans les travaux modernes sur l'évolution et la systématique, par exemple ceux de Mayr et al. (1952) ou de Cain (1954).

Addendum

Si l'on se réfère aux travaux récents de Davidson et Jackson (1962), il est fort probable que la forme d'eau douce de A. gambiae à son tour représente deux espèces soeurs puisque le groupe A et le groupe B, qui sont isolés en partie par une barrière de stérilité partielle, coexistent dans une localité au moins (Diggi, N., Nigéria).

Il est peu probable que ces faits modifient les arguments que nous venons d'exposer, mais il est bien évident que les croisements entre l'espèce d'eau salée et celle d'eau douce de A. gambiae devraient être répétés avec des individus d'eau douce des deux formes. Davidson et Jackson considèrent la colonie de Kisumu comme

étant du groupe A (bien que notre matériel semble appartenir anatomiquement au groupe B). Ce fait démontre que la colonie de Muheza utilisée pour les expériences qu'on vient de décrire appartenait également au groupe A. Comme Muheza ne se trouve qu'à 25 milles de Tanga, à l'intérieur des terres, il est probable que le groupe A au moins est présent sur la côte du Tanganyika. Néanmoins, il sera nécessaire de répéter les expériences de croisements sur la colonie de Tanga et une colonie du groupe B provenant de préférence des environs de la côte du Tanganyika.

Des travaux entrepris indépendamment à Amani par le Dr F. Kuhlow (1961) ont également fait l'objet d'une brève communication. Ils concordent bien avec le travail que nous venons d'exposer et y ajoutent des informations supplémentaires. L'auteur a constaté qu'au moins certaines femelles hybrides provenant du croisement Tanga ♂ x Muheza ♀ étaient fertiles. Il a également découvert des caractères qui rendraient possible la distinction des larves des deux espèces.

Résumé

1. Sur la côte orientale de l'Afrique et à l'île Maurice, on a observé des A. gambiae gâtant dans les eaux à forte salinité des estuaires.
2. Des expériences de croisements sont décrites entre la forme de A. gambiae tolérant l'eau saumâtre et la forme typique se reproduisant en eau douce.
3. Il a été démontré que les hybrides F_1 étaient au moins partiellement stériles et que leur viabilité était réduite.
4. L'auteur émet l'opinion, basée sur la notion d'espèce de la biologie moderne, que les deux formes représentent des espèces distinctes.
5. La situation comparable de A. gambiae et A. melas sur la côte occidentale de l'Afrique est brièvement examinée.

Remerciements

Je suis très reconnaissant au Dr G. Pringle, Directeur de l'East African Institute of Malaria and Vector Borne Diseases, et à ses collaborateurs, de l'aide et des encouragements qu'ils m'ont prodigués pendant ma mission de consultant à court terme de l'OMS.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bruce-Chwatt, L. J. (1950) J. trop. Med. Hyg., 53, 71
- Cain, A. J. (1954) "Animal species and their evolution"
- Christophers, S. R. (1911) Paludism, 2, 73
- Davidson, G. & Jackson, G. E. (1962) WHO/Mal/328
- Halcrow, J. G. (1957) E. Afr. med. J., 34, 133
- Holstein, M. (1957) Bull. Org. mond. Santé, 16 (2), 456
- Iyengar, R. (1961) WHO/Mal/322
- Jepson, W. F., Moutia, A. & Courtois, C. (1947) Bull. ent. Res., 38, 177
- Kuhlow, F. (1961) Ann. Rept. E. Afr. Inst. Mal. Vector-borne Dis., July 1960 - June 1961
- Mackay, R. (1935) "Report on work at Dar-es-Salaam during the period January 1932-January 1934" London : Colonial Development Fund (Malaria Research Scheme)
- Maffi, M. (1960) Riv. Malariologia, 39, 131.
- Marchal, E. (1959), Bull. Inst. franc. Afrique noire A 21 (1), 180
- Mattingly, P. F. (1955) WHO/Fil/5
- Mayr, E., Linsley, E. G. & Usinger (1952) "Methods and principles of systematic Zoology"
- de Meillon, B. (1947) "The Anophelini of the Ethiopian Geographical Region", Johannesburg
- Muirhead-Thomson, R. C. (1948) Bull. ent. Res., 38, 527
- Muirhead-Thomson, R. C. (1951) Ibid 41, 487
- Shute, G. T. (1956) Ann. trop. Med. Parasit., 50, 92

Le but des documents de la Série WHO/Mal est le suivant :

- a) mettre le personnel de l'OMS, les instituts nationaux, les chercheurs et les travailleurs de la santé publique au courant de l'évolution des recherches sur le paludisme et des progrès de l'éradication du paludisme au moyen d'exposés succincts relatifs à quelques problèmes en cause;
- b) distribuer, aux catégories de lecteurs indiquées ci-dessus, les rapports d'opérations et autres communications qui présentent un intérêt particulier, mais qui ne sont pas normalement imprimés dans les publications de l'OMS;
- c) communiquer aux intéressés différents articles qui sont destinés à la publication mais qui, en raison de leur actualité, méritent d'être rapidement connus.

La parution d'un article dans cette série ne constitue donc pas une publication officielle et un tel article peut donc, avec l'accord de l'auteur et de l'OMS, être publié dans un périodique de l'OMS ou ailleurs.

Les articles signés n'engagent que leurs auteurs. La mention des manufactures et des produits commerciaux n'implique pas que ces maisons ou leurs produits soient recommandés ou approuvés par l'Organisation mondiale de la Santé de préférence à d'autres.