# Description morphologique et moléculaire d'une nouvelle espèce de *Culicoides* (*Avaritia*) du Gabon (Diptera, Ceratopogonidae)

par Jean-Claude Delécolle\*, Christophe Paupy\*\*, \*\*\*, Nil Rahola\*\*, \*\*\* & Bruno Mathieu\*

\* Institut de Parasitologie et de Pathologie tropicale de Strasbourg (IPPTS), EA7292, Faculté de Médecine, 3 rue Koeberlé, F – 67000 Strasbourg <jean-claude.delecolle@unistra.fr>
\*\* IRD, Unité Mixte MIVEGEC (MIVEGEC (IRD 224 - CNRS 5290 - UM1 – UM2), Centre IRD de Montpellier,

911 avenue Agropolis, F – 34394 Montpellier cedex \*\*\* Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF), Franceville, BP 769, Gabon

Résumé. – Une description morphologique et moléculaire de Culicoides candolfii n. sp. est donnée, basée sur l'observation de quatre mâles originaires du Gabon (Afrique tropicale). La disposition des taches alaires, la répartition des différentes sensilles des antennes et la forme des palpes maxillaires nous conduisent à placer cette espèce dans le sous-genre Avaritia. Les génitalia présentent une morphologie unique au sein de l'ensemble des espèces du genre Culicoides, les apodèmes ventraux et dorsaux des basistyles étant complètement fusionnés avec les paramères. Il nous a donc semblé important de décrire cette espèce bien que les femelles demeurent encore inconnues.

Abstract. – Morphological and molecular description of a new species of *Culicoides (Avaritia)* from Gabon (Diptera, Ceratopogonidae). Morphological and molecular description of *Culicoides candolfii* n. sp. is carried out based on the observation of four males from Gabon (tropical Africa). The pattern of wing spots, the distribution of antennal sensilla and the shape of maxillary palps lead us to classify this species into the subgenus *Avaritia*. The morphological feature of the male genitalia described herein is unique within the whole genus *Culicoides*, the ventral and dorsal apodemes of basistyli being completely fused with the parameres. We feel important to describe here this species even though females remain unknown.

**Keywords**. – *Culicoides*, taxonomy, new species, Africa, barcoding.

Les espèces du genre *Culicoides* Latreille, 1809 ont été peu étudiées au Gabon. Actuellement, six espèces y sont signalées dont trois décrites de ce même pays (indiquées par \*) : *C. austeni* Carter, Ingram & Macfie, 1920, \**C. brosseti* Vattier & Adam, 1966, *C. brucei* Austen, 1909, *C. grahamii* Austen, 1909, \**C. jouberti* Huttel, Huttel & Verdier, 1953, \**C. tristanii* Huttel, Huttel & Verdier, 1953.

L'étude d'un petit lot de *Culicoides* originaires du Gabon, capturés dans le parc privé de La Lékédi, situé à Bakoumba dans la province du Haut-Ogooué, nous a permis de découvrir une nouvelle espèce que nous décrivons ci-dessous. Les insectes ont été collectés à l'aide d'un piège lumineux à lumière blanche (CDC miniature Light Trap, 6 volts) placé à 10 m de hauteur sous couvert forestier à proximité du lac Lékédi (1°45'54,99"S - 12°59'13,41"E).

#### Matériel et méthodes

**Préparation des spécimens**. – Les collectes d'insectes ont été autorisées par le Ministère de la Recherche Scientifique et du Développement Technologique du Gabon (autorisation n° AR0006/12/MENERSI/CENAREST/CG/CST/CSAR). Les spécimens ont été disséqués et montés en préparation microscopiques dans un mélange baume du Canada et alcool/phénol (Wirth & Marston, 1968). Deux thorax de mâles ont été isolés lors de la dissection et utilisés pour l'extraction d'ADN génomique à l'aide du kit DNeasy® tissue kit (Qiagen, Valencia, CA, États-Unis) suivant le protocole du fabricant. La région *barcode*, codant pour la cytochrome oxydase I (COI), de l'ADN mitochondrial (Hebert *et al.*, 2003) a été amplifiée à l'aide des

amorces C1J1718 (5'-GGAGGATTTGGAAATTGATTAGT-3') et C1N2191 (5'-CAGGTAAAATTAAAATATAAACTTCTGG-3') de DALLAS *et al.* (2003). Le volume réactionnel de 50 μL est composé comme suit : Tp10X, 3,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 250 μM de chaque dATP, dTTP, dCTP et dGTP, 1 μM de chaque amorce et 2,5 U de TaqDNA polymérase Hot Start (Qiagen, États-Unis). 5 μL de matrice ADN sont ajoutés et une amplification à l'aide d'un PCR amplificateur ABI-2700© (Applied Biosystems, Life technology, États-Unis) est lancée selon le programme suivant : 95°C pendant 15 min, 5 cycles [94°C, 40 s; 45°C, 40 s; 72°C, 1 min], suivis de 45 cycles [94°C, 40 s; 50°C, 40 s; 72°C, 1 min] et une élongation finale à 72°C pendant 7 min. Les produits PCR (10 μL) sont examinés par électrophorèse sur gel d'agarose 2% avec bromure d'éthidium. Les produits PCR positifs présentant une seule bande d'amplification à 523 paires de base (pb) sont envoyés à Eurofins MWG Opéron (Ebersberg, Allemagne) pour être purifiés et séquencés dans les deux directions. Pour chaque spécimen, les chromatogrammes *forward* et *reverse* sont assemblés et vérifiés manuellement à l'aide du logiciel Vector Nti Advance 11.5 (Invitrogen<sup>TM</sup>, USA).

Les séquences COI de l'holotype et d'un paratype sont déposées dans GenBank avec les numéros d'accession KC986403 et KC986404.

Mesures. – Toutes les dimensions, autres que la longueur totale de l'insecte, sont exprimées en micromètres, sans que cette unité de mesure soit nécessairement rappelée. Elles se rapportent respectivement à l'holotype suivies entre parenthèses des valeurs extrêmes relevées dans la mesure du possible sur les paratypes. Elles concernent dans l'ordre : la longueur des articles antennaires III-XV d'une des antennes ; la longueur des articles I + II et III à V d'un des palpes maxillaires ; la longueur d'une des ailes, de la costa et celle de la cubitale prises depuis l'arculus, la plus grande largeur de l'aile ; les longueurs respectives des fémurs, tibias et tarsomères des trois paires de pattes. L'indice antennaire (IA) indiqué est calculé en divisant la somme des longueurs des articles courts (III-XII) de l'antenne ; le rapport antennaire est calculé en divisant la longueur de l'article XIII par la longueur de l'article XII. Le rapport alaire (CR) est calculé en divisant la longueur de la costa par la longueur de l'aile.

#### DESCRIPTION DE L'ESPÈCE NOUVELLE

## Culicoides (Avaritia) candolfii n. sp. (fig. 1-7)

HOLOTYPE : &, Gabon, La Lékédi, mirador, P4, piège lumineux 13.XI.2010, n°3 (lame n°GALK10 / genbank n°KC986403). Déposé à l'Institut de Parasitologie et de Pathologie tropicale de Strasbourg (IPPTS), Faculté de Médecine, Université de Strasbourg.

Paratypes : 3 ex., *idem* holotype, respectivement numérotés n°1, n° 2 et n°4 (lame n°GALK11 / genbank n°KC986404) (IPPTS).

# *Description*. – Longueur totale approximative : 1,5 mm.

*Tête.* Yeux soudés non pubescents. Clypéus entièrement recouvert d'une fine pubescence et présentant latéralement de chaque côté deux soies fortes. Cibarium et pharynx postérieur sans ornementation.

Antennes. Scape et pédicelle d'un brun sombre; pédicelle avec une soie forte; articles III-XV d'un beige clair uniforme; article III à pédicule long; articles IV-XII de longueur sensiblement égale; articles XIII-XV longs et cylindriques, le dernier acuminé distalement. Soies formant le panache implantées en verticille médian jusqu'à l'article XII; article XIII avec deux sensilla chaetica, un fort implanté à la base, un second médiocre implanté nettement séparé du premier à la limite des deux tiers basaux; article XIV avec deux sensilla chaetica médiocres à la base; article XV avec un sensillum chaeticum subapical. Article III avec un sensillum trichodeum majeur; articles IV-IX avec deux sensilla trichodea majeurs et un mineur; articles X-XIII avec un sensillum mineur; articles XIII-XV avec des sensilla trichodea et basiconica épars. Présence de deux sensilla coeloconica sur l'article III et sur les articles XIII-XV. Longueur des articles antennaires: 83, 39, 39, 39, 39, 39, 39, 39, 37, 37; 101, 92, 115. Longueur totale d'une antenne: 738. Rapport XIII/XII: 2,72.

*Palpes maxillaires* (fig. 5) uniformément brun clair avec un très léger éclaircissement au niveau des articulations. L'article III, très légèrement renflé dans la partie distale de son bord interne, présente une petite fossette sensorielle circulaire remplie d'organes claviformes. Longueur des articles : 62, 55, 30, 25. Longueur totale : 172 (172 à 178).

Thorax. Non observé à l'état frais. Le mésonotum, d'un aspect brun sombre, présente dans la partie médiane de sa moitié antérieure deux grandes taches ovoïdes jaunâtres, légèrement accolées dans l'axe du corps et, dans la partie basale, de part et d'autre de la fossette préscutale, une petite tache claire; le scutellum brun, légèrement éclairci sur ses bords latéraux, porte deux soies fortes dans sa partie médiane; métanotum brun sombre uniforme.

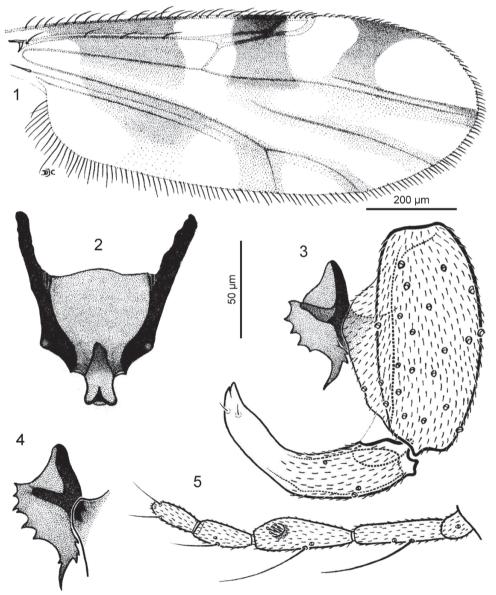


Fig. 1-5. – *Culicoides candolfii* n. sp., ♂. – 1, Aile de l'holotype. – 2, Édéage isolé de l'holotype. – 3, Basistyle, apodèmes et dististyle isolé d'un paratype. – 4, Apodèmes isolés d'un autre paratype. – 5, Palpe maxillaire en vue ventrale.

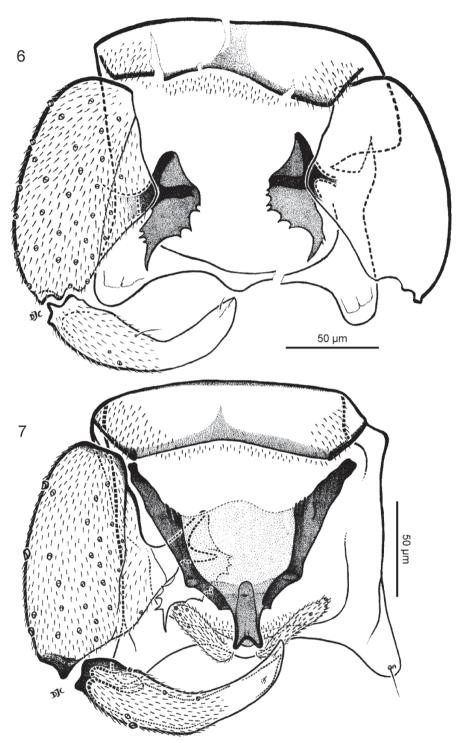


Fig. 6-7. – *Culicoides candolfii* n. sp.,  $\circlearrowleft$ . – 6, Pince génitale de l'holotype, en vue ventrale, sans l'édéage, les cerques ni le dististyle gauche. – 7, Pince génitale d'un paratype, en vue ventrale, sans le basistyle ni le dististyle gauche.

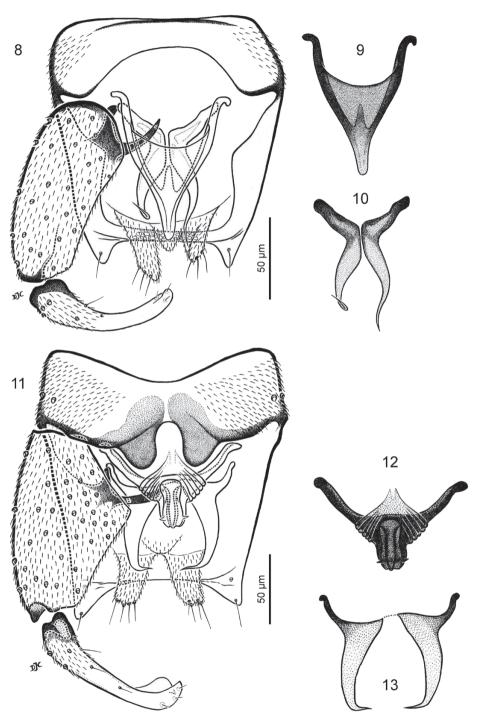


Fig. 8-13. – *Culicoides spp.* – 8-10, *C. chiopterus* (Meigen), ♂: 8, pince génitale en vue ventrale sans le basistyle ni le dististyle gauche; 9, édéage isolé, ombré; 10, paramères isolés, ombrés. – 11-13, *Culicoides sinanoensis* Tokunaga, ♂: 11, pince génitale en vue ventrale sans le basistyle ni le dististyle gauche; 12, édéage isolé, ombré; 13, paramères isolés, ombrés.

Ailes (fig. 1) sombres à taches claires mal délimitées donnant un aspect flou; deuxième cellule radiale pratiquement entièrement comprise dans une tache claire. Macrotriches absents dans toutes les cellules, limités à orner la frange alaire; quatre ou cinq soies sur le complexe radial. Alule nue. Longueur: 1005 (990 à 1035); largeur: 405 (375 à 420); costa: 630 (600 à 645); cubitale: 585 (540 à 600); rapport alaire (CR): 0,62 (0,60). Balancier clair à bouton noir.

Pattes. Articles dans l'ensemble étroits et cylindriques; fémurs des pattes antérieures et médianes avec des éclaircissements basal et distal; fémurs postérieurs sombres à leur apex; tibias antérieurs et médians avec un éclaircissement basal, sombres à leurs extrémités; tibias postérieurs d'un aspect jaunâtre avec un léger assombrissement médian; tarses des trois paires uniformément brun clair, progressivement plus clairs des antérieurs aux postérieurs. Pilosité de l'ensemble des pattes peu dense et de faible longueur. Apex des tibias antérieurs avec un éperon bien développé et un petit peigne; apex des tibias médians sans particularités; apex des tibias postérieurs avec un petit éperon pectiné et des peignes, le plus grand formé de cinq dents dont les longueurs sont : 69, 46, 37, 35, 35. Épines tarsales au nombre de deux à l'apex des tarsomères I-II, et une à l'apex des tarsomères III des pattes médianes. Les basitarses postérieurs portent de nombreuses soies courtes et fortes, disposées sur trois rangées, formant une brosse sur toute la longueur du bord externe. Griffes des trois paires de pattes petites, égales et simples à leur extrémité. Empodia rudimentaires. Mensurations : pattes antérieures : 368, 360, 203, 87, 62, 44, 46; pattes médianes : 458, 458, 255, 106, 67, 44, 46; pattes postérieures : 435, 443, 210, 108, 71, 53, (46).

Abdomen. Sternite I orné latéralement de chaque côté d'une touffe composée de 8 (7 à 10) soies fortes. Pince génitale (fig. 6-7) : sternite VIII plus large que haut, faiblement échancré sur toute la largeur de son bord postérieur, pubescent sur ses bords latéraux; membrane basale faiblement spiculée. Tergite IX à peine plus large que long; bord postérieur transversal avec une petite proéminence formant une bosse médiane; appendices apico-latéraux très larges et bien développés, arrondis distalement. Dististyles forts et trapus, légèrement coudés dans leur partie médiane; pubescents sur leur moitié basale (fig. 3). Basistyles renflés dans la partie médiane de leur bord interne, entièrement pubescents (fig. 3); apodèmes ventraux et dorsaux (fig. 3-4 et 6) courts et trapus, reliés entre eux par une membrane, les ventraux coiffés en outre sur leur bord postérieur d'une large expansion plus ou moins fortement crénelée sur leurs bords interne et externe, se terminant distalement par une forte pointe dressée légèrement coudée vers l'intérieur. Cette forme très particulière laisse penser à une fusion totale des apodèmes et des paramères, qui seraient ici absents. Édéage (fig. 2 et 7) large plus ou moins quadrangulaire; bras latéraux forts, trapus, reliés entre eux par une large membrane, légèrement coudés dans leur quart distal et se terminant en pointe forte de chaque côté de la base du corps : corps petit à contours renforcés, courbé distalement vers l'avant formant un bec de cruche et prolongé à sa base, entre les bras latéraux et dans l'axe du corps, par un appendice court et net.

Femelle inconnue.

**Discussion**. – Culicoides candolfii n. sp. se place par la disposition de ses taches alaires dans le sous-genre Avaritia Fox, 1955, tel qu'il a été complété et redéfini par BLANTON & WIRTH (1979), DELÉCOLLE (1983) et WIRTH & HUBERT (1989). C. candolfii n. sp. se distingue de toutes les espèces connues dans ce sous-genre (toutes régions du monde confondues) par la forme très caractéristique de ses génitalia et plus particulièrement par l'absence chez ceux-ci de paramères libres. Ces derniers sembleraient avoir fusionnés avec les apodèmes ventraux et dorsaux des basistyles, donnant à ces derniers une forme unique jamais observée dans le sous-genre Avaritia ni dans aucune autre espèce décrite à ce jour dans le genre Culicoides. Par la forme des appendices apico-latéraux du bord postérieur du tergite IX, C. candolfii peut se rapprocher de C. chiopterus (Meigen, 1830) (fig. 8-10) et de C. sinanoensis Tokunaga, 1937 (fig. 11-13), mais s'en sépare aisément par l'absence de paramères libres et par la forme de l'édéage.

*Derivatio nominis*. – Cette espèce est cordialement dédiée à notre collègue et ami le Pr Ermanno Candolfi en témoignage de reconnaissance pour l'aide qu'il a su nous apporter en nous accueillant dans son laboratoire et à l'intérêt qu'il a toujours porté aux Arthropodes vecteurs.

*Diagnostic moléculaire*. – Le séquençage de la région *barcode* COI telle que décrite plus haut et une correspondance de la séquence de l'ordre de 99 % lors de l'utilisation d'un outil de recherche type Blast® (ALTSCHUL *et al.*, 1990) permet le diagnostic moléculaire de cette espèce.

REMERCIEMENTS. – Nous remercions le Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CENAREST) du Gabon qui a autorisé cette étude et la société SODEPAI (COMILOG/ERAMET) pour son soutien logistique dans le parc de La Lékédi. Ce travail a bénéficié du soutien financier du CIRMF et de l'IRD à travers le programme PPR FT-AC.

#### **AUTEURS CITÉS**

- ALTSCHUL S. F., GISH W., MILLER W., MYERS E. W. & LIPMAN D. J., 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, **215** (3): 403-410.
- BLANTON F. S. & WIRTH W. W., 1979. The sandflies (*Culicoides*) of Florida (Diptera: Ceratopogonidae). *Arthropods of Florida and Neighbouring Land Areas*, vol. **10**. Gainesville: Florida Department of Agriculture and Consumer Services, 204 p.
- Dallas J. F., Cruickshank R. H., Linton Y. M., Nolan D. V., Patakakis M., Braverman Y., Capela R., Capela M., Pena I., Meiswinkei R., Ortega M. D., Baylis M., Mellor P. S. & Mordue Luntz A. J., 2003. Phylogenetic status and matrilineal structure of the biting midge, *Culicoides imicola*, in Portugal, Rhodes and Israel. *Medical and Veterinary Entomology*, 17 (4): 379-387.
- Delécolle J. C., 1983. *Eléments pour une monographie morphologique du genre* Culicoides *(Diptera, Ceratopogonidae) du Nord-est de la France*. Mémoire D.E.S., n°407, U.E.R., Sciences Vie et Terre, Strasbourg, 79 p.
- HEBERT P. D. N., CYWINSKA A., BALL S. L. & DE WAARD J. R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, **270** (1512): 313-321
- WIRTH W. W. & HUBERT A. A., 1989. The *Culicoides* of southeast Asia (Diptera: Ceratopogonidae). *Memoirs of the American Entomological Institute*, **44**: 1-508.
- WIRTH W. W. & MARSTON N., 1968. A method for mounting small insects on microscope slides in Canada balsam. *Annals of the Entomological Society of America*, **61**: 783-784.

# Roger Roy. – Une nouvelle espèce d'Amorphoscelis Stål, 1871, d'Afrique centre-occidentale (Dict., Mantodea, Amorphoscelidae)

Le genre *Amorphoscelis* Stål, 1871, est largement présent en Afrique au sud du Sahara et dans la moitié sud de l'Asie, avec une cinquantaine d'espèces, pas encore toutes inventoriées. L'une de celles-ci est nouvellement décrite ci-dessous.

### Amorphoscelis morini n. sp.

HOLOTYPE:  $\circlearrowleft$ , Congo, Mbouloupambou, 18.IV.1980, lumière, 5/6 h, *C. Morin*, préparation Roy n°2672, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris (MNHN).

PARATYPES: 2  $\circlearrowleft$ , *idem* holotype, 14.II.1980, 21/22h et 23/24 h, préparations n°2673 et 2674 (MNHN); 1  $\circlearrowleft$ , *idem* holotype, 15.II.1980, 5/6h, préparation n°2611 (MNHN); 1  $\circlearrowleft$ , Gabon, monts de Cristal, 21.II.1993, *E. Cherlonneix*, préparation n°3271 (MNHN); 1  $\circlearrowleft$ , *idem*, 24.VI.1993, coll. Cherlonneix; 1  $\circlearrowleft$ , Gabon, Mitzig Oveng, 11.IV.1993, *E. Cherlonneix*, préparation n°3270 (MNHN).

**Description des mâles**. – Aspect général des autres espèces du genre. Coloration d'ensemble beige clair avec des taches brun sombre (fig. 1). Longueur du corps 21-23 mm. (Femelles inconnues).

*Tête* en majeure partie claire avec des parties sombres entre les ocelles et entre ceux-ci et les yeux; tubercules juxta-oculaires assez petits mais bien distincts, les intermédiaires étant un peu plus proéminents que les autres; prolongements latéraux du vertex bien développés et arrondis. Antennes claires à la base, puis annelées de sombre par groupes de deux articles selon le mode habituel dans le genre; palpes maxillaires et palpes labiaux à dernier article un peu assombri à l'apex.

Pronotum long de 2,1-2,3 mm et large de 2,8-3,0 mm, entièrement beige clair avec les tubercules de la prozone et ceux de la métazone d'importance comparable, assez petits et coniques ; la carène transversale est bien marquée, tandis que la carène médiane de la métazone est faible ; les rebords latéraux sont plutôt étroits.