

**GÉNÉTIQUE.** — *Distinction par les isoenzymes entre deux espèces cryptiques au sein du taxon *Psychodopygus carrerai* (Diptera, Psychodidae).* Note de **François Le Pont, Thierry Caillard, Michel Tibayrenc, Jean-Pierre Dujardin et Philippe Desjeux**, présentée par Pierre-Paul Grassé.

Nous avons soumis à l'analyse isoenzymatique deux formes chromatiques sympatriques de *Psychodopygus carrerai*, espèce apparemment vectrice de leishmaniose.

Une enzyme, la PEP B, montre la présence vérifiée sur 102 spécimens d'allèles alternes sans image d'hétérozygotes. Ceci démontre que les deux formes chromatiques sont en fait deux espèces différentes.

10 autres enzymes (5 variables et 5 monomorphes) sont en cours d'étude.

**GENETICS.** — *Distinction by Means of Isozymes Between two Cryptic Species Within the Taxon *Psychodopygus carrerai* (Diptera, Psychodidae).*

*We have studied by means of isozyme electrophoresis two sympatric, chromatic forms of *Psychodopygus carrerai*, which is apparently a vector of leishmaniasis.*

*One enzyme, PEP B, exhibits the presence (verified with 102 specimens) of alternate alleles without any heterozygous pattern. This shows that the two chromatic forms are actually two different species.*

*We are at present studying 10 other enzymes (5 variable and 5 monomorphic ones).*

*Psychodopygus carrerai* [1] est un phlébotome anthropophile vivant en forêt subtropicale humide au-dessous de 1 000 m d'altitude. Au cours d'une prospection dans les confins sub-andins près de Yucumo (Bolivie, Département du Béni, altitude 200 m), les dissections ont révélé, en compagnie de la forme habituelle de *Psychodopygus carrerai*, des femelles ayant un appareil génital similaire et une coloration générale semblable, mais dont le mésonotum était marron clair (la forme habituelle a un mésonotum totalement dépigmenté). Cette forme chromatique est relativement abondante, et nous avons pu également capturer quelques mâles présentant les mêmes particularités pigmentaires.

*Psychodopygus carrerai* semble avoir un intérêt épidémiologique. En effet, nous avons isolé de cette espèce (Le Pont et Desjeux, données non publiées) une souche de *Leishmania* en cours d'identification. C'est pourquoi nous avons jugé utile d'éclaircir les relations taxonomiques entre ces deux populations sympatriques par l'analyse isoenzymatique.

Les spécimens, conservés dans l'azote liquide, ont été broyés individuellement dans 10 µl de stabilisateur d'enzymes [2] et ont été soumis à l'électrophorèse sur acétate de cellulose (matériel Helena). Les conditions de révélation pour les 11 enzymes utilisées sont détaillées dans le tableau. Les deux formes chromatiques ont été déposées en alternance pour la migration.

Une enzyme, la PEP B, donne avec les spécimens déposés en alternance une image typique d'allèles alternes (*photographie*), sans aucun hétérozygote. Ceci a été vérifié sur 102 spécimens. Ce résultat, obtenu sur deux populations sympatriques, est une preuve absolue d'isolement génétique, autrement dit de spéciation. Les deux allèles sont diagnostiques [3] pour les deux formes chromatiques, l'allèle de la forme habituelle étant plus rapide que celui de la forme nouvelle.

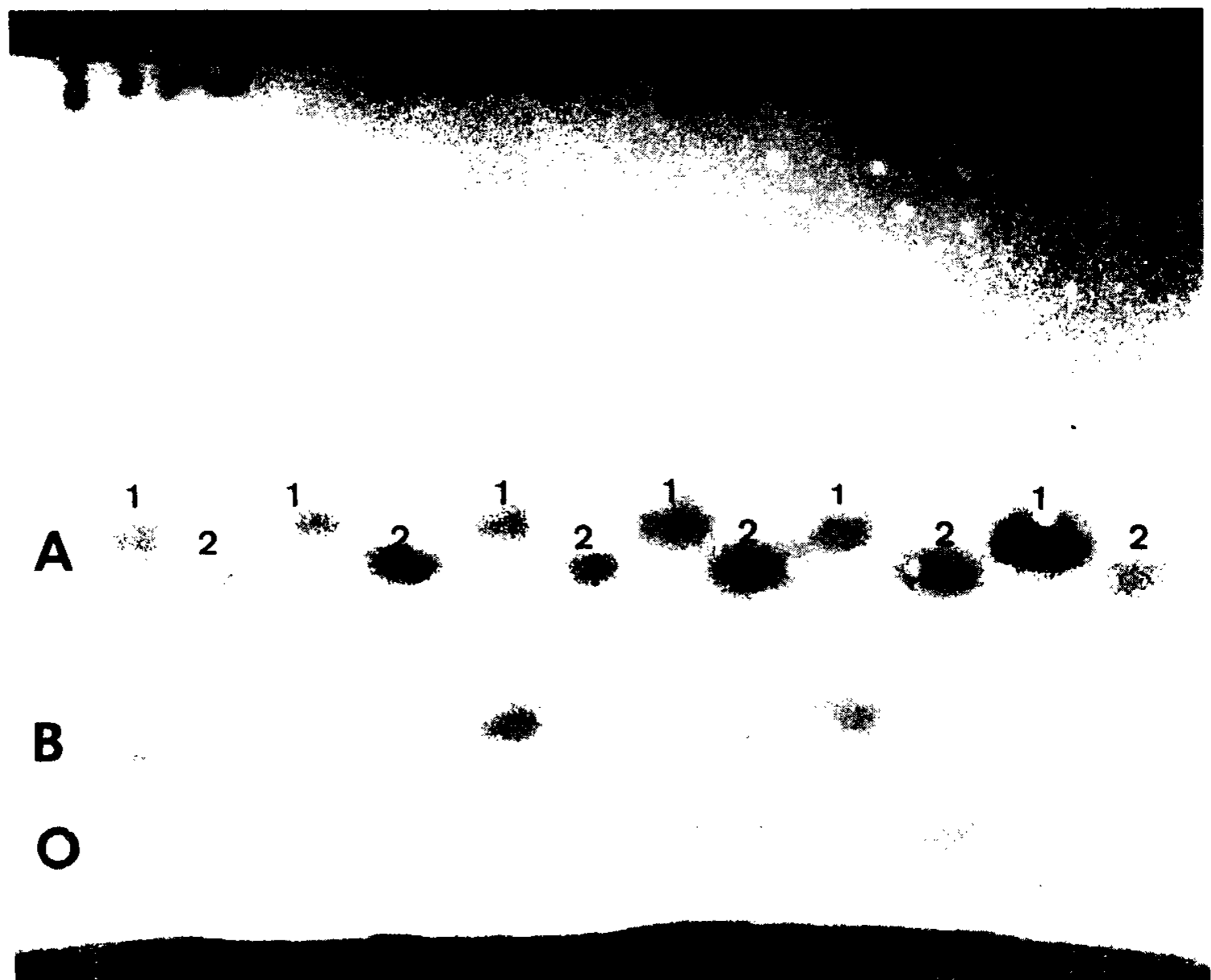
Deux autres enzymes, la ME et la XDH, indiqueraient le même type de différence entre les deux espèces cryptiques, mais ce résultat a besoin d'être confirmé sur un plus grand nombre d'individus.

Trois autres enzymes montrent une variabilité, mais ne permettent pas de différencier les deux espèces, du fait de la présence d'allèles communs. Ce sont : GPI, MDH et PGM. La présence d'hétérozygotes permet d'attribuer à la PGM une structure monomérique (hétérozygote à deux bandes) et à la GPI et la MDH, une structure dimérique (hétérozygote à trois bandes).

Enfin, cinq enzymes sont monomorphes et présentent les mêmes allèles pour les deux espèces. Ce sont : ICD, 6PG, G6P, AK et  $\alpha$ GDH. L'AK montre deux bandes bien distinctes l'une de l'autre, sans doute imputables à l'action de deux loci.

A notre connaissance, cette étude est la première à démontrer, par les isoenzymes, un cas indubitable de spéciation cryptique chez les *phlebotominae*. D'autres études isoenzymatiques ([4], [5], [6]) ont déjà été faites dans cette sous-famille, mais aucune n'a fourni de résultat taxonomique aussi net.

Des manipulations complémentaires sont en cours pour estimer, chez les deux espèces, les différents paramètres de génétique des populations et pour calculer entre elles des distances génétiques.



Photographie de la PEP B. A = locus étudié; B = autre locus, faiblement révélé, non utilisé; O = origine. Les spécimens des deux formes chromatiques sont disposés en alternance (1 = forme habituelle; 2 = forme nouvelle). On voit clairement la présence d'allèles alternes sans images d'hétérozygotes.

Photograph of PEP B. A = studied locus; B = other locus, weakly stained, non used; O = origin. Specimens of the two chromatic forms are disposed alternately (1 = usual form; 2 = new form). One can see clearly the presence of alternate alleles without heterozygous pattern.

TABLEAU

Conditions techniques d'électrophorèse. Les numéros entre parenthèses renvoient aux références bibliographiques. Le tampon d'imbibition est le tampon de migration utilisé aux dilutions indiquées.

*Electrophoresis recipes. Numbers in brackets refer to bibliography. Membrane buffer is the same than cell buffer, diluted as indicated.*

| Enzyme                                    | Solution de révélation | Tampon de migration | Dilution du tampon d'imbibition | Voltage/ temps |
|---|------------------------|---------------------|---------------------------------|----------------|
| PEP B (E.C.3.4.11) <sup>a</sup> . . . . . | (6)                    | (6)                 | 1/4                             | 200 V/20 mn    |
| ME (E.C.1.1.1.40). . . . .                | (6)                    | n° 1 de (9)         | 1/4,5                           | 200 V/20 mn    |
| XDH (E.C.1.2.1.37). . . . .               | (8)                    | n° 2 de (7)         | 1/2                             | 200 V/20 mn    |
| PGM (E.C.2.7.5.1). . . . .                | (6)                    | n° 2 de (7)         | 1/15                            | 200 V/20 mn    |
| PGI (E.C.5.3.1.9). . . . .                | (6)                    | (6)                 | 1/10                            | 200 V/20 mn    |
| MDH (E.C.1.1.1.37). . . . .               | (6)                    | n° 2 de (7)         | 1/15                            | 200 V/20 mn    |
| ICD (E.C.1.1.1.42). . . . .               | (6)                    | (6)                 | 1/4                             | 200 V/20 mn    |
| 6PG (E.C.1.1.1.44). . . . .               | (6)                    | (6)                 | 1/4                             | 200 V/20 mn    |
| G6P (E.C.1.1.1.49). . . . .               | (6)                    | (6)                 | 1/1                             | 200 V/20 mn    |
| αGDH (E.C.1.1.1.8). . . . .               | (8)                    | n° 1 de (9)         | 1/4,5                           | 200 V/20 mn    |
| AK (E.C.2.7.4.3). . . . .                 | (7)                    | (7)                 | 1/3                             | 150 V/15 mn    |

(<sup>a</sup>) Substrat : L-leucyl-L-alanine.

Par ailleurs, une étude comparative morphologique et morphométrique portant sur les deux espèces est en cours, ce qui nous permettra de proposer une description complète de l'espèce nouvellement identifiée.

Cette étude a pu être réalisée grâce à une subvention du Ministère de l'Industrie et de la Recherche (n° 83/L-1223) et un grant de l'O.M.S. (n° 820301).

Remise le 8 octobre 1984.

#### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] M. P. BARRETTO, *Anais Fac. Med. Univ. S. Paulo*, 22, 1946, p. 279-283.
- [2] D. G. GODFREY et V. KILGOUR, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 70, 1976, p. 219-224.
- [3] F. J. AYALA et J. R. POWELL, *Proc. Natl. Acad. Sc. U.S.A.*, 69, 1972, p. 1094-1096.
- [4] M. A. MILES et R. D. WARD, *Ann. trop. Med. Parasitol.*, 72, 1978, p. 398-400.
- [5] M. TIBAYRENC, M. L. CARIU, B. CARNEAU et F. X. PAJOT, *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. Parasitol.*, 18, 1980, p. 67-70.
- [6] R. D. WARD, N. PASTEUR et J. A. RIOUX, *Ann. trop. Med. Parasitol.*, 75, 1981, p. 235-245.
- [7] M. TIBAYRENC et D. LE RAY, *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1984 (sous presse).
- [8] R. D. KREUTZER, M. E. SEMKO, L. D. HENDRICKS et N. WRIGHT, *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 32, 1983, p. 703-715.
- [9] R. D. KREUTZER et P. GALINDO, *Mosq. News*, 40, 1980, p. 605-613.
- [10] C. R. SHAW et R. PRASAD, *Biochem. Genet.*, 4, 1970, p. 297-320.

F. L. P. et M. T. : O.R.S.T.O.M., I.B.B.A., Embajada de Francia, Casilla 824, La Paz, Bolivia;

T. C. : I.B.B.A., Embajada de Francia, Casilla 824, La Paz, Bolivia;

J.-P. D. : I.B.B.A., et Institut de Médecine tropicale Prince-Léopold, 155, Nationalestraat, B-2000 Antwerpen, Belgique;

P. D. : I.B.B.A., et Institut Pasteur, 28, rue du Docteur-Roux, 75724 Paris Cedex 15.