

PREMIÈRE MENTION DE *PHLEBOTOMUS* À MADAGASCAR (DIPTERA : PSYCHODIDAE). DESCRIPTION DE *PHLEBOTOMUS (ANAPHLEBOTOMUS) FERTEI* N. SP. ET DE *PHLEBOTOMUS (ANAPHLEBOTOMUS) HUBERTI* N. SP.

DEPAQUIT J.*, LÉGER N.** & ROBERT V.***

Summary: FIRST RECORD OF *PHLEBOTOMUS* FROM MADAGASCAR (DIPTERA: PSYCHODIDAE). DESCRIPTION OF *PHLEBOTOMUS (ANAPHLEBOTOMUS) FERTEI* N. SP. AND *PHLEBOTOMUS (ANAPHLEBOTOMUS) HUBERTI* N. SP.

First record of Phlebotomine sandflies belonging to the genus *Phlebotomus* from Madagascar. Description of two new species: *Phlebotomus (Anaphlebotomus) fertei* n. sp. from three males and *Phlebotomus (Anaphlebotomus) huberti* n. sp. from two females. Their belonging to the subgenus *Anaphlebotomus* is supported by several characters. Male have four spines on the style, a coxite without basal tubercle, a paramere with two branches, one to three antero-inferior setae on the mesanepisternum. Female, closely related to the Asiatic species of the same subgenus, has a characteristic pharyngeal armature, about ten cibarial teeth, and annealing spermathecae with long ducts including a short basal common part. These two taxa differ by variation in the second internal transcribed spacer (ITS2) of the ribosomal DNA (rDNA). At the present time, the subgenus *Anaphlebotomus* includes six species [excluding *P. fortunatarum* from it], completing the known species from Africa (*P. rodhaini* and *P. rousetus*) and from Asia (*P. stantoni* and *P. colabaensis*).

KEY WORDS: phlebotomine sandflies, new species, Madagascar, molecular biology, ITS2, taxonomy.

Résumé :

Deux nouvelles espèces de phlébotomes sont décrites de Madagascar : *Phlebotomus (Anaphlebotomus) fertei* n. sp. à partir de trois mâles et *Phlebotomus (Anaphlebotomus) huberti* n. sp. à partir de deux femelles. Leur rattachement au sous-genre *Anaphlebotomus* repose chez le mâle sur la présence de quatre épines sur le style, l'absence de lobe basal sur le coxite, un paramère bilobé, la présence de soies antéro-inférieures sur le mésanépistème et, chez la femelle, proche des espèces asiatiques du sous-genre, de l'ornementation du pharynx et du cibarium et de la présence de spermatheques annelées avec un conduit commun. Une importante différence de taille du second espace interne transcrit (ITS2) de l'ADN ribosomique nous a amenés à décrire le mâle et la femelle sous deux binômes différents. Ces deux espèces sont les deux premières du genre *Phlebotomus* observées à Madagascar. Elles portent à six le nombre de taxons du sous-genre *Anaphlebotomus* (si on en exclut *P. fortunatarum*) et s'ajoutent aux espèces connues : *P. rodhaini*, *P. rousetus*, *P. stantoni* et *P. colabaensis*.

MOTS CLÉS : phlébotomes, espèces nouvelles, Madagascar, biologie moléculaire, ITS2, taxinomie.

INTRODUCTION

En 1978, Léger et Rodhain décrivaient de Madagascar un phlébotome d'affinités incertaines, *Sergentomyia berentiensis*, qui venait s'ajouter aux deux espèces de *Grassomyia*, *G. squamipleuris* et *G. madagascariensis*, seuls phlébotomes répertoriés jusqu'alors dans l'île (Léger *et al.*, 1978).

De récentes captures effectuées par l'un d'entre nous (V.R.) dans l'ouest du pays prouvent que la faune phlébotomienne y est plus diversifiée qu'on ne le croyait. Outre *S. berentiensis* et *G. madagascariensis*, plusieurs *Sergentomyia* (actuellement à l'étude) et deux *Phle-*

botomus ont été individualisés. C'est la description de ces dernières espèces, nouvelles pour la science, qui fait l'objet de ce travail.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les phlébotomes étudiés (trois mâles et deux femelles) proviennent d'Androdroka, localité située à 2,5 kilomètres au nord-est de Bekopaka, parc national de Bemaraha, province de Mahajunga, Madagascar. Altitude : 100 mètres. Coordonnées géographiques : 19° 07, 9' S ; 44° 48, 5' E. Ils proviennent de la zone des Tsingy, constituée d'un plateau calcaire à faciès karstique, définissant un ensemble de nombreux canyons, fissures, falaises et crevasses au cœur d'une forêt relativement dense. Ces phlébotomes ont été capturés aux pièges lumineux miniatures de type CDC entre le 23 et le 28 novembre 2001. Ils ont été conservés dans l'alcool.

Les premiers segments abdominaux d'un mâle et d'une femelle ont été prélevés en vue d'études moléculaires

* Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Pharmacie, 51, rue Cognacq Jay, 51096 Reims Cedex, France.

** 63, avenue Pierre Sémart 94210 La Varenne Saint Hilaire, France.

*** IRD/Institut Pasteur de Madagascar, BP 1274, Antananarivo 101, Madagascar.

Correspondance : Jérôme Depaquit.

Tél. : 33 (0)3 26 91 37 23 – Fax : 33 (0)3 26 91 35 97.

E-mail : jerome.depaquit@univ-reims.fr

sur le second espace interne transcrit (ITS2) de l'ADN ribosomique (Depaquit *et al.*, 2000). Les autres parties du corps et les autres spécimens ont été traités durant six heures à la potasse à 10 %, rincés à l'eau distillée puis éclaircis plusieurs heures dans le liquide de Marc-André. Les trois mâles (holotype et paratypes) et une femelle ont été déshydratés puis montés définitivement dans le baume du Canada. Les spermathèques de la dernière femelle ont été disséquées et montées dans le liquide de Marc-André où elles ont été examinées et dessinées.

PHLEBOTOMUS FERTEI N. SP.

Genre *Phlebotomus* Rondani et Berté, *in* Rondani, 1840.
Sous-genre *Anaplebotomus* Theodor, 1948.
Espèce *Phlebotomus fertei* n. sp.

- Mâle (figures 1 et 2)

Trois exemplaires examinés.

Tête (figure 1)

Suture interoculaire incomplète.

Cibarium armé de quelques denticules à peine visibles, sans organisation particulière.

Armature pharyngienne constituée de petites dents rangées sur des lignes concentriques.

Formule palpale : 1, 4, 3, 2, 5. Épines de Newstead lancéolées.

Formule antennaire : 2/III-XV, avec des ascoïdes très longs, n'atteignant pas l'interligne articulaire suivant. A III = 394-454 µm. A IV = 160-188 µm. A V = 164-185 µm. A III > A IV + A V ;

Epipharynx = 273-303 µm. A III/E = 1,44-1,51.

Thorax

Mésanépisternie portant une à trois soies antéro-inférieures.

Aile (figure 2A). Longueur = 2 140-2 250 µm ; largeur = 570-630 µm ; α = 500-630 µm ; β = 230-270 µm ; indice alaire = 2-2,45 ; δ = 170-250 µm ; γ = + 170-220 µm ; Π = + 70-110 µm. Largeur de l'aile/ γ = 2,8-3,5.

Armature génitale (figure 2)

Coxite : longueur = 235-250 µm, portant 10 à 15 longues soies éparses sur la face interne.

Style : longueur = 135-145 µm, étroit, portant quatre soies : deux terminales et deux médianes légèrement décalées l'une par rapport à l'autre.

Paramère : bifurqué avec un lobe aminci et fortement sclérifié dans sa partie distale, nu (à l'exception d'un groupe de deux à quatre soies au niveau de l'élargissement), l'autre légèrement plus long, non sclérifié et garni de courtes soies drues.

Lobe latéral : longueur = 250-270 µm, égal ou légèrement plus long que le coxite.

Valves péniennes : longueur = 90-120 µm, droites, tronquées à leur extrémité distale, pourvues sur leur face

externe, le long du tiers proximal d'une crête fortement sclérifiée qui se termine en pointe.

Filaments génitaux : longueur = 600-640 µm, se rétrécissant de manière caractéristique au niveau de leur tiers distal (longueur totale des filaments/longueur de la partie étroite = 3). Longueur de la pompe génitale = 90-120 µm. Rapport longueur des filaments génitaux sur pompe génitale = 5,1-6,5.

Numéro d'accension Genbank de la séquence de l'ITS2 : AF547985. (origine : paratype).

- Femelle : inconnue.

PHLEBOTOMUS HUBERTI N. SP.

Genre *Phlebotomus* Rondani et Berté, *in* Rondani, 1840.
Sous-genre *Anaplebotomus* Theodor, 1948.
Espèce *Phlebotomus huberti* n. sp.

- Mâle : inconnu.

- Femelle (figure 3)

Deux exemplaires examinés.

Tête

Suture interoculaire incomplète.

Cibarium armé d'une dizaine de petites dents à peine visibles disposées en avant d'une petite proéminence arrondie.

Armature pharyngienne formée de plis concentriques, denticulés. Quelques dents triangulaires de plus grande taille sont présentes à l'avant.

Formule palpale : 1, 2, 3, 4, 5. Épines de Newstead spatulées.

Formule antennaire : 2/III-XV, avec des ascoïdes n'atteignant pas l'interligne articulaire suivant au niveau des segments AIII à AXII.

AIII = 260 µm. AIII = AIV = 125 µm. AIII > A IV + AV ; Epipharynx = 180 à 200 µm. AIII/E = 1,44.

Thorax

Mésanépisternie portant un groupe de 4 soies antéro-inférieures.

Aile. Longueur = 1730 µm ; largeur = 450 µm ; α = 370 µm ; β = 330 µm ; indice alaire = 1,12 ; δ = 220 µm ; γ = + 250 µm ; Π = + 120 µm. Largeur de l'aile/ γ = 1,83.

Spermathèques

Corps trapu formé d'une dizaine d'anneaux.

Tête arrondie, légèrement invaginée dans le dernier anneau.

Conduits individuels très longs (470 µm) se réunissant en un court conduit commun.

Numéro d'accension Genbank de la séquence de l'ITS2 : AF547986. (origine : paratype).

- Matériel type

Holotypes et paratypes, V. Robert *rec.*, 25 novembre 2001.

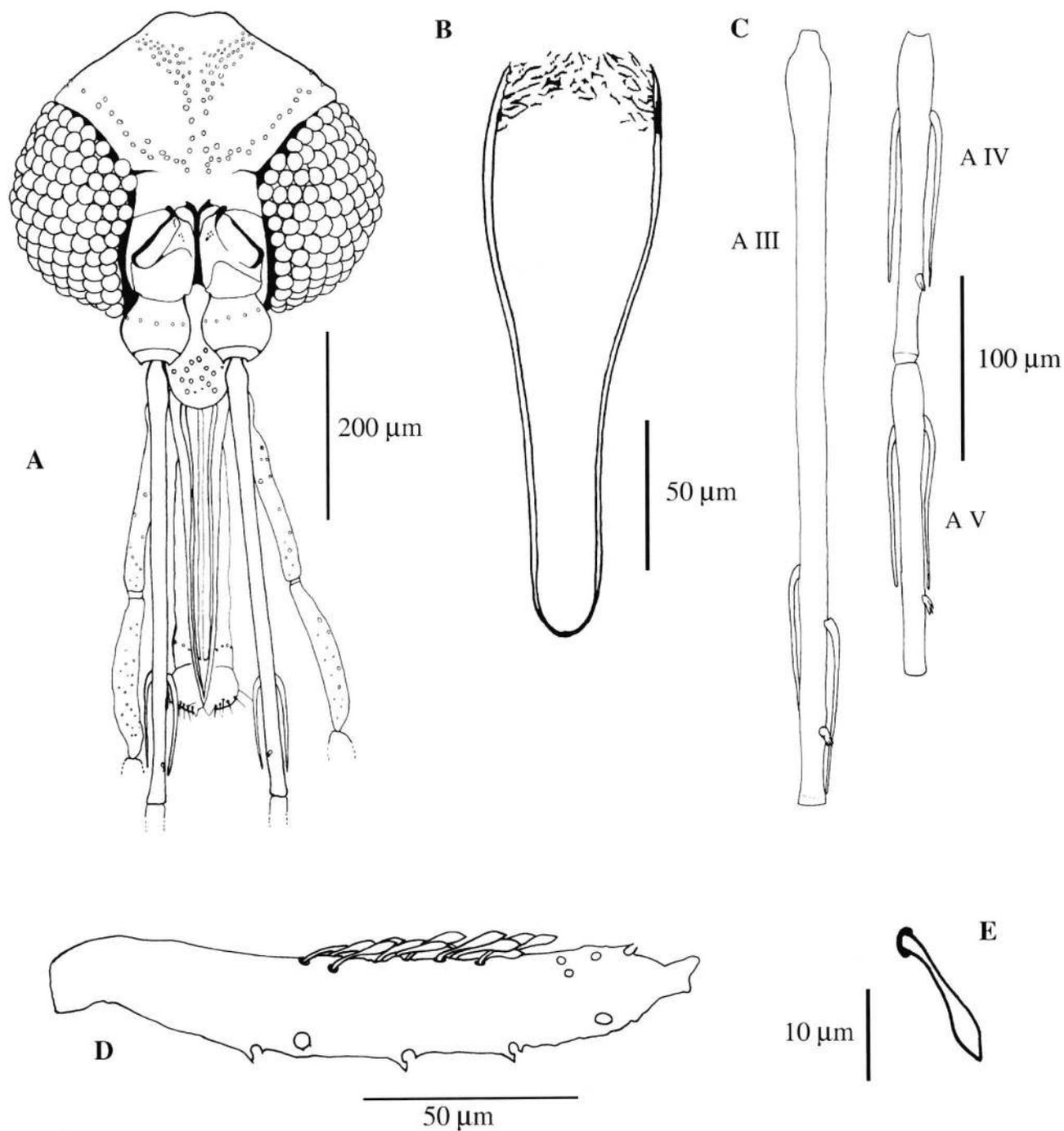


Fig. 1. – *P. fertei* mâle. Parties céphaliques. A : tête ; B : pharynx ; C : segments antennaires III, IV et V ; D : troisième segment palpaire ; E : épine de Newstead.

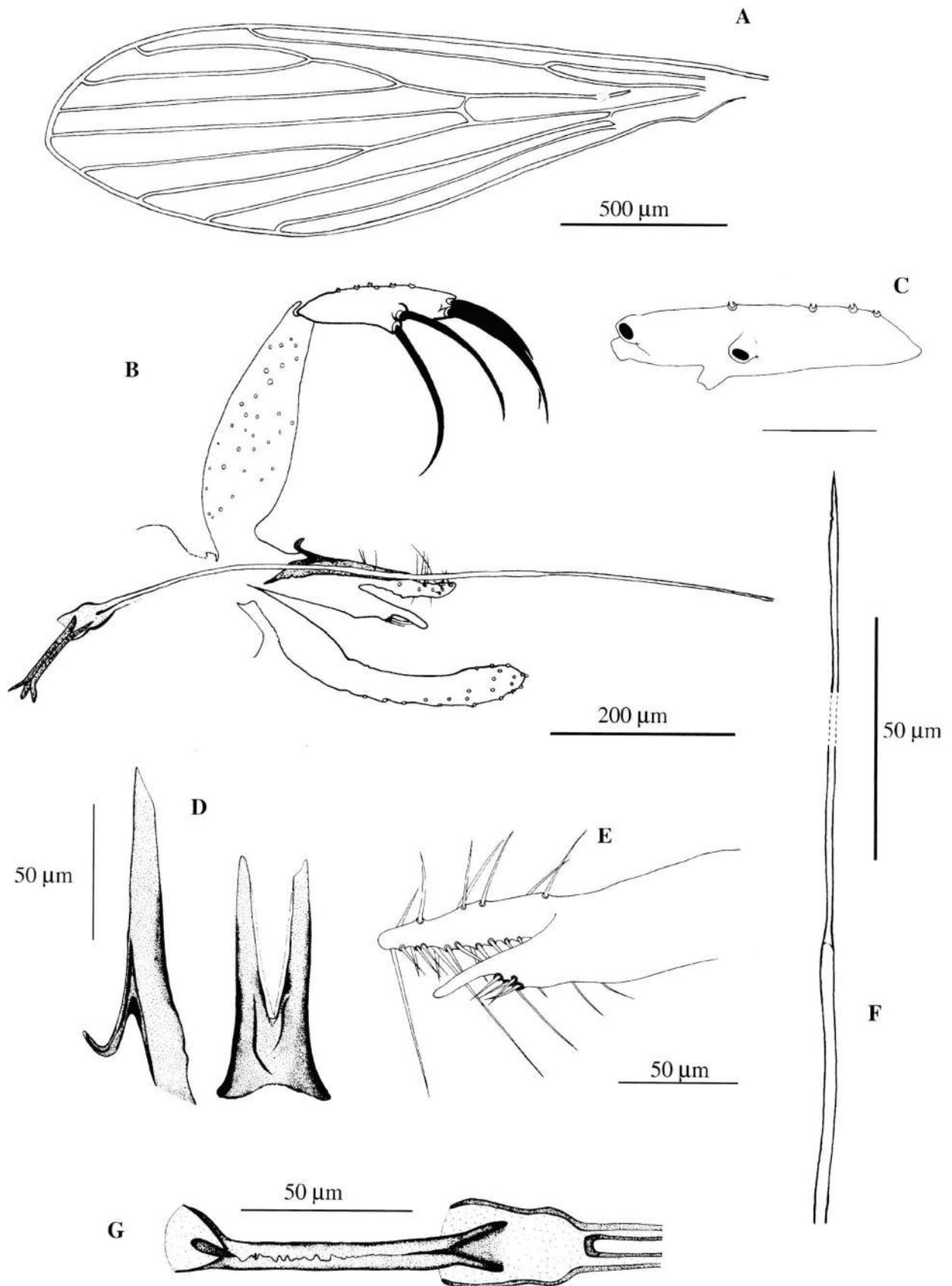


Fig. 2. – *P. fetei* mâle. A : aile ; B : génitalia ; C : style ; D : divers aspects de l'édéage (vues latérale et ventrale) ; E : paramère ; F : filament génital ; G : pompe génitale.

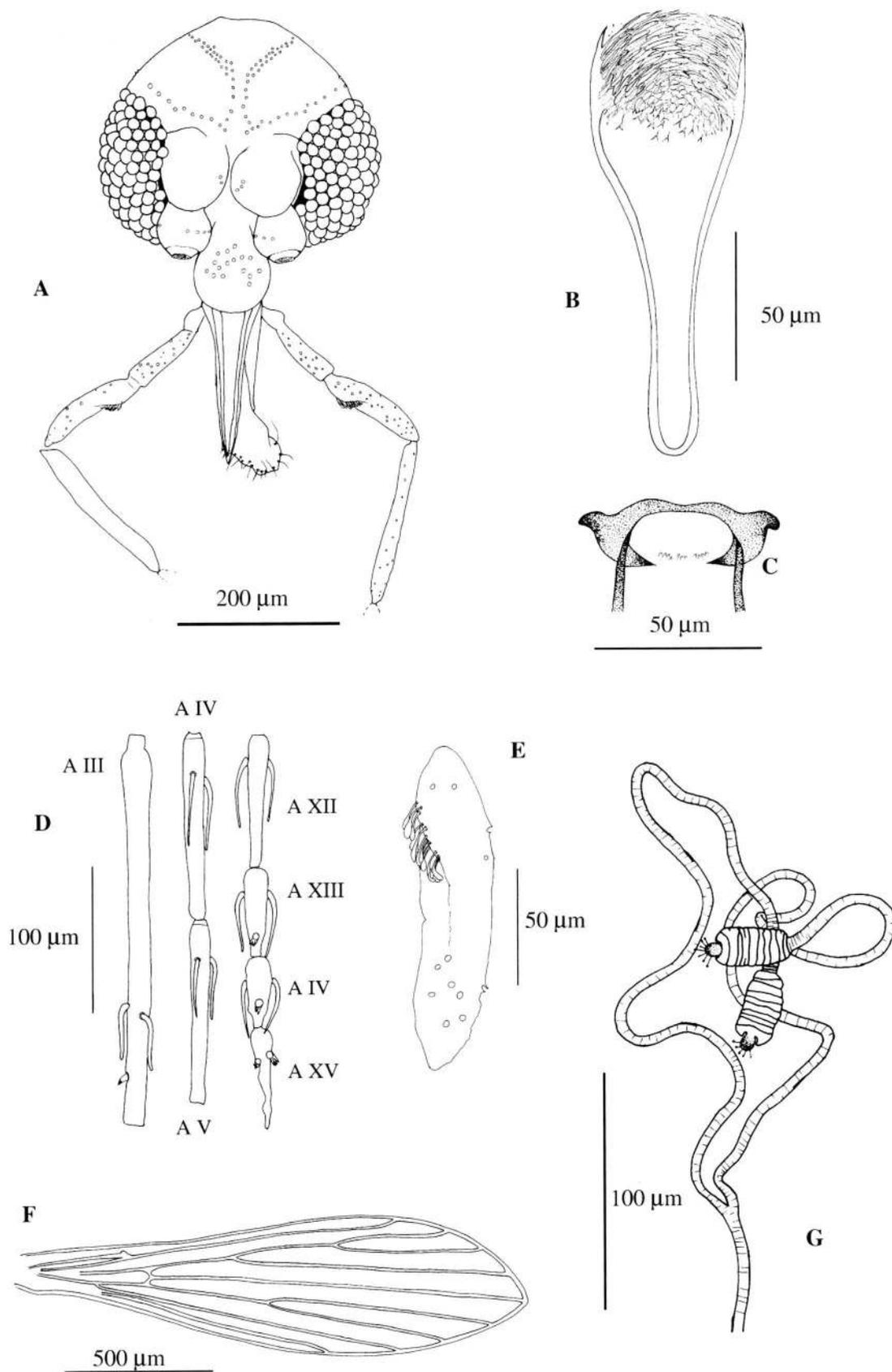


Fig. 3. – *P. buberti* femelle. A : tête ; B : pharynx ; C : cibarium ; D : segments antennaires III, IV, V, XII, XIII, XIV et XV ; E : troisième segment palpaire ; F : aile ; G : spermatheques (paratype).

Locus classicus : Androdroka, localité située à 2,5 kilomètres au nord-est de Bekopaka, parc national de Bemaraha, province de Mahajunga, Madagascar. Altitude : 100 mètres. Coordonnées : 19° 07, 9' S ; 44° 48, 5' E. L'holotype et un paratype de chacun des taxons décrits (une femelle de *P. huberti* dépourvue de spermathèques) sont déposés au Muséum national d'Histoire naturelle de Paris. Un paratype mâle est déposé à l'Institut Pasteur de Madagascar.

Derivatio nominis : Les deux espèces sont dédiées à notre collègue et ami, Hubert Ferté.

DISCUSSION

Les caractères suivants permettent d'inclure les deux espèces malgaches dans le sous-genre *Anapblebotomus* Theodor, 1948 :

- présence de soies antéro-inférieures sur le mésanépistérne,
- style porteur de quatre épines,
- absence de lobe basal sur le coxite,
- paramère bilobé,
- armature pharyngienne de la femelle caractéristique.

Il était initialement envisageable que le mâle de *P. fertei* et la femelle de *P. huberti* ici décrits, capturés le même jour dans le même piège, relèvent de la même espèce. Répondant tous deux aux critères d'inclusion dans le sous-genre *Anapblebotomus*, nous avons pensé les décrire sous le même binôme. Or, le séquençage de l'ITS2 de deux spécimens a révélé une différence importante : 508 paires de bases (pb) pour *P. fertei* contre 600 pour *P. huberti* ne pouvant être imputée à

une quelconque variabilité intraspécifique. Dans une récente étude, Depaquit *et al.* (2002) mettent en évidence une variabilité intraspécifique (480 à 516 pb) chez des populations géographiquement éloignées de *P. sergenti*. En revanche, ils n'observent jamais de variabilité intrapopulationnelle ou relative au sexe des spécimens étudiés. Dans une étude concernant les *Larroussi*, Di Muccio *et al.* (2000) considèrent négligeables les variations intraspécifiques de l'ITS2. Tous ces arguments impliquent que la différence observée chez nos spécimens d'*Anapblebotomus* est de niveau spécifique.

Si on en exclut *P. fortunatarum* qui à notre avis ne fait pas partie des *Anapblebotomus*, ce sous-genre renferme actuellement six espèces : quatre africaines et deux asiatiques suivant l'avis de Lewis (1987), qui considère *P. hoepplii* Tang et Maa comme un synonyme junior de *P. stantoni*.

Le mâle de *P. fertei* est proche de celui de *P. rodbaini* Parrot, 1930, espèce africaine assez largement répartie mais il s'en distingue par :

- la disposition terminale des deux épines distales du style qui, chez *P. rodbaini*, sont terminale et subterminale,
- la morphologie du paramère,
- la longueur des valves péniennes et la présence à la base d'une épine soudée fortement sclérifiée,
- le rétrécissement des filaments génitaux.

En outre, il se distingue de *P. rousettus* par la présence d'un paramère bilobé et l'implantation au même niveau des deux épines distales, et de *P. stantoni* par la disposition des soies sur le coxite, regroupées en une touffe médiane chez *P. stantoni*, ainsi que par le rétré-

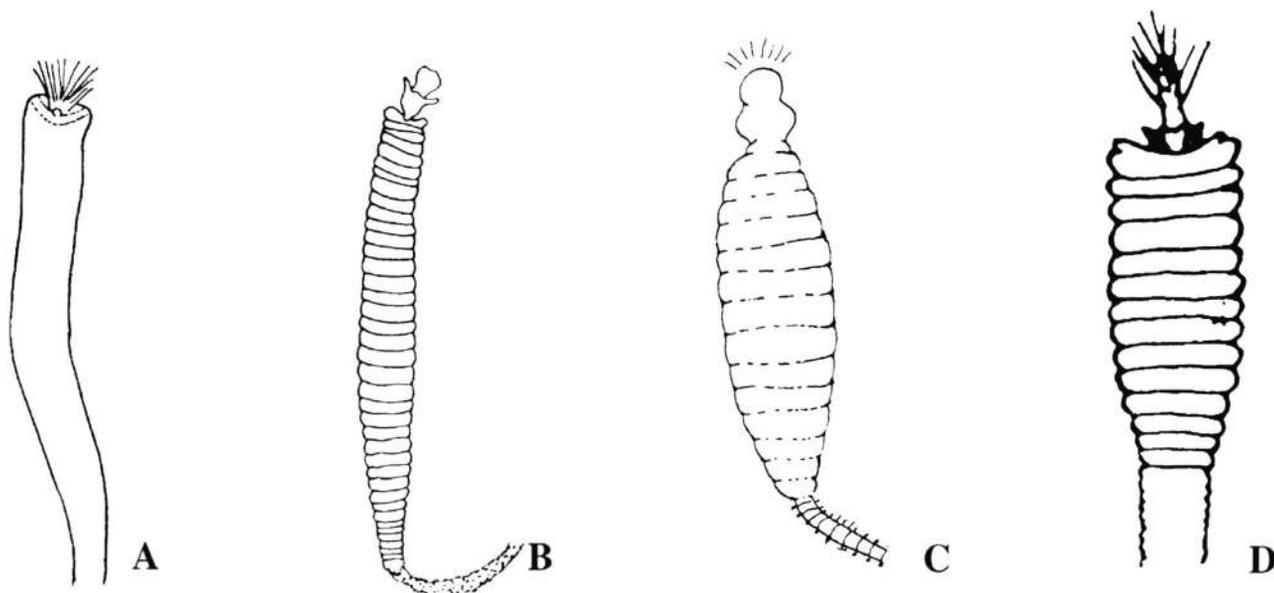


Fig. 4. – Spermathèques de : A : *P. rodbaini* (d'après Abonnenc, 1972) ; B : *P. rousettus* (d'après Davidson, 1981) ; C : *P. stantoni* (d'après Raynal, 1935) ; D : *P. colabaensis* (d'après Sinton, 1932).

cissement des filaments génitaux et par l'absence d'une longue épine totalement indépendante des valves péniennes.

La femelle de *P. huberti*, très différente de celle de *P. rodhaini*, se rapproche de celle de l'espèce asiatique *P. colabaensis* Young et Chalam, 1927 (Inde, Pakistan) avec laquelle elle partage une spermathèque annelée, des conduits individuels très longs et un court conduit commun, ainsi que la présence de très petites dents cibariales. Dans une revue, Sinton (1932) indique que les conduits de la spermathèque de *P. colabaensis* sont quatre fois plus longs que les corps, ce qui n'est pas le cas chez *P. huberti* chez lequel les conduits sont environ dix fois plus longs que les corps des spermathèques. Sinton (1932) représente le corps de la spermathèque de *P. colabaensis* qui présente une tête plus allongée que celle de *P. huberti* et entourée d'une collerette (figure 4) que nous n'avons pas observée chez l'espèce malgache.

La femelle de *P. huberti* ne possède pas les deux grandes dents cibariales caractéristiques de *P. stantoni*. Elle s'en distingue également par sa spermathèque qui possède un corps franchement annelé, une tête arrondie et un conduit commun court (figure 4).

Elle se distingue de celles de *P. rodhaini* et de *P. rousetus* par la morphologie de la spermathèque (figure 4). Les variabilités intraspécifiques n'ont pas été évaluées en raison de la faiblesse de l'échantillonnage.

Nous ne disposons d'aucune information sur la biologie de ces deux phlébotomes. Cependant, il est probable qu'ils ne soient pas anthropophiles car ils n'ont jamais piqué l'Homme malgré un séjour d'une semaine du récolteur dans la zone de collecte (riche en chauves-souris, rongeurs, lémurins et reptiles).

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Dr Steve Goodman (WWF Madagascar et Field Museum de Chicago) pour son soutien logistique sur le terrain. Ils sont aussi reconnaissants au Ministère des Eaux et Forêts de Madagascar et à l'Association Nationale pour la Gestion des Aires Protégées pour avoir accordé un permis de recherche dans le Parc National du Bemaraha. Le travail sur le terrain a bénéficié d'un financement de la Fondation Volkswagen, de l'Institut Pasteur de Madagascar et de l'IRD.

RÉFÉRENCES

- ARTEMIEV M. & NERONOV V. Distribution and ecology of sandflies of the world (genus *Phlebotomus*). Inst. Evol. Morph. Anim. Ecol. USSR., Moscou, 1984, 208 pages.
- DAVIDSON I.H. The subgenus *Anaplebotomus* of *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in southern Africa. *Journal of the entomological Society of south Africa*, 1981, 44, 259-264.
- DEPAQUIT J., FERTÉ H., LÉGER N., KILICK-KENDRICK R., RIOUX J.A., KILICK-KENDRICK M., HANAFI H.A. & GOBERT S. Molecular systematics of the Phlebotomine sandflies of the subgenus *Paraphlebotomus* (Psychodidae, Diptera, *Phlebotomus*) based on ITS 2 rDNA sequences. Hypotheses of dispersion and speciation. *Insect Molecular Biology*, 2000, 9, 293-300.
- DEPAQUIT J., FERTÉ H., LÉGER N., LEFRANC F., ALVES-PIRES C., HANAFI H., MAROLI M., MORILLAS-MARQUEZ F., RIOUX J.A., SVOBODOVA M. & VOLF P. ITS2 sequences heterogeneity in *Phlebotomus sergenti* and *Phlebotomus similis* (Diptera: Psychodidae): possible consequences in their ability to transmit *Leishmania tropica*. *International Journal for Parasitology*, 2002, 32, 1123-1131.
- DI MUCCIO T., MARINUCCI M., FRUSTERI L., MAROLI M., PESSON B. & GRAMICCIA M. Phylogenetic analysis of *Phlebotomus* species belonging to the subgenus *Larroussi* (Diptera, Psychodidae) by ITS2 rDNA sequences. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2000, 30, 387-393.
- LÉGER N. & RODHAIN F. *Sergentomyia berentiensis* n. sp. (Diptera : Psychodidae). Description à partir d'un exemplaire femelle récolté à Madagascar. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 1978, 71, 476-479.
- LÉGER N., RODHAIN F., COULANGES P., CLERC Y. & RANAIVOSATA J. Présence de phlébotomes anthropophiles à Madagascar. *Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar*, 1978, 47, 249-250.
- LEWIS D.J. Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) from the Oriental Region. *Systematic Entomology*, 1987, 12, 163-180.
- RAYNAL J. Contribution à l'étude des phlébotomes d'Indochine. Systématique des espèces de l'Indochine-nord. *Archives de l'Institut Pasteur d'Indochine*, 1935, 6, 235-311.
- SINTON J.A. Notes on some Indian species of the genus *Phlebotomus*. Part XXX. Diagnostic table for the females of the species recorded from India. *Indian Journal of Medical Research*, 1932, 20, 55-72.
- THEODOR O. Psychodidae-Phlebotominae. *Die Fliegen der Palearktischen Region*, 1958, 201, 1-55.

Reçu le 8 juin 2002

Accepté le 13 septembre 2002