

**utilisation de marqueurs radioactifs
pour l'étude du comportement
et de la physiologie de deux espèces jumelles
du complexe *Anopheles gambiae*
dans une zone de sympatrie à Madagascar**

S. CHAUVET

THE APPLICATION OF RADIOACTIVE TRACERS TO A STUDY OF THE BEHAVIOUR AND PHYSIOLOGY OF TWO TWIN SPECIES OF THE COMPLEX *Anopheles gambiae* IN A SYMPATRIC REGION OF MADAGASCAR. The author studied the behaviour of species A and B of the complex *Anopheles gambiae* in Madagascar. The adult mosquitoes of these two species are morphologically indistinguishable. Reared females labelled with ^{32}P for one species and ^{35}S for the other were released and then recaptured. The author was thereby able to bring to light considerable differences in the biting habits of each species.

UTILISATION DE MARQUEURS RADIOACTIFS POUR L'ETUDE DU COMPORTEMENT ET DE LA PHYSIOLOGIE DE DEUX ESPECES JUMELLES DU COMPLEXE *Anopheles gambiae* DANS UNE ZONE DE SYMPATRIE A MADAGASCAR. L'auteur a étudié à Madagascar le comportement des espèces A et B du complexe *Anopheles gambiae*. Les moustiques adultes de ces deux espèces sont morphologiquement inséparables. Des lâchers de femelles d'élevage marquées au ^{32}P pour une espèce et au ^{35}S pour l'autre ont été suivis de recapture. L'auteur a pu mettre ainsi en évidence d'importantes différences dans les habitudes de piqure de chaque espèce.

Anopheles gambiae Giles, vecteur majeur du paludisme dans la région éthiopienne, a été divisé ces dernières années en cinq espèces jumelles. Deux de celles-ci sont halophiles et allopatriques : *Anopheles melas* Theobald, d'Afrique occidentale, et *Anopheles merus* Dönitz, d'Afrique orientale. Les trois autres : *Anopheles gambiae* A, *A. gambiae* B et *A. gambiae* C sont dulcaquicoles et souvent sympatriques.

Les implications épidémiologiques de cette découverte sont évidemment très importantes en raison des différences dans l'efficacité vectrice de chacune des espèces. Grandes aussi sont ses répercussions sur la stratégie de la lutte antipalustre du fait d'éventuelles particularités dans les habitudes d'agressivité et de repos des espèces.

A Madagascar, on rencontre *Anopheles gambiae* A, *Anopheles gambiae* B et *Anopheles merus*. Les deux premières espèces ont une large répartition et coexistent sur une grande partie du territoire. Il était ainsi particulièrement justifié de les étudier dans une zone de sympatrie.

La principale difficulté de cette étude résidait dans l'impossibilité de séparer les imagos de deux espèces sur de simples critères morphologiques.

Nous l'avons résolue en utilisant des femelles d'élevage issues de femelles-mères, d'identité spécifique certaine puisque capturées dans des stations où n'existait que l'une ou l'autre espèce. Ces stations, tant celle où vivait l'espèce A que celle où vivait l'espèce B, étaient peu différentes l'une de l'autre du point de vue écoclimatique et très semblables par ailleurs à la station où fut effectuée l'étude.

Les femelles-filles étaient destinées à être lâchées dans la nature puis récapturées en suivant certaines méthodes permettant d'éclairer divers aspects de leur biologie. Afin de conserver aux insectes leur identité après le lâcher, nous les avons marqués par un radioisotope différent suivant leur origine.

Cette technique fut adoptée parce qu'elle est la méthode de marquage la plus rapide et la plus pratique lorsqu'il s'agit de travailler sur des nombres importants de moustiques. Elle présente, par ailleurs, l'avantage original, sur toutes les autres méthodes de marquage, d'éviter totalement la conservation des femelles en cage après leur éclosion, en vue de leur marquage, puisque cette opération a lieu au stade larvaire. Cet avantage est très important. Nous avons, en effet, remarqué que des femelles d'élevage maintenues en captivité ne sont en général pas fécondées et qu'en conséquence, elles ne prennent qu'une faible quantité de sang lors de leur premier repas. Au contraire les femelles inséminées, telles qu'on les rencontre dans la nature, prennent en général un important repas de sang. Or, on sait que, suivant l'importance de ce premier repas, le premier cycle gonotrophique sera plus ou moins long et le nombre des repas différent.

Nous avons employé le phosphore-32 pour marquer l'espèce A et le soufre-35 pour l'espèce B. La détection discriminante des anophèles marqués recapturés fut réalisée au moyen d'un appareillage électronique. En effet, le procédé basé sur l'autoradiographie ne pouvait être utilisé car il ne permet pas la dissection ultérieure des moustiques. Cette opération est cependant indispensable pour étudier la longévité des femelles de chaque espèce d'après leur taux de parité.

En fonction de l'appareillage dont nous disposions, nous avons recherché, par essais successifs, quelle était la concentration minimale qui permettait de détecter qualitativement le rayonnement de chacun des radioéléments, chez les imagos issus de larves marquées au quatrième stade. Nous avons été amenés ainsi à adopter dans les bacs d'élevage des concentrations de 20 μ Ci pour le phosphore-32 et de 40 μ Ci pour le soufre-35, par litre d'eau.

L'appareillage de détection comprenait deux compteurs différents : un photomultiplicateur associé à un scintillateur à cristal plastique, très sensible, qui détectait l'ensemble des deux rayonnements et un compteur cloche qui n'était sensible qu'aux rayons durs du phosphore-32.

Cette dualité fut nécessaire car la radioactivité individuelle des imagos marqués, aussi bien au phosphore-32 qu'au soufre-35, n'était pas suffisamment uniforme pour que nous puissions distinguer quantitativement un individu fortement marqué au soufre d'un autre faiblement marqué au phosphore. Nous aurions pu évidemment augmenter la concentration des solutions de marquage mais, ne connaissant pas l'effet exact des radioisotopes sur la physiologie générale des moustiques, nous avons préféré nous en tenir à la plus faible concentration utile.

Les femelles de *A. gambiae* (sensu lato) récapturées étaient placées dans des tubes d'exposition dont l'extrémité, mise au contact de la fenêtre sensible des compteurs, était obturée par un simple tulle moustiquaire; la bougie de coton fermant l'autre extrémité du tube était repoussée au moment de l'examen afin d'appliquer le moustique contre le tulle.

Au cours des six mois que dura l'étude, plus de 180.000 femelles appartenant à sept espèces anophéliennes différentes furent capturées. 11.000 d'entre elles se rattachaient au complexe *Anopheles gambiae*. Dans ce lot, nous avons reconnu 406 femelles marquées tant au phosphore-32 qu'au soufre-35. Le pourcentage de recapture, sensiblement identique pour chacune des deux espèces du complexe, fut de 1,4%.

L'emploi de cette technique a permis de mettre en évidence de grandes différences dans les habitudes de piqure de chacune des espèces. C'est ainsi que *A. gambiae* A montre une nette tendance à l'endophagie et à l'anthropophilie alors que *A. gambiae* B apparaît essentiellement exophage et zoophage.

Une telle utilisation des radioisotopes constitue une méthode irremplaçable pour ce genre d'étude. La difficulté, pour sa mise en oeuvre, réside principalement dans la réalisation d'élevages intensifs de moustiques et dans l'obtention d'un pourcentage suffisant de recapture.

Ces travaux ont déjà été présentés à l'occasion du Colloque O.U.A. sur l'utilisation de l'énergie atomique à des fins pacifiques en Afrique KINSHASA 28 Juillet - 1 Août 1969.