

ACADÉMIE ROYALE DES SCIENCES D'OUTRE-MER
Classe des Sciences naturelles et médicales
Mémoires in-8°, Nouvelle Série, Tome 21, fasc. 1, Bruxelles, 1986

Recherches sur les isoenzymes des arthropodes parasites ou vecteurs de parasites

PAR

A. J. SILBERSTEIN (†)

Assistant au Laboratoire de Zoologie médicale
de l'Institut de Médecine tropicale «Prince Léopold»
(Anvers)

KONINKLIJKE ACADEMIE VOOR OVERZEESE WETENSCHAPPEN
Klasse voor Natuur- en Geneeskundige Wetenschappen
Verhandelingen in-8°, Nieuwe Reeks, Boek 21, afl. 1, Brussel, 1986

ACADÉMIE ROYALE DES SCIENCES D'OUTRE-MER
Classe des Sciences naturelles et médicales
Mémoires in-8°, Nouvelle Série, Tome 21, fasc. 1, Bruxelles, 1986

Recherches sur les isoenzymes des arthropodes parasites ou vecteurs de parasites

PAR

A. J. SILBERSTEIN (†)

Assistant au Laboratoire de Zoologie médicale
de l'Institut de Médecine tropicale «Prince Léopold»
(Anvers)

KONINKLIJKE ACADEMIE VOOR OVERZEESE WETENSCHAPPEN
Klasse voor Natuur- en Geneeskundige Wetenschappen
Verhandelingen in-8°, Nieuwe Reeks, Boek 21, afl. 1, Brussel, 1986

Mémoire présenté au concours annuel 1979
et couronné par la Classe des Sciences naturelles et médicales
en sa séance du 26 juin 1979

Rapporteurs: MM. A. FAIN, J. JADIN et J. MORTELMANS

ACADÉMIE ROYALE
DES
SCIENCES D'OUTRE-MER

Rue Defacqz 1 boîte 3
B-1050 Bruxelles
Tél. (02) 538.02.11

KONINKLIJKE ACADEMIE
VOOR
OVERZEESE WETENSCHAPPEN

Defacqzstraat 1 bus 3
B-1050 Brussel
Tel. (02) 538.02.11

D/1986/0149/3

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	5
Chapitre I. Les isoenzymes	7
Définition	7
Méthodes de mise en évidence des isoenzymes par électrophorèse ..	8
Mécanismes assurant la génèse des isoenzymes	14
Historique de l'isoenzymologie appliquée à l'étude des arthropodes ..	15
L'intérêt des isoenzymes en entomologie médico-vétérinaire	16
Considérations sur la signification de l'existence des isoenzymes	19
Chapitre II. Importance de <i>Aedes polynesiensis</i> Marks, 1951, dans la transmission de filarioses et de la dengue	21
Le groupe <i>Aedes (Stegomyia) scutellaris</i>	23
Le sous-groupe <i>Aedes (Finlaya) fijiensis</i>	27
Le sous-genre <i>Aedes (Ochlerotatus)</i>	27
Chapitre III. Les isoenzymes de <i>Aedes polynesiensis</i> Marks, 1951	31
Matériel	31
Types d'isoenzymes étudiées	33
Conclusion	64
Chapitre IV. Les isoenzymes d'acariens	65
Rôle pathogène des acariens	65
Matériel	65
Estérases	66
Conclusion	68
Annexe: Technique d'élevage de <i>Aedes polynesiensis</i> Marks, 1951	69
Bibliographie	73

Introduction

Afin de mieux comprendre le rôle vecteur des arthropodes et de distinguer des espèces, des sous-espèces ou des souches vectrices de celles qui ne le sont pas, des techniques d'investigations fines ont été appliquées au cours des dernières décennies: la microscopie à balayage (scanning), la cytogénétique et les méthodes histobiochimiques. Parmi ces dernières, les plus utilisées sont les réactions immunologiques, les études par électrophorèse des protéines totales ou hémolymphatiques et les mises en évidence par électrophorèse des isoenzymes. Le présent travail est consacré à l'étude d'isoenzymes de deux groupes d'arthropodes d'intérêt médical: d'une part le moustique *Aedes polynesiensis*, vecteur dans une vaste région du Pacifique de la filaire *Wuchereria bancrofti* et du virus de la dengue, d'autre part des acariens astigmatés, dont plusieurs sont parasites ou agents de l'asthme bronchique. L'intérêt de ces isoenzymes apparaîtra au cours des chapitres suivants.

*
* *

Le présent travail a pu être réalisé grâce au «Crédit aux Chercheurs» n° 3.4516.78 du Fonds National de la Recherche Scientifique, Bruxelles.

Les expressions de ma plus profonde gratitude vont également au professeur A. Fain (Laboratoire de Zoologie médicale, Institut de Médecine tropicale «Prince Léopold» d'Anvers) et à M. J. Mouchet (inspecteur général de recherches à l'Office de la Recherche scientifique et technique d'Outre-Mer, Paris) pour leurs encouragements constants et leurs conseils éclairés; au Dr J. Laigret (directeur de l'Institut de Recherches médicales Louis Malardé, Tahiti) pour ses conseils judicieux et son incomparable hospitalité sans laquelle cette étude n'eut été réalisable; à MM. G. Pichon et F. Rivière (entomologistes O.R.S.T.O.M. à Tahiti) pour leur aide merveilleuse aussi bien au laboratoire que sur le terrain; à tout le personnel de l'Institut Lous Malardé et de l'insectarium de Paea (Tahiti) et spécialement à MM. L. Thirel, M. Faaruia et L. Colombani (techniciens O.R.S.T.O.M.), pour leur aide au laboratoire et sur le terrain; au Dr H. Townson (Liverpool School of Tropical Medicine) pour l'envoi d'œufs de *Aedes polynesiensis* de ses élevages et M. B. Engber (Peace Corps) pour les œufs envoyés directement d'Upolu; aux Drs J.E.M.H. van Bronswijk (Academisch Ziekenhuis, Utrecht) et J. Centner (Dinant) pour l'envoi d'acariens.

Chapitre I

Les isoenzymes

Définition

Le terme «Isoenzyme» est recommandé officiellement par le «Standing Committee on Enzymes of the International Union of Biochemistry» (Report Commission, 1961); le terme «isozyme» de MARKERT & MOLLER (1959) est également accepté. Les isoenzymes sont définies comme étant des protéines dont l'action enzymatique catalyse une même réaction au sein d'une espèce animale ou végétale mais dont les structures moléculaires et par conséquent les propriétés physico-chimiques sont différentes. En d'autres termes, une espèce déterminée peut posséder des protéines distinctes et différenciables qui assurent une fonction enzymatique identique: ces molécules protéiques différentes sont des isoenzymes. Elles ont chacune leurs propriétés physico-chimiques et parmi celles-ci, l'une des plus importantes est la charge électrique. Cette charge électrique est la résultante de la combinaison des charges positives (radicaux NH_2^+) et négatives (COOH^-) des divers acides aminés formant les chaînes protéiques. Cette charge électrique qui varie en intensité suivant l'enzyme étudiée, peut facilement être mesurée par la méthode de l'électrophorèse. En effet, si l'on soumet ces enzymes à l'influence d'un champ électrique on constate qu'elles migrent à des vitesses différentes suivant l'importance de la charge qu'elles portent. Une isoenzyme à forte charge migrera plus rapidement et plus loin qu'une autre isoenzyme à charge moindre. On peut ainsi aisément identifier une isoenzyme.

Pour mettre en évidence et visualiser le phénomène de la migration des isoenzymes par l'électrophorèse, différentes techniques sont utilisées. Celle choisie dans le présent travail est la technique d'électrophorèse en gel d'amidon de SMITHIES (1955) parce qu'elle présente d'importants avantages sur les autres techniques décrites. Elle donne, en effet, une excellente visualisation des isoenzymes, elle permet ensuite d'analyser une quantité assez importante de matériel à chaque examen et elle donne enfin la possibilité d'étudier au moins deux fonctions isoenzymatiques au cours de la même manipulation.

Méthodes de mise en évidence des isoenzymes par électrophorèse

La migration électrophorétique se fait en gel d'amidon, milieu poreux qui permet la progression des protéines vers l'un ou l'autre pôle selon que la charge électrique nette est positive (migration vers la cathode) ou négative (migration anodique). La vitesse de migration et, par conséquent, la distance parcourue dans ce gel d'amidon dépendent surtout de l'intensité de cette charge électrique nette, mais aussi du poids moléculaire de la protéine et de l'orientation spatiale de cette molécule; cette migration est également influencée par la force ionique,

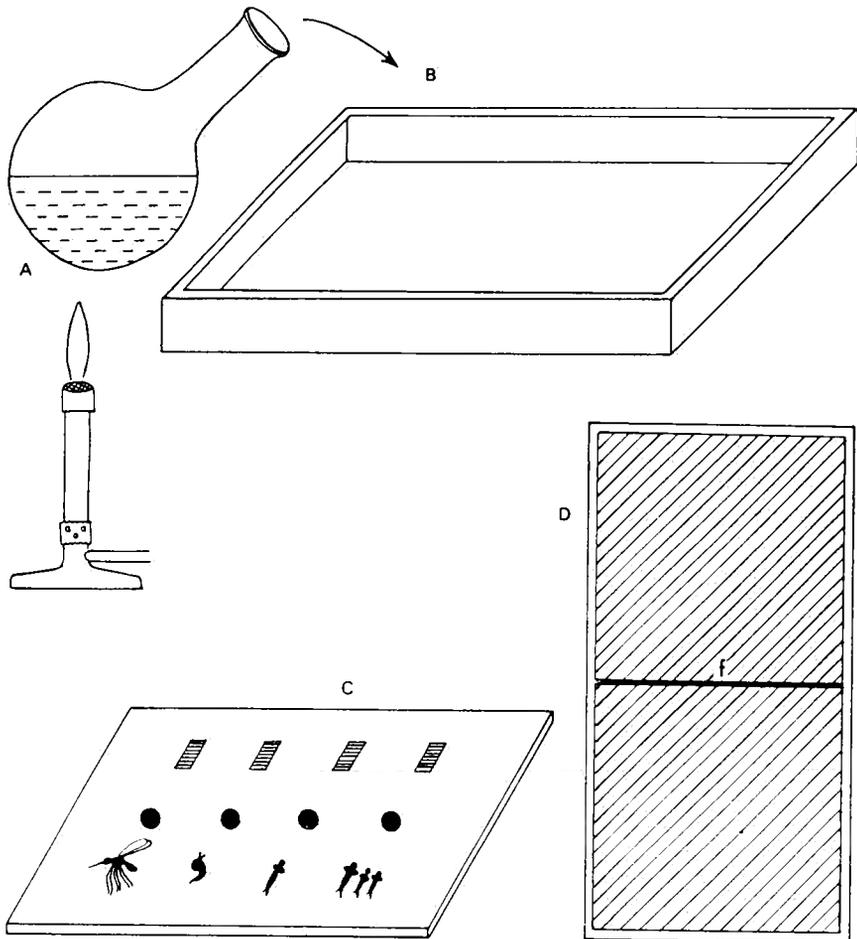


FIG. 1. — Préparation du gel et spécimens à analyser: la solution d'amidon est portée à préébullition (A) et coulée (B) dans le moule à gel; le ou les spécimens sont homogénéisés (C) dans une goutte d'eau déionisée et un morceau de papier filtre est déposé sur cet homogénat. Au travers du gel est appliquée une fente (D, f), dans laquelle les homogénats seront insérés.

la viscosité et les propriétés chimiques des tampons utilisés (voir plus loin) ainsi que par la force du champ électrique et la durée d'application de ce champ (plusieurs heures).

La préparation du gel d'amidon est schématisée dans la figure 1. Elle s'effectue l'après-midi; 29 g de la poudre d'amidon (laboratoire Connaught) sont dilués dans 250 ml de la solution du tampon du gel de SELANDER (1971), composée de 22,89 mM de tris-hydroxyméthyl-amminométhane (Sigma) et de 5,22 mM d'acide citrique monohydraté (Merck); l'on obtient une solution d'amidon de 11,6%. Ce mélange est porté à une température précédant immédiatement l'ébullition (apparition des premières bulles), dégazé (à l'aide d'une pompe à vide) et coulé dans un moule (aux dimensions intérieures de 12 cm × 30 cm × 0,7 cm). Cette solution est alors laissée à gélifier à température ambiante pendant environ 25 minutes et ensuite couverte d'une feuille de plastique afin d'empêcher la déshydratation du gel. Le lendemain matin, après qu'il ait bien pu refroidir durant la nuit, ce gel est mis au frigo pendant une demi-heure.

Durant cette demi-heure, le matériel à analyser est préparé (Fig. 1, C). Les moustiques adultes, aspirés hors des cages (voir matériel), sont mis une dizaine de minutes au congélateur afin de les anesthésier; les nymphes et larves sont baignées dans de l'eau déionisée sortant du frigidaire; vingt à trente acariens, récoltés des élevages, ont été mis la veille au congélateur. Sur une plaque de matière synthétique sont déposées des gouttes d'eau déionisée de 10 µl et des morceaux de papier-filtre Whatman n° 3 de 7 × 3 mm. Dans chaque goutte d'eau sont écrasés à l'aide du fond d'un tube en plastique un seul ou plusieurs représentants d'un des stades de développement du moustique; les acariens sont écrasés un à un dans leur goutte sous le binoculaire. Un morceau de papier-filtre est ensuite déposé sur chaque homogénat ainsi obtenu.

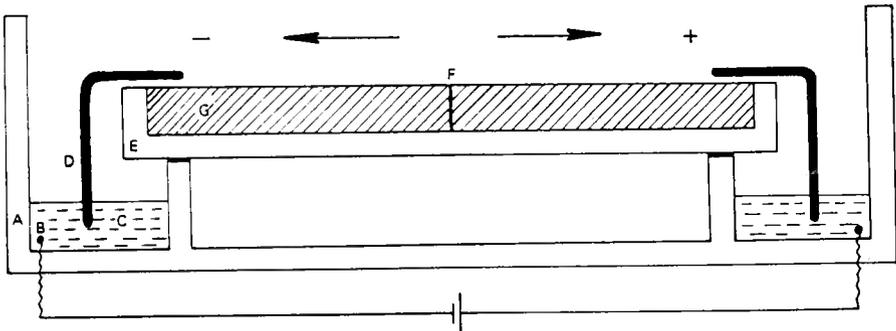


FIG. 2. — Équipement électrophorétique: Cuve à électrophorèse (A); Électrode (B); Tampon de l'électrode (C); «Pont» (D); Moule du gel (E); Fente d'insertion des homogénats (F); Gel d'amidon (G).

Le gel est alors sorti du frigo et, à l'aide d'un bistouri, une fente verticale y est pratiquée dans le sens de la largeur (Fig. 1, D, f et Fig. 2, F), au milieu du gel. Quelques gouttes d'une solution de 0,5% de bleu de bromophénol sont

introduites dans cette fente: ce bleu sera le témoin du front de migration anodique. Les morceaux de papier-filtre, ayant absorbé l'homogénat, sont insérés tous les 5 mm environ dans la fente; 12 à 15 homogénats peuvent ainsi être mis sur une rangée. Le moule, contenant le gel avec les homogénats insérés, est déposé dans la cuve à électrophorèse (Fig. 2).

Cette cuve à électrophorèse (Fig. 2, A) présente à ses extrémités 2 bacs contenant chacun 250 ml de la solution du tampon d'électrode de SELANDER (1971) (Fig. 2, C), composée de 0,687 M de tris-hydroxyméthyl-aminométhane (Sigma) et 0,157 M d'acide citrique monohydraté (Merck). Dans chaque bac baigne une électrode (Fig. 2, B), raccordée à la source de courant. La continuité de la conductivité électrique entre le gel et les tampons des électrodes est assurée par 2 «ponts» (Fig. 2, D) constitués de 18 couches de papier-filtre Whatman n° 2.

La cuve contenant le moule (Fig. 2, E) avec le gel (Fig. 2, G) est placée dans le réfrigérateur et le courant installé de telle façon que 5 volts par cm de gel parcourt celui-ci. Cette tension électrique, qui doit assurer la migration des protéines, est maintenue pendant 5 à 6 heures. Comme le passage de courant provoque un dégagement de chaleur et que certaines enzymes sont thermolabiles, cette migration doit se faire en réfrigérateur. Pendant l'opération, les parties supérieures des ponts et le gel seront couverts par une feuille de plastique.

Après une migration de 6 heures, le courant est coupé; le gel, sorti du moule, est trempé dans une solution de tampon d'incubation contenant le substrat

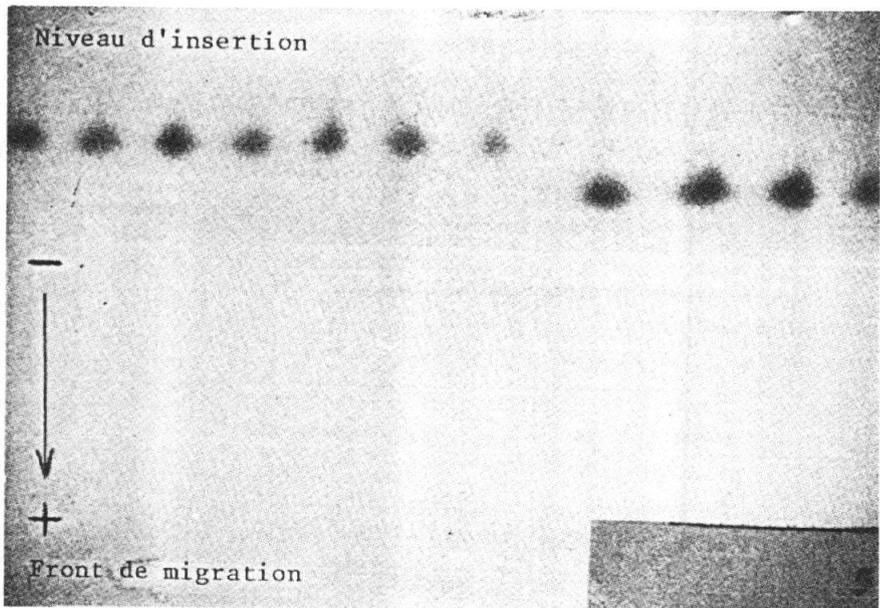


FIG. 3. — Les 4 bandes de droite de l' α -glycéro-phosphate déshydrogénase, appartenant à 4 femelles de *Aedes edgari*, ont migré plus rapidement et donc plus loin que les 7 bandes de gauche de l' α -glycéro-phosphate déshydrogénase appartenant à 7 *Aedes polynesiensis*.

spécifique sur lequel les protéines enzymatiques étudiées réagiront. Le produit de cette réaction est ensuite visualisé grâce à l'addition d'un colorant spécifique. Une coloration apparaîtra aux endroits où ont migré les protéines isoenzymatiques.

Avant d'être trempé dans le tampon de coloration, le gel peut être tranché dans le sens de son épaisseur et chaque tranche de gel (épaisse d'environ 3,5 mm) trempée dans un tampon d'incubation différent, ce qui permet d'étudier deux fonctions isoenzymatiques différentes.

Les figures 3, 4 et 5 illustrent, à titre d'exemples, ce qui vient d'être exposé. La figure 3 montre l'unique bande, donc la seule protéine enzymatique électrophorétiquement décelable par la méthode employée, chez *Aedes polynesiensis* ainsi que l'unique bande, différente (ayant migré plus loin) chez *Aedes edgari*. L'on ne parle pas dans ce cas de deux isoenzymes car il s'agit de deux espèces différentes n'ayant chacune qu'une protéine enzymatique (en l'occurrence l' α -glycéro-phosphate déshydrogénase, dont le rôle est détaillé plus loin).

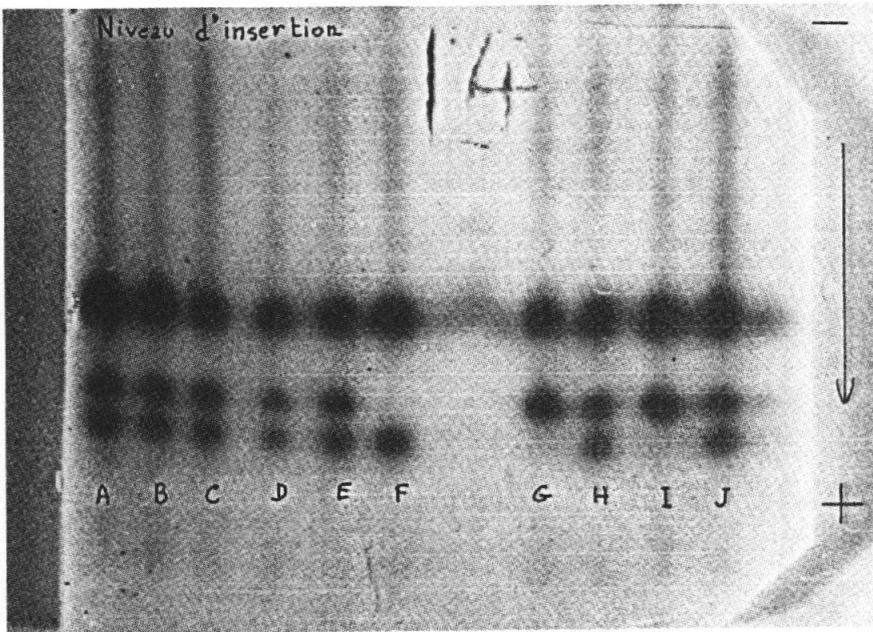


FIG. 4. — Les isoenzymes estérasiqes de dix *Aedes polynesiensis*: deux chez trois d'entre eux (F, G et I), trois chez les sept autres.

La figure 4 montre les isoenzymes des estérases de dix *Aedes polynesiensis* (de A à J). Sept moustiques (A, B, C, D, E, H et J) présentent trois bandes: celles-ci représentent les 3 isoenzymes estérasiqes chez cette souche de l'espèce *Aedes polynesiensis*. En effet, chacune de ces trois bandes représente une molécule protéique différente, qui possède une fonction enzymatique estérasiqes. Le fait que les moustiques F, G et I ne présentent que deux bandes sera exposé plus loin.

La figure 5 montre les isoenzymes estérasiques de deux homogénats de 20 acariens *Austroglyphagus hughesae* (à gauche) et de deux homogénats de 20 acariens *Austroglyphagus asthmaticus* (à droite). Cette photo montre d'abord l'existence d'isoenzymes d'estérases à migration cathodique (vers le haut, par rapport à la fente d'insertion); chez les moustiques (Fig. 3 et 4), tous les isoenzymes migrèrent vers l'anode. Cette photo montre en plus des différences spécifiques entre les deux espèces d'acariens: *A. hughesae* montre, vers la cathode, une bande nette et une bande d'intensité de coloration légère, et, vers l'anode, deux bandes à migration lente et deux bandes très foncées à migration plus rapide; *A. asthmaticus* montre, vers la cathode, deux bandes nettes et, vers l'anode, une seule bande foncée. Les «zymogrammes» estérasiques (c'est-à-dire l'image de l'ensemble des isoenzymes des estérases chez une espèce donnée) de ces deux acariens sont spécifiquement différents.

Trois fonctions isoenzymatiques ont été recherchées: les estérases (*Est*), les α -glycéro-phosphate déshydrogénases (α *Gpdh*) et les glutamate-oxaloacétate-transaminases (*Got*).

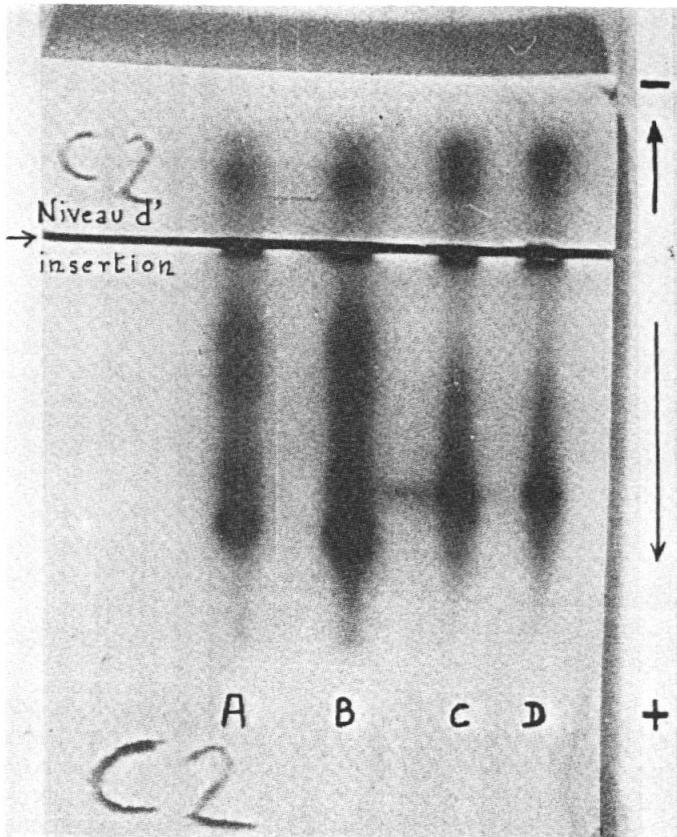


FIG. 5. — Zymogrammes estérasiques d'*Austroglyphagus hughesae* (A: 20 mâles; B: 20 femelles) et *A. asthmaticus* (C: 20 femelles; D: 20 mâles).

Les estérases (*Est*) sont qualifiées dans la littérature de «carboxyliques» (car elles hydrolysent un grand nombre d'esters carboxyliques) et de «non spécifiques», car les substrats utilisés pour leur mise en évidence sont synthétiques (n'existant pas dans la nature). L'emploi des différents types d'inhibiteurs d'estérases (fréquemment utilisés comme insecticides) ont incité de nombreux auteurs à classer ces estérases en différentes catégories. La méthode de l'électrophorèse appliquée aux différents organes des moustiques a montré que les estérases se concentrent principalement dans les organes à haute activité métabolique comme par exemple la paroi de l'estomac intervenant dans la digestion du sang ingéré, les tubes de Malpighi, les ovaires (FREYVOGEL *et al.* 1968).

La mise en évidence des protéines estérasiques est basée sur les réactions suivantes: une estérase, agissant sur un ester de naphthol, libère un acide et du naphthol; un «azodye» ajouté à ce naphthol donne un produit coloré insoluble.

Dans ce travail il a été procédé selon la technique décrite par DE STORDEUR (1976): après les 5 à 6 heures de migration, le gel est plongé dans 100 ml de la solution tampon d'incubation, composée de 0,1 M de Na_2HPO_4 (Merck) et 0,1 M de KH_2PO_4 (Merck), dans laquelle il restera baigné 25 min au réfrigérateur. Cette préincubation est nécessaire pour ramener le pH du gel du pH 8 (des tampons du gel et des électrodes) au pH 6,5 (tampon d'incubation). Le gel est ensuite replongé dans 100 ml frais de cette solution de tampon phosphate d'incubation auxquels sont ajoutés 10 ml de la solution de substrat, constitué de 0,5 g de α -naphthyl-acétate (Serva) et 0,5 g de β -naphthyl-acétate (Serva), dissous dans 75 ml d'acétone pure, ajusté à 100 ml avec de l'eau déionisée. Après 15 min de cette incubation à température ambiante, 100 mg de poudre de Fast Garnett GBC Salt (Serva) sont ajoutés. Après quelques minutes déjà apparaissent des bandes bleues, rouges ou pourpres selon que les isoenzymes estérasiques utilisent préférentiellement le substrat α -naphthyl-acétate, β -naphthyl-acétate ou les deux. Dès que l'intensité de coloration du zymogramme est jugée suffisante (30 à 45 min), le gel est rincé à l'eau courante puis fixé dans un mélange composé d'acide acétique glacial, de méthanol et d'eau courante dans les proportions 1:5:5. Le lendemain, après 24 h de fixation, le gel est emballé dans une feuille de plastique et peut être conservé plusieurs mois durant lesquels il peut être photographié et analysé densitométriquement.

Les α -glycérophosphate déshydrogénases (α *Gpdh*) interviennent chez les insectes d'une part dans la synthèse des acides gras et elles sont, d'autre part, surtout nécessaires à la régénération de la nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD) au cours de la glycolyse; ce rôle est particulièrement important pour l'apport d'énergie lors des contractions de la musculature alaire pendant le vol (SACKTOR & COCHRAN 1957 et SACKTOR & DICK 1962).

La mise en évidence des α *Gpdh* est basée sur les réactions couplées qui valent pour toutes les déshydrogénases: un hydrogène du substrat est transféré par la déshydrogénase sur le NAD; cet hydrogène du NADH est ensuite cédé au nitroblu tetrazolium (NBT) qui, à son tour, le cède à la phénazine méthosulfate (PMS), provoquant un précipité indigo de formazan.

Dans ce travail, il a été procédé selon la technique de PASTEUR (1977): le gel est plongé dans 100 ml de tampon d'incubation composé de 0,2 M de

tris-hydroxyméthyl-aminométhane (Sigma) dont le pH est ajusté à 8 avec de l'HCl concentré; 250 mg du substrat α -glycérophosphate (Serva) sont ajoutés ainsi que les solutions de coloration composées de 2,5 ml de NAD (Serva) à 1%, 2,5 ml de NBT (Serva) à 1% et 1 ml de PMS (Serva) à 1%. Cette incubation se passe dans l'obscurité (car le PMS est très photosensible) durant 20 à 30 min. Dès que la coloration des bandes indigos est suffisamment intense, le gel est fixé comme pour les estérases.

Les glutamate-oxalacétate transaminases (*Got*) sont également appelées glutamate-oxalate transaminases ou aspartate-amino transférases. La technique appliquée pour leur mise en évidence est celle de PASTEUR *et al.* (1977): le gel est plongé dans 100 ml du tampon d'incubation utilisé pour les α *Gpdh*, c'est-à-dire du Tris-HCl à pH 8, auquel est ajouté le substrat composé de 250 mg d' α -cétoglutarate (Serva), 500 mg d'acide aspartique (Serva) et 1,25 mg de pyridoxal-5'-phosphate (Serva). Après 20 minutes d'incubation, 200 mg de Fast Blue BB (Serva) sont ajoutés et des «taches» turquoises apparaissent dans les 30 min qui suivent.

Mécanismes assurant la génèse des isoenzymes

Plusieurs protéines différentes (les isoenzymes) pouvant assurer chez un individu une même fonction enzymatique, le concept «un gène, une enzyme» a dû être nuancé par celui de «un gène, une chaîne protéique». En effet, la synthèse des molécules protéiques trouve son origine dans le patrimoine chromosomique et leur présence chez un individu dépend des lois de l'hérédité mendélienne. Plusieurs voies génétiques peuvent donner naissance aux isoenzymes (HARRIS 1969):

Un gène chromosomique ou un groupe de gènes (locus) peut être responsable du codage d'une première protéine enzymatique et un autre gène ou locus d'une seconde protéine à même fonction enzymatique: l'individu hébergera deux isoenzymes, codées par deux loci chromosomiques différents. D'autre part plusieurs loci peuvent contribuer au codage d'une seule enzyme (l'hémoglobine humaine peut être avancée comme exemple répondant à un tel modèle).

Un gène chromosomique peut être constitué de deux allèles différents, chacun codant une protéine différente; l'individu, hétérozygote pour ce gène-là, présentera donc deux isoenzymes (si ces allèles sont codominants); un homme du groupe sanguin AB répond à un tel modèle. Un tel gène peut également être triallélique (système sanguin ABO chez l'homme) ou encore beaucoup plus polymorphe. Lorsque plusieurs isoenzymes sont codées par un même gène ou locus, elles sont qualifiées de «alloenzymes» ou «allozymes» (PRAKASH *et al.* 1969).

D'autres mécanismes peuvent intervenir dans l'apparition d'isoenzymes: des modifications chimiques *in vivo*, des variations dans les structures moléculaires tertiaires ou quaternaires, la formation de polymères, les liaisons d'enzymes avec d'autres molécules en sont des exemples.

Historique de l'isoenzymologie appliquée à l'étude des arthropodes

Emil FISHER (1895, cité *in* WILKINSON 1970) avait pressenti que des enzymes catalysant la même réaction et possédant la même spécificité de substrat mais provenant de sources différentes, pouvaient différer par d'autres propriétés. Il avait, en conséquence, insisté pour que dans toute description d'enzyme, on précise non seulement le nom de l'organisme étudié (genre et espèce) mais également l'organe et le tissu d'où provenait l'enzyme.

Les recherches ultérieures devaient confirmer le bien-fondé de cette hypothèse. C'est ainsi que WARBURG & CHRISTIAN (1943) purent montrer que l'aldolase de levure différait en plusieurs points de celle, obtenue cristallisée, de tissus musculaires de rat. MEISTER (1950) et NEILANDS (1952) démontrèrent que la lactate déshydrogénase cristallisée du cœur de bœuf se composait de deux protéines enzymatiquement actives et électrophorétiquement distinctes; une fonction enzymatique chez une espèce (et provenant d'un même organe) apparut comme étant portée par deux protéines différenciables: les deux premières isoenzymes étaient «découvertes». Les études consécutives sur les isoenzymes de la lactate déshydrogénase chez l'homme (VESSEL & BEARN 1957 et SAYRE & HILL 1957) et chez d'autres mammifères (WIELAND & PFLEIDERER 1957) ouvrirent la voie à des recherches intensives d'isoenzymes dans d'autres fonctions enzymatiques.

Ces études furent d'ailleurs grandement facilitées après que HUNTER & MARKERT (1957) eurent mis au point l'association de la technique d'électrophorèse en gel d'amidon (SMITHIES 1955) avec la mise en évidence histo-chimique des estérases. Dix ans plus tard, MARKERT (1968) dénombra dans la littérature plus de cent fonctions enzymatiques se manifestant chacune sous des formes moléculaires différentes (donc plus de cent groupes d'isoenzymes), ceci dans pratiquement tous les embranchements de règnes végétal et animal, de la bactérie au primate.

De l'intérêt clinique et diagnostique en médecine humaine qu'eurent au début les isoenzymes, l'attention s'était portée (HAUPT & GIERSBERG 1958) sur l'utilité de ces enzymes dans les études sur la systématique et l'évolution. Après que MARKERT & MOLLER (1959), ALLEN (1960), SCHWARTZ (1960) et d'autres eurent démontré la relation directe existant entre ces molécules protéiques isoenzymatiques et les gènes chromosomiques qui, en fait, codent la synthèse de ces isoenzymes, des horizons nouveaux s'ouvrirent aux généticiens. Ceux-ci choisirent tout naturellement comme matériel de recherche les insectes, faciles à obtenir et à élever. Ces études contribuèrent à mieux comprendre le rôle de ces nombreuses molécules à fonction enzymatique présentes souvent chez une même espèce d'insecte, parfois même dans un même tissu, voire dans une même cellule.

Les premiers zymogrammes d'insectes furent obtenus par WRIGHT (1961 et 1963) pour *Drosophila melanogaster* et par OGITA (1962) pour *Musca domestica*. BIANCHI (1966) en Sardaigne obtint les premiers zymogrammes d'*Anopheles* du groupe *maculipennis*. FREYVOGEL *et al.* (1968) établirent des zymogrammes de 14 souches de Culicidae appartenant à 8 espèces des genres *Anopheles*, *Aedes* et *Culex*, tandis que TREBATOSKI & HAYNES (1969) le firent

pour six groupes d'isoenzymes chez douze espèces de moustiques dans ces 3 genres; BULLINI & COLUZZI (1973) étudièrent les isoenzymes de la phosphoglucomutase chez 140 populations de 45 espèces de moustiques dans 5 genres. Et ce genre d'études n'a cessé de croître.

En ce qui concerne les acariens, seuls les acides aminés (MICKS & GIBSON 1957) et les protéines hémolympathiques (VAN SANDE & KARCHER 1960) de tiques avaient fait l'objet de recherches. Ce n'est que tout récemment que les premiers zymogrammes d'acariens ont pu être obtenus (SILBERSTEIN, FAIN & HÉRIN 1979).

L'intérêt des isoenzymes en entomologie médico-vétérinaire

1. L'intérêt en systématique

Le polymorphisme enzymatique chez une espèce se manifeste donc par les isoenzymes, visualisables par les techniques électrophorétiques sous forme de zymogrammes. Ces isoenzymes sont remarquablement stables malgré les conditions expérimentales auxquelles elles sont soumises; les aspects des zymogrammes obtenus chez une espèce donnée montrent en effet une très belle constance. Ces isoenzymes peuvent donc être considérées comme des éléments aussi valables que certains caractères morphologiques. Les isoenzymes ont certainement déjà rejoint les caryotypes de la cytogénétique, comme contribution à la solution de problèmes en systématique.

Les complexes d'espèces jumelles représentent un terrain d'application idéal: si, morphologiquement, elles sont indissociables (par définition), certaines espèces jumelles ont pu être différenciées par leurs zymogrammes (comme elles l'ont éventuellement été par leur caryotype, lorsque cette dernière technique pouvait être appliquée). Chez les Culicidae, BIANCHI (1966 et 1968a) réussit à séparer, par les isoenzymes de la phosphatase alcaline, cinq de six espèces européennes du complexe (le plus caractéristique selon MAYR 1963) d'espèces jumelles *Anopheles maculipennis*, y compris *Anopheles atroparvus* et *Anopheles labranchiae*, qui ne sont pas séparables par leurs chromosomes polytènes! Les espèces de ce complexe furent également étudiées par les isoenzymes de la phosphoglucomutase (BULLINI & COLUZZI 1973). Le long du littoral méditerranéen, *Aedes mariaae* apparut, par l'analyse de ces isoenzymes, comme étant composé de 3 espèces jumelles, isolées chacune par un mécanisme précopulatoire (COLUZZI & SABATINI 1968, COLUZZI & BULLINI 1971, COLUZZI *et al.* 1970, 1971a,b,c). Par ces mêmes isoenzymes encore, BULLINI *et al.* (1972a) et BULLINI & COLUZZI (1973) tentèrent de séparer les espèces jumelles du complexe *Culex pipiens* et celles du complexe *Anopheles gambiae*. Les différentes espèces de ce complexe *A. gambiae* ont été ainsi différenciées par COKER (1973), MAHON *et al.* (1976) et MILES (1978 et 1979), qui donna une «clef biochimique» pour les identifier.

Bien que chaque espèce présente un zymogramme caractéristique, de légères variations qualitatives ou quantitatives, stables et constantes, peuvent cependant être mises en évidence entre des populations géographiquement

éloignées d'une même espèce. Ainsi FREYVOGEL *et al.* (1968) et FREYVOGEL & McCLELLAND (1969) purent différencier des *Aedes aegypti* provenant du Cameroun, d'Arabie et d'un élevage à Liverpool; une souche de *Aedes vittatus* italienne et une autre de Rhodésie montrèrent également des différences (qualitatives) entre leurs estérases et (quantitatives) entre leurs phosphatases alcalines. BULLINI *et al.* (1971a, b et 1972b) étudièrent les phosphoglucomutases de 12 souches d'*Anopheles stephensi* provenant d'Iraq, d'Iran, du Pakistan et des Indes: une variabilité significative fut observée. Ces auteurs (BULLINI & COLUZZI 1972 et 1973, BULLINI *et al.* 1970a, b, 1972b et 1973a) étudièrent également la variabilité isoenzymatique des 19 souches de *Aedes aegypti* provenant des 4 continents à régions tropicales.

Étudiant, par électrophorèse sur gel d'amidon, deux écotypes sympatriques de *Aedes aegypti* du Kenya (l'un domestique et l'autre péri-domestique), SCOTT & McCLELLAND (1975) trouvèrent des différences nettes pour certains groupes d'isoenzymes; complétant leur étude par des expériences d'hybridation, ces auteurs conclurent que «what we are calling ecotypes may actually be incipient species, partially isolated by habitat selection».

Les zymogrammes ne sont donc pas seulement un instrument d'appoint pour caractériser une espèce définie mais ils différencient également des sous-espèces et toutes autres formes à statut infra-spécifique.

Aux niveaux supra-spécifiques, les isoenzymes ne manquent non plus d'intérêt: celles-ci étant l'expression directe du patrimoine héréditaire, des regroupements d'espèces, ainsi que des relations phylogéniques et évolutives entre les divers groupes, pourront se dessiner au travers des complexités protéiques, visualisées par les zymogrammes. TREBATUSKI & HAYNES (1969) par exemple trouvèrent que les phosphatases acides et les déshydrogénases maliques étaient identiques chez *Aedes aegypti* et *Ae. mascarensis* du groupe A du sous-genre *Stegomyia* et que les déshydrogénases lactiques étaient identiques chez *Ae. albopictus*, *Ae. pseudoscutellaris* et *Ae. scutellaris* du groupe C de ce même sous-genre. BULLINI *et al.* (1972a), étudiant 102 populations de 35 espèces de moustiques dans 5 genres, observèrent que les Anophelinae ne produisirent qu'une bande pour la phosphoglucomutase, tandis que les Culicinae en produisirent deux.

2. L'intérêt en génétique

Si un grand nombre d'isoenzymes sont codées par des loci monomorphiques indépendants, il en est qui sont codées par des loci polymorphes pouvant être constitués de deux ou plusieurs allèles, codant chacun leur isoenzyme propre. Une espèce peut donc présenter des individus homozygotes pour ce locus particulier, ne manifestant qu'une des isoenzymes, ou des individus hétérozygotes présentant deux isoenzymes, chacune codée par l'un des deux allèles de ce locus. Pour un locus biallélique, l'espèce offrira trois phénotypes zymographiques (pour ce locus): les deux homozygotes et l'unique hétérozygote; pour un locus triallélique, six phénotypes apparaîtront (les trois homozygotes et les trois hétérozygotes possibles); pour un locus quadriallélique, dix phénotypes (les quatre homozygotes et les six hétérozygotes) et ainsi de suite.

BIANCHI (1968b) décrit le premier système gène-enzyme chez un moustique en démontrant le biallélisme d'un locus d'estérase chez *Anopheles stephensi*. BULLINI & COLUZZI (1973) démontrèrent jusqu'à 7 allèles différents à un locus codant les phosphoglucomutases chez *Aedes aegypti*.

Des mutants morphologiques chez les moustiques sont peu fréquents (et alors souvent peu compétitifs) et seul les *Anopheles* offrent des chromosomes polytènes utilisables actuellement en cytogénétique appliquée. C'est pourquoi des variations biochimiques, sous formes d'isoenzymes codées par les allèles d'un même locus (les alloenzymes), présentent un grand intérêt non seulement en génétique formelle mais certainement dans l'étude du comportement reproductif (tel que la possibilité d'insémination multiple). Comme le contrôle génétique d'insectes nuisibles ou dangereux est à l'ordre du jour, ces alloenzymes peuvent être utilisées comme marqueurs génétiques biochimiques dans des expériences de lâcher.

3. L'intérêt dans l'étude de la résistance aux insecticides

L'utilisation intense d'insecticides depuis plusieurs décennies sur toute la surface du globe a provoqué des pressions de sélections aussi bien sur les insectes directement visés que sur leur faune associée ou celle en contact avec les régions agricoles traitées. L'apparition de nombreux résistants aux divers insecticides utilisées a été mise maintes fois en relation avec l'action spécifique d'une enzyme contrôlée génétiquement. BROWN & PERRY (1956) mirent en évidence une DDT-déshydrochlorinase chez deux espèces de *Aedes* et *Musca domestica*, tandis que OPPENOORTH (1959) démontra chez les mouches domestiques, résistantes à différents organophosphorés, l'existence d'allèles codant des estérases pouvant métaboliser ces insecticides. MATSUMARA & BROWN (1963) détectèrent chez des *Culex tarsalis*, résistants aux organophosphorés, une augmentation de l'activité d'une estérase. Plus récemment PASTEUR & SINÈGRE (1975) comparèrent les estérases de souches de *Culex pipiens* résistants au chlorpyrifos, provenant de régions du Midi de la France soumises à des traitements par cet insecticide, aux estérases de souches de *C. pipiens* provenant d'une région avoisinante non traitée et de souches de laboratoire: les *C. pipiens* résistants présentèrent un allèle à fréquence remarquablement élevée, codant une estérase à activité intense, alors que cet allèle était peu fréquent chez les *C. pipiens* sensibles. Il apparaît de ces études que les insectes peuvent posséder spontanément des enzymes capables de détoxifier des produits utilisés contre eux: c'est ainsi que le *Aedes* ont une déshydrochlorinase contre le DDT et que les moustiques possèdent des carboxyestérases contre les organophosphorés. Chez les souches résistantes, ces enzymes existent en quantité plus grande ou ont une activité plus intense, ceci héréditairement. Détecter ces isoenzymes responsables de résistance permettra aux spécialistes chargés de lutter contre des arthropodes dangereux de prendre des mesures adéquates quant au choix et au dosage des insecticides.

4. L'intérêt en parasitologie

Dans l'espoir d'élucider les relations hôte-parasite, FREYVOGEL *et al.* (1968) entreprirent l'étude des isoenzymes d'estérases de plusieurs moustiques, vecteurs ou non de plasmodia.

BIANCHI (1968b) compara les estérases codées par un locus biallélique chez une souche d'*Anopheles stephensi* sensible à l'infestation par *Plasmodium gallinaceum* et chez une autre souche de cette espèce réfractaire à ce parasite. Les larves de la souche présentèrent une isoenzyme différente de celle codée par l'allèle correspondant de la souche réfractaire. Les hybrides hétérozygotes de ces deux souches présentèrent les deux isoenzymes.

TOWNSON (1969b) étudia les estérases de souches de *Aedes aegypti* sensibles ou réfractaires à l'infestation filarienne et de leurs hybrides; seulement; «at this stage no attempt was made to investigate differences between strains».

La capacité d'une espèce d'arthropode de transmettre des maladies varie souvent d'une souche à l'autre. Il est possible que le pouvoir que présentent certaines souches de ne pas laisser envahir par l'agent pathogène soit en rapport avec la présence chez cette souche d'une enzyme particulière. Si cette hypothèse est exacte, l'étude de ces enzymes prendrait une grande importance épidémiologique car elle nous éclairerait sur les phénomènes intimes qui président à l'infection du vecteur.

Considérations sur la signification de l'existence des isoenzymes

BULMER (1971) considère que le polymorphisme enzymatique est incompatible avec la théorie de KIMURA (1968) et de KIMURA & OHTA (1971) sur les isoallèles «neutres» et l'évolution. Cette théorie est également contestée par PASTEUR (1974) qui a développé les arguments expérimentaux et éco-géographiques en faveur du rôle de la sélection. Ces controverses entre les «neutralistes» et les «sélectionnistes» atteignent les sphères philosophiques. Considérant d'une part que tous les auteurs sont d'accord pour admirer le schéma théorique et mathématique de KIMURA, considérant d'autre part que les exemples d'allèles favorisants sont évidents, considérant encore que dans le passé, des controverses mémorables ont abouti à l'acceptation de la validité des deux opinions, chacune ayant son rôle dans des circonstances particulières, il est très probable qu'également ici les deux mécanismes interviennent dans l'apparition et le maintien des isoenzymes. Il est probable que les mutations neutres sont en fait les plus nombreuses et que parfois apparaissent des mutations à effet sélectif certain. Encore faut-il considérer que ces mutations «neutres» auront dans des circonstances spéciales un rôle sélectif, et même que certaines d'entre elles l'aient déjà, mais que nous ne pouvons pas encore nous en rendre compte. Ce polymorphisme permet donc à l'espèce de faire face à des conditions changeantes ou nouvelles du milieu extérieur; plus elle sera polymorphique, plus elle pourra d'ailleurs également élargir son aire. J'irai même jusqu'à dire qu'une espèce doit être polymorphique si elle veut survivre aux variations agressives du milieu extérieur, ayant ainsi «prévu» et étant «parée» contre une agression déterminée qui éliminera une grande partie des individus non-porteurs de cet allèle «protecteur» précis.

Chapitre II

Importance de *Aedes polynesiensis* Marks, 1951, dans la transmission de filarioses et de la dengue

Dans une grande partie du Pacifique, la filariose humaine à *Wuchereria bancrofti* ne présente pas de périodicité nocturne. La microfilaire, en effet, s'y rencontre dans le sang aussi bien de jour que de nuit (THORPE 1896, aux Tonga; LYNCH 1905 et BAHR 1912 aux Fiji; BROCHARD 1910 à Wallis; POLEK in LEBER & VON PROWAZEK 1911 et FULLEBORN 1912 aux Samoa; MCNAUGHTON 1919 aux Ellice; O'CONNOR 1923 et BUXTON 1928 aux Ellice, Tokelau et Samoa; MCKENZIE 1925 et LAMBERT 1926 aux Iles Cook; GAILLARD *et al.* 1949 à Tahiti; MERLET 1950 et MASSAL & LOISON 1953 en Nouvelle-Calédonie). Cette «apériodicité» est en fait une subpériodicité car un sommet de microfilarémie est observé entre 15 et 18 h (EYLES *et al.* 1947, EDGAR *et al.* 1952, ROSEN 1955, nombreuses publications plus récentes).

Les îles et atolls où se rencontre cette forme subpériodique dénommée *pacifica* représentent dans leur ensemble une superficie de plus de 45 000 km² et sont peuplés par environ 1,5 million de personnes.

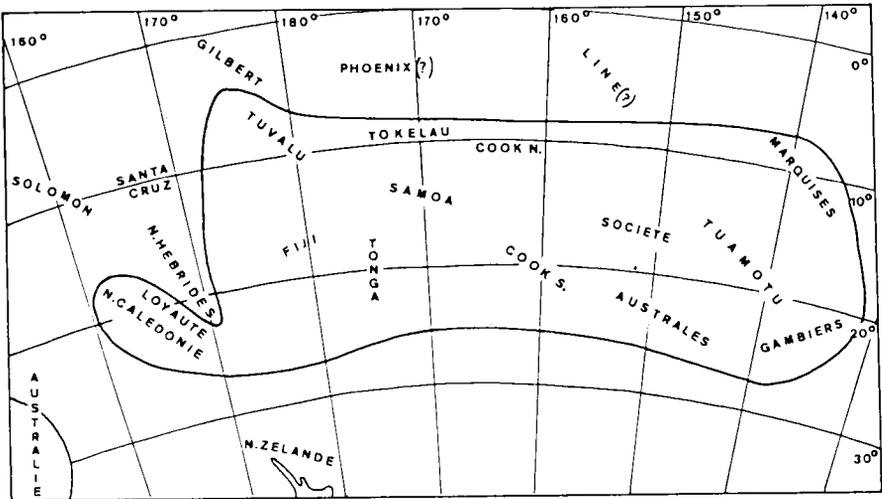


FIG. 6. — Aire de répartition de *Wuchereria bancrofti* à microfilarémie subpériodique diurne.

L'aire de distribution de cette filariose lymphatique humaine à microfilarémie subpériodique diurne englobe la Nouvelle-Calédonie et les îles de la Loyauté, les archipels des Tuvalu (anciennes Ellice), Fiji, Tonga, Samoa, Tokelau, Cook Nord et Sud, Société, Australes, Marquises, Tuamotu et Gambiers ainsi qu'une série d'îles telles que Rotuma, Wallis, Futuna, Niue.

La frontière nord-ouest entre l'aire de la filariose subpériodique et celle de la filariose périodique nocturne suit la ligne de BUXTON (1928) qui sépare les îles de la Loyauté, les Fiji et les Tuvalu des Nouvelles Hébrides, des îles Santa Cruz et des Gilbert (Fig. 6). Dans les îles Phoenix et Line, au nord, la faune parasitaire et culicidienne est encore mal connue.

Si les *Culex* (MANSON 1978) et les *Anopheles* (ANNET *et al.* 1901), vecteurs de *W. bancrofti* à microfilarémie nocturne, manifestent leur activité hématophagique la nuit, les principaux *Aedes* (BAHR 1912), transmettant la filariose subpériodique diurne, piquent au contraire de jour. La concordance entre le rythme d'activité du vecteur et du parasite qu'il transmet est nette (BYRD 1945). Ces *Aedes* sont d'ailleurs de mauvais vecteurs de la filariose périodique nocturne tandis que *Culex fatigans* et *C. annulostris* sont, eux, de piètres vecteurs de la filariose subpériodique (BAHR 1912, O'CONNOR 1923, MCKENZIE 1925, GAILLARD *et al.* 1949, DAVIS 1949, MANSON-BAHR & MUGGLETON 1952, ROSEN 1955, SYMES 1955 et 1960, RAMALINGAM 1968). Il n'y a pas d'*Anopheles* dans les régions où règne *W. bancrofti* subpériodique.

Parmi les *Aedes* vecteurs de *W. bancrofti* subpériodique, plusieurs sont également vecteurs (ROSEN 1954) de *Dirofilaria immitis*, la filaire cosmopolite cardiaque du chien (et du chat). Dans les dissections de moustiques, capturés dans la nature pour des études épidémiologiques sur la filariose humaine, les larves infectantes de *D. immitis* doivent être différenciées de celles de *W. bancrofti*.

Plusieurs de ces *Aedes* sont d'autre part également vecteurs du virus de la dengue (ROSEN *et al.* 1954).

Après plus de 25 ans de lutte contre *Wuchereria bancrofti* var. *pacifica* en Polynésie, cette parasitose est loin d'être éradiquée (LAIGRET *et al.* 1965, MAHONEY & KESSEL 1971, PICHON *et al.* 1974, MERLIN *et al.* 1976). Son endémicité, quoique nettement diminuée dans certaines îles, reste inexorablement stable à un niveau insuffisamment abaissé pour que ce cycle soit interrompu. La prophylaxie consiste essentiellement en des traitements de masse par la diéthylcarbamazine (GAILLARD & MILLE 1949, OTTO & JACHOWSKI 1952, GAILLARD 1957).

Une lutte systématique à grande échelle contre le vecteur principal, *Aedes polynesiensis*, fut préconisée par BAHR (1912), VILLARET (1938), SAPERO & BUTLER (1945) et AMOS (1946). Cette lutte n'a pas encore pu être entreprise, parce que les larves de ce moustique exophile se développent pratiquement partout (BONNET & CHAPMAN 1958): des trous d'arbres aux terriers de crabes, des récipients naturels (noix de coco endommagées par ex.) aux récipients artificiels (qui commencent à submerger certaines îles). De plus, les œufs de *Aedes polynesiensis* résistent bien jusqu'à un mois à la dessiccation dans les gîtes où ils ont été pondus. Cette omniprésence et remarquable adaptation du vecteur n'ont pas encouragé des initiatives d'attaques contre lui. Si l'on émet cependant

l'hypothèse que l'on pourrait éventuellement avoir à faire à un « complexe *Aedes polynesiensis* » au sein duquel des espèces écologiquement séparées auraient un rôle vecteur différent, la détermination de l'écotype vecteur revêt une importance primordiale. En effet, suivant ses caractéristiques bioécologiques, il pourrait être éventuellement possible d'orienter la lutte antivectorielle vers une aire plus précise et plus restreinte.

Les *Aedes*, vecteurs de la filariose subpériodique dans le Pacifique Sud, appartiennent à trois groupes:

Le groupe *Aedes (Stegomyia) scutellaris*

C'est le groupe le plus important et le plus difficile à étudier. Ses différentes espèces, surtout exophiles, à activité diurne, sont malaisément identifiables sur les seuls critères morphologiques; le statut spécifique de certaines formes n'est pas encore clairement établi; ce sont en général des formes assez rares et isolées dans des îles qui ont été peu prospectées. La détermination de certaines espèces de ce groupe nécessite des dissections et le montage des genitalia mâles. Comme quelques-unes de ces espèces sont sympatriques dans certaines îles du Pacifique, où elles ne s'entrecroisent nullement, et que leur rôle dans la transmission de la filariose subpériodique varie, ce groupe *scutellaris* représente une première difficulté pour l'entomologiste sur le terrain, chargé d'établir un programme de

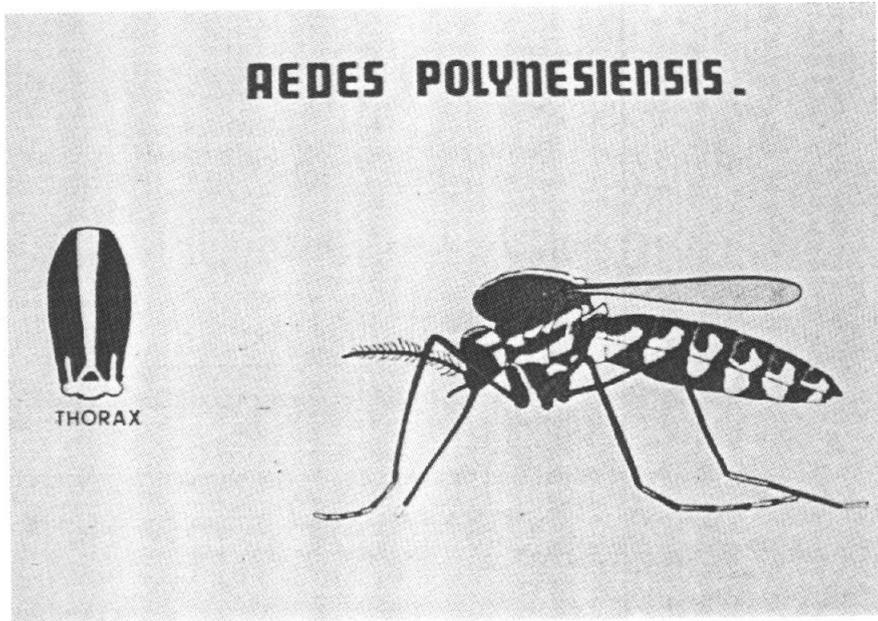


FIG. 7. — Dessin schématique de la femelle *Aedes polynesiensis*: la partie dorsale du thorax porte une bande médiane argentée, caractéristique du groupe *scutellaris*, et le mésopleure des bandes argentées.

lutte antivectorielle. Dans le passé, plusieurs espèces furent d'ailleurs confondues. Dans le présent travail, les taxons dans les références aux anciens auteurs cités ont été automatiquement corrigés selon les opinions actuelles des spécialistes qui sont maintenant unanimes sur les espèces actuellement bien établies.

Les espèces du groupe *scutellaris* se caractérisent par la présence d'une ligne argentée très nette sur le mésonotum (Fig. 7) et par trois lignes argentées horizontales sur les pleures thoraciques. Ce groupe *scutellaris* comprend neuf espèces reconnues et deux formes non encore complètement décrites :

1. *Aedes (Stegomyia) polynesiensis* Marks, 1951: c'est le vecteur (BAHR 1912) le plus important de la filaire lymphatique humaine *Wucheria bancrofti* à microfilarémie subpériodique diurne dans le Pacifique (BAHR 1912, DOANE 1914, O'CONNOR 1922 et 1923, MCKENZIE 1925, BUXTON 1928, BYRD 1945, BYRD *et al.* 1945, AMOS 1946, GAILLARD *et al.* 1949, nombreuses publications plus récentes).

Il transmet également (ROSEN 1954) *Dirofilaria immitis*, la filaire cardio-pulmonaire du chien en du chat. *Aedes polynesiensis* est en plus un vecteur accessoire (DOANE 1914, ROSEN *et al.* 1954) du virus de la dengue.

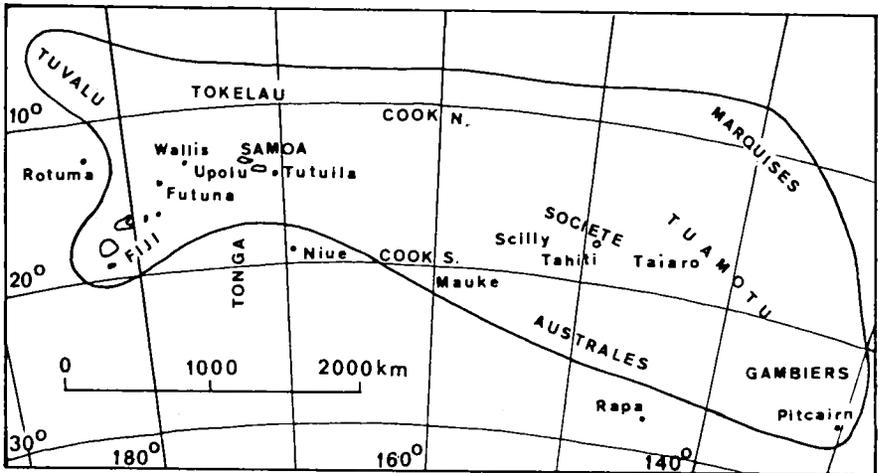


FIG. 8. — Aire de répartition de *Aedes polynesiensis* (d'après BELKIN 1962), avec indications des lieux d'origine des populations analysées dans ce travail.

Son aire de répartition est très étendue (Fig. 8) et comprend de nombreux archipels :

- les Tuvalu (anciennes Ellice), au nord-ouest: *Ae. polynesiensis* y est le seul représentant de groupe *scutellaris*; il y côtoie *Ae. (St.) aegypti*, *Ae. (Aedimorphus) vexans* et trois *Culex* (*C. fatigans*, *C. sitiens* et *C. annulirostris*).
- les Fiji, au sud-ouest: *Ae. polynesiensis* y côtoie d'autres représentants du groupe *scutellaris*: *Ae. tongae*, *Ae. pseudoscutellaris* et *Ae. horrescens*. Sont également présents dans cet archipel: *Ae. aegypti*, *Ae. (Aedimorphus) vexans*,

- Ae. (Ochlerotatus) vigilax*, *Ae. (Levua) suvae*, *Ae. (Finlaya) burnetti*, *Ae. (F.) fijiensis*, *Ae. (F.) freycinetiae*, *Ae. (F.) sp.*, quatre *Culex* (*C. fatigans*, *C. sitiens*, *C. annulirostris* et *C. albinervis*), et sept autres moustiques appartenant aux genres *Uranotaenia* (2 espèces), *Aedeomyia* (1 espèce), *Mansonia* (1 espèce), *Tripteroides* (1 espèce) et *Toxorhynchites* (2 espèces).
- les îles Horn (dont Futuna), à l'ouest: *Ae. polynesiensis* y côtoie *Ae. futunae* du groupe *scutellaris*, *Ae. (Finlaya) oceanicus* et trois *Culex* (*C. fatigans*, *C. sitiens* et *C. annulirostris*); *Ae. aegypti* y est absent.
 - les îles Wallis, à l'ouest: *Ae. polynesiensis* y côtoie *Ae. sp.* forme Wallis du groupe *scutellaris*, *Ae. aegypti*, *Ae. (F.) oceanicus*, *Ae. (A.) vexans* et trois *Culex* (*C. fatigans*, *C. sitiens* et *C. annulirostris*).
 - l'archipel des Samoa (Occidentales et Américaines), au centre-ouest: *Ae. polynesiensis* y côtoie *Ae. upolensis* du groupe *scutellaris*, *Ae. aegypti*, *Ae. (A.) vexans*, *Ae. (F.) oceanicus*, *Ae. (F.) tutuilae*, *Ae. (F.) samoanus*, trois *Culex* (*C. fatigans*, *C. sitiens* et *C. annulirostris*) et deux *Toxorhynchites*.
 - les Tokelau, au nord: seul du groupe *scutellaris*, *Ae. polynesiensis* n'y vit qu'avec *Ae. (A.) vexans*.
 - les Cook Nord, au nord: seul du groupe *scutellaris*, *Ae. polynesiensis* y côtoie *Ae. aegypti*, *Culex fatigans* et *C. annulirostris*.
 - les Cook Sud, au sud: seul du groupe *scutellaris*, *Ae. polynesiensis* y côtoie *Ae. aegypti*, *Ae. vexans*, *C. fatigans* et *C. annulirostris*.
 - les Australes, au sud: seul du groupe *scutellaris*, *Ae. polynesiensis* n'y vit qu'avec *Ae. aegypti* et deux *Culex* (*C. fatigans* et *C. annulirostris*).
 - l'archipel de la Société (dont Tahiti), au centre-est: *Ae. aegypti*, *Ae. (Ochlerotatus) edgari*, deux *Culex* à vaste répartition (*C. fatigans* et *C. annulirostris*) et trois *Culex* endémiques (*C. atriceps*, *C. kesseli* et *C. roseni*).
 - les Tuamotu et les Gambiers, à l'est: seul du groupe *scutellaris*, *Ae. polynesiensis* y côtoie *Ae. aegypti*, *C. fatigans* et *C. annulirostris*.
 - les Marquises, au nord-est: *Ae. polynesiensis* n'y vit qu'avec *C. fatigans* et *C. marquesensis* (endémique à cet archipel).
 - l'île de Pitcairn, au coin sud-est: *Ae. polynesiensis* n'y vit qu'avec *C. fatigans* et *C. annulirostris*. La présence de microfilaire n'y a cependant pas été observée (BEYE *et al.* 1953).

La femelle de *Aedes polynesiensis*, trouvée jusqu'à une altitude de 900 m (LOPDELL 1953), prend ses repas sanguins sur différents vertébrés: cheval, cochon, chien (BUXTON 1928, INGRAM 1954, JACHOWSKI 1954) mais elle est surtout anthropophile: son activité hématophagique se manifeste pendant le jour (de BAHR 1912 à RAKAI *et al.* 1974) avec un pic le matin et un pic en fin d'après-midi (AMOS 1946, OTTO & JACHOWSKI 1952). Elle est le plus souvent exophile et exophage mais peut entrer dans les habitations pour piquer; elle en sort toutefois immédiatement sans s'y reposer (AMOS 1946). Les traitements intradomiciliaires aux insecticides rémanants sont donc inopérants sur les adultes.

Aedes polynesiensis pond dans une grande variété de gîtes (O'CONNOR 1923, AMOS 1946, ROZEBOOM *et al.* 1973): des terriers de crabes et trous de rochers coralliens le long de la côte, contenant de l'eau légèrement saumâtre;

des trous d'arbres, des tiges coupées de bambous, des noix de coco tombées et rongées (surtout par des rats), des spathes au sol, des trous de rochers de lave contenant tous de l'eau de pluie; enfin, des récipients artificiels péri-domestiques qui sont également des gîtes de *Ae. aegypti*. Ces collections d'eau peuvent être temporaires car les œufs embryonnés survivent jusqu'à un mois en anhydrobiose (BUXTON & HOPKINS 1927 et INGRAM 1954).

2. *Aedes (Stegomyia) pseudoscutellaris* (Theobald, 1910): cette espèce, endémique aux Fiji, a été longtemps confondue avec *Aedes polynesiensis* jusqu'à sa description par MARKS (1951), reprise par HUANG (1975). Les deux espèces sont vecteurs de *W. bancrofti* (BAHR 1912, SYMES 1955 et 1960, BURNETT 1960) aux Fiji, mais *Ae. pseudoscutellaris* est dominant à l'intérieur des îles tandis que *Ae. polynesiensis* l'est plus le long des côtes (MATAIKA *et al.* 1970). En laboratoire une interfertilité partielle a été mise en évidence par WOODHILL (1954) et ROZEBOOM & GILFORD (1954), mais de tels hybrides n'ont pas été découverts dans la nature.

3. *Aedes (Stegomyia) horrescens* Edwards, 1935: également endémique aux Fiji, cette espèce anthropophile n'a pas été trouvée infectée par *W. bancrofti* (MANSON-BAHR & MUGGLETON 1952).

4. *Aedes (Stegomyia) upolensis* Marks, 1957: endémique aux Samoa, cette espèce, vecteur de la filariose (RAMALINGAM & BELKIN 1964), y joue cependant un rôle secondaire car sa population est bien moins abondante que celle de *Ae. polynesiensis* (SUZUKI & SONE 1974).

5. *Aedes (Stegomyia) futunae* Belkin, 1962: plus abondant que *Ae. polynesiensis* dans le groupe des îles Horn (comprenant l'île de Futuna), ce moustique fut considéré par BELKIN (1962) comme le vecteur principal de la filariose dans ces îles; mais sa faible anthropophilie contredit cette hypothèse (HITCHCOCK 1978).

6. *Aedes (Stegomyia) rotumae* Belkin, 1962: en dehors et à l'ouest de l'aire de *Ae. polynesiensis* (Fig. 8), ce moustique est le seul à transmettre la filariose (IYENGAR 1965) dans les îles Rotuma, qui furent considérées par THORPE (1896) comme «a hotbed of elephantiasis». Il transmet également le virus de la dengue (RAKAI 1972).

7. *Aedes (Stegomyia) tongae* Edwards, 1926: d'une part en dehors et au sud-ouest de l'aire de *Ae. polynesiensis* et d'autre part à l'intérieur de cette aire, ce moustique, limité aux archipels des Tonga et Fiji, est probablement l'un des vecteurs de la filariose (BUXTON 1928 et FARNER & BOHART 1945): confondu avec *Ae. tabu* et redécrit par HUANG (1972), son pouvoir vectoriel est à confirmer.

8. *Aedes (Stegomyia) tabu* Ramalingam et Belkin, 1965: endémique aux Tonga et confondu au début avec *Aedes tongae*, ce moustique y est le vecteur le plus important de la filariose subpériodique (RAMALINGAM 1968). Il est également vecteur de *Dirofilaria immitis* (HITCHCOCK 1978).

9. *Aedes (Stegomyia) cooki* Belkin, 1962: il transmet la filariose dans la petite île de Niue, en dehors et au sud de l'aire de *Ae. polynesiensis* (IYENGAR 1965);

Ae. cooki a également été observé dans deux îles des Tonga où il fut trouvé infecté par des larves de *W. bancrofti* et *Dirofilaria immitis* (HITCHCOCK 1978). Il y transmet également le virus de la dengue (ROSEN & GUBLER in HITCHCOCK 1978).

10. *Aedes (Stegomyia) sp.* forme Tafahi: endémique à deux autres îles des Tonga, cette forme, non encore complètement décrite, transmet *W. bancrofti* et *D. immitis* (HITCHCOCK 1969) ainsi que le virus de la dengue (ERIC & ROSEN in HITCHCOCK 1978).

11. *Aedes (Stegomyia) sp.* forme Wallis: endémique à l'île Wallis, cette forme est encore à étudier du point de vue systématique et vectoriel.

Le sous-groupe *Aedes (Finlaya) fijiensis*

Il appartient au groupe *kochi* qui est caractérisé par la présence de bandes d'écaillés claires et sombres sur les ailes qui leur donnent un aspect tacheté; les autres *Aedes (Finlaya)* n'ont sur les ailes que des écaillés sombres. Les espèces de ce sous-groupe, souvent endophiles, à activité nocturne, sont des vecteurs secondaires de la filariose subpériodique dans la région polynésienne.

1. *Aedes (Finlaya) fijiensis* Marks, 1947: endémique aux Fiji, son rôle vecteur a été démontré par SYMES (1955 et 1960) et BURNETT (1960), mais il est peu important (IYENGAR 1965) du fait de sa distribution limitée.

2. *Aedes (Finlaya) samoanus* (Grunberg, 1913): endémique aux Samoa, c'est un important vecteur, surtout à l'intérieur des îles (RAMALINGAM & BELKIN 1964). Il peut également transmettre *Diofilaria immitis* (RAMALINGAM 1968).

3. *Aedes (Finlaya) tutuilae* Ramalingam et Belkin, 1965: également endémique aux Samoa, ce moustique peu abondant joue un rôle vecteur encore incertain (RAMALINGAM 1976).

4. *Aedes (Finlaya) oceanicus* Belkin, 1962: ce moustique, parfois confondu avec *Ae. samoanus*, n'a été trouvé infecté par des larves de *W. bancrofti* et *D. immitis* qu'aux Tonga (HITCHCOCK 1971). Il est également présent à Samoa, Futuna et Wallis (RAGEAU 1958 et 1959) où son pouvoir vectoriel est à confirmer car RAMALINGAM (1976) ne l'a pas trouvé infecté hors des Tonga.

5 et 6. *Aedes (Finlaya) burnetti* Belkin, 1962 et *Ae. (F.) freycinetiae* Laird, 1957: endémiques aux Fiji, ces deux moustiques n'ont pas été trouvés infectés par des larves de *W. bancrofti*.

Le sous-genre *Aedes (Ochlerotatus)*

1. *Aedes (Ochlerotatus) vigilax* (Skuse, 1889): très répandu en Océanie, ce moustique exophile, albocrépusculaire, est le principal vecteur de la filariose subpériodique en Nouvelle-Calédonie et aux îles de la Loyauté (IYENGAR 1954, LACOUR & RAGEAU 1957); son rôle vecteur aux Fiji est secondaire.

2. *Aedes (Ochlerotatus) edgari* Stone et Rosen, 1952: endémique de quelques-unes des îles du Vent de l'archipel de la Société (dont Tahiti), ce moustique, peu fréquemment rencontré, nocturne, exophile et occasionnellement anthrophile, est un vecteur potentiel de la filariose subpériodique (STONE & ROSEN 1952 et ROSEN 1955).

Le moustique cosmopolite *Aedes (Stegomyia) aegypti*, introduit dans la plupart des archipels avec la civilisation occidentale (SKATTOWE 1980), ne joue pas de rôle dans la transmission de *W. bancrofti* (MCKENZIE 1925; MANSON-BAHR & MUGGLETON 1952, RAMALINGAM 1968). Comme partout ailleurs où il est présent (BANCROFT 1906, CLELAND *et al.* 1916) il est cependant bien le vecteur principal du virus de la dengue dans le Pacifique (PERRY 1948), pouvant provoquer dans les îles des épidémies hémorragiques. D'autres *Aedes* du groupe *scutellaris*, dont certains cités plus haut, sont également des vecteurs de la dengue (DAGGY, 1944, MACKERRAS 1946) et ils sont même les seuls à transmettre ce virus et à provoquer des épidémies sévères dans des îles où *Ae. aegypti* n'est pas présent.

Il faut noter que *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895), autre vecteur de dengue (SIMMONS *et al.* 1930 et SNIJDERS *et al.* 1931) introduit aux Hawaïi, n'est pas présent dans le Pacifique Sud.

De la liste des moustiques qui précède il apparaît que la plupart d'entre eux sont confinés à un seul archipel, voire à deux ou même une seule île. *Aedes polynesiensis* cependant peuple plusieurs archipels et son rôle vecteur en Polynésie en est d'autant plus important.

Les données entomologiques réunies ci-dessus permettent de tirer les conclusions suivantes:

- Par des isollements géographiques, plusieurs processus de spéciation au sein du groupe *scutellaris* ont eu lieu dans différents archipels polynésiens; ceux-ci ont donné naissance à des espèces si voisines morphologiquement, que certains auteurs n'hésitent pas à parler du «complexe d'espèces *Aedes pseudoscutellaris*»;
- Parmi ces espèces très voisines, certaines sont d'importants vecteurs de *W. bancrofti*, tandis que d'autres le sont moins ou n'ont même jamais été trouvées infectées.
- La plupart des espèces de ce groupe se sont adaptées à des gîtes préférentiels assez précis;
- Au contraire de la plupart des espèces du groupe *scutellaris*, *Aedes polynesiensis* a une très vaste aire de répartition et peuple un grand nombre d'archipels; de plus, ses stades préimaginaux se développent dans une remarquable variété de gîtes;
- La prévalence de la filariose lymphatique humaine varie non seulement d'un archipel à l'autre mais également entre zones écologiques dans une même île (intérieur boisé de l'île, zone côtière, etc.);
- Aussi bien dans la nature qu'en expérience sur filarien volontaire, le pourcentage de *Aedes polynesiensis* infectés ou qui s'infectent est variable.

Se pourrait-il alors que *Aedes polynesiensis* soit en fait un complexe d'espèces jumelles? Ces éventuelles espèces jumelles pourraient être séparées soit géographiquement soit écologiquement soit à la fois géographiquement et écologiquement. Les *Aedes polynesiensis* issus de terriers de crabes de Tahiti, par exemple, pourraient s'être séparés d'une part de ceux issus de trous d'arbres de cette île et d'autre part de ceux issus de terriers de crabes de Samoa ou d'ailleurs. Chacune de ces populations pourraient avoir un pouvoir vecteur différent et jouer ainsi un rôle différent dans l'épidémiologie de la filariose. Pour établir un programme de lutte anti-vectorielle rationnel et efficace, il serait dès lors intéressant de cerner le vecteur principal *Aedes polynesiensis* sur lequel les efforts de contrôle pourraient être concentrés.

C'est pour tenter d'élucider la nature de ce «complexe *Ae. polynesiensis*» que la présente étude a été entreprise.

Nous avons pensé que la meilleure façon d'aborder ce problème était de faire l'analyse isoenzymatique des différentes souches de cette espèce. Les isoenzymes se sont révélées être d'excellents marqueurs génétiques dans plusieurs groupes d'arthropodes et à défaut d'autres marqueurs (par ex. morphologiques ou cytogénétiques) elles peuvent aussi servir à séparer les différents éléments du «complexe *Ae. polynesiensis*» et aider à préciser leurs origines géographique ou écologique.

Par ailleurs ces marqueurs isoenzymatiques peuvent aussi nous renseigner sur les croisements éventuels (croisements «inter-archipel» ou «inter-écologiques») qui ont pu se produire au cours des temps entre ces différentes souches et dont la connaissance est très importante dans l'épidémiologie de la filariose à *W. bancrofti*, transmise par ces moustiques.

Chapitre III

Les isoenzymes de *Aedes polynesiensis* Marks, 1951

Matériel

Les populations de *Aedes polynesiensis* étudiées proviennent des localités suivantes (Fig. 8 et 9).

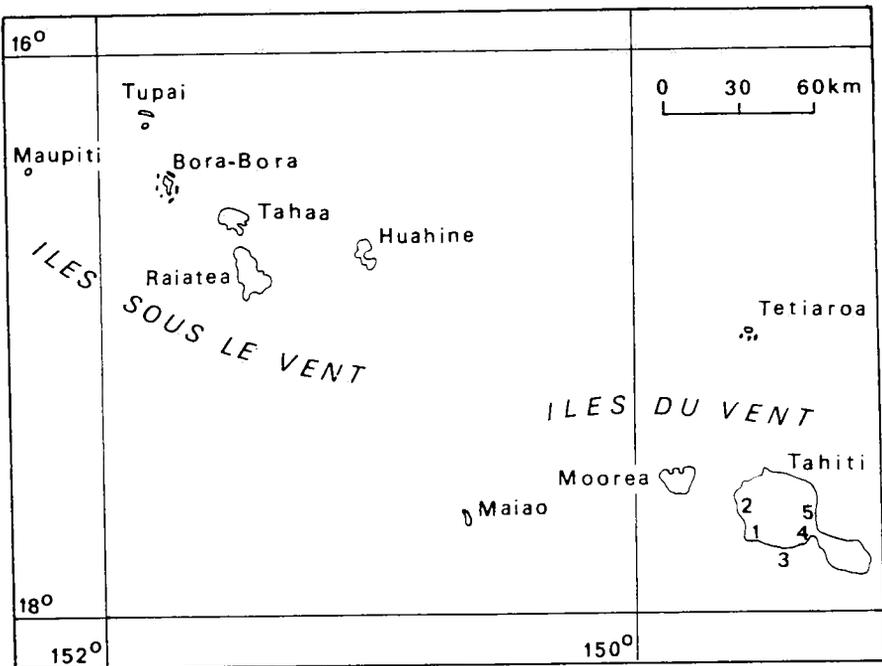


FIG. 9. — Archipel de la Société: îles du Vent et îles sous le Vent. La numérotation sur l'île de Tahiti correspond aux endroits où des captures et récoltes ont été effectuées: 1. Paea; 2. Punaauia; 3. Motu Mapiti; 4. Papeari; 5. Faone.

1. *Pacifique oriental*

a) Archipel de la Société

— Iles du Vent:

Ile de Tahiti: districts de Paea, Punaauia, Papeari, Faaone et le Motu Mapiti (îlot corallien à 500 m du rivage).

Ile de Moorea: district de Haapiti (coin nord-ouest de l'île). Petite île de Maiao.

— Iles sous le Vent:

Ile de Huahine: environs du port de Fare.

Ile de Raiatea: site des «marae» (vestiges culturels).

Ile de Bora-Bora: environs du village de Vaitape.

Petite île de Maupiti.

Atoll isolé de Scilly (Fenua Ura ou Mannuae en Tahitien)

b) Archipel des Îles Cook Sud: île de Mauke.

c) Archipel des Tuamotu: atoll de Taiaro.

2. *Pacifique occidentale*

a) Archipel des Samoa

— Samoa Occidentales: île d'Upolu, district de Sataoa (côte sud).

— Samoa Américaines: île de Tutuila.

b) Iles Wallis et Futuna.

Les populations étudiées de l'Archipel de la Société furent capturées (femelles) dans la nature ou récoltées (nymphe, larves et pontes) dans les gîtes suivants: terriers de crabes (du genre *Cardisoma*), trous d'arbres et de bambous, trous de rochers à flanc de colline, «oroe» (spathes de la fleur de cocotier) au sol, noix de coco rongées et au sol, récipients artificiels péridomestiques. Tous les stades de développement furent analysés à l'insectarium de Paea ou bien élevés dans cet insectarium et leurs descendances étudiées. Antérieurement à ces études sur place, des souches originaires de Paea, en élevage au centre O.R.S.T.O.M. de Bondy (France), furent analysées à l'Institut de Médecine tropicale «Prince Léopold» d'Anvers (Belgique).

Des élevages à l'insectarium de Paea à partir de pontes rapportées de Wallis et de Futuna furent étudiés à cet insectarium.

Aux Samoa Occidentales, des pontes furent obtenues de femelles élevées à partir de larves prélevées dans leurs gîtes: terriers de crabes et trous d'arbres (*Artocarpus incisa*). Ces pontes furent envoyées à Anvers où elles furent mises à éclore: les larves L4, nymphes et imagos qui en émergèrent furent analysés.

Des pontes de femelles d'élevages à l'École de Médecine tropicale de Liverpool (Angleterre), originaires des îles de Tutuila (Samoa américaines) et Mauke (Cook Sud) et de l'atoll de Taiaro (Tuamotu), furent envoyées à Anvers. Les stades de développement qui en émergèrent furent analysés.

Types d'isoenzymes étudiées

1. Estérase (*Est*)

a) *Aedes polynesiensis* provenant d'îles du Vent (Archipel de la Société):

1° Les premières isoenzymes d'estérases de ces moustiques furent d'abord obtenues à partir d'une souche d'élevage originaire d'un trou de rocher de Paea à Tahiti. Des analyses sur place furent ensuite effectuées sur des populations sauvages de cinq endroits à Tahiti et de deux autres îles du Vent, Moorea et Maiao (Fig. 9). Le nombre d'individus analysés (larves, nymphes et imagos) s'élève à 1267. Les zymogrammes d'estérases sont schématisés dans la figure 10. Quatre groupes d'isoenzymes estérasiques furent trouvés, chacun étant apparemment codé par un locus chromosomique différent: numérotons ces loci, selon la convention internationale, de *Est-1* (à migration la plus rapide) à *Est-4* (à migration la plus lente) (Fig. 12a et 15).

Est-1: présent surtout chez les larves, ce groupe est composé de deux isoenzymes que l'on peut décrire (selon leur vitesse relative par rapport au front de migration indiqué par le bleu de bromophénol) *Est-1^{0.89}* et *Est-1^{0.83}* (Fig. 12a et 15). Se colorant tardivement en rouge (hydrolyse préférentielle par ces deux isoenzymes du substrat β -naphtyl-acétate), l'intensité de coloration dépend apparemment du degré de développement de la larve. L'une ou l'autre bande ou les deux peuvent être absentes. L'inconstance qualitative et quantitative dépend très probablement du métabolisme de la larve qui varie selon son état d'évolution par rapport à la mue: des larves jeunes manifestent certaines de leurs fonctions enzymatiques autrement que des larves en prémue. Seules les nymphes jeunes présentent une ou deux de ces bandes, les nymphes préimaginales n'en ayant en général pas. Ces deux isoenzymes n'ont pas été mises en évidence chez les imagos.

Des variations isoenzymatiques d'estérases au cours des divers stades de développement chez des moustiques furent mises en évidence par SIMON (1969) pour *Culex fatigans*, par BRIEGEL & FREYVOGEL (1971) pour *C. fatigans*, *C. pipiens* et *Ae. aegypti*, par COKER (1973) pour *Anopheles gambiae* et *Simulium damnosum*.

Est-2: les deux isoenzymes codées par ce locus nous intéressent tout particulièrement: elles se manifestent de façon constante et nette à tous les stades de développement sous la forme de trois phénotypes (Fig. 10 et 11), l'un présentant les deux bandes (*Est-2^{0.69}* et *Est-2^{0.63}*) et les deux autres présentant l'une (*Est-2^{0.69}*) ou l'autre bande (*Est-2^{0.63}*). Lorsqu'il n'y a qu'une seule bande présente, son intensité de coloration bleue (hydrolyse préférentielle de l' α -naphtyl-acétate) est pratiquement deux fois plus grande que si elle est accompagnée de l'autre bande (Fig. 11). Ces deux isoenzymes sont le plus intensément apparentes chez les nymphes (Fig. 11) mais restent très bien discernables chez les larves L4 et les imagos (Fig. 12a).

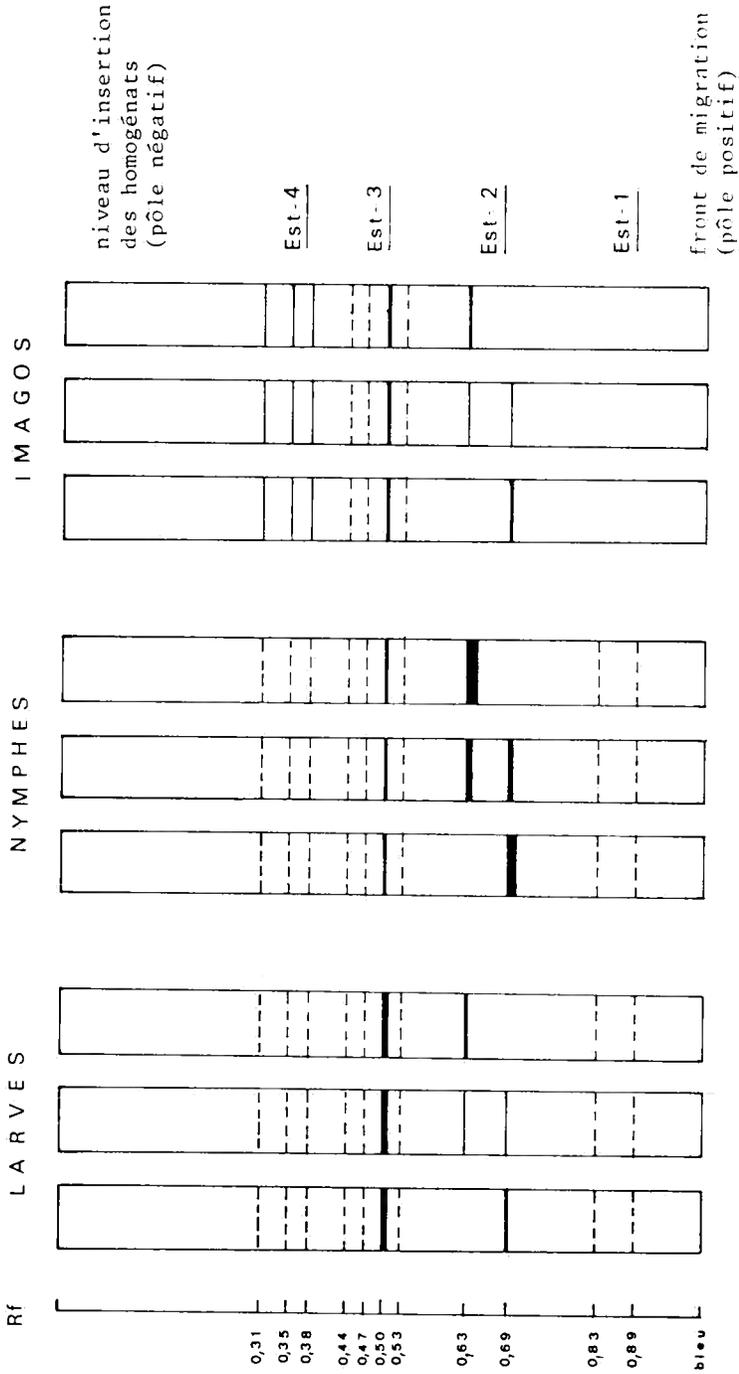


FIG. 10. — Les isoenzymes estérases de *Aedes polynesiensis* d'îles du Vent sont schématisées pour chacun des stades de développement. Notez les 3 phénotypes pour les alloenzymes *Est-2*. Les bandes inconstantes sont en pointillés.

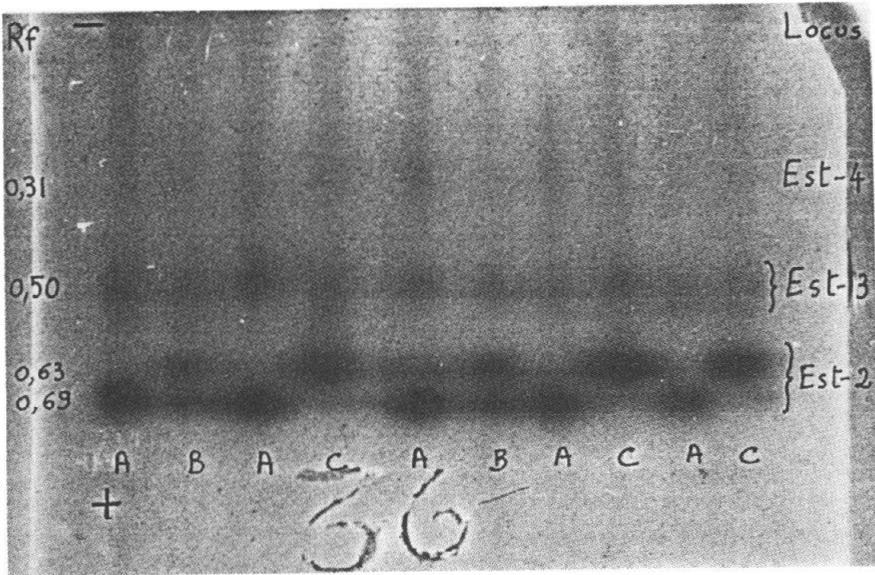


FIG. 11. — *Aedes polynesiensis* d'îles du Vent. Les 3 phénotypes pour le locus *Est-2* sont:
 A : homozygotes *Est-2^{0,69}*;
 B : hétérozygotes *Est-2^{0,69/0,63}*;
 C : homozygotes *Est-2^{0,63}*.

Notez la différence d'intensité de coloration entre une bande homozygote et son homologue chez l'hétérozygote.

Cette photo montre également les trois phénotypes présents chez la descendance des deux parents hétérozygotes *Est-2^{0,69/0,63}*.

Est-3: à ce niveau, un groupe complexe d'isoenzymes est présent à tous les stades de développement; l'une d'elles est pratiquement toujours présente, se situant à mi-chemin entre la fente d'insertion et le front de migration: l'*Est-3^{0,50}* (Fig. 4). Par sa constance, sa netteté, son intensité prononcée de coloration pourpre (hydrolyse aussi bien de l' α -naphtyl-acétate que du β -naphtyl-acétate) et sa rapidité d'apparition (parfois dans la minute qui suit la coloration du gel), cette isoenzyme *Est-3^{0,50}* peut, après doublement de sa distance absolue parcourue sur le gel, servir comme référence au front, remplaçant donc le bleu de bromophénol. Exceptionnellement absente, cette bande *Est-3^{0,50}* est fréquemment accompagnée des isoenzymes *Est-3^{0,47}* ou *Est-3^{0,44}* (Fig. 15) ou *Est-3^{0,53}* (Fig. 20). Plus de précisions sur la complexité de ce groupe d'isoenzymes à ce niveau restent à établir. Cette *Est-3^{0,50}* est la plus intensément colorée chez la larve L4 (Fig. 12a), chez qui elle dépasse en intensité les *Est-2*; cette intensité de coloration est beaucoup moindre chez la nymphe (Fig. 11), chez qui elle est en plus moins prononcée que l'*Est-2*; l'intensité de coloration de l'*Est-3^{0,50}* reprend ensuite chez les imagos, chez qui elle est aussi forte que l'*Est-2* (Fig. 12a).

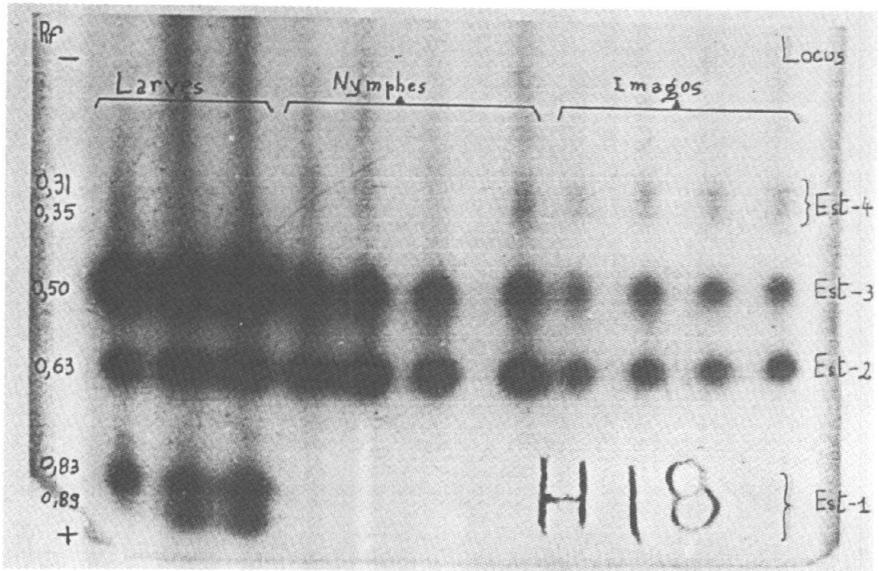


FIG. 12a. — *Aedes polynesiensis* d'îles du Vent: le phénotype $Est-2^{0,63}$ de tous les descendants des deux parents $Est-2^{0,63}$.

Est-4: un groupe de trois isoenzymes ($Est-4^{0,38}$, $Est-4^{0,35}$ et $Est-4^{0,31}$) est présent à ce niveau (Fig. 12a et 21b). Elles se manifestent surtout et presque de façon constante chez les imagos, chez qui elles ne sont jamais présentes toutes les trois à la fois: une ou deux bandes rouges seulement existent chez un individu. Très inconstantes chez les nymphes et larves, ces trois isoenzymes, lorsque présentes sous forme d'une ou deux bandes, apparaissent faiblement et tardivement.

Le locus «*Est-5*», qui code l' $Est-5^{0,31}$, décrit dans une publication antérieure (SILBERSTEIN 1978) chez une souche d'élevage, fait donc en fait partie du locus *Est-4*: ceci est apparu à la lumière des résultats obtenus sur les populations sauvages étudiées sur place.

2° Analyse de la descendance et des parents à partir de couples isolés au stade nymphal.

Dès que des nymphes étroites et des nymphes larges apparaissaient dans les béciers de mise en eau (voir Annexe: «Technique d'élevage»), une de chaque fut pipetée et les deux transvasées dans un petit bécier de 150 cc, placé dans une petite cage cubique de 30 cm de côté. Ils en émergèrent à chaque fois un mâle et une femelle. Après accouplement effectif, le mâle était analysé isoenzymatiquement, tandis que la femelle l'était après prise du repas sanguin et ponte. L'analyse isoenzymatique se concentra sur l'*Est-2* pour voir quelle(s) bande(s) étai(en)t présente(s). Après séchage d'une semaine et mise en eau du pondoir, les descendants étaient analysés à tous les stades de développement, de même que les larves issues d'œufs éclos avant dessiccation.

Les résultats de ces analyses figurent dans le tableau 1; la numérotation de la première colonne est explicitée sous le tableau.

Tableau 1.
Aedes polynesiensis d'îles du Vent (Archipel de la Société):
les phénotypes pour le locus *Est-2* des parents et de leurs descendants.

	Pères	Mères	Œufs pondus	Descendants étudiés	Larves			Nymphes			Imagos			Total		
					0,69	0,69/0,63	0,63	0,69	0,69/0,63	0,63	0,69	0,69/0,63	0,63	0,69	0,69/0,63	0,63
1.	0,69	0,69	11	11	4	—	—	5	—	—	2	—	—	11	—	—
2.	0,69	0,69	31	25	9	—	—	6	—	—	10	—	—	25	—	—
3.	0,63	0,63	43	38	—	—	12	—	—	7	—	—	19	—	—	38
4.	0,63	0,69	50	41	—	13	—	—	11	—	—	17	—	—	41	—
5.	0,63	0,69/0,63	42	39	—	7	5	—	8	5	—	3	11	—	18	21
6.	0,69/0,63	0,69	39	34	4	3	—	3	5	—	9	10	—	16	18	—
7.	0,69/0,63	0,69/0,63	48	46	3	7	3	8	13	7	—	4	1	11	24	11
8.	0,69/0,63	0,69/0,63	66	61	6	9	5	4	7	2	5	13	10	15	29	17

- 1 et 2. Mâle à une seule bande *Est-2^{0,69}* et femelle à une seule bande *Est-2^{0,69}*: tous les descendants montrèrent une seule bande *Est-2^{0,69}*
3. Mâle *Est-2^{0,63}* et femelle *Est-2^{0,63}*: tous les descendants montrèrent une bande *Est-2^{0,63}* (Fig. 12a).
4. Mâle *Est-2^{0,63}* et femelle *Est-2^{0,69}*: tous les descendants montrèrent les deux bandes *Est-2^{0,69}* et *Est-2^{0,63}*.
5. Mâle *Est-2^{0,63}* et femelle *Est-2^{0,69/0,63}*: les descendants furent *Est-2^{0,63}* et *Est-2^{0,69/0,63}* dans les proportions 1:1 (Fig. 12b).
6. Mâle *Est-2^{0,69/0,63}* et femelle *Est-2^{0,69}*: les descendants furent *Est-2^{0,69}* et *Est-2^{0,69/0,63}* dans les proportions 1:1.
- 7 et 8. Mâle et femelle *Est-2^{0,69/0,63}*: les descendants furent *Est-2^{0,69}*, *Est-2^{0,69/0,63}* et *Est-2^{0,63}* (Fig. 11) dans les proportions respectives de 1:2:1.

3° Interprétation du locus *Est-2*.

Les trois phénotypes au locus *Est-2* (l'un à deux bandes, les deux autres à l'une ou l'autre bande) chez *Aedes polynesiensis* d'îles du Vent suggèrent que leur codage génétique s'effectue à partir de trois génotypes dépendant d'un locus biallélique. En effet, WRIGHT (1961 et 1963), à partir d'une telle image à trois phénotypes estérasiques chez *Drosophila melanogaster*, démontra le codage génétique des deux isoenzymes: celles-ci étaient codées par un locus autosomique à deux allèles codominants. Pour la première fois chez un moustique, BIANCHI (1968b) décrit un tel locus biallélique (estérasiq) chez *Anopheles stephensi*. Par la suite, TREBATOSKI & CRAIG (1969) décrivent un tel locus estérasiq chez *Aedes aegypti*, SIMON (1969) et GARNETT & FRENCH (1971) chez *Culex fatigans*.

Les analyses, chez *Aedes polynesiensis* d'îles du Vent, des parents et de leurs descendances (tableau 1) confirment cette hypothèse d'un locus biallélique: les résultats des croisements entre les individus appartenant aux trois phénotypes montrent en effet une disjonction mendélienne des isoenzymes *Est-2^{0,69}* et *Est-2^{0,63}*; ces deux isoenzymes sont donc des alloenzymes codées par un seul

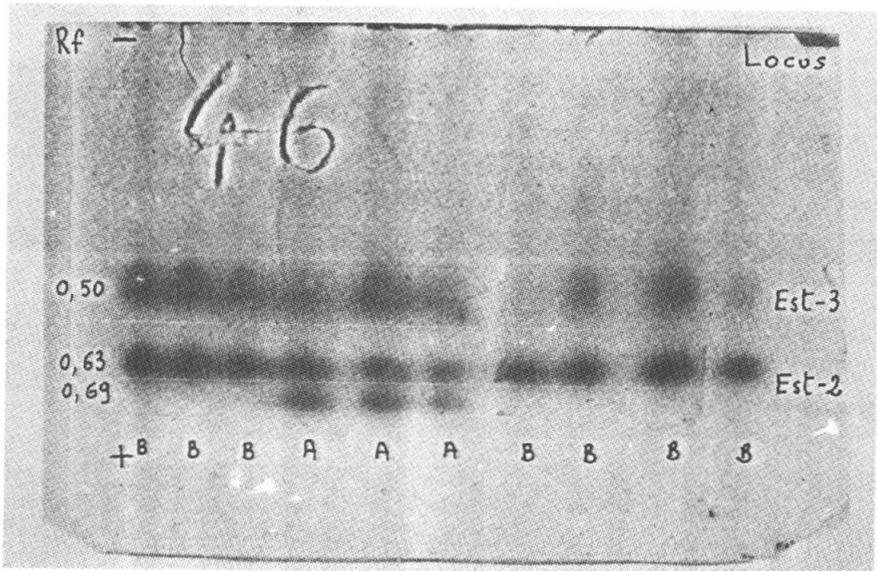


FIG. 12b. — *Aedes polynesiensis* d'Îles du Vent. Les deux phénotypes $Est-2^{0,69/0,63}$ (A) et $Est-2^{0,63}$ (B) des descendants de parents l'un $Est-2^{0,69/0,63}$ et l'autre $Est-2^{0,63}$.

locus (*Est-2*) à deux allèles codominants. Aux trois phénotypes ($Est-2^{0,69}$, $Est-2^{0,63}$ et $Est-2^{0,69/0,63}$) correspondent donc les deux génotypes homozygotes $Est-2^{0,69/0,69}$ et $Est-2^{0,63/0,63}$ et le génotype hétérozygote $Est-2^{0,69/0,63}$.

Cette conclusion est renforcée par la constatation quantitative suivante: l'intensité de coloration de chaque bande chez un homozygote est la même; les deux bandes chez l'hétérozygote ont également la même intensité de coloration mais l'intensité d'une des deux bandes est de moitié moindre que celle de l'unique bande chez un homozygote (Fig. 11). Cette différence est due au fait que chaque alloenzyme chez l'hétérozygote est synthétisée à une dose, tandis que chaque alloenzyme chez un homozygote l'est à double dose. Ce phénomène quantitatif fut décrit par WRIGHT (1963) chez *Drosophila melanogaster*.

Comme les *Aedes polynesiensis* mâles et femelles ne montrent pas de différences (si ce n'est qu'une légère différence quantitative due à la différence de taille entre mâle et femelle), ce locus biallélique *Est-2* peut être considéré comme étant porté par l'un des chromosomes autosomiques.

b) *Aedes polynesiensis* provenant d'îles sous le Vent (Archipel de la Société):

1° Sur les îles de Huahine, Raiatea, Maupiti (Fig. 9) et l'atoll de Scilly (Fig. 8) à 250 km à l'ouest de Maupiti, des pontes et stades préimaginaux de *Aedes polynesiensis* furent récoltés dans différents gîtes et ramenés à Tahiti où ils furent mis en élevage et étudiés. De ces îles sous le Vent, 245 individus furent analysés. Les zymogrammes estérasiques présentèrent les 4 mêmes loci que ceux décrits chez les *Aedes polynesiensis* d'îles du Vent, ainsi que les mêmes aspects pour chaque stade de développement. Le locus *Est-2* cependant montra des

images différentes: au lieu des trois phénotypes présents dans les îles du Vent, six phénotypes, formés par les combinaisons de trois isoenzymes, furent observés (Fig. 13). Trois phénotypes présentèrent une isoenzyme ($Est-2^{0.69}$, $Est-2^{0.63}$ ou $Est-2^{0.60}$) et les trois autres phénotypes deux isoenzymes ($Est-2^{0.69/0.63}$, $Est-2^{0.69/0.60}$ ou $Est-2^{0.63/0.60}$).

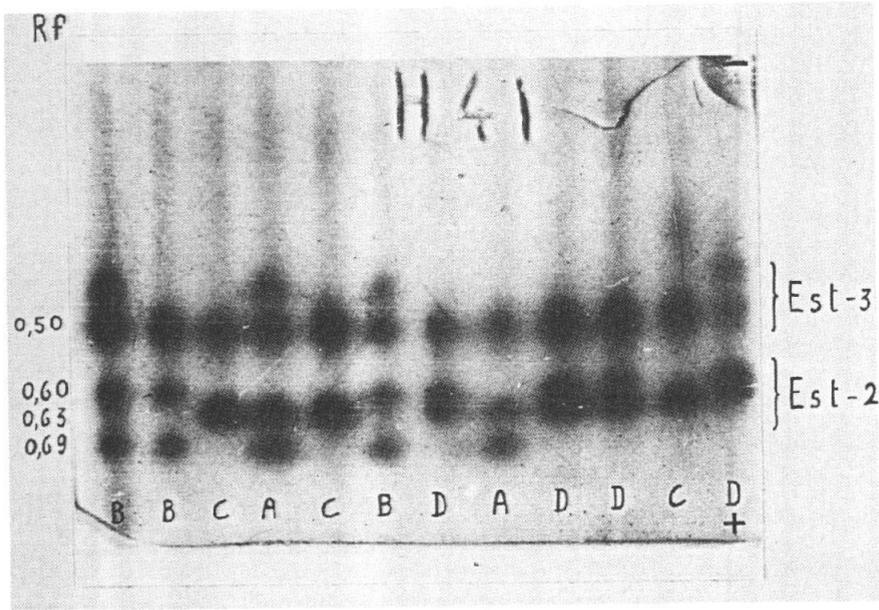


FIG. 13. — *Aedes polynesiensis* d'îles sous le Vent. Les 3 alloenzymes $Est-2^{0.69}$, $Est-2^{0.63}$ et $Est-2^{0.60}$ sont présentes sous la forme de 4 phénotypes (les 3 hétérozygotes et l'un des 3 homozygotes) sur les 6 phénotypes existant aux îles sous le Vent (sauf Bora-Bora).

Cette photo montre également les phénotypes présents chez la descendance des parents dont l'un est $Est-2^{0.69/0.63}$ et l'autre $Est-2^{0.63/0.60}$; ces 4 phénotypes sont en effet les 3 hétérozygotes $Est-2^{0.69/0.63}$ (A sur la photo), $Est-2^{0.69/0.60}$ (B) et $Est-2^{0.63/0.60}$ (D) et l'homozygote $Est-2^{0.63}$ (C).

L'isoenzyme $Est-2^{0.60}$ est donc présente aux îles sous le Vent alors qu'elle n'existe pas aux îles du Vent. De plus lorsqu'elle est absente, il arrive parfois qu'à son niveau se trouve une bande légèrement colorée en rouge, dont l'origine n'a pas été recherchée. En photographie noir et blanc, cette bande rouge gêne l'illustration recherchée (Fig. 18).

A côté des 245 individus analysés cités plus haut, des couples furent également isolés et les études des parents et de leurs descendants entreprises. En plus de croisements entre phénotypes identiques à ceux du tableau 1 avec les mêmes résultats, des croisements entre les trois «nouveaux» phénotypes $Est-2^{0.69/0.60}$, $Est-2^{0.63/0.60}$ et $Est-2^{0.60}$ d'îles sous le Vent furent réalisés. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 2, dont la numérotation de la première colonne est explicitée sous le tableau.

Tableau 2.

Aedes polynesiensis d'îles sous le Vent (Archipel de la Société):
les phénotypes pour le locus Est-2 des parents et de leurs descendance.

	Pères	Mères	Œufs pondus	Descendants étudiés						
					0,69	0,69/0,63	0,69/0,60	0,69	0,69/0,63	0,69/0,60
1.	0,60	0,60	43	29	—	—	—	—	—	29
2.	0,63/0,60	0,63/0,60	103	81	—	—	—	18	50	23
3.	0,63	0,63/0,60	49	34	—	—	—	15	19	—
4.	0,63	0,69/0,60	65	51	—	23	—	—	28	—
5.	0,63/0,60	0,60	48	38	—	—	—	—	22	16
6.	0,69/0,63	0,63/0,60	36	27	—	5	8	8	6	—
7.	0,69/0,63	0,69/0,60	67	65	18	17	19	—	11	—

1. Mâle et femelle *Est-2^{0,60}*, tous les descendants furent *Est-2^{0,60}* (Fig. 14).
2. Mâle et femelle *Est-2^{0,63/0,60}*, les descendants furent *Est-2^{0,63}*, *Est-2^{0,63/0,60}* et *Est-2^{0,60}* dans les proportions respectives de 1:2:1 (Fig. 15).
3. Mâle *Est-2^{0,63}* et femelle *Est-2^{0,63/0,60}*: les descendants furent *Est-2^{0,63}* et *Est-2^{0,63/0,60}* dans les proportions 1:1.
4. Mâle *Est-2^{0,63}* et femelle *Est-2^{0,69/0,60}*: les descendants furent *Est-2^{0,69/0,63}* et *Est-2^{0,63/0,60}* dans les proportions 1:1 (Fig. 16).
5. Mâle *Est-2^{0,63/0,60}* et femelle *Est-2^{0,60}*: les descendants furent *Est-2^{0,63/0,60}* et *Est-2^{0,60}* dans les proportions 1:1 (Fig. 17).
6. Mâle *Est-2^{0,69/0,63}* et femelle *Est-2^{0,63/0,60}*: les descendants furent *Est-2^{0,69/0,63}*, *Est-2^{0,69/0,60}*, *Est-2^{0,63}* et *Est-2^{0,63/0,60}* dans les proportions 1:1:1:1 (Fig. 13).
7. Mâle *Est-2^{0,69/0,63}* et femelle *Est-2^{0,69/0,60}*: les descendants furent *Est-2^{0,69}*, *Est-2^{0,69/0,63}*, *Est-2^{0,69/0,60}* et *Est-2^{0,63/0,60}* dans les proportions 1:1:1:1 (Fig. 18).

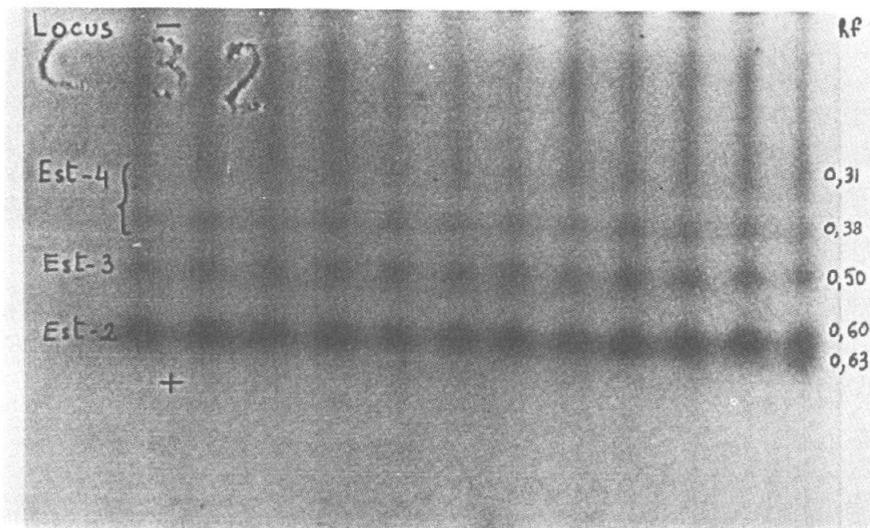


FIG. 14. — *Aedes polynesiensis* d'îles sous le Vent: phénotypes *Est-2^{0,60}* de tous les descendants des deux parents *Est-2^{0,60}*. À l'extrême droite: un témoin *Est-2^{0,63/0,60}*.

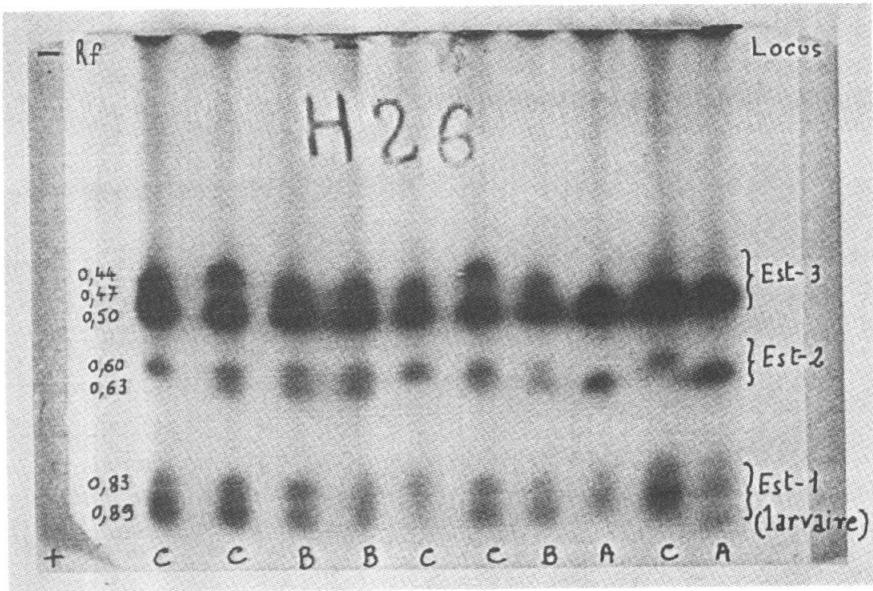


FIG. 15. — *Aedes polynesiensis* d'îles sous le Vent.

Les 3 phénotypes $Est-2^{0.63}$ (A), $Est-2^{0.63/0.60}$ (B) et $Est-2^{0.60}$ (C) des descendants des deux parents $Est-2^{0.63/0.60}$.

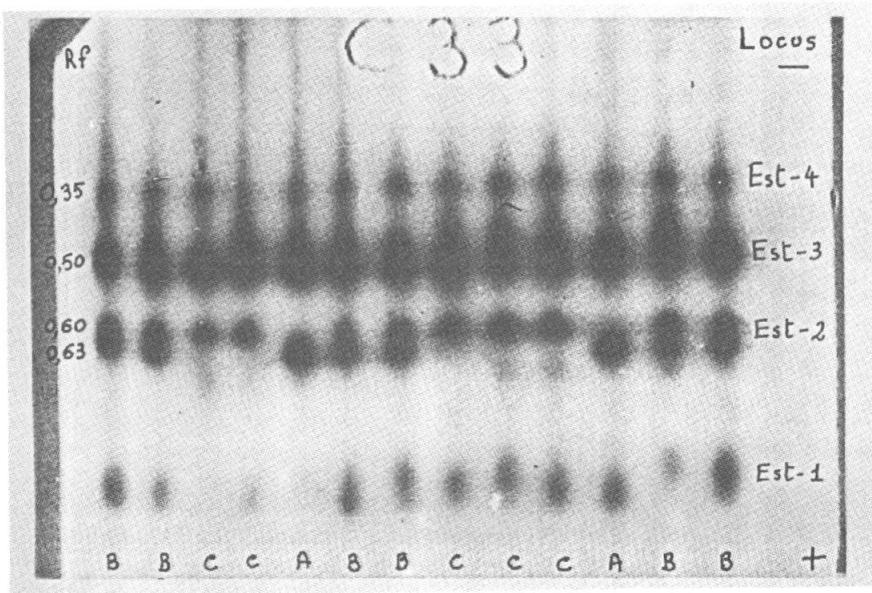


FIG. 15a. — Souches d'élevage de *Aedes polynesiensis* de Futuna, Wallis, Tutuila, Mauke et Taiaro (Mêmes phénotypes A, B et C que pour la figure 15).

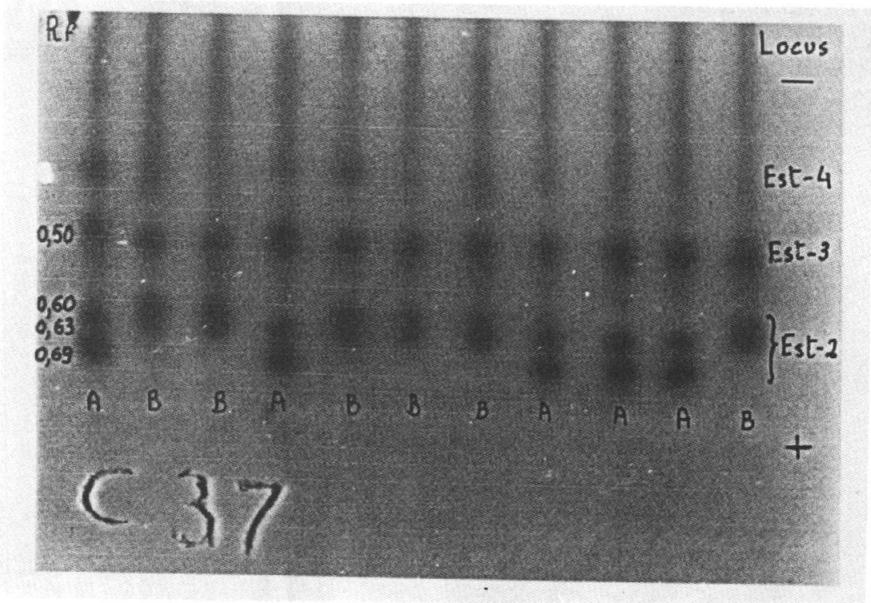


FIG. 16. — *Aedes polynesiensis* d'îles sous le Vent. Les 2 phénotypes $Est-2^{0,69/0,63}$ (A) et $Est-2^{0,63/0,60}$ (B) des descendants des parents, l'un $Est-2^{0,69/0,60}$, l'autre $Est-2^{0,63}$.

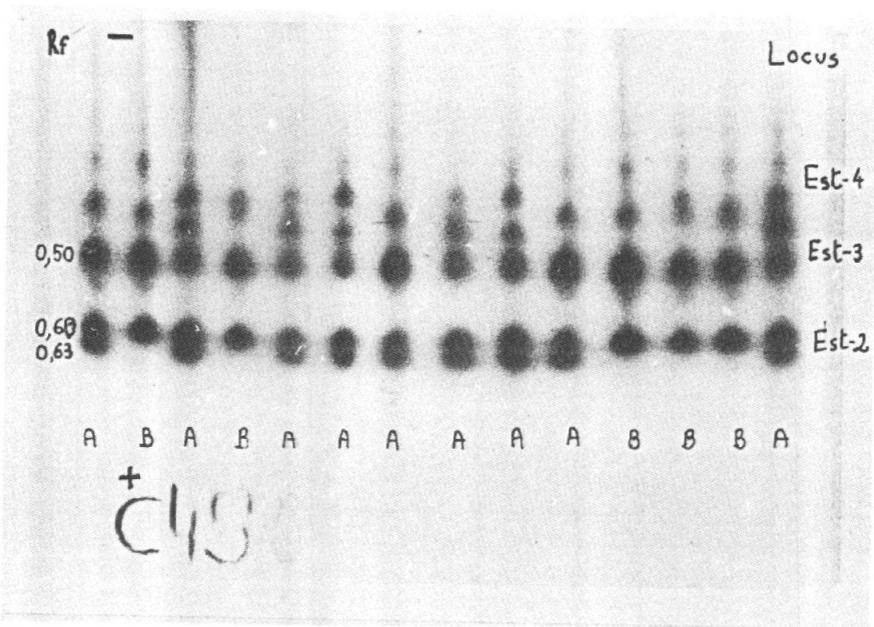


FIG. 17. — *Aedes polynesiensis* d'îles sous le Vent. Les 2 phénotypes $Est-2^{0,63/0,60}$ (A) et $Est-2^{0,60}$ (B) des descendants des parents, l'un $Est-2^{0,63/0,60}$ et l'autre $Est-2^{0,60}$.

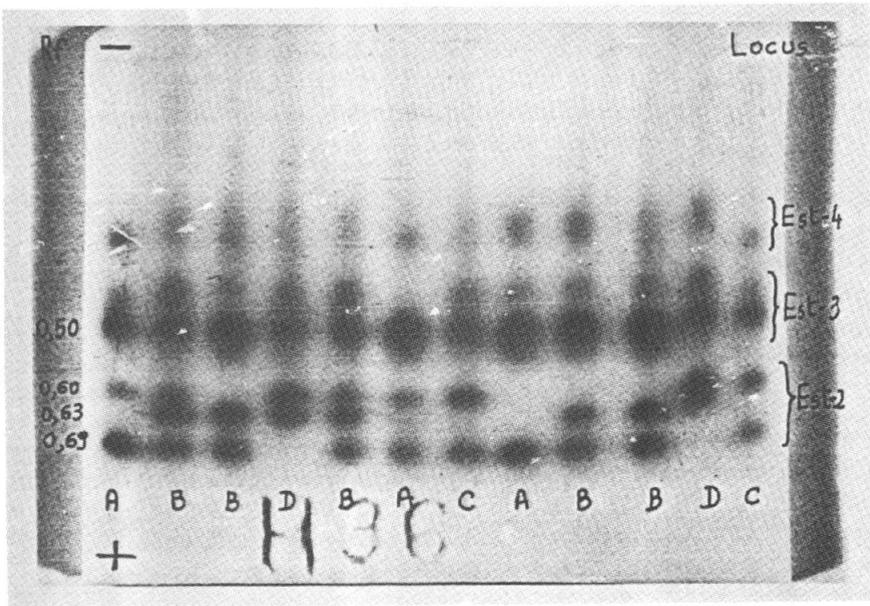


FIG. 18. — *Aedes polynesiensis* d'îles sous le Vent. Les 4 phénotypes $Est-2^{0,69}$ (A), $Est-2^{0,69/0,63}$ (B), $Est-2^{0,69/0,60}$ (C) et $Est-2^{0,63/0,60}$ (D) des descendants de parents, l'un $Est-2^{0,69/0,63}$, l'autre $Est-2^{0,69/0,60}$. Au niveau 0,60 des bandes rouges inconstantes et indépendantes du locus *Est-2* sont visibles et dérangeant ici l'illustration en photographie noir et blanc.

2° Interprétations du locus *Est-2*:

Les six phénotypes au locus *Est-2* (trois phénotypes à une seule bande et trois phénotypes à deux bandes) chez *Aedes polynesiensis* d'îles sous le Vent suggèrent que leur codage génétique s'effectue à partir de six génotypes dépendant d'un locus triallélique. En effet, WRIGHT & MACINTYRE (1963), à partir d'une telle image à six phénotypes estérasiques chez *Drosophila simulans*, démontrèrent le codage génétique des trois isoenzymes: celles-ci étaient codées par un locus autosomique à trois allèles codominants. Chez les Culicidae, un locus triallélique estérasique fut décrit chez *Anopheles punctipennis* par NARANG & KITZMILLER (1971b).

Les analyses, chez *Aedes polynesiensis* d'îles sous le Vent, des parents et de leurs descendances (Tableau 2) confirment cette hypothèse d'un locus triallélique: les résultats des croisements entre les individus appartenant aux six phénotypes montrent en effet une disjonction mendélienne des isoenzymes $Est-2^{0,69}$, $Est-2^{0,63}$ et $Est-2^{0,60}$; ces trois isoenzymes sont des alloenzymes codées par un locus (*Est-2*) à trois allèles codominants. Aux six phénotypes ($Est-2^{0,69}$, $Est-2^{0,69/0,63}$, $Est-2^{0,69/0,60}$, $Est-2^{0,63}$, $Est-2^{0,63/0,60}$ et $Est-2^{0,60}$) correspondent donc six génotypes: les trois homozygotes ($Est-2^{0,69/0,69}$, $Est-2^{0,63/0,63}$ et $Est-2^{0,60/0,60}$) et les trois hétérozygotes ($Est-2^{0,69/0,63}$ et $Est-2^{0,69/0,60}$ et $Est-2^{0,63/0,60}$).

Comme pour les deux isoenzymes codées par le locus *Est-2* (qui est biallélique dans les îles du Vent explorées), les trois isoenzymes codées par ce même locus *Est-2* (qui est donc triallélique dans les îles sous le Vent mentionnées), manifestent leur activité quantitativement selon qu'elles sont synthétisées à double dose chez les homozygotes ou à dose simple chez les hétérozygotes.

c) *Aedes polynesiensis* provenant de l'île de Bora-Bora (îles sous le Vent):

1° À Bora-Bora, l'une des îles sous le Vent, le locus *Est-2* s'est manifesté de façon encore différente. À partir des 122 individus analysés, quatre phénotypes qualitatifs furent obtenus; ce furent les phénotypes *Est-2^{0,69}*, *Est-2^{0,69/0,63}*, *Est-2^{0,63}* et un phénotype ne présentant «rien» au niveau de ce locus *Est-2*: le phénotype *Est-2^{null}* ou *Est-2⁰* (Fig. 19). Aucun individu n'a présenté l'isoenzyme *Est-2^{0,60}*. Quantitativement cependant, certains phénotypes présentèrent au locus *Est-2* une seule bande isoenzymatique à intensité de coloration forte et d'autres phénotypes présentèrent une seule bande à intensité moindre, égale à l'une des deux bandes présentes chez les phénotypes à deux bandes isoenzymatiques. En fait, six phénotypes peuvent ainsi être décelés: *Est-2^{0,69}* à coloration intense, *Est-2^{0,69}* à coloration moyenne, *Est-2^{0,63}* à coloration intense, *Est-2^{0,63}* à coloration moyenne, *Est-2^{0,69/0,63}* et *Est-2⁰*.

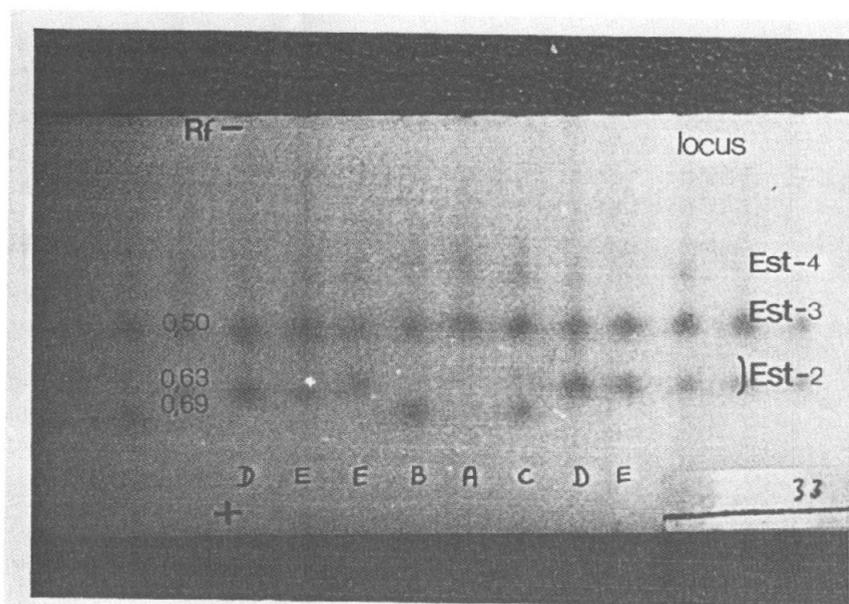


FIG. 19. — *Aedes polynesiensis* de Bora-Bora. Le phénotype *Est-2^{null}* est visible près du milieu de ce gel (A). À gauche le phénotype *Est-2^{0,69}* (B) correspond probablement au génotype homozygote *Est-2^{0,69/0,69}* tandis que celui de droite, *Est-2^{0,69}* (C), moins intensément coloré, à l'hétérozygote *Est-2^{0,69/null}*. La même hypothèse prévaut pour les phénotypes *Est-2^{0,63}* (D et E) qui doivent correspondre aux génotypes *Est-2^{0,63/0,63}* (D) et *Est-2^{0,63/null}* (E). L'hétérozygote *Est-2^{0,69/0,63}* n'est pas visible sur ce gel-ci.

2° Interprétation du locus *Est-2*:

Les six phénotypes au locus *Est-2* chez *Aedes polynesiensis* de Bora-Bora (îles sous le Vent) suggèrent que leur codage génétique s'effectue à partir de six génotypes dépendant d'un locus triallélique dont l'un des trois allèles est un allèle « nul » ou allèle « silencieux ».

Un tel allèle « nul » a été décrit pour la phosphatase alcaline chez *Drosophila melanogaster* par JOHNSON (1966) et pour des estérases chez *D. aldrichi* et *D. mulleri* par JOHNSON *et al.* (1968). Chez les Culicidae, NARANG & KITZMILLER (1971a) décrivent deux loci codant des isoenzymes d'estérases chez *Anopheles punctipennis* présentant chacun un tel allèle nul. TOWNSON (1971 et 1972) décrit pour les estérases de *Aedes aegypti* et DE STORDEUR (1976) pour celles de *Culex pipiens* un locus triallélique dont l'un des allèles était nul.

A partir des résultats obtenus chez *Aedes polynesiensis* de Bora-Bora, l'on peut déduire que les six phénotypes décrits ci-haut (quatre phénotypes seulement si l'on se base sur l'aspect uniquement qualitatif) correspondent à six génotypes :

- le génotype $Est-2^{0.69/0.69}$, homozygote vrai qui détermine le phénotype à une bande $Est-2^{0.69}$ intensément colorée;
- le génotype hétérozygote $Est-2^{0.69/0}$, homozygote apparent car il détermine le phénotype à une bande $Est-2^{0.69}$ moyennement colorée;
- le génotype $Est-2^{0.63/0.63}$, homozygote vrai qui détermine le phénotype à une bande $Est-2^{0.63}$ intensément colorée;
- le génotype hétérozygote $Est-2^{0.63/0}$, homozygote apparent car il détermine le phénotype à une bande $Est-2^{0.63}$ moyennement colorée;
- le génotype hétérozygote $Est-2^{0.69/0.63}$ qui détermine le phénotype $Est-2^{0.69/0.63}$ à deux bandes moyennement colorées;
- le génotype homozygote $Est-2^{0/0}$ qui détermine le phénotype chez lequel aucune bande estérasiqne n'apparaît au niveau du locus *Est-2*.

Le locus *Est-2* des *Aedes polynesiensis* de Bora-Bora peut donc être considéré comme étant triallélique mais différemment triallélique que le locus *Est-2* des *Ae. polynesiensis* des autres îles sous le Vent : l'allèle codant l'isoenzyme $Est-2^{0.60}$ d'îles sous le Vent semble en effet remplacé par un allèle nul à Bora-Bora.

d) *Aedes polynesiensis* provenant de l'île d'Upolu (Samoa Occidentales):

1° Plusieurs centaines de larves et nymphes furent récoltées d'une part dans des terriers de crabes et d'autre part d'un trou d'arbre à pain (*Artocarpus incisa*). Après mise en élevage de ces souches séparément, les premières pontes furent envoyées d'Upolu à Anvers où elles furent mises en eau et leurs descendance étudiées. De ces deux souches des Samoa, 838 individus furent analysés. Également ici, les 4 loci estérasiqnes furent présents mais, au niveau du locus *Est-2*, dix phénotypes apparurent, formés par les combinaisons de quatre isoenzymes (Fig. 20). Quatre phénotypes présentèrent une isoenzyme ($Est-2^{0.69}$, $Est-2^{0.63}$, $Est-2^{0.60}$ et $Est-2^{0.56}$) et six phénotypes présentèrent deux isoenzymes ($Est-2^{0.69/0.63}$, $Est-2^{0.69/0.60}$, $Est-2^{0.69/0.56}$, $Est-2^{0.63/0.60}$, $Est-2^{0.63/0.56}$ et $Est-2^{0.60/0.56}$).

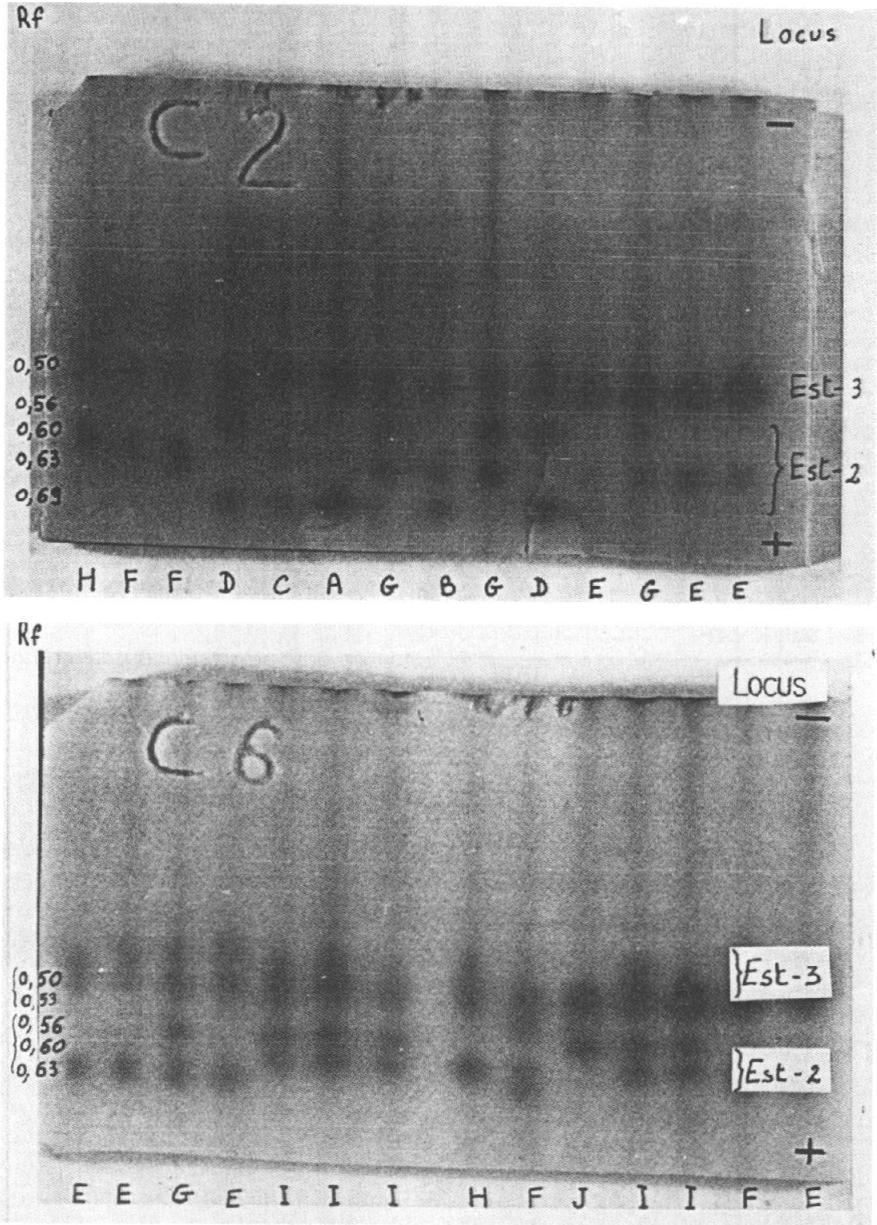


FIG. 20. — *Aedes polynesiensis* d'Upolu (Samoa Occidentales). Les dix phénotypes d'*Est-2* dépendant des 4 alloenzymes *Est-2^{0,69}*, *Est-2^{0,63}*, *Est-2^{0,60}* et *Est-2^{0,56}*:

A : <i>Est-2^{0,69}</i>	E : <i>Est-2^{0,63}</i>	H : <i>Est-2^{0,60}</i>
B : <i>Est-2^{0,69/0,63}</i>	F : <i>Est-2^{0,63/0,60}</i>	I : <i>Est-2^{0,60/0,56}</i>
C : <i>Est-2^{0,69/0,60}</i>	G : <i>Est-2^{0,63/0,56}</i>	J : <i>Est-2^{0,56}</i>
D : <i>Est-2^{0,69/0,56}</i>		

A côté des 838 individus cités ci-haut, des couples furent isolés et les études des parents et de leurs descendance furent entreprises. En plus de croisement entre phénotypes identiques à ceux des tableaux 1 et 2, avec les mêmes résultats, des croisements entre les quatre «nouveaux» phénotypes d'Upolu (*Est-2^{0,69/0,56}*, *Est-2^{0,63/0,56}*, *Est-2^{0,60/0,56}* et *Est-2^{0,56}*) furent réalisés. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 3, dont la numérotation de la première colonne est explicitée sous le tableau.

Tableau 3.
Aedes polynesiensis d'Upolu (Samoa Occidentales):
les phénotypes pour le locus Est-2
des parents et de leurs descendance.

	Pères	Mères	Œufs pondus	Descendants étudiés	0,69	0,69/0,63	0,69/0,60	0,69/0,56	0,63	0,63/0,60	0,63/0,56	0,60	0,60/0,56	0,56
					—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1.	0,56	0,63	46	41	—	—	—	—	—	—	41	—	—	—
2.	0,63/0,56	0,63	60	55	—	—	—	—	30	—	25	—	—	—
3.	0,63/0,56	0,63/0,56	97	83	—	—	—	—	22	—	42	—	—	19

1. Mâle *Est-2^{0,56}* et femelle *Est-2^{0,63}*, tous les descendants furent *Est-2^{0,63/0,56}* (Fig. 21a).
2. Mâle *Est-2^{0,63/0,56}* et femelle *Est-2^{0,63}*, les descendants furent *Est-2^{0,63}* et *Est-2^{0,63/0,56}* dans les proportions 1:1 (Fig. 21b).
3. Mâle et femelle *Est-2^{0,63/0,56}*, les descendants furent *Est-2^{0,63}*, *Est-2^{0,63/0,56}* et *Est-2^{0,56}*, dans les proportions respectives de 1:2:1 (Fig. 22).

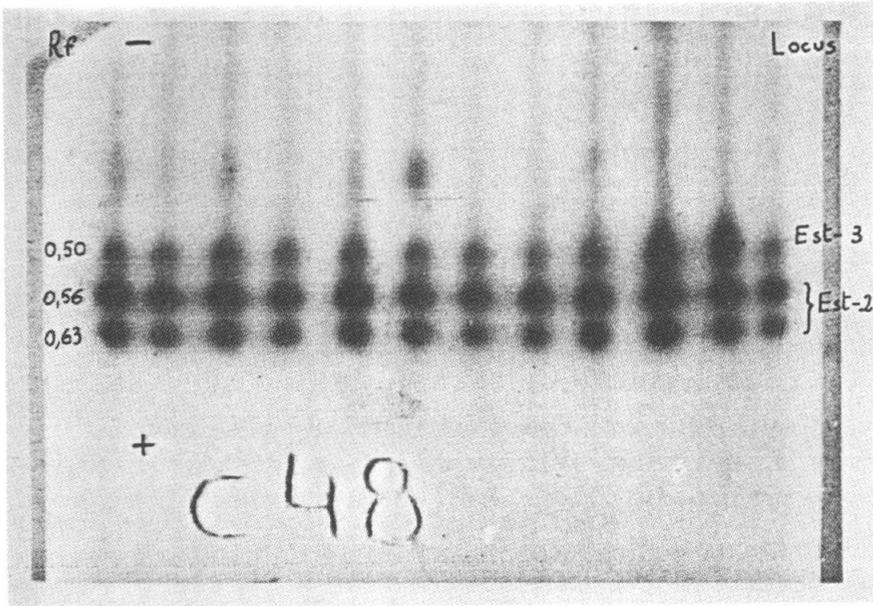


FIG. 21a. — *Aedes polynesiensis* d'Upolu (Samoa Occidentales). Le phénotype *Est-2^{0,63/0,56}* de tous les descendants des parents homozygotes, l'un *Est-2^{0,63}*, l'autre *Est-2^{0,56}*. L'activité plus intense de *Est-2^{0,56}* par rapport à *Est-2^{0,63}* est bien visible.

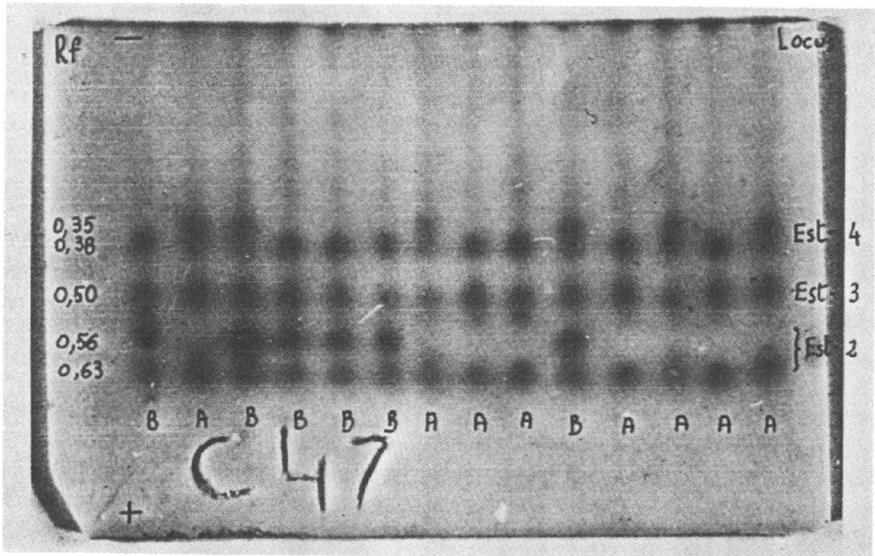
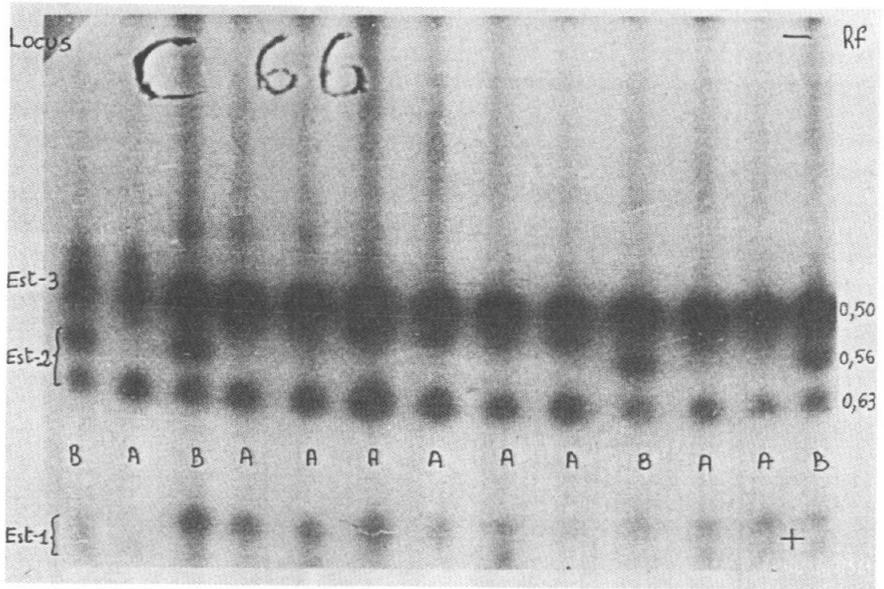


FIG. 21b. — *Aedes polynesiensis* d'Upolu (Samoa Occidentales). Les deux phénotypes $Est-2^{0,63}$ (A) et $Est-2^{0,63/0,56}$ (B) des descendants des parents, l'un $Est-2^{0,63}$, l'autre $Est-2^{0,63/0,56}$. L'activité plus intense de l' $Est-2^{0,56}$ par rapport à l' $Est-2^{0,63}$ est bien visible.

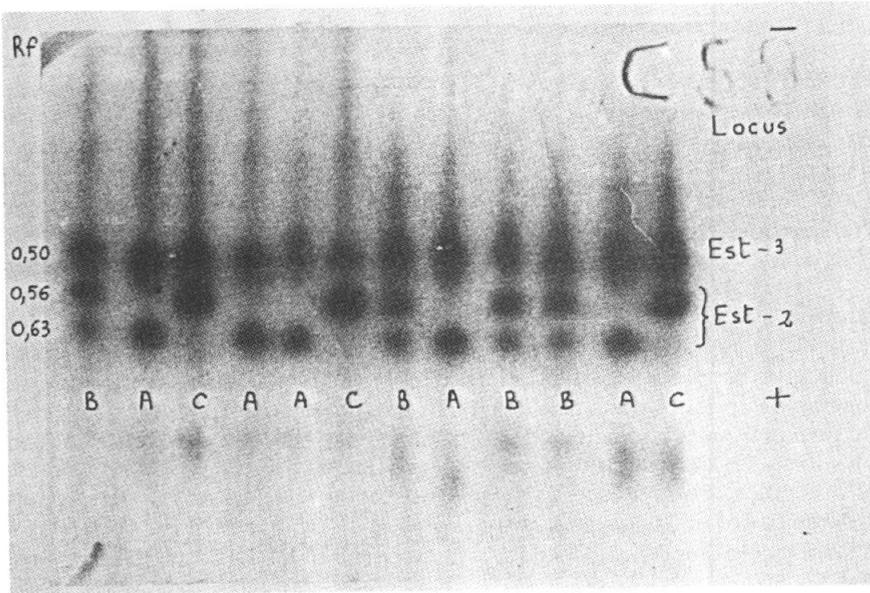


FIG. 22. — *Aedes polynesiensis* d'Upolu (Samoa Occidentales). Les 3 phénotypes $Est-2^{0,63}$ (A), $Est-2^{0,63/0,56}$ (B) et $Est-2^{0,56}$ (C) des descendants des deux parents hétérozygotes $Est-2^{0,63/0,56}$.

2° Interprétation du locus *Est-2*:

Les dix phénotypes au locus *Est-2* (quatre à une bande et six à deux bandes) chez *Aedes polynesiensis* d'Upolu suggèrent que leur codage génétique s'effectue à partir de dix génotypes dépendant d'un locus quadriallélique. En effet, une telle image à dix phénotypes estérasiques fut obtenue par BIANCHI & RINALDI (1970) pour quatre isoenzymes d'estérases chez *Anopheles atroparvus*: celles-ci étaient codées par un locus autosomique à quatre allèles codominants.

Les analyses, chez *Aedes polynesiensis* d'Upolu, des parents et de leurs descendants (Tableau 3) confirment cette hypothèse d'un locus quadriallélique: les résultats des croisements entre les individus appartenant à l'un des dix phénotypes montrent en effet une disjonction mendélienne des isoenzymes $Est-2^{0,69}$, $Est-2^{0,63}$, $Est-2^{0,60}$ et $Est-2^{0,56}$. Ces quatre isoenzymes sont donc des alloenzymes codées par un locus (*Est-2*) à quatre allèles codominants. Aux dix phénotypes correspondent donc dix génotypes: quatre homozygotes ($Est-2^{0,69/0,69}$, $Est-2^{0,63/0,63}$, $Est-2^{0,60/0,60}$ et $Est-2^{0,56/0,56}$) et six hétérozygotes ($Est-2^{0,69/0,63}$, $Est-2^{0,69/0,60}$, $Est-2^{0,69/0,56}$, $Est-2^{0,63/0,60}$, $Est-2^{0,63/0,56}$ et $Est-2^{0,60/0,56}$).

Si, quantitativement, un phénomène similaire à celui décrit pour les isoenzymes $Est-2^{0,69}$, $Est-2^{0,63}$ et $Est-2^{0,60}$ se produit (à savoir: l'unique bande isoenzymatique chez un homozygote présente une intensité de coloration double à l'une des deux bandes chez l'hétérozygote), la coloration de l'isoenzyme $Est-2^{0,56}$ est, chez les larves et nymphes, plus intense que celle des trois autres isoenzymes ($Est-2^{0,69}$, $Est-2^{0,63}$ et $Est-2^{0,60}$). En d'autres termes, l'intensité de

coloration de l'unique bande $Est-2^{0.56}$ chez l'homozygote $Est-2^{0.56/0.56}$ est nettement plus forte que l'unique bande $Est-2^{0.60}$ ou $Est-2^{0.63}$ ou $Est-2^{0.69}$ chez l'un des trois autres homozygotes (Fig. 22); chez les hétérozygotes avec l'allèle $Est-2^{0.56}$, cette bande $Est-2^{0.56}$ est plus intensément colorée que la bande $Est-2^{0.60}$ ou $Est-2^{0.63}$ ou $Est-2^{0.69}$ codée par le second allèle chez un tel hétérozygote (Fig. 21 et 22); sinon, comme pour les autres isoenzymes, la bande $Est-2^{0.56}$ est plus intensément colorée chez l'homozygote $Est-2^{0.56/0.56}$ que chez l'un des trois autres hétérozygotes ($Est-2^{0.69/0.56}$, $Est-2^{0.63/0.56}$ ou $Est-2^{0.60/0.56}$) (Fig. 22).

Cette plus grande intensité de coloration de l' $Est-2^{0.56}$ par rapport aux trois autres isoenzymes signifie que l'activité de l' $Est-2^{0.56}$ est plus grande, chez les larves et nymphes, que l'activité des trois autres isoenzymes; cette activité qualitative accrue se manifeste par une plus grande quantité de substrat métabolisé et donc l'obtention d'une plus grande quantité colorable de produit du métabolisme, donnant ainsi à la bande $Est-2^{0.56}$ une intensité de coloration plus forte. Cette manifestation accrue d'activité peut également être due à une plus grande quantité d'isoenzyme synthétisée par l'allèle $Est-2^{0.56}$ par rapport aux quantités d'isoenzymes synthétisées par les trois autres allèles. Ce phénomène n'empêche cependant pas de conclure que le locus autosomique $Est-2$ chez les *Aedes polynesiensis* d'Upolu est composé de quatre allèles codominants.

- e) *Aedes polynesiensis* d'élevages originaires de Futuna, Wallis, Tutuila (Samoa américaines), Mauke (Cook Sud) et Taiaro (Tuamotu).

1° A l'insectarium de Paea (Tahiti), deux souches de *Aedes polynesiensis*, en élevage depuis plus d'un an à partir de pontes rapportées de Futuna et de Wallis, furent analysées.

A l'insectarium de l'École de Médecine tropicale de Liverpool existent des élevages de *Aedes polynesiensis* provenant de Tutuila (Samoa américaines), Mauke (Cook S.) et Taiaro (Tuamotu). Des pontes de ces trois couches furent envoyées à Anvers où leurs descendance furent analysées.

De ces cinq souches, 485 individus furent analysés. Au niveau du locus $Est-2$ trois phénotypes furent observés: $Est-2^{0.63}$, $Est-2^{0.63/0.60}$ et $Est-2^{0.60}$ (Fig. 15).

2° Interprétation du locus $Est-2$: avec l'aspect quantitatif, décrit plus haut, de coloration d'une bande chez l'homozygote par rapport à son homologue chez l'hétérozygote, il apparaît donc que chez les cinq souches d'élevages, d'origines géographiques très différentes, le locus $Est-2$ est composé de deux allèles codominants $Est-2^{0.63}$ et $Est-2^{0.60}$. Ce bi-allélisme du locus $Est-2$ est cependant différent de celui des *Aedes polynesiensis* d'îles du Vent, où les deux allèles codent les isoenzymes $Est-2^{0.69}$ et $Est-2^{0.63}$.

- f) Tentatives et résultats d'inséminations multiples:

1° A partir des élevages de *Aedes polynesiensis* originaires d'Upolu (Samoa), des femelles vierges furent isolées et mises en cage avec deux mâles néonates.

Les parents et leurs descendance furent analysés. Des résultats intéressants furent obtenus pour quatre familles (Tableau 4):

Tableau 4.

Insémination de chaque femelle Aedes polynesiensis par deux mâles: les phénotypes pour le locus Est-2 des parents et de leurs descendance.

	Les deux pères	Mères	Œufs pondus	Descendants étudiés	0,69	0,69/0,63	0,69/0,60	0,69/0,56	0,63	0,63/0,60	0,63/0,56	0,60	0,60/0,56	0,56
1.	0,69/0,60	0,63	88	73	—	27	—	—	11	35	—	—	—	—
2.	0,63/0,60	0,63	53	28	—	—	—	—	13	7	8	—	—	—
3.	0,69/0,63	0,69	74	71	28	18	25	—	—	—	—	—	—	—
4.	0,69/0,60	0,63/0,60	51	36	—	8	7	—	8	2	—	11	—	—

1. Un mâle fut *Est-2^{0,69/0,60}*, l'autre mâle *Est-2^{0,63/0,60}* et la femelle *Est-2^{0,63}*; la descendance de cette femelle montra les trois phénotypes suivants: *Est-2^{0,69/0,63}*, *Est-2^{0,63}* et *Est-2^{0,63/0,60}* (Fig. 23).
2. Un mâle fut *Est-2^{0,63/0,60}*, l'autre mâle *Est-2^{0,63/0,56}* et la femelle *Est-2^{0,63}*; la descendance de cette femelle montra les trois phénotypes suivants: *Est-2^{0,63}*, *Est-2^{0,63/0,60}* et *Est-2^{0,63/0,56}* (Fig. 24a).
3. Un mâle fut *Est-2^{0,69/0,63}*, l'autre mâle *Est-2^{0,69/0,60}* et la femelle *Est-2^{0,69}*; la descendance de cette femelle montra les trois phénotypes suivants: *Est-2^{0,69}*, *Est-2^{0,69/0,63}* et *Est-2^{0,69/0,60}* (Fig. 24b).
4. Un mâle fut *Est-2^{0,69/0,60}*, l'autre mâle *Est-2^{0,63/0,60}* et la femelle *Est-2^{0,63/0,60}*; la descendance de cette femelle montra les cinq phénotypes suivants: *Est-2^{0,69/0,63}*, *Est-2^{0,69/0,60}*, *Est-2^{0,63}*, *Est-2^{0,63/0,60}* et *Est-2^{0,60}* (Fig. 25).

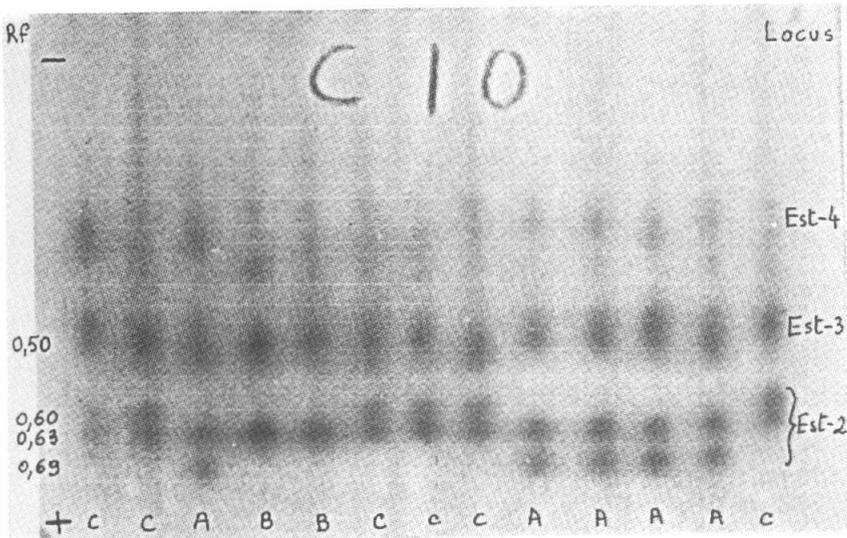


FIG. 23. — Insémination double d'une femelle *Aedes polynesiensis* d'Upolu. Les 3 phénotypes *Est-2^{0,69/0,63}* (A), *Est-2^{0,63}* (B) et *Est-2^{0,63/0,60}* (C) des descendants d'une mère *Est-2^{0,63}* fécondée par 2 mâles, l'un *Est-2^{0,69/0,60}* et l'autre *Est-2^{0,63/0,60}*.

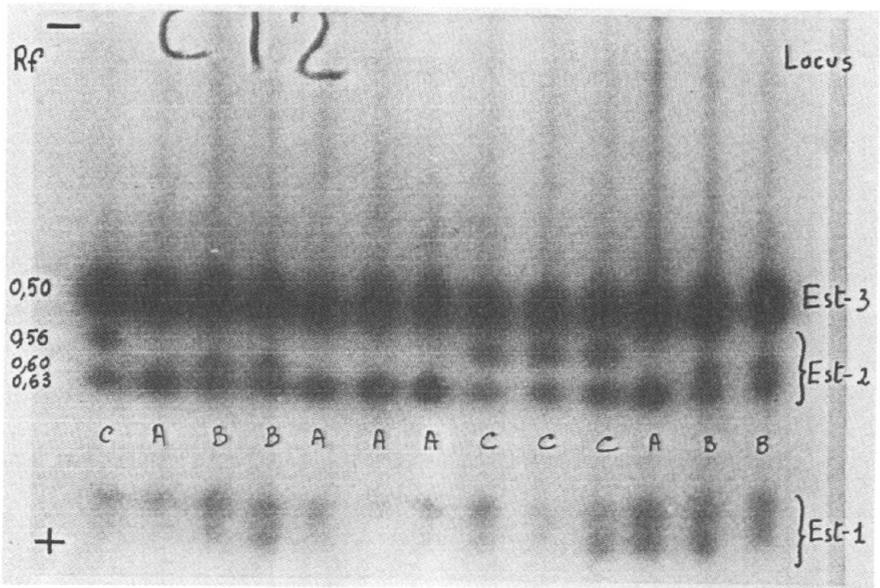
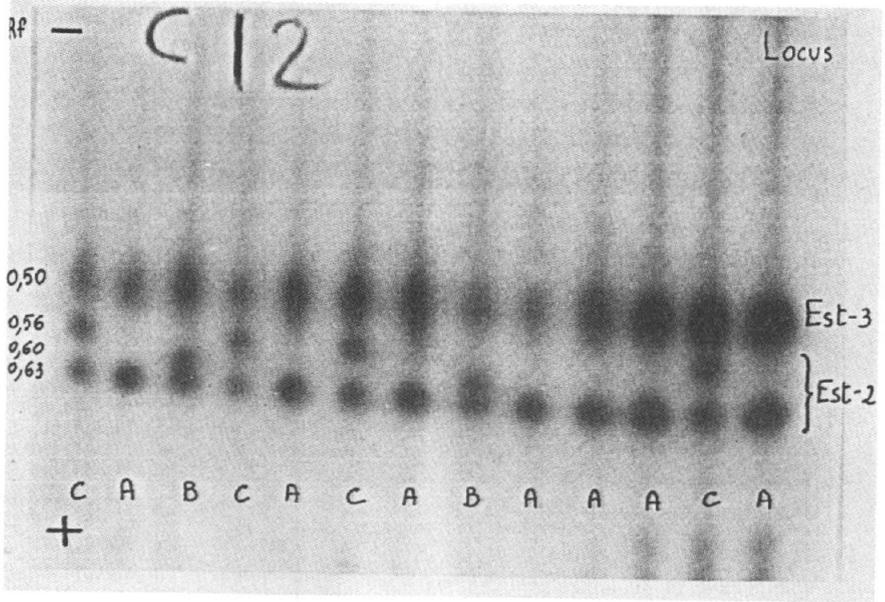


FIG. 24a. — Insémination double d'une femelle *Aedes polynesiensis* d'Upolu. Les 3 phénotypes $Est-2^{0,63}$ (A), $Est-2^{0,63/0,60}$ (B) et $Est-2^{0,63/0,56}$ (C) des descendants d'une mère $Est-2^{0,63}$ fécondée par 2 mâles, l'un $Est-2^{0,63/0,60}$ et l'autre $Est-2^{0,63/0,56}$.

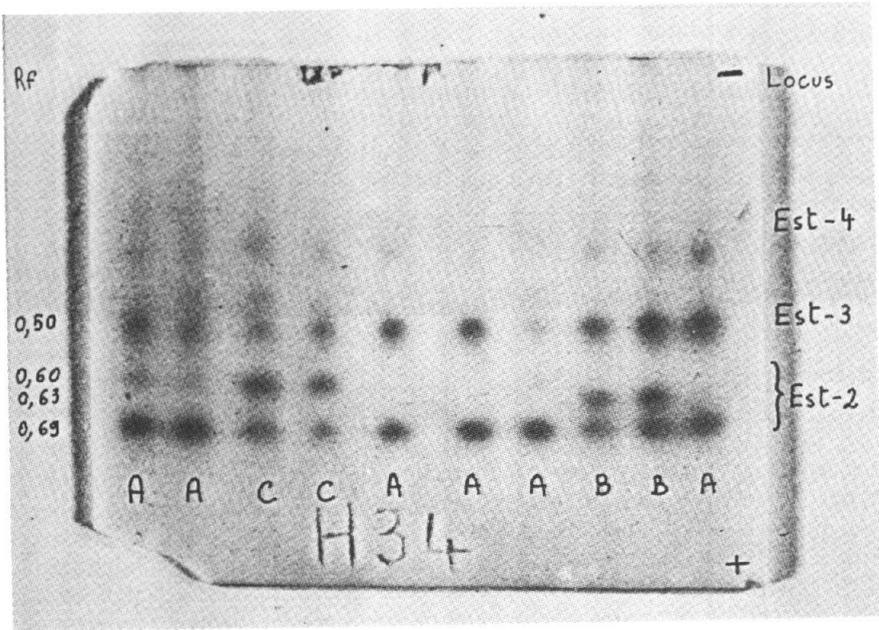


FIG. 24b. — Insémination double d'une femelle *Aedes polynesiensis* d'Upolu. Les 3 phénotypes $Est-2^{0,69}$ (A), $Est-2^{0,69/0,63}$ (B) et $Est-2^{0,69/0,60}$ (C) des descendants d'une mère $Est-2^{0,63}$ fécondée par 2 mâles, l'un $Est-2^{0,69/0,63}$ et l'autre $Est-2^{0,69/0,60}$.

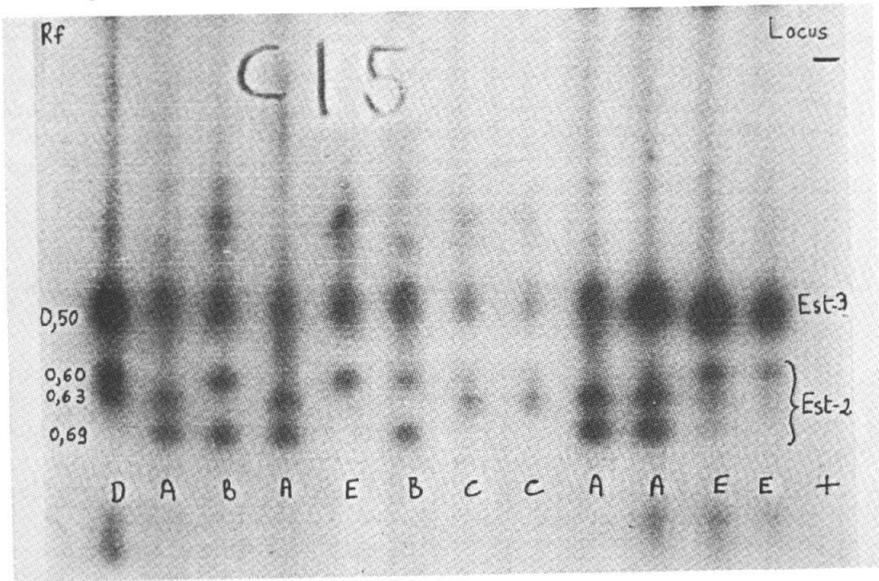


FIG. 25. — Insémination double d'une femelle *Aedes polynesiensis* d'Upolu. Les 5 phénotypes $Est-2^{0,69/0,63}$ (A), $Est-2^{0,69/0,60}$ (B), $Est-2^{0,63}$ (C), $Est-2^{0,63/0,60}$ (D) et $Est-2^{0,60}$ (E) des descendants d'une femelle $Est-2^{0,63/0,60}$ fécondée par deux mâles, l'un $Est-2^{0,69/0,60}$ et l'autre $Est-2^{0,63/0,60}$.

2° Interprétation des résultats du tableau 4:

Puisque la mère de la première famille est homozygote $Est-2^{0,63/0,63}$ et que ses descendants montrent trois phénotypes qui contiennent trois allèles ($Est-2^{0,69}$, $Est-2^{0,60}$ et $Est-2^{0,63}$, ce dernier à l'état homozygote), il est clair que ces trois allèles chez les descendants doivent avoir été hérités à partir de plus d'un seul père: l' $Est-2^{0,69}$ pour former l'hétérozygote $Est-2^{0,69/0,63}$, l' $Est-2^{0,60}$ pour l'hétérozygote $Est-2^{0,63/0,60}$ et l' $Est-2^{0,63}$ pour l'homozygote $Est-2^{0,63/0,63}$.

Le même raisonnement est applicable à la seconde famille: au lieu de l' $Est-2^{0,69}$ de la première famille, c'est l' $Est-2^{0,56}$ qui constitue le troisième allèle apporté par un second père.

Dans la troisième famille, les trois allèles paternels ($Est-2^{0,69}$, $Est-2^{0,63}$ et $Est-2^{0,60}$, comme dans la première famille) sont offerts à la femelle homozygote $Est-2^{0,69/0,69}$ pour former les 3 phénotypes $Est-2^{0,69}$, $Est-2^{0,69/0,63}$ et $Est-2^{0,69/0,60}$.

De la femelle hétérozygote $Est-2^{0,63/0,60}$, dans la quatrième famille, la descendance montra, par les combinaisons de trois isoenzymes, cinq phénotypes, dont deux homozygotes; ici également trois allèles chez les descendants ont dû être hérités d'au moins deux pères: l' $Est-2^{0,69}$ pour former les hétérozygotes $Est-2^{0,69/0,63}$ et $Est-2^{0,69/0,60}$, l' $Est-2^{0,63}$ pour former l'homozygote $Est-2^{0,63/0,63}$ et l' $Est-2^{0,60}$ pour l'homozygote $Est-2^{0,60/0,60}$.

Grâce à des marqueurs génétiques morphologiques, quelques publications font état d'inséminations multiples chez les Culicidae: VAN DE HEY & CRAIG (1958) pour *Aedes aegypti*, FRENCH & KITZMILLER (1962 et 1963) pour *Anopheles quadrimaculatus*, PATTERSON & LOFGREN (1968) pour *Culex fatigans*. GOMA (1963) utilisa le locus responsable de la résistance à la dieldrin pour démontrer l'insémination multiple chez *Anopheles gambiae*. BULLINI *et al.* (1972a et 1976) recherchèrent l'existence d'inséminations multiples chez *Aedes aegypti*, *Culex pipiens* et *Anopheles atroparvus* à l'aide d'analyses isoenzymatiques de la phosphoglucomutase et la démontrèrent ainsi chez *C. pipiens*. Les isoenzymes estérasiqes démontrent dans le présent travail cette insémination multiple chez *Aedes polynesiensis*.

g) Hybridations entre souches écologiquement et géographiquement différentes

Une vingtaine de mâles de la souche de terriers de crabes d'Upolu furent réunis à une vingtaine de femelles vierges de la souche de trous d'arbres de Tahiti. Des descendants fertiles en quantité habituelle furent facilement obtenus sur 4 générations, après quoi l'expérience fut arrêtée.

Des femelles vierges de trous de crabes d'Upolu, réunies avec des mâles de trous d'arbres de Tahiti, donnèrent également 4 générations fertiles.

Cette bonne interfertilité contraste avec certaines constatations de TESFAMICHAËL TESFA-YOHANNES (1973): cet auteur a croisé entre elles trois souches, en élevage depuis plusieurs années, de *Aedes polynesiensis* originaires de Samoa, Tahiti et Taiaro; pour certains croisements le pourcentage d'œufs (pondus en quantité habituelle) qui éclore, fut significativement réduit.

h) Discussion

Les isoenzymes de *Aedes polynesiensis* sont encore peu connues. TREBASTOSKI & HAYNES (1969) ont étudié des isoenzymes d'espèces appartenant au groupe *scutellaris* sans inclure *Ae. polynesiensis*. TOWNSON (1969a) et TOWNSON *et al.* (1977) ont comparé les protéines et isoenzymes de *Ae. polynesiensis* avec celles d'espèces du groupe *scutellaris* et trouvé de nombreuses différences interspécifiques. L'analyse du polymorphisme isoenzymatique de *Ae. polynesiensis* fut abordée par SILBERSTEIN (1978) et SILBERSTEIN *et al.* (1978a, 1978b).

Dans le présent travail, plusieurs loci codant des isoenzymes estérasiques ont été observés. Un de ces loci, l'*Est-2*, présenta une série de phénotypes, qui sont schématisés dans la figure 26. Ces différents phénotypes se répartissent dans les différents archipels de façon bien délimitée (Tableau 5).

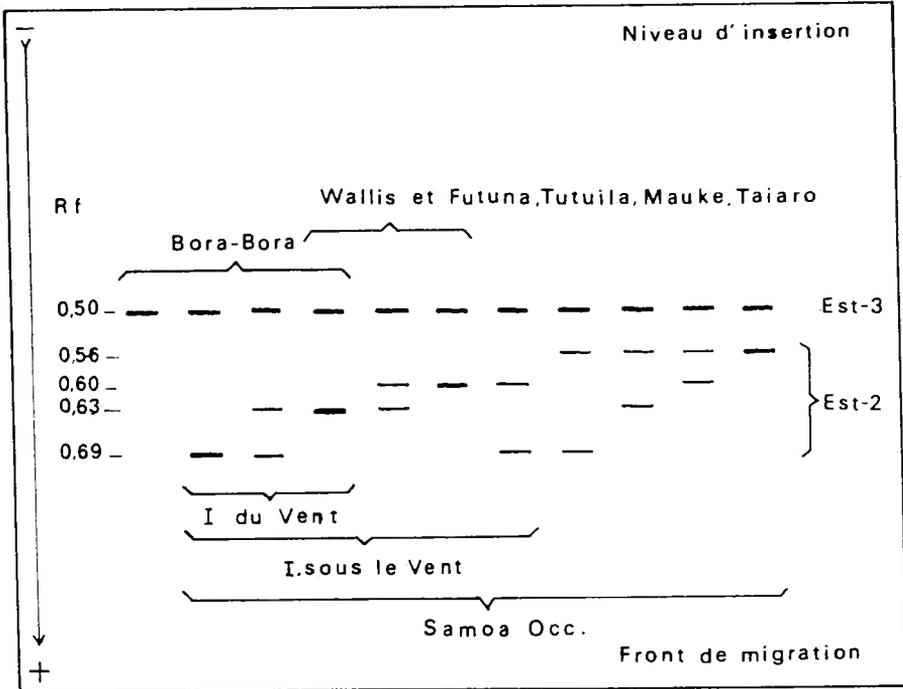


FIG. 26. — Onze phénotypes d'*Est-2* de *Aedes polynesiensis*: 5 homozygotes (pour les 4 alloenzymes et l'allèle nul) et 6 hétérozygotes. Les deux hétérozygotes avec un allèle nul ne sont pas représentés: ils ne présenteraient qu'une seule bande d'intensité égale à celle d'une des deux bandes d'un hétérozygote et non d'intensité plus forte comme celle d'un homozygote vrai. L'isoenzyme quasi constante *Est-3* est également indiquée car elle sert de référence au front de migration. Les autres loci d'*Est* ne sont pas indiqués.

Tableau 5.
La répartition géographique des phénotypes du locus Est-2
de Aedes polynesiensis.

	Nombre d'individus étudiés											
		nul	0,69	0,69/0,63	0,69/0,60	0,69/0,56	0,63	0,63/0,60	0,63/0,56	0,60	0,60/0,56	0,56
1. Îles du Vent	1267	—	326	603	—	—	338	—	—	—	—	—
2. Îles sous le Vent	245	—	43	85	14	—	70	21	—	12	—	—
3. Bora-Bora	122	8	13	22	—	—	79	—	—	—	—	—
4. Upolu (Samoa Occ.)	838	—	32	56	49	16	181	293	45	123	30	13
5. Tutuila (Samoa Am.), Wallis, Futuna, Mauke, Taiaro	485	—	—	—	—	—	123	229	—	133	—	—

A Upolu (Samoa Occidentales), le locus *Est-2* de *Ae. polynesiensis*, issu de trous d'arbres et de terriers de crabes, est quadriallélique (*Est-2^{0,69}*, *Est-2^{0,63}*, *Est-2^{0,60}* et *Est-2^{0,56}*).

A plus de 2000 km à l'est, dans les îles sous le Vent de l'Archipel de la Société, ce locus *Est-2* n'est plus que triallélique (*Est-2^{0,69}*, *Est-2^{0,60}* et *Est-2^{0,56}*): l'alloenzyme *Est-2^{0,56}* à migration la plus lente n'y existe pas.

Une de ces îles cependant, Bora-Bora, montra un mutant présentant un allèle « nul » qui remplace l'allèle codant l'*Est-2^{0,60}*.

À une centaine de kilomètres au sud-est de ce groupe des îles sous le Vent se trouve le groupe des îles du Vent, dont Tahiti, l'île principale de la Polynésie française. Le locus *Est-2* n'y est plus que biallélique (*Est-2^{0,69}* et *Est-2^{0,63}*): ni l'*Est-2^{0,60}* ni l'*Est-2^{nul}* n'ont été observés.

A environ 500 km à l'ouest d'Upolu, le locus *Est-2* de souches d'élevage de *Ae. polynesiensis*, originaires des îles Wallis et Futuna, présenta un biallélisme différent de celui des îles du Vent: au lieu des 2 allèles codant les *Est-2^{0,69}* et *Est-2^{0,63}* l'on y trouva les 2 allèles codant les *Est-2^{0,63}* et *Est-2^{0,60}*.

Les souches d'élevages originaires de Tutuila (Samoa américaines), Mauke (Cook Sud) et Taiaro (Tuamotu) montrèrent le même biallélisme *Est-2^{0,63}* et *Est-2^{0,60}*.

Le type de variation géographique ainsi apparu dans le polymorphisme alloenzymatique du locus *Est-2* de populations sauvages de *Aedes polynesiensis* tend à indiquer que ce moustique, à partir des Samoa, aurait migré vers l'est et « perdu » successivement l'allèle *Est-2^{0,56}* et plus loin l'allèle *Est-2^{0,60}*. Il est intéressant de constater que cet aspect de migration génétique correspond à des théories de migrations avancées par des botanistes, zoologistes et anthropologues dans cette région du globe. Les variations alléliques géographiques, décrites par BULLINI & COLLUZI (1973) chez *Anopheles stephensi* en Asie et chez *Aedes aegypti* dans le monde, ne montrèrent pas une telle précision qualitative et quantitative en ce qui concerne les allèles en question et leur nombre au locus étudié. La variation géographique chez *Aedes polynesiensis* apparaît de plus comme orientée.

Les souches de *Aedes polynesiensis*, originaires de Wallis, Futuna, Tutuila, Mauke et Taiaro, en élevage depuis de nombreuses générations, présentèrent toutes le même biallélisme *Est-2^{0.63}* et *Est-2^{0.60}*. La souche sauvage de terriers de crabes d'Upolu, élevée à Anvers et quadriallélique au début, évolua en une dizaine de générations vers ce même biallélisme. Celui-ci indique deux choses: d'une part la persistance dans ces archipels de l'allèle *Est-2^{0.60}* (qui n'existe plus aux îles du Vent) et d'autre part un effet de sélection de ces 2 allèles par les conditions d'élevage. Ce polymorphisme enzymatique semble donc bien lié à des facteurs adaptatifs répondant à des caractéristiques propres du milieu extérieur: conditions propres à Samoa qui favorise l'allèle *Est-2^{0.56}* (qui disparaît rapidement en laboratoire), conditions dans les laboratoires qui favorisent les allèles *Est-2^{0.60}* et *Est-2^{0.63}*, conditions particulières aux îles du Vent qui favorisent la persistance de l'*Est-2^{0.69}* au détriment de l'*Est-2^{0.60}*.

Par contre, dans un archipel déterminé, aucune différence entre écotypes ne put être mise en évidence. Des croisements entre populations de gîtes écologiquement différents et d'origines géographiques différentes n'indiquèrent aucun isolement copulatoire ni barrière de stérilité.

Enfin, la constatation de fécondations multiples chez les femelles de *Aedes polynesiensis* implique que la lutte génétique par mâles stériles, comme le préconise EYRAUD & QUÉLENNEC (1976), risque fort d'être hypothéquée. Il est cependant possible que ces inséminations multiples soient peu fréquentes dans la nature où les femelles ne sont pas soumises aux conditions de promiscuité inhérentes aux élevages en laboratoire.

2. α -glycérophosphate déshydrogénases (α Gpdh)

a) Matériel

Le matériel est le même que celui analysé pour les estérases et la recherche des isoenzymes de l' α -glycérophosphate déshydrogénase (SILBERSTEIN *et al.* 1978b) a été menée parallèlement à celle qui concernait les isoenzymes des estérases.

b) Résultats

Des 1023 imagos analysés (557 mâles et 466 femelles), 997 montrèrent une seule et même bande indigo, qui migrerait en moyenne à un cinquième de la distance parcourue par le front de migration: cette bande de l' α -glycérophosphate déshydrogénase peut donc être symbolisée par l'expression α Gpdh^{0.20} (Fig. 27). Elle était toujours très nette chez les imagos, un peu moins prononcée chez les mâles (de taille plus petite) que chez les femelles. Les larves L4 montrèrent également cette bande mais de façon très faible, quoique indubitable, contrairement aux résultats obtenus par PASTEUR (1977) chez *Culex pipiens* qui n'exhibe pas cette fonction enzymatique au stade larvaire. L'intensité de coloration de la bande α Gpdh^{0.20}, faible également chez la nymphe jeune, augmentait avec l'âge de la nymphe jusqu'à presque atteindre celle d'un imago lorsque cette nymphe était arrivée au stade de préémergence.

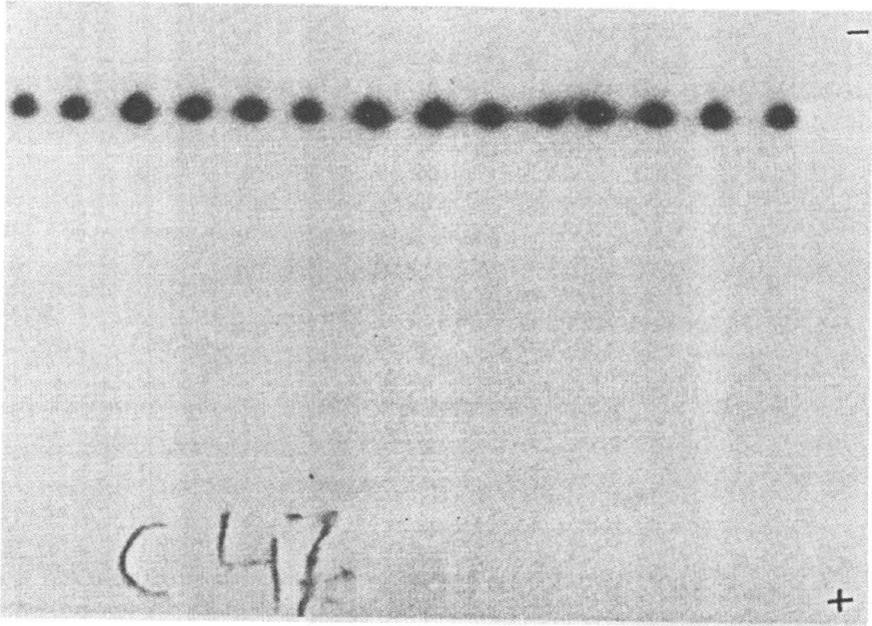


FIG. 27. — L'unique bande $\alpha Gpdh^{0.20}$ présente chez la grande majorité des *Aedes polynesiensis*.

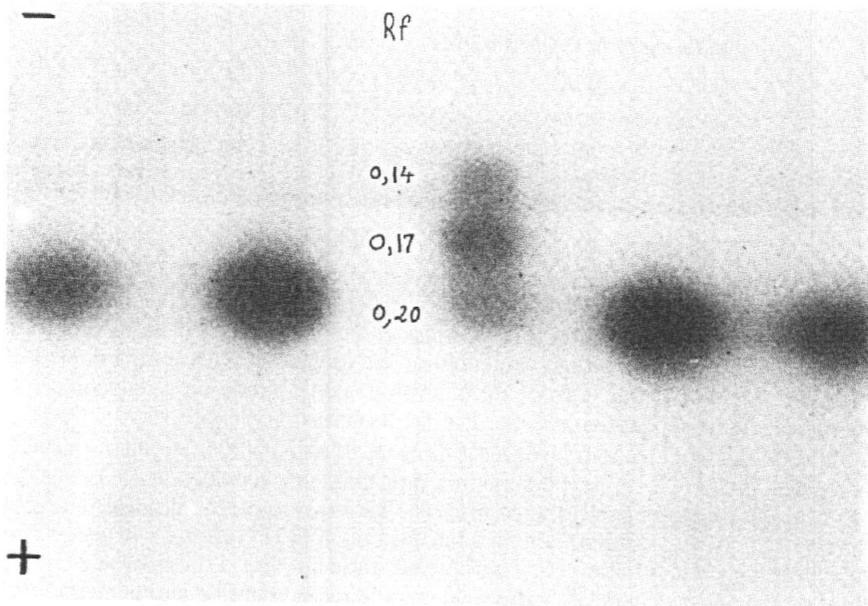


FIG. 28. — Le phénotype $\alpha Gpdh^{0.20/0.17/0.14}$ à 3 bandes dont 2 migrent plus lentement que l' $\alpha Gpdh^{0.20}$.

Vingt-six imagos (15 mâles et 11 femelles) cependant montrèrent 3 bandes (Fig. 28 et 29): l'une se trouvait au niveau $\alpha Gpdh^{0.20}$, les 2 autres bandes migrèrent ou bien un peu plus rapidement (12 mâles et 6 femelles) ou bien un peu plus lentement (3 mâles et 5 femelles). De ces 3 bandes présentes chez un individu, celle du milieu était toujours d'intensité double de celle de l'une des 2 autres bandes et d'intensité réduite de moitié par rapport à l'intensité de la bande unique $\alpha Gpdh^{0.20}$ présente chez la plupart des *Aedes polynesiensis*. Les vitesses relatives de migration de ces bandes isoenzymatiques par rapport au front de migration sont telles que ces isoenzymes peuvent être exprimées comme suit: d'une part les $\alpha Gpdh^{0.26}$ et $\alpha Gpdh^{0.23}$ pour les deux bandes à migration plus rapide que l' $\alpha Gpdh^{0.20}$; d'autre part les $\alpha Gpdh^{0.17}$ et $\alpha Gpdh^{0.14}$ pour les deux bandes à migration plus lente.

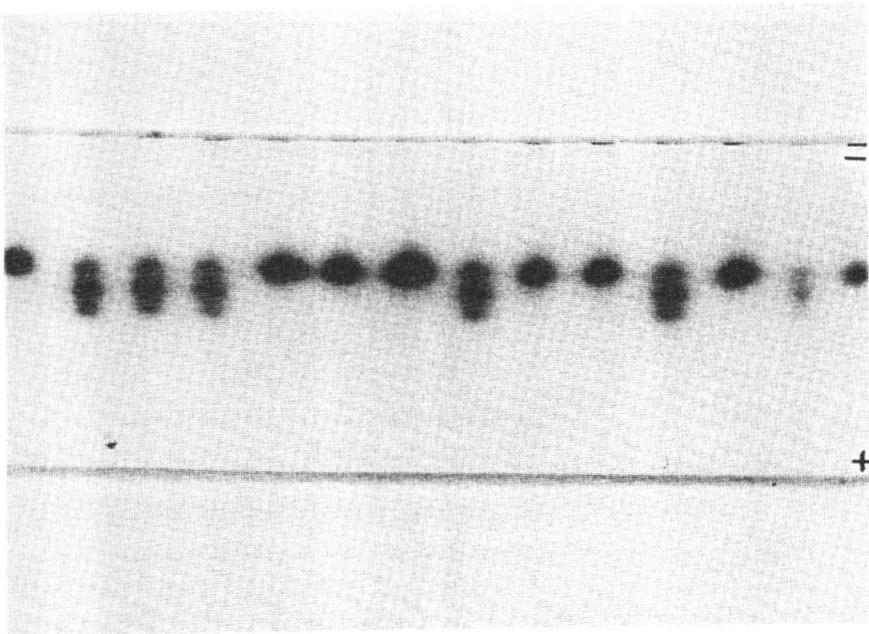


FIG. 29. — Les deux phénotypes $\alpha Gpdh^{0.20}$ (à une bande) et $\alpha Gpdh^{0.26/0.23/0.20}$ (à trois bandes) des descendants issus de parents dont l'un était $\alpha Gpdh^{0.20}$ et l'autre $\alpha Gpdh^{0.26/0.23/0.20}$. Notez chez l'individu à trois bandes l'intensité double de la bande du milieu par rapport à celle au-dessus ou en dessous et de moitié moindre par rapport à l'unique bande chez un individu à une bande.

Les phénotypes à 3 bandes $\alpha Gpdh^{0.20/0.17/0.14}$ ne furent observés qu'à Wallis (2 mâles), Futuna (1 mâle et 4 femelles) et Moorea (1 femelle). Les phénotypes $\alpha Gpdh^{0.26/0.23/0.20}$ furent observés à Samoa (10 mâles et 4 femelles) et à Tahiti (2 mâles et 2 femelles). Ces formes rares émergent de stades préimaginaux récoltés dans des types de gîtes variés (terriers de crabes, trous d'arbres, etc.)

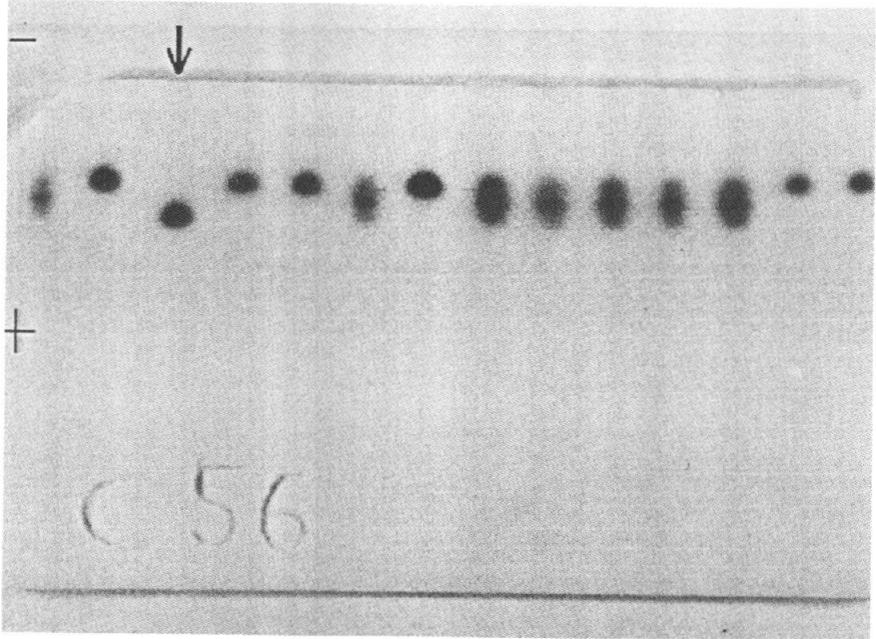


FIG. 30. — Les trois phénotypes α *Gpdh*^{0,26} (à une bande, marqué d'une flèche), α *Gpdh*^{0,20} (à une bande) et α *Gpdh*^{0,26/0,23/0,20} (à trois bandes) des descendants issus des deux parents α *Gpdh*^{0,26/0,23/0,20}.

Tableau 6.
Les phénotypes α *Gpdh*
des descendants de deux couples de *Aedes polynesiensis*.

Phénotypes des parents		Phénotypes des imagos F1 issus des deux pontes individuelles								
Père	Mère	♂			♀			Total		
		0,26	0,26	0,20	0,26	0,26	0,20	0,26	0,26	0,20
			0,23			0,23			0,23	
			0,20			0,20			0,20	
0,26	0,20	—	2	2	—	7	3	—	9	5
0,23	0,26									
0,20	0,23	—	11	10	—	7	10	—	18	20
	0,20									
partie de la F2 du second couple (261 imagos)		7	40	43	5	81	85	12	121	128

Du fait de la rareté des phénotypes à 3 bandes α *Gpdh*, 2 couples seulement ont pu être formés, dont l'un des futurs parents présenta l'unique bande α *Gpdh*^{0.20} et l'autre les 3 bandes α *Gpdh*^{0.26}, α *Gpdh*^{0.23} et α *Gpdh*^{0.20}. Les descendants (F1) issus des pontes de ces 2 couples (Tableau 6) montrèrent une moitié de phénotypes à une seule bande α *Gpdh*^{0.20} et une moitié de phénotypes avec les 3 bandes (Fig. 29). La F2 d'un de ces deux couples montra 3 phénotypes (Tableau 6): le phénotype α *Gpdh*^{0.20}, le phénotype α *Gpdh*^{0.26/0.23/0.20} et le phénotype α *Gpdh*^{0.26} (Fig. 30): ce dernier phénotype n'a pas pu être observé parmi les populations sauvages étudiées.

c) Interprétation

Des résultats obtenus, il apparaît que le seul locus codant les isoenzymes de l' α *Gpdh* chez *Aedes polynesiensis* est triallélique, codominant et autosomal. Pour 2 des 3 allèles, une ségrégation mendélienne a pu être mise en évidence: aux 2 homozygotes α *Gpdh*^{0.26/0.26} et α *Gpdh*^{0.20/0.20} et à l'hétérozygote α *Gpdh*^{0.26/0.20} correspondent les 3 phénotypes α *Gpdh*^{0.26}, α *Gpdh*^{0.20} et α *Gpdh*^{0.26/0.23/0.20}. La présence de la bande intermédiaire α *Gpdh*^{0.23} chez l'hétérozygote indique que la protéine enzymatique α -glycérophosphate dés-hydrogénase est formée de 2 chaînes polypeptidiques (structure dimérique); chez l'homozygote α *Gpdh*^{0.26}, 2 chaînes polypeptidiques identiques sont synthétisées à partir de chacun des deux allèles (Fig. 31); chez l'autre homozygote α *Gpdh*^{0.20}, 2 autres chaînes identiques sont ainsi synthétisées; chez l'hétérozygote, une des chaînes polypeptidiques codée par l'allèle α *Gpdh*^{0.26} se combine avec une des chaînes codée par l'allèle α *Gpdh*^{0.20} pour former l'isoenzyme «hybride» (SCHWARTZ 1960) à position électrophorétique intermédiaire entre les 2 isoenzymes des homozygotes. De telles images ont été observées pour les α *Gpdh* de quelques moustiques, dont *Culex pipiens* (PASTEUR & DE STORDEUR 1976) et *Aedes detritus* (PASTEUR *et al.* 1977).

En ce qui concerne le troisième allèle codant l'isoenzyme α *Gpdh*^{0.14}, l'homozygote α *Gpdh*^{0.14/0.14} n'a pas pu être mis en évidence, ni l'éventuel hétérozygote α *Gpdh*^{0.26/0.14} qui donnerait le phénotype α *Gpdh*^{0.26/0.20/0.14}. Chez *Aedes detritus* de Camargue, le locus des α *Gpdh* a été trouvé quadriallélique par PASTEUR *et al.* (1977) mais ces auteurs n'ont pu mettre en évidence que 5 phénotypes (2 homozygotes et 3 hétérozygotes) sur les 10 possibles; par leurs données quantitatives sur ces α *Gpdh* et y ajoutant leurs résultats des analyses des isoenzymes des glutamate-oxaloacétate transaminases, ces auteurs conclurent à l'existence de deux populations sympatriques sexuellement isolées. C'est dans le but de découvrir un phénomène similaire que des études isoenzymatiques de diverses populations de *Aedes polynesiensis* sont entreprises dans ce travail.

3. Glutamate-oxaloacétate transaminases (*Got*)

Le matériel est le même que celui analysé pour la recherche des deux fonctions isoenzymatiques précédentes.

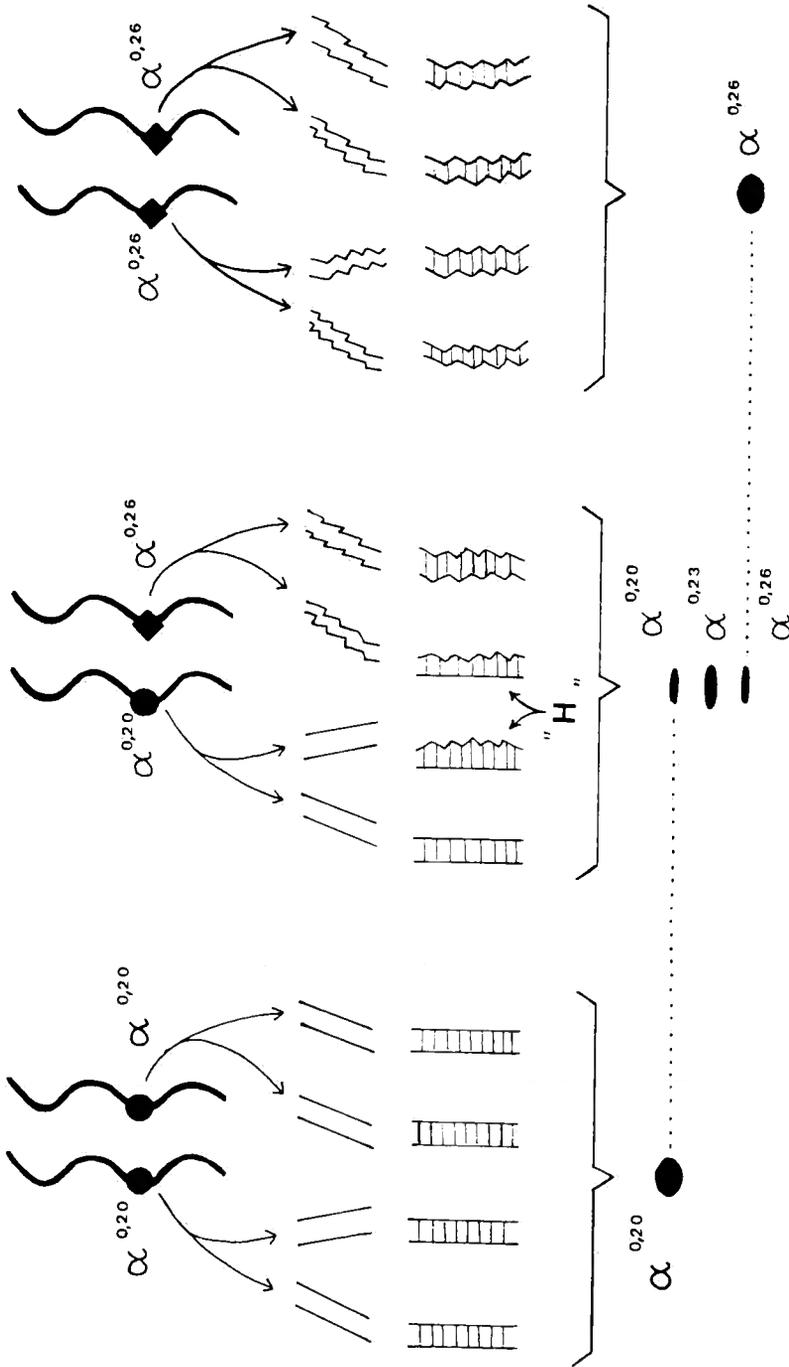


FIG. 31. — La génèse de l'isoenzyme «hybride» α $Gpdf^{0,23}$ («H») et $\alpha^{0,23}$ est schématisée à partir des allèles α $Gpdf^{0,26}$ ($\alpha^{0,26}$) et α $Gpdf^{0,20}$ ($\alpha^{0,20}$). L'aspect quantitatif des différentes bandes isoenzymatiques y est également représenté.

Comme chez tous les animaux eucaryotes, deux isoenzymes à activité de glutamate-oxaloacétate transaminase ont été trouvées chez *Aedes polynesiensis* dans la présente étude; ces isoenzymes étant codées par deux loci indépendants, ceux-ci peuvent être notés *Got-1* et *Got-2*.

Le locus *Got-1* code une isoenzyme à mobilité électrophorétique vers l'anode qui manifeste une coloration turquoise intense en forme de tache. Toutes les populations de *Aedes polynesiensis* étudiées ont présenté le même phénotype à une seule tache *Got-1*.

Le locus *Got-2* code une isoenzyme isoélectrique: la tache turquoise est en effet à cheval sur la fente d'insertion à l'endroit où le morceau de papier-filtre imbibé de l'homogénat du moustique a été inséré. La lecture de cette tache, moins bien colorée que la *Got-1*, et son interprétation sont de ce fait délicates. Il semble cependant qu'également ici un monomorphisme existe chez toutes les populations de *Aedes polynesiensis* étudiées.

Ce monomorphisme des loci *Got* de *Aedes polynesiensis* contraste avec le polymorphisme des deux loci *Got* de *Culex pipiens* décrits par PASTEUR (1977) et ceux de *Aedes detritus* (PASTEUR *et al.* 1977).

Les *Got* de *Aedes polynesiensis* ont alors été comparées avec celles de *Aedes pseudoscutellaris* (l'espèce avec qui *Ae. polynesiensis* avait été confondue durant la première moitié du siècle), en élevage à l'École de Médecine tropicale de Liverpool; une souche de *Ae. aegypti* du Zaïre, en élevage à l'Institut de Médecine tropicale Prince Léopold d'Anvers, fut incluse dans cette comparaison.

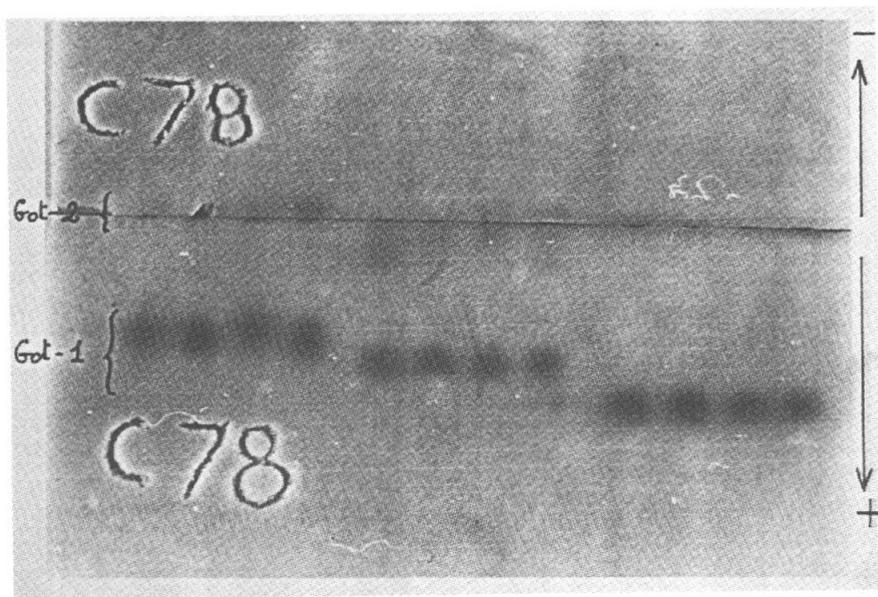


FIG. 32. — Les *Got-1* de 4 *Aedes pseudoscutellaris* (à gauche), 4 *Ae. polynesiensis* (au milieu) et 4 *Ae. aegypti* (à droite) montrent des vitesses de migration spécifiquement différentes. Les *Got-2* isoélectriques (de part et d'autre de la fente d'insertion), faiblement colorées, sont peu visibles.

Ces trois espèces de *Aedes* montrèrent des *Got-1* monomorphiques mais migrant chacune selon l'espèce à une vitesse différente (Fig. 32). Les *Got-2* furent pour les trois espèces isoélectriques.

L'intérêt immédiat des *Got* dans cette étude est la possibilité de différencier *Ae. polynesiensis* de son espèce «quasi jumelle» *Ae. pseudoscutellaris*. Cette méthode est d'autant plus utile que les deux espèces montrent la même α -glycérophosphate déshydrogénase; les estérases de *Ae. pseudoscutellaris* devraient d'abord être comparées à celles de *Ae. polynesiensis* des Fiji (où *Ae. pseudoscutellaris* est endémique) car des différences mais aussi des similitudes ont été détectées.

Conclusion

Le présent travail est une étude des isoenzymes de *Aedes polynesiensis*, le principal vecteur de la filaire *Wuchereria bancrofti* subpériodique dans la région du Pacifique. Le but était de mieux comprendre l'épidémiologie de cette filariose afin de pouvoir lutter efficacement contre son vecteur.

Cette étude a permis de démontrer que les souches de *Aedes polynesiensis* présentent un polymorphisme isoenzymatique qui diffère suivant leur origine géographique. Par contre, il n'a pas encore été possible de mettre en évidence des variations écologiques, ce qui signifie que, dans un archipel donné, toutes les souches présentent le même polymorphisme isoenzymatique quelle que soit l'origine écologique de la souche (terriers de crabes, trous d'arbres, etc.).

L'on ignore encore si ces variations géographiques sont apparues à la suite de migrations fortuites ou si elles sont le résultat d'adaptations locales à des conditions différentes du milieu.

Il faut cependant faire attention lorsque l'on interprète des résultats à partir de souches en élevage depuis plusieurs générations. La convergence isoenzymatique obtenue chez des populations de moustiques d'élevage, d'origines géographiques éloignées, indiquent que des modifications profondes s'opèrent rapidement. Il n'est donc pas permis d'extrapoler des données de répartition biogéographique et de phylogénie à partir d'analyses de souches maintenues depuis plus de deux générations en laboratoire. La nécessité de travailler sur le terrain, à partir de populations sauvages et de leur première descendance, s'impose pour établir des zymogrammes qui reflètent la réalité et permettent de tirer des conclusions valables.

L'on peut se demander s'il existe une relation entre certaines de ces isoenzymes et la capacité que possède le moustique de transmettre la filaire *W. bancrofti*. Pour répondre à cette question, il faudrait pouvoir disposer de souches homozygotes pures pour chaque allèle. Nous essayons actuellement d'obtenir de telles souches en pratiquant des élevages et en sélectionnant parmi eux des lignées homozygotes. Chacune de ces souches homozygotes pourrait alors être testée sur des porteurs de *W. bancrofti* afin de vérifier son pouvoir de transmettre cette filaire.

Chapitre IV

Les isoenzymes d'acariens

Rôle pathogène des acariens

Parmi les acariens, certains sont parasites et d'autres vecteurs de maladie.

Les tiques molles transmettent des agents de borrelioses à l'homme et aux oiseaux.

Les tiques dures transmettent au bétail un grand nombre de maladies graves: à l'homme, elles inoculent divers virus, rickettsies et microbes et elles peuvent en outre occasionner une paralysie flasque.

Certains Trombiculidae transmettent à l'homme des rickettsioses graves.

L'ordre des Astigmates compte de nombreuses formes parasites. Le plus connu parmi ceux-ci est *Sarcoptes scabiei*, qui produit la gale humaine. Cette affection doit être différenciée des dermatites produites par d'autres Astigmates ou encore par des Prostigmates et des Mésostigmates.

Un autre Astigmatite cosmopolite, *Dermatophagoides pteronyssinus*, vit dans les poussières des maisons et est responsable de l'asthme bronchique des poussières.

Matériel

Les estérases de 9 espèces d'acariens astigmatites, toutes provenant d'élevages entretenus à l'Institut de Médecine tropicale Prince Léopold, ont été étudiées dans le présent travail:

Deux Acaridae: *Acarus siro* L., 1758, et *Trypoglyphus* sp.

Deux Pyroglyphidae: *Dermatophagoides farinae* (Hughes, 1961) et *D. pteronyssinus* (Trouessart, 1897).

Quatre Glycyphagidae: *Glycyphagus ornatus* (Kramer, 1881), *Lepidoglyphus destructor* (Schrank, 1781), *Blomia tropicalis* Bronswijk *et al.*, 1973 et *Austroglycyphagus asthmaticus* Fain, 1978.

Un Chortoglyphidae: *Chortoglyphus arcuatus* (Troupeau, 1879).

A. siro, *T. sp.*, *L. destructor*, *G. ornatus* et *C. arcuatus* avaient été isolés dans la poussière de foin du sud-est de la Belgique; les souches de *D. farinae* et *D.*

pteronysinus proviennent d'élevages existant à l'«Academisch Ziekenhuis» d'Utrecht (Pays-Bas); *B. tropicalis* fut récolté par A. Fain dans les poussières d'un entrepôt, où étaient stockés des haricots, à Bujumbura (Burundi); *A. asthmaticus* fut récolté dans du guano d'une colonie de chauve-souris sous le toit d'une maison à Bujumbura.

Estérases

Vingt mâles et vingt femelles de chaque espèce furent homogénéisés sous binoculaire dans une goutte de 12 microlitres d'eau déionisée et absorbée par

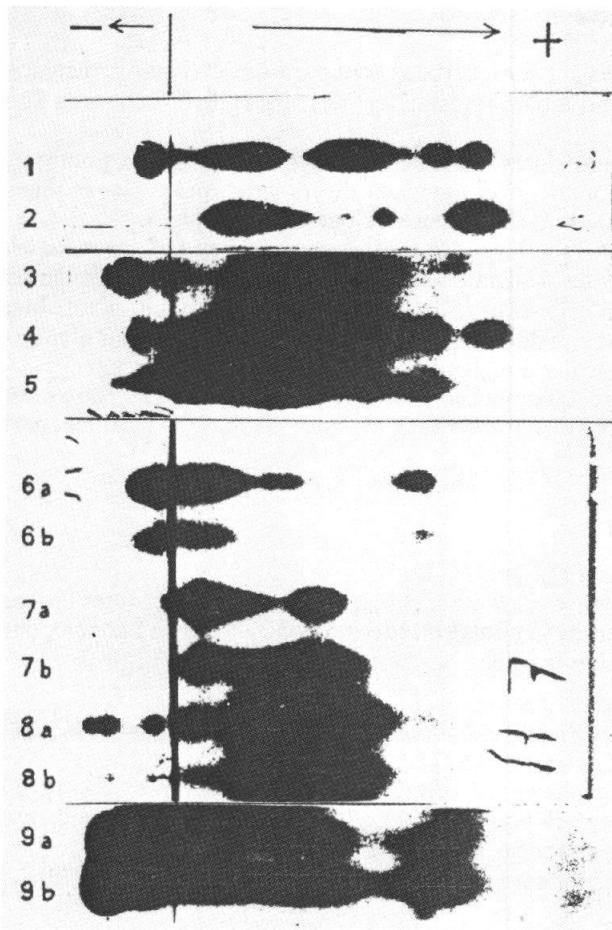


FIG. 33. — Zymogrammes.

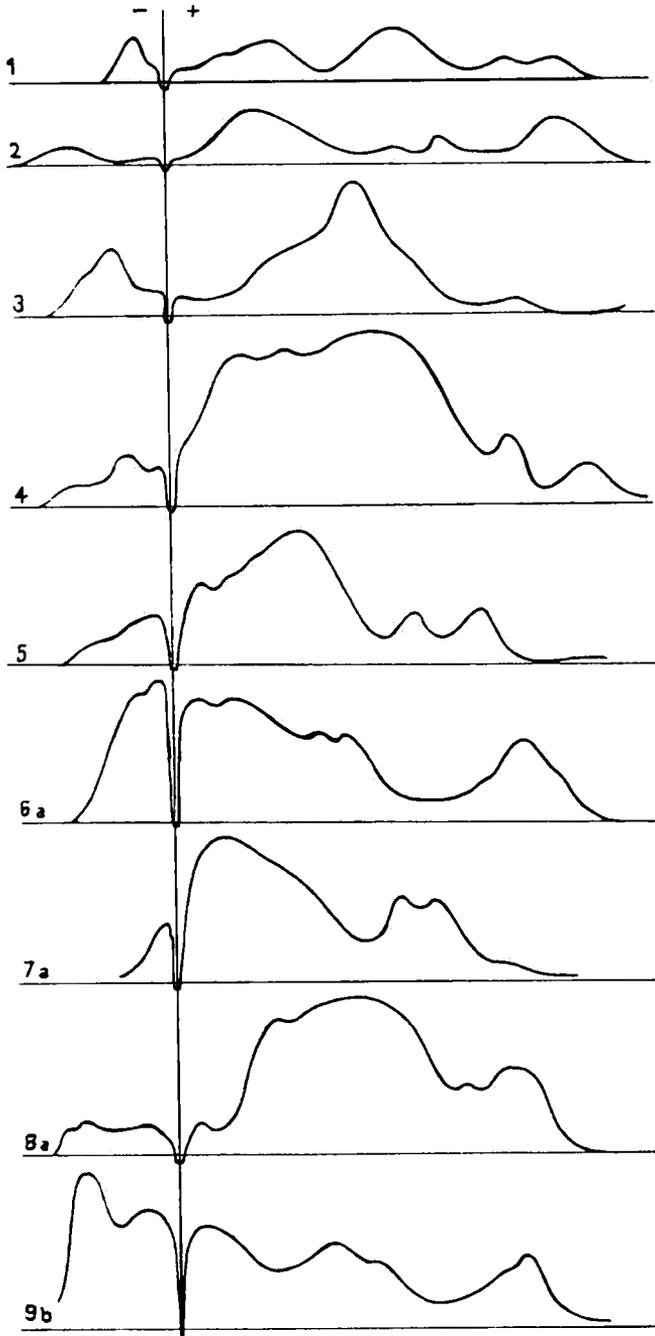


FIG. 34. — Courbes densitométriques correspondantes: 1. — *Dermatophagoides farinae* ♀. 2. — *D. pteronyssinus* ♀. 3. — *Austrogllyphagus asthmaticus* ♀. 4. — *Glycyphagus ornatus* ♀. 5. — *Blomia tropicalis* ♀. 6. — *Tyrophagus* sp. (a = ♀, b = ♂). 7. — *Chortoglyphus arcuatus* (a = ♀, b = ♂). 8. — *Lepidoglyphus destructor* (a = ♀, b = ♂). 9. — *Acarus siro* (a = ♂, b = ♀).

un morceau de papier-filtre Whatman n° 3 (5 × 3 mm), qui fut ensuite inséré dans le gel d'amidon pour électrophorèse. Après fixation des zymogrammes ceux-ci furent passés au densitomètre (Quick Scan, Helena Lab., Texas) pour l'obtention de courbes densitométriques.

Sept à huit homogénats de mâles et femelles de chaque espèce furent analysés: une distribution courante des estérases sur le gel fut obtenue pour chaque espèce. Les mâles de ces acariens étant plus petits que les femelles, les zymogrammes de ces mâles furent toujours moins intensément colorés que ceux des femelles correspondantes (Fig. 33: de 6a à 9b).

À l'encontre des moustiques, chez qui toutes les isoenzymes estérasiques migrent vers l'anode, chaque espèce d'acarien analysée montra des isoenzymes à migration cathodique. Celles-ci étaient fortement prononcées chez les Acaridae (Fig. 33: 6a, 6b, 9a, 9b) et formaient même la tache principale chez *Acarus siro*. Chez *Chortoglyphus arcuatus* (Fig. 33: 7a et 7b), elles ne furent que légèrement visibles.

La distance de migration anodique la plus longue a été parcourue par *Glycyphagus ornatus* (Fig. 33: 4), celle vers la cathode par la plus distale des trois taches cathodiques nettes de *Lepidoglyphus destructor* (Fig. 33: 8a et 8b). *Chortoglyphus arcuatus* (Fig. 33: 7a et 7b) montre, près de la fente d'insertion, une tache importante anodique et une tache faible cathodique: ces isoenzymes sont donc proches du point isoélectrique; cette espèce ne montra en plus que deux isoenzymes anodiques. Ces zymogrammes sont quantitativement mieux précisés par leurs courbes densitométriques respectives (Fig. 34: numérotation correspondante à celle de la Fig. 33): plus intense est la coloration sur le gel, plus haut est le pic sur la courbe.

La différence est frappante entre les deux espèces du genre *Dermatophagoides* (Fig. 33 et 34: 1 et 2): *D. pteronyssinus* et *D. farinae* diffèrent par leur isoenzyme cathodique, aussi bien qualitativement par la distance parcourue que quantitativement par l'intensité de coloration; les différences entre les isoenzymes anodiques sont évidentes.

Les isoenzymes permettent aussi de séparer ces familles d'acariens. Les Acaridae (6a, 6b, 9a, 9b) présentent de très importantes isoenzymes cathodiques, à côté de groupes importants anodiques. Les Glycyphagidae (3, 4, 8, 8a, 8b) présentent plusieurs isoenzymes cathodiques et surtout un gros noyau anodique suivi de groupes bien distincts plus petits. L'unique Chortoglyphidae (7a, 7b) ne montre que peu d'isoenzymes qui s'éloignent le moins du point isoélectrique. Les deux Pyroglyphidae (1 et 2) montrent des zymogrammes allongés et minces.

Conclusion

Les zymogrammes sont un outil très utile pour comparer des espèces voisines et élucider des problèmes taxonomiques. Ils peuvent être appliqués à l'étude des genres et groupes supra-génériques afin de mettre en évidence les éventuelles relations phylogénétiques existant entre ces taxa.

Annexe

Technique d'élevage de *Aedes polynesiensis* Marks, 1951

Au départ, l'on peut procéder de deux façons. Une première consiste à capturer une centaine de femelles dans la nature, en les aspirant à l'aide d'un tube aspirateur au moment où elles viennent se poser sur l'homme-appât; elles sont ensuite soufflées dans une cage cubique d'environ 30 cm de côté et ramenées à l'insectarium; là un repas sanguin complet sur le bras d'un volontaire leur est offert et un pondoïr (voir plus loin) est placé dans cette cage. Après que les œufs ont été pondus, ce pondoïr est mis à sécher et il peut être envoyé n'importe où par la poste (aérienne) vers un laboratoire avec insectarium, où ces œufs seront mis à éclore. Une seconde façon de commencer un élevage consiste à récolter des larves et nymphes dans leurs gîtes; celles-ci sont transvasées dans un récipient qui est placé dans une cage où elles émergeront, où les imagos s'accoupleront et où les femelles prendront un repas sanguin et pondront.

Des techniques d'élevage de *Aedes polynesiensis* avaient été mises au point par BUXTON & HOPKINS (1927), INGRAM (1954), WALLIS (1954) et EYRAUD & QUÉLENNEC (1976).

À l'insectarium de l'Institut de Médecine tropicale «Prince Léopold» (Anvers), où les conditions de température, humidité et luminosité sont adaptées à l'élevage de moustiques tropicaux, la mise en eau des œufs sur le pondoïr sec est effectuée de la façon suivante: le matin (disons le lundi) une demi-douzaine de béciers de deux litres sont remplis d'eau déionisée dans laquelle est trempée une poignée de foin; l'après-midi, le foin est ôté, l'eau passée par une épuisette aux mailles serrées et un fragment du pondoïr, portant une centaine d'œufs, plongé au fond de ce bocal contenant «l'eau de foin». Le mardi matin, la majorité des œufs ont éclos et les larves L1 viennent, par leur siphon, s'oxygéner à la surface. Le mercredi matin, les larves L1 ont mué et les larves L2 sont présentes; celles-ci sont nourries avec une quantité de solution de levain frais de pâtissier (environ 50 grammes par litre) contenue dans une pipette Pasteur. Cette opération est répétée chacun des jours suivants. Le jeudi matin des larves L3 sont apparues et, le vendredi, des larves L4, qui mûrissent durant le samedi. Le dimanche apparaissent les nymphes étroites de corps (desquelles émergeront les imagos mâles) et, le lundi (une semaine après la mise en eau), les grosses nymphes (desquelles émergeront les imagos femelles). L'eau des

bocaux est éventuellement renouvelée et ceux-ci mis dans une grande cage cubique de 50 cm de côté dans laquelle est également placé un morceau de papier-filtre imbibé d'eau glucosée (10 à 20%). Le mardi, les mâles émergent et, le mercredi, les femelles. Des retards de 24 heures ou précocités de 12 h peuvent se produire globalement sur cet horaire moyen. De toute façon, il y a toujours des retardataires ou des larves L4 qui n'entrent pas en nymphose. La mortalité larvaire et nymphale en cours de route est minime.

Le jeudi (10 jours après la mise en eau) les imagos s'accouplent: un mâle agrippe une femelle (posée ou en vol), l'entraîne avec lui vers un support sur lequel il se pose sur le dos, ailes écartées, la femelle sur lui «face à face»; l'abdomen mâle est recourbé ventralement de telle façon que ses genitalia rencontrent ceux de la femelle. L'accouplement dure environ dix secondes et puis chacun s'en retourne voltiger dans la cage. Deux ou plusieurs mâles peuvent se disputer les faveurs d'une femelle; peu après un premier accouplement, une femelle peut accepter un second, un troisième mâle, plus tard elle n'est plus réceptive.

Le samedi (12 jours après la mise en eau), un repas sanguin leur est offert sur le bras d'un volontaire. Ensuite le pondoir est préparé comme suit: un béccher d'un litre est tapissé, sur toute la hauteur de sa surface cylindrique intérieure, d'un morceau de papier-filtre sur lequel ont été appliquées, à l'aide d'une des pointes d'une paire de ciseaux, des fentes partielles verticales, séparées de 2 cm. Le béccher est alors rempli à moitié d'eau déionisée. Le lundi (deux semaines

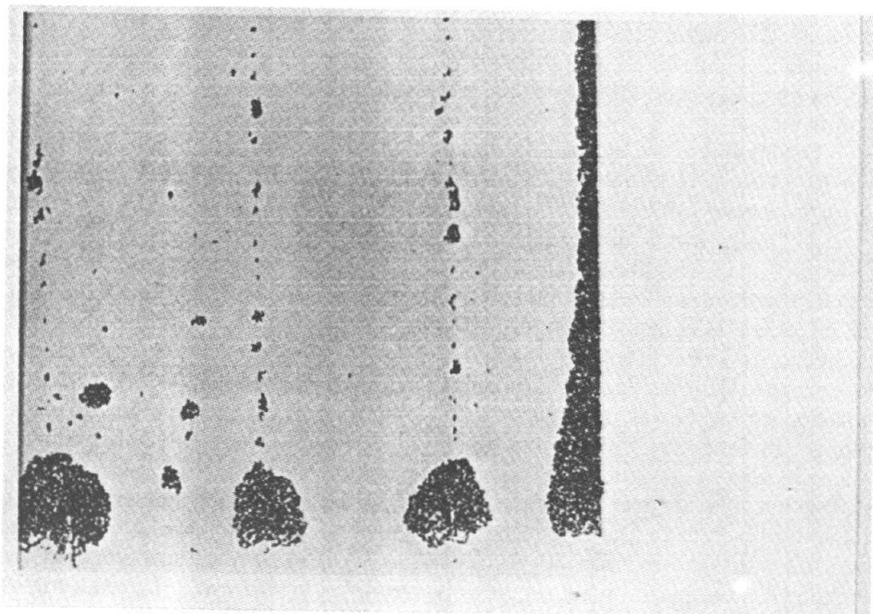


FIG. 35. — Pontes d'élevage de *Aedes polynesiensis*. Les amas circulaires d'œufs ont été pondus au ras de l'eau, à cheval sur la fente partielle tracée sur le pondoir; cette fente porte vers le haut d'autres œufs. A droite: l'extrémité intérieure de la bande de papier-filtre contre laquelle de nombreuses femelles sont venues pondre préférentiellement.

après la mise en eau) et le mardi les femelles ont pondu sur le papier-filtre, à raz de l'eau et de préférence sur les fentes tracées (Fig. 35 et 36). En effet, pour pondre, la femelle courbe l'abdomen ventralement afin de pouvoir frotter l'extrémité de l'abdomen contre la surface, afin d'aider à l'«accouchement» des œufs; la fente facilite l'accrochage de l'œuf; en fait, l'endroit où les femelles viennent pondre avec prédilection est l'extrémité intérieure du papier-filtre qui double celui-ci (Fig. 35 à droite et Fig. 36). Le vendredi, le pondoir est sorti du béccher et mis à sécher. En général, quelques larves L1 nagent déjà dans l'eau du récipient ayant contenu le pondoir: ces larves sont issues d'œufs qui n'ont pas eu besoin d'une dessiccation préalable avant de pouvoir éclore.

Le pondoir est laissé à sécher pendant une à deux semaines, après quoi une mise en eau est recommencée pour maintenir l'élevage; à ce stade, la plupart des

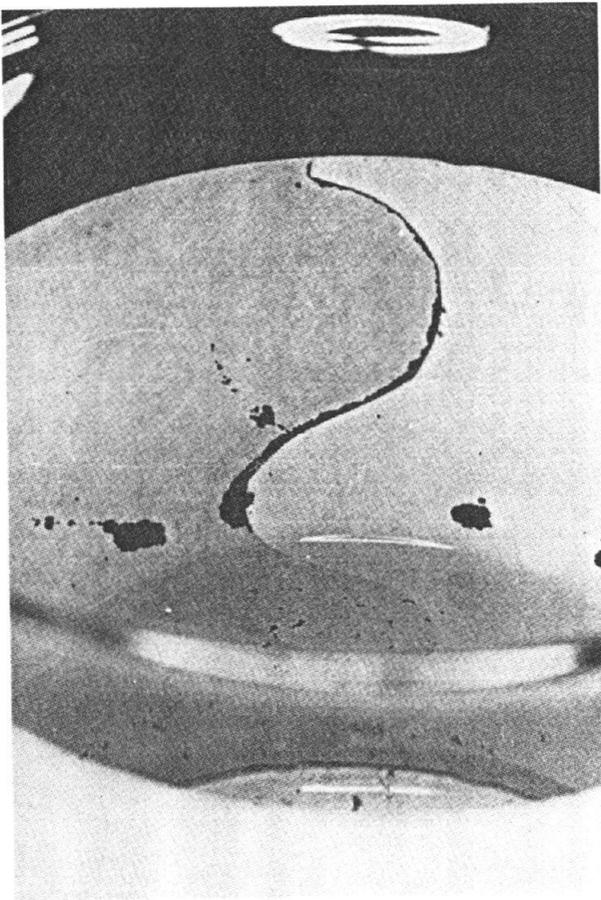


FIG. 36. — Pontes d'élevage de *Aedes polynesiensis*. L'extrémité intérieure de la bande de papier-filtre a été découpée en sinusoïde: cette petite dénivellation, indépendamment de son orientation, suffit pour décider plusieurs femelles à venir pondre plus aisément contre cette dénivellation en y «accrochant» leurs œufs.

œufs éclosent. Après trois semaines de dessiccation, le pourcentage d'éclosions tombe significativement. Après six semaines, il n'y a plus d'éclosions.

Une femelle pond jusqu'à 100 œufs par première ponte. Après la ponte, elle peut reprendre un repas sanguin et pondre une seconde fois un nombre légèrement moindre d'œufs mais qui éclore presque tous. Les troisième et quatrième pontes sont de quantité et qualité nettement diminuées. C'est pourquoi, pour l'élevage, les femelles ne sont nourries que deux fois.

Des observations de femelles, isolées dans une petite cage, sollicitées au maximum, ont montré les «records» suivants: les deux plus grosses pontes obtenues se chiffèrent à 129 œufs, desquels éclore et émergèrent 111 imagos (57 mâles et 54 femelles), et 134 œufs desquels éclore et émergèrent 107 imagos (52 mâles et 55 femelles); cette dernière femelle pondit une seconde fois 115 œufs desquels émergèrent 84 imagos (45 mâles et 39 femelles). Une femelle pondit quatre fois: 116, 88, 84 et 55 œufs, desquels émergèrent en tout 190 imagos; elle mourut au 22^e jour après son émergence, immédiatement après avoir émis sa 4^e ponte. Une autre femelle pondit également 4 fois (en tout 103 œufs, 91 imagos), prit un cinquième repas sanguin mais mourut au 30^e jour avant d'avoir pondu une 5^e fois.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEN, S.L. 1960. Inherited variations in the esterases of *Tetrahymena*. — *Genetics*, **45**: 1051-1070.
- AMOS, D.W. 1946. The mosquito position and filariasis in Raratonga. — Report to the Department of Island Territories.
- ANNET, H.E., DUTTON, J.E. & ELLIOT, J.H. 1901. Report of the malaria expedition to Nigeria. Part II. Filariasis. — *Mem., Liverpool Sch. trop. Med.*, **4**: 1-67.
- BAHR, P.H. 1912. Researches in Fiji, 1910: I: Filariasis and elephantiasis in Fiji. — *J. London School trop. Med.*, Suppl. n° 1: 1-192.
- BANCROFT, T.L. 1906. On the aetiology of dengue fever. — *Aust. med. Gaz.*, **25**, p. 17.
- BELKIN, J.N. 1962. The mosquitoes of the South Pacific (Diptera, Culicidae). — University of California Press, Berkeley and Los Angeles, vol. **1** & **2**, pp. 608 & 411.
- BEYE, H.K., KESSEL, J.F., HEULS, J., THOORIS, G. & BAMBRIDGE, B. 1953. Nouvelles recherches sur l'importance, les manifestations cliniques et la lutte contre la filariose à Tahiti, Océanie française. — *Bull. Soc. Path. exot.*, **46**: 144-163.
- BIANCHI, U. 1966. Zimogrammi delle fosfatasi alcaline in alcune specie di *Anopheles* appartenenti al gruppo *maculipennis*. — *Atti Ass. Genet. It.*, **11**: 276-285.
- BIANCHI, U. 1968a. Homologous alkaline phosphatases and homologous loci in two sibling species of European anopheline mosquitoes. — *Nature*, **217**: 382-383.
- BIANCHI, U. 1968b. Genetica formale di una proteina dotata di attività catalitica esterasica in *Anopheles stephensi*. — *Acc. Naz. Lincei, Rend. Cl. Sc. Fis. Mat. e Nat.*, **45**: 192-194.
- BIANCHI, U. & RINALDI, A. 1970. New gene-enzyme system in *Anopheles atroparvus*: occurrence and frequencies of four alleles at the Est. 6 locus. — *Can. J. Genet. Cytol.*, **12**: 325-330.
- BONNET, D.D. & CHAPMAN, H. 1958. The larval habitats of *Aedes polynesiensis* Marks in Tahiti and methods of control. — *Am. J. trop. Med. Hyg.*, **7**: 512-518.
- BRIEGEL, H. & FREYVOGEL, T.A. 1971. Non-specific esterases during development of culicine mosquitoes. — *Acta tropica*, **28**: 291-297.
- BROCHARD, V. 1910. Recherches sur la microfilarie humaine des îles Wallis. — *Bull. Soc. Path. exot.*, **3**: 138-142.
- BROWN, A.W. & PERRY, A.S. 1956. Dehydrochlorination of DDT by resistant houseflies and mosquitoes. — *Nature*, **178**: 368-369.
- BULLINI, L. & COLUZZI, M. 1972. Natural selection and genetic drift in protein polymorphism. — *Nature*, **239**: 160-161.
- BULLINI, L. & COLUZZI, M. 1973. Electrophoretic studies on gene-enzyme systems in mosquitoes (Diptera, Culicidae). — *Parassitologia*, **15**: 221-248.
- BULLINI, L., COLUZZI, M., GIRONI, A.M. & MORELLINI, M. 1970a. Phosphoglucomutase polymorphism in *Aedes aegypti*. — *Parassitologia*, **12**: 27-30.
- BULLINI, L., GIRONI, A.M., BIANCHI-BULLINI, A.P. & COLUZZI, M. 1970b. Further observations on phosphoglucomutase polymorphism in *Aedes aegypti*. — *Parassitologia*, **12**: 113-117.
- BULLINI, L., COLUZZI, M., CANCRINI, G. & SANTOLAMAZZA, C. 1971a. Multiple phosphoglucomutase alleles in *Anopheles stephensi*. — *Heredity*, **26**: 475-478.
- BULLINI, L., CANCRINI, G., BIANCHI-BULLINI, A.P. & DI DECO, M. 1971b. Further studies on the phosphoglucomutase gene in *Anopheles stephensi*: evidence for a fourth allele (Diptera, Culicidae). — *Parassitologia*, **13**: 435-438.
- BULLINI, L., COLUZZI, M. & BIANCHI-BULLINI, A.P. 1972a. Studi genetici sulla fosfoglucomutasi nei Ditteri Culicidi. — *Atti Ass. Genet. It.*, **17**: 43-45.

- BULLINI, L., GIRONI, A.M., BIANCHI-BULLINI, A.P. & COLUZZI, M. 1972b. Phosphoglucomutase gene in *Aedes aegypti*: a fourth allele and preliminary linkage data. — *Biochem. Genet.*, **7**: 41-44.
- BULLINI, L., COLUZZI, M., BIANCHI-BULLINI, A.P. & CANCRINI, G. 1973a. A new phosphoglucomutase (PGM) allele in *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). — *Parassitologia*, **15**: 141-144.
- BULLINI, L., CANCRINI, G., MURA, G., DI DECO, M., BIANCHI-BULLINI, A.P. 1973b. Alleli per la fosfoglucomutasi in popolazioni di *Anopheles stephensi* di diversa origine geografica. — *Parassitologia*, **15**: 217-220.
- BULLINI, L., COLUZZI, M. & BIANCHI-BULLINI, A.P. 1976. Biochemical variants in the study of multiple insemination in *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae). — *Bull. ent. Res.*, **65**: 683-685.
- BULMER, M.C. 1971. Protein polymorphism. — *Nature*, **234**: 410-411.
- BURNETT, G.F. 1960. Filariasis research in Fiji 1957-1959. — *J. trop. Med. Hyg.*, **63**: 153-162, 184-192, 208-215.
- BUXTON, P.A. 1928. Researches in Polynesia and Melanesia. Parts 5-7. — *Mem., London School Hyg. trop. Med.*, Ser. n° 2: 1-139.
- BUXTON, P.A. & HOPKINS, G.H.E. 1927. Researches in Polynesia and Melanesia. Parts 1-4. — *Mem., London School Hyg. trop. Med.*, Ser. n° 1: 1-260.
- BYRD, E.E. 1945. Epidemiological investigation on filariasis on certain islands of the South Pacific. — *J. Parasitol.*, **31**, Suppl., 13.
- BYRD, E.E., ST. AMANT, L.S. & BROMBERG, L. 1945. Studies on filariasis in the Samoan area. — *U.S. Naval med. Bull.*, **44**: 1-20.
- CLELAND, J.B., BRADLEY, G. & McDONALD, W. 1916. On the transmission of Australian dengue fever by the mosquito *Stegomyia fasciata*. — *Med. J. Aust.*, **2**: 179-200.
- COKER, W.Z. 1973. Electrophoretic patterns in *Anopheles gambiae* and *Simulium damnosum*. — *Ann. trop. Med. Parasitol.*, **67**: 475-481.
- COLUZZI, M. & BULLINI, L. 1971. Enzyme variants as markers in the study of pre-copulatory mechanisms. — *Nature*, **231**: 445-456.
- COLUZZI, M. & SABATINI, A. 1968. Divergenze morfologiche e barriere di sterilità nel complesso *Aedes mariae* (Diptera, Culicidae). — *Riv. Parassit.*, **29**: 49-70.
- COLUZZI, M., GIRONI, A.M. & MUIR, A.D. 1970. Ulteriori esperimenti di incrocio tra le forme del complesso *mariae* del genere *Aedes*. — *Parassitologia*, **12**: 119-123.
- COLUZZI, M., BULLINI, L. & BIANCHI-BULLINI, A.P. 1971a. Phosphoglucomutase (PGM) allozymes in two forms of the *mariae* complex of the genus *Aedes*. — *Biochem. Genet.*, **5**: 253-255.
- COLUZZI, M., BULLINI, L. & BIANCHI-BULLINI, A.P. 1971b. Phosphoglucomutase polymorphism in *Aedes phoeniciae* Coluzzi et Sabatini of the *Ae. mariae* complex (Diptera, Culicidae). — *Bull. ent. Res.*, **61**: 327-330.
- COLUZZI, M., BULLINI, L. & BIANCHI-BULLINI, A.P. 1971c. Alleli per la fosfoglucomutasi (PGM) nel complesso *mariae* del genere *Aedes* e studio dell'isolamento riproduttivo di popolazioni naturali. — *Atti Ass. Genet. It.*, **16**: 5-7.
- DAGGY, R.H. 1944. *Aedes scutellaris hebrideus*: probable vector of dengue in the New Hebrides. — *War Med.*, **5**: 292-293.
- DAVIS, T.R.A. 1949. Filariasis control in the Cook Islands. — *New Zeel. Med. J.*, **48**: 362-370.
- DE STORDEUR, E. 1976. Esterases in the mosquito *Culex p. pipiens* L.: formal genetics and polymorphism of adult esterases. — *Biochem. Genet.*, **14**: 425-426.
- DOANE, R.W. 1914. Disease-bearing insects in Samoa. — *Bull. entom. Res.*, **4**: 265-269.
- EDGAR, S.A., BEYE, H.K. & MILLE, R. 1952. A preliminary report on a «periodic tendency» of microfilariae of *Wuchereria bancrofti* observed in Tahiti, French Oceania. — *Am. J. trop. Med. Hyg.*, **1**: 1009-1019.
- EYLES, D.F., HUNTER, G.W. III & WARREN, V.G. 1947. The periodicity of microfilariae in two patients with filariasis acquired in the South Pacific. — *Am. J. trop. Med.*, **27**: 203-209.
- EYRAUD, M. & QUÉLENNEC, G. 1976. *Aedes polynesiensis*, technique d'élevage, observations sur son comportement sexuel et sa reproduction, essai de chimiostérilisation au Thiotépa. — *Cah. O.R.S.T.O.M., Sér. Ent. méd. Parasitol.*, **14**: 3-11.
- FARNER, D.S. & BOHART, R.H. 1945. A preliminary revision of the *scutellaris* group of the genus *Aedes*. — *Nav. med. Bull.*, **44**: 37-54.
- FRENCH, W.L. & KITZMILLER, J.B. 1962. Evidence of multiple fertilization in *Anopheles quadrimaculatus* using genetic markers. — *Am. Zool.*, **3**: 524.

- FRENCH, W.L. & KITZMILLER, J.B. 1963. Tests for multiple fertilization in *Anopheles quadrimaculatus*. — *Proc. New Jers. Mosq. Exterm. Ass.*, **50**: 374-380.
- FREYVOGEL, T.A. & MCCLELLAND, G.A.H. 1969. Differences in hydrolase isozymes of Italian and Rhodesian strains of *Aedes vittatus* (Bigot) (Diptera: Culicidae) and their hybrids. — *Proc. R. ent. Soc. Lond. (A)*, **44**: 80-83.
- FREYVOGEL, T.A., HUNTER, R.L. & SMITH, E.M. 1968. Nonspecific esterases in mosquitos. — *J. Histochem. Cytochem.*, **16**: 765-790.
- FULLEBORN, F. 1912. Über Microfilarien des Menschen in deutschen Sudsee-Gebiet und deren «Turnus» nebst Bemerkungen über die klinischen Manifestationen der dortigen Filariasis. — *Arch. Schiffs- u. Tropenhyg.*, **16**: 533-547.
- GAILLARD, H. 1957. Prophylaxie de la filariose à *Wuchereria bancrofti* à Tahiti. — *Ann. Parasit. hum. comp.*, **32**: 348-351.
- GAILLARD, H. & MILLE, R. 1949. Essais de traitement de la filariose à *Wuchereria bancrofti* var. *pacifica* par la 1-diéthyl-carbamyl-4-méthyl-pipérazine à Tahiti. — *Bull. Soc. Path. exot.*, **42**: 304-313.
- GAILLARD, H., MILLE, R. & ROBINSON, W.A. 1949. La filariose à *Wuchereria bancrofti* var. *pacifica* à Tahiti et dans l'archipel de la Société. — *Ann. Parasit. hum. comp.*, **24**: 30-48.
- GARNETT, P. & FRENCH, W.L. 1971. A genetic study of an esterase in *Culex pipiens quinquefasciatus*. — *Mosq. News*, **31**: 379-386.
- GOMA, L.K.H. 1963. Tests for multiple insemination in *Anopheles gambiae* Giles. — *Nature*, **197**: 99-100.
- HAUPT, F. & GIERSBERG, H. 1958. Untersuchungen über die Heterogenität und Organspezifität von Enzymen, speziell der Milchsäuredehydrogenase, innerhalb der Wirbeltierreiche. — *Naturwissenschaften*, **45**: 268-269.
- HARRIS, H. 1969. Genes and isozymes. — *Proc. R. Soc. (B)*, **174**: 1-31.
- HITCHCOCK, J.C. 1969. UCLA mosquito studies in Tonga. — *Proc. New Jersey Mosq. Exterm. Assoc.*, **56**: 116-123.
- HITCHCOCK, J.C. 1971. Transmission of sub-periodic filariasis in Tonga by *Aedes oceanicus* Belkin. — *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **65**: 408-409.
- HITCHCOCK, J.C. 1978. New relevant findings resulting from WHO interregional filariasis project MPD-025. — Organisation mondiale de la Santé, Document WPR/VBC/78.14.
- HUANG YIAU-MIN 1972. A redescription of the holotype male of *Aedes (Stegomyia) tongae* Edwards with a note on two topotypic females (Diptera: Culicidae). — *Proc. entomol. Soc. Wash.*, **74**: 338-342.
- HUANG YIAU-MIN 1975. A redescription of *Aedes (Stegomyia) pseudoscutellaris* (Theobald) with a note on the taxonomic status of *Aedes (Stegomyia) polynesiensis* Marks (Diptera: Culicidae). — *Mosquito Systematics*, **7**: 87-101.
- HUNTER, R.L. & MARKERT, C.L. 1957. Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. — *Science (New York)*, **125**: 1294-1295.
- INGRAM, R. 1954. A study of the bionomics of *Aedes (Stegomyia) polynesiensis* Marks under laboratory conditions. — *Am. J. Hyg.*, **60**: 169-185.
- IYENGAR, M.O.T. 1954. Distribution of filariasis in the South Pacific Region. — South Pacific Comm. Tech. Paper, n° **66**: 1-52 (Nouméa, Nouvelle-Calédonie).
- IYENGAR, M.O.T. 1965. Epidemiology of filariasis in the South Pacific. — South Pacific Comm. Tech. Paper, n° **148**, 1-183 (Nouméa, Nouvelle-Calédonie).
- JACHOWSKI, L.A. Jr. 1954. Filariasis in American Samoa. V. Bionomics of the principal vector, *Aedes polynesiensis* Marks. — *Am. J. Hyg.*, **60**: 186-203.
- JOHNSON, F.M. 1966. *Drosophila melanogaster*: Inheritance of a deficiency of alkaline phosphatase in larvae. — *Science*, **152**: 361-362.
- JOHNSON, F.M., RICHARDSON, R.H. & KAMBYSELLIS, M.P. 1968. Isozyme variability in species of the genus *Drosophila*. III. Qualitative comparison of the esterases of *D. aldrichi* and *D. mulleri*. — *Biochem. Genet.*, **1**: 239-247.
- KIMURA, M. 1968. Evolutionary rate at the molecular level. — *Nature*, **217**: 624-626.
- KIMURA, M. & OHTA, T. 1971. Protein polymorphism as a phase of molecular evolution. — *Nature*, **229**: 467-469.
- LACOUR, M. & RAGEAU, J. 1957. Enquête épidémiologique et entomologique sur la filariose de Bancroft en Nouvelle-Calédonie et dépendances. — Document techn. Comm. Pacif. S, n° **110**: 1-25 (Nouméa, Nouvelle-Calédonie).

- LAIGRET, J., KESSEL, J.F., MALARDE, L., BAMBRIDGE, B. & ADAMS, H. 1965. La lutte contre la filariose lymphatique aperiodique en Polynésie Française. — *Bull. Soc. Path. exot.*, **58**: 895-916.
- LAMBERT, S.M. 1926. Health survey of the Cook Islands. — International Health Board of the Rockefeller Foundation.
- LEBER, A. & VON PROWAZEK 1911. Bericht über medizinische Beobachtungen auf Savaii und Manono (Samoa). — *Arch. Schiffs- u. Tropenhyg.*, **15**: 409-430.
- LOPDELL, J.C. 1953. Filariasis in Western Samoa. — *Proc. VII Pac. Sci. Congr. (New Zealand, 1949)*, **7**: 223-228.
- LYNCH, G.W.A. 1905. A note of the occurrence of filaria in Fijans. — *Lancet*, **1**: 21-22.
- MCKENZIE, A. 1925. Observations on filariasis, yaws and intestinal helminthic infections in the Cook Islands with notes on the breeding habits of *Stegomyia pseudoscutellaris*. — *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **19**: 138-149.
- MACKERRAS, I.M. 1946. Transmission of dengue fever by *Aedes (Stegomyia) scutellaris* Walk. in New Guinea. — *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **40**: 295-312.
- MCAUGHTON, J.G. 1919. Notes on filarial infection in the Gilbert and Ellice Islands. — *J. trop. Med. Hyg.*, **22**: 1-2.
- MAHON, R.J., GREEN, C.A. & HUNT, R.H. 1976. Diagnostic allozymes for routine identification of adults of the *Anopheles gambiae* complex. — *Bull. entom. Res.*, **66**: 25-31.
- MAHONEY, L.E. & KESSEL, J.F. 1971. Treatment failure in filariasis mass treatment. — *Bull. O.M.S.*, **45**: 35-42.
- MANSON, P. 1978. On the development of *Filaria sanguinis hominis*, and on the mosquito considered as a nurse. — *Trans. Linn. Soc. London, Zoology*, **14**: 304-311.
- MANSON-BAHR, P. & MUGGLETON, W.J. 1952. Further research on filariasis in Fiji. — *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **46**: 301-326.
- MARKERT, C.L. 1968. The molecular basis for isozymes. — *Ann. N.Y. Acad. Sc.*, **151**: 14-40.
- MARKERT, C.L. & MOLLER, F. 1959. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic and species specific patterns. — *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **45**: 753-763.
- MARKS, E.N. 1951. The vector of filariasis in Polynesia: a change in nomenclature. — *Ann. trop. Med. Parasitol.*, **45**: 137-140.
- MASSAL, E. & LOISON, G. 1953. La filariose de Bancroft en Nouvelle-Calédonie. — VIII Pac. Sci. Congr. (Manila, 1953).
- MATAIKA, J.U., DANDO, B.C. & MACNAMARA, F.N. 1970. Filariasis and arbovirus survey, Northern Fiji, 1968-1969. — A report to the Director of Medical Services, Fiji, 1-79.
- MATSUMARA, F. & BROWN, A.W.A. 1963. Studies on carboxyesterase in malathion-resistant *Culex tarsalis*. — *J. econ. Ent.*, **56**: 381-388.
- MAYR, E. 1963. Animal species and evolution. — The Belknap press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, pp. 31-58.
- MEISTER, A. 1950. Reduction of alpha, gamma-diketo and alpha keto acids catalysed by muscle preparations and by crystalline lactic dehydrogenase. — *J. biol. Chem.*, **184**: 117-129.
- MERLET, Y. 1950. Préliminaires à l'étude de la filariose en Nouvelle-Calédonie. — *Bull. Ass. Méd. Nouv.-Caléd.*, **13**: 7-10.
- MERLIN, M., RIVIÈRE, F., KAEUFFER, H. & LAIGRET, J. 1976. 25 ans de campagnes de masse antifilariennes en Polynésie Française. — *Méd. trop.*, **36**: 631-640.
- MICKS, D.W. & GIBSON, F.J. 1957. The characterization of insects and ticks by their free amino acid patterns. — *Ann. entom. Soc. Amer.*, **50**: 500-505.
- MILES, S.J. 1978. Protein variation in the *Anopheles gambiae* group of species. — *Bull. entom. Res.*, **68**: 85-96.
- MILES, S.J. 1979. A biochemical key to adult members of the *Anopheles gambiae* group of species (Diptera: Culicidae). — *J. med. Entomol.*, **15**: 297-299.
- NARANG, S. & KITZMILLER, J.B. 1971a. Esterase polymorphism in a natural population of *Anopheles punctipennis*. I. Genetics of the esterase A-B system. — *J. Hered.*, **62**: 259-264.
- NARANG, S. & KITZMILLER, J.B. 1971b. Esterase polymorphism in a natural population of *Anopheles punctipennis*. II. Analysis of the Est. C system. — *Canad. J. Genet. Cytol.*, **13**: 771-776.
- NEILANDS, J.B. 1952. Studies on lactic dehydrogenase of heart. I. Purity, kinetics and equilibria. — *J. biol. Chem.*, **199**: 373-381.
- O'CONNOR, F.W. 1922. Some results of medical researches in the Western Pacific. — *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **16**: 28-52.

- O'CONNOR, F.W. 1923. Researches in the Western Pacific. — *London School trop. Med. Res. Mem. Ser.*, 4: 1-57.
- OGITA, Z. 1962. Genetico-biochemical analysis on the enzyme activities in the housefly by agar gel electrophoresis. — *Jap. J. Genetics*, 37: 518-521.
- OPPENORTH, P.J. 1959. Genetics of resistances to organophosphorus compounds and low ali-esterase activity in the housefly. — *Ent. exp. & appl.*, 2: 304-319.
- OTTO, G.F. & JACHOWSKI, L.A. 1952. Studies on the epidemiology and control of filariasis in the South Pacific. — *O.N.R. Bull.*, Août 1952.
- PASTEUR, G. 1974. Génétique biochimique et populations, ou: Pourquoi sommes-nous multi-polymorphes? — *Mém. Soc. Zool. France*, 37: 473-531.
- PASTEUR, N. 1977. Recherches de génétique chez *Culex pipiens pipiens* L. Polymorphisme enzymatique, autogénèse et résistance aux insecticides organo-phosphorés. — Thèse, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 170 pp.
- PASTEUR, N. & SINEGRE, G. 1975. Esterase polymorphism and sensitivity to Dursban organophosphorus insecticide in *Culex pipiens pipiens* populations. — *Biochem. Genet.*, 13: 789-803.
- PASTEUR, N. & DE STORDEUR, E. 1976. L'alpha-glycérophosphate-déshydrogénase du moustique *Culex pipiens*: génétique formelle, linkage et étude de populations. — *Genetica*, 46: 319-326.
- PASTEUR, N., RIOUX, J.A., GUILVARD, E., PECH-PERIERES, M.J. & VERDIER, J.M. 1977. Existence chez *Aedes (Ochlerotatus) detritus* (Haliday, 1833) (Diptera-Culicidae) de Camargue de deux formes sympatriques et sexuellement isolées (espèces jumelles). — *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 52: 325-337.
- PATTERSON, R.S. & LOFGREN, C.S. 1968. The potential use of sterile males to control *Culex pipiens quinquefasciatus* Say. — *Proc. New Jers. Mosq. Exterm. Ass.*, 55: 170-175.
- PERRY, W.J. 1948. The dengue vector on New Caledonia, the New Hebrides and Solomon Islands. — *Am. J. trop. Med.*, 28: 253-259.
- PICHON, G., PERRAULT, G. & LAIGRET, J. 1974. Rendement parasitaire chez les vecteurs de filariose. — *Bull. O.M.S.*, 51: 517-524.
- PRAKASH, S., LEWONTIN, R.C. & HUBBY, J.L. 1969. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. IV. Patterns of genic variation in central, marginal and isolated populations of *Drosophila pseudoobscura*. — *Genetics*, 61: 841-858.
- RAGEAU, J. 1958. La répartition géographique des moustiques en Nouvelle-Calédonie et Dépendance. — *South Pacific Comm., Rech. Paper*, n° 117: 1-18.
- RAGEAU, J. 1959. Enquête sur la filariose à Wallis. — *Inst. Franç. Océanie, Nouméa, Nouvelle-Calédonie*, pp. 1-37.
- RAKAI, I.M. 1972. Report on mosquito survey — Rotuma Island (August 1972). Wellcome Virus Laboratory, Suva, Fiji.
- RAKAI, I.M., NASERUA, J.D., MACNAMARA, F.N. & PILLAI, J.S. 1974. Mosquito-borne infections in Fiji. IV. Biting times for village mosquitoes and human filaria transmission potential of *Aedes polynesiensis* and *Aedes pseudoscutellaris*. — *J. med. Entomol.*, 11: 588-594.
- RAMALINGAM, A. 1976. An annotated checklist and keys to the mosquitoes of Samoa and Tonga. — *Mosq. Syst.*, 8: 298-318.
- RAMALINGAM, S. 1968. The epidemiology of filarial transmission in Samoa and Tonga. — *Ann. trop. Med. Parasitol.*, 62: 305-324.
- RAMALINGAM, S. & BELKIN, J.N. 1964. Vectors of sub-periodic Bancroftian filariasis in the Samoa-Tonga area. — *Nature*, 201: 105-106.
- Report Commission on Enzymes of the International Union of Biochemistry, Pergamon Press, Oxford, 1961.
- ROSEN, L. 1954. Observations on *Dirofilaria immitis* in French Oceania. — *Ann. trop. Med. Parasitol.*, 48: 318-328.
- ROSEN, L. 1955. Observations on the epidemiology of human filariasis in French Oceania. — *Am. J. Hyg.*, 61: 219-248.
- ROSEN, L., ROZEBOOM, L.E., SWEET, B.H. & SABIN, A. 1954. Transmission of dengue by *Aedes polynesiensis* Marks. — *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 3: 878-882.
- ROZEBOOM, L.E. & GILFORD, B. 1954. The genetic relationships of *Aedes pseudoscutellaris* Theobald and *A. polynesiensis* Marks (Diptera: Culicidae). — *Am. J. Hyg.*, 60: 117-134.
- ROZEBOOM, L.E., ROSEN, L. & IKEDA, J. 1973. Observations on oviposition by *Aedes (S.) albopictus* Skuse and *A. (S.) polynesiensis* Marks in nature. — *J. med. Entomol.*, 10: 397-399.

- SACKTOR, B. & COCHRAN, D.G. 1957. Dephosphorylation of nucleotides by insect flight muscle. — *J. biol. Chem.*, **226**: 241-254.
- SACKTOR, B. & DICK, A. 1962. Pathways of hydrogen transport in the oxidation of extramitochondrial reduced diphosphopyridine nucleotide in flight muscle. — *J. biol. Chem.*, **237**: 3259-3263.
- SAPERO, J.J. & BUTLER, F.A. 1945. Highlights on epidemic diseases occurring in military forces in the early phases of the war in the South Pacific. — *J. Am. med. Ass.*, **127**: 502-506.
- SAYRE, F.W. & HILL, Br. 1957. Fractionation of serum lactic dehydrogenase by salt concentration gradient elution and paper electrophoresis. — *Proc. Soc. exp. Biol.* (New York), **96**: 695-697.
- SCHWARTZ, D. 1960. Genetic studies on mutant enzymes in maize: synthesis of hybrid enzymes by heterozygotes. — *Proc. nation. Acad. Sci.*, **46**: 1210-1215.
- SCOTT, J.A. & MCCLELLAND, G.A.H. 1975. Electrophoretic differences between sympatric ecotypes. — *Nature*, **256**: 405-406.
- SELANDER, R.K., SMITH, M.H., YANG, S.Y., JOHNSON, W.E. & GENTRY, J.B. 1971. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the old-field mouse (*Peromyscus polionotus*). — *Studies in Genetics*, Univ. Texas Publ. N° 7103, 49-90.
- SILBERSTEIN, A.J. 1978. Génétique formelle d'un locus d'isoenzymes d'estérase chez *Aedes polynesiensis* Marks. — *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, **58**: 53-58.
- SILBERSTEIN, A.J., PICHON, G., RIVIÈRE, F. & FAARUIA, M. 1978a. Variations géographiques d'isoenzymes d'estérase chez *Aedes polynesiensis* Marks. — *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, **58**: 321-331.
- SILBERSTEIN, A.J., PICHON, G., RIVIÈRE, F. & FAARUIA, M. 1978b. Mutants isoenzymatiques de l' α -glycérophosphate déshydrogénase chez *Aedes polynesiensis* Marks. — *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. Parasitol.*, **16**.
- SILBERSTEIN, A.J., FAIN, A. & HERIN, A. 1979. Esterase isoenzyme patterns of some astigmatic mites. — *Int. J. Acar.*, **5**: 1-4.
- SIMON, J.P. 1969. Esterase isozymes in the mosquito *Culex pipiens fatigans*. Developmental and genetic variation. — *Ann. entom. Soc. Am.*, **62**: 1307-1311.
- SIMMONS, J.S., ST. JOHN, J.H. & REYNOLDS, F.H.K. 1930. Transmission of dengue fever by *Aedes albopictus* Skuse. — *Philippine J. Sci.*, **41**: 215-231.
- SKATTOWE, A.J.F. 1890. Dengue fever in the Fiji Islands. — *Brit. med. J.*, **1**: 1485.
- SMITHIES, O. 1955. Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults. — *Biochem. J.*, **61**: 629-641.
- SNIJDERS, E.P., DINGER, J.E. & SCHUFFNER, W. 1931. On the transmission of dengue in Sumatra. — *Am. J. trop. Med.*, **11**: 171-197.
- STONE, A. & ROSEN, L. 1952. A new species of *Aedes* from Tahiti (Diptera, Culicidae). — *Proc. Hawaii entom. Soc.*, **14**: 425-426.
- SUZUKI, T. & SONE, F. 1974. The bionomics of filariasis vectors in Western Samoa. — *Japan. J. Sanitary Zool.*, **25**: 251.
- SYMES, C.B. 1955. Filarial infections in mosquitoes in Fiji. — *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **49**: 280-284.
- SYMES, C.B. 1960. Observations on the epidemiology of filariasis in Fiji. — *J. trop. Med. Hyg.*, **63**: 1-14, 31-44, 59-67.
- TESFA-MICHAEL TESFA-YOHANNES 1973. Genetic relationships of three strains of *Aedes (J.) polynesiensis* Marks. — *J. med. Entomol.*, **10**: 490-492.
- THORPE, V.G. 1896. *Filaria sanguinis hominis* in the South Sea Islands. — *Brit. Med. J.*, **2**: 922-924.
- TOWNSON, H. 1969a. Electrophoretic identification of strains of *Aedes aegypti*. — *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, **63**: 19-20.
- TOWNSON, H. 1969b. Esterase isozymes in individual *Aedes aegypti*. — *Ann. trop. Med. Parasitol.*, **63**: 413-418.
- TOWNSON, H. 1971. Studies of an esterase in *Aedes aegypti*. — *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **65**: 23-24.
- TOWNSON, H. 1972. Esterase polymorphism in *Aedes aegypti*: the genetics and Km values of electrophoretically heterogeneous forms. — *Ann. trop. Med. Parasit.*, **66**: 255-266.
- TOWNSON, H., MEREDITH, S.E.O. & THOMAS, K. 1977. Studies of enzymes in the *Aedes scutellaris* group. — *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **71**: 110.
- TREBATOSKI, A.M. & CRAIG, G.B. Jr. 1969. Genetics of an esterase in *Aedes aegypti*. — *Biochem. Genet.*, **3**: 383-392.

- TREBATUSKI, A.M. & HAYNES, J.F. 1969. Comparison of enzymes of twelve species of mosquitoes. — *Ann. entom. Soc. Am.*, **62**: 327-335.
- VAN DE HEY, R.C. & CRAIG, G.B. Jr. 1958. Multiple fertilization demonstrated in *Aedes aegypti*. — *Bull. entomol. Soc. Amer.*, **4**: 102.
- VAN SANDE, M. & KARCHER, D. 1960. Species differentiation of insects by hemolymph electrophoresis. — *Science*, **131**: 1103-1104.
- VESSEL, E.S. & BEARN, A.G. 1957. Localization of lactic dehydrogenase activity in serum fractions. — *Proc. Soc. exp. Biol.*, N.Y., **94**: 96-99.
- VILLARET, B. 1938. Climatologie des Établissements Français d'Océanie: Elephantiasis. — Vigot Éd., Paris, 23-28.
- WALLIS, R. 1954. A study of oviposition activity of mosquitoes. — *Am. J. Hyg.*, **60**: 135-168.
- WARBURG, O. & CHRISTIAN, W. 1943. Isolierung und Kristallisation des Gärungsferments Zymohexase. — *Biochem. Z.*, **314**: 149-176.
- WIELAND, T. & PFLEIDERER, G. 1957. Nachweis der Heterogenität von Milchsäuredehydrogenasen verschiedenen Ursprungs durch Trägerelektrophorese. — *Biochem. Z.*, **329**: 112-116.
- WILKINSON, J.H. 1970. Isoenzymes. — Chapman and Hall Ltd, London.
- WOODHILL, A.R. 1954. Experimental crossing of *Aedes (Stegomyia) pseudoscutellaris* Theobald and *Aedes (Stegomyia) polynesiensis* Marks (Diptera, Culicidae). — *Proc. Linn. Soc. N.S.W.*, **79**: 19-20.
- WRIGHT, T.R.F. 1961. The genetic control of an esterase in *Drosophila melanogaster*. — *Am. Zoologist.*, **1**: 476.
- WRIGHT, T.R.F. 1963. The genetics of an esterase in *Drosophila melanogaster*. — *Genetics*, **48**: 787-801.
- WRIGHT, T.R.F. & MACINTYRE, A.J. 1963. A homologous gene-enzyme system, Esterase 6, in *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*. — *Genetics*, **48**: 1717-1726.

Achévé d'imprimer le 14 octobre 1986
par l'imprimerie Duculot
Rue de la Posterie, B-5800 Gembloux

Gedrukt op 14 oktober 1986
door drukkerij Duculot
Rue de la Posterie, B-5800 Gembloux



