

**MORPHOMETRIE ALAIRE ET**  
**CARACTERISATION SPECIFIQUE DES**  
**PHLEBOTOMES.**



J. Lebbe (1), M.E. Torrez (2), R. Vignes (1) & J.P. Dedet(2)

(1) Laboratoire de Phytologie Quantitative, Université Paris 6 et INRIA, Rocquencourt (France).

(2) Instituto Boliviano de Biología de Altura, Casilla 717, La Paz (Bolivie).

**Mots clés :** Phlébotomes, identification automatique, morphométrie alaire, discrimination spécifique.

**Abstract**

We study the information included in sandfly wings in order to test this organ as a source for the specific discrimination. The cartesian coordinates of the vein intersections are collected using a microscope and a graphic table. From these data a specifically developed software searches for discriminant characters. The present study on 32 New World species shows that, in addition to classical wing indices, discriminative characters are available for inter-specific discrimination.

**Résumé**

Les ailes de phlébotomes sont étudiées afin de tester ces organes pour la discrimination des espèces. Les coordonnées cartésiennes des intersections des nervures sont recueillies à l'aide d'un microscope et d'une tablette graphique. A partir de ces données, un programme développé spécifiquement à cet effet recherche des caractères discriminants. L'étude porte actuellement sur 32 espèces du Nouveau Monde. Elle montre qu'en plus des indices classiques, il existe d'autres caractères pour discriminer les espèces.

## I. INTRODUCTION

L'identification des insectes vecteurs de maladies animales et humaines repose dans la plupart des cas sur l'étude de caractères morphologiques (externes ou internes) et biologiques nécessitant le plus souvent la fixation et, parfois, la dissection et la destruction des exemplaires à identifier. De plus, cette identification reste l'apanage d'entomologistes spécialisés et ayant l'expérience des faunes locales.

Mais pouvoir disposer d'exemplaires parfaitement identifiés vivants et en grand nombre est une nécessité dans de nombreuses études épidémiologiques (établissement de colonies d'élevage, recherche d'agents infectieux, études éthologiques et génétiques). L'identification de spécimens vivants est actuellement difficile et incertaine, voir impossible pour certains groupes, en particulier les phlébotomes.

L'identification Assistée par Ordinateur apporte déjà une aide décisive à l'identification des exemplaires montés en mettant la détermination spécifique à la portée de non spécialistes (Lebbe, Vignes et Dedet, 1987, 1989). Un pas supplémentaire peut être franchi par la réalisation de systèmes d'identification automatique basés sur l'analyse de caractères morphologiques externes discriminants, compatibles avec la survie du spécimen.

Dans la perspective du développement d'un tel système d'identification automatique pour les phlébotomes, nous nous intéressons à la morphométrie alaire de ces insectes.

Les techniques d'analyse d'images commencent à être utilisées en biologie par exemple pour décrire automatiquement le contour d'ailes d'insectes (Rohlf & Archie, 1984) ou la nervation (Zhou, Ling & Rohlf, 1985). Les mesures morphométriques sur les ailes sont déjà utilisées dans différentes familles de diptères pour étudier la variation génétique entre populations (Terzian, 1986).

Pour notre part nous étudions la discrimination inter-spécifique des phlébotomes. Dans les travaux sur ces diptères très peu de caractères sont décrits sur les ailes : on note essentiellement la longueur et la largeur de l'aile ainsi que quelques indices classiques. Or on peut envisager plusieurs autres mesures (longueur totale ou de segments de chaque nervure, rapports de longueur, mesure d'angles ou de surfaces etc.) qui pourrait apporter une discrimination supplémentaire. Le travail présenté ici automatise la description de nombreux caractères alaires à partir de 13

points correspondant aux intersections des nervures puis classe les espèces étudiées selon ces caractères afin d'évaluer la discrimination spécifique sur les données alaires seules.

## II. MATERIELS ET METHODES

### A. Matériel biologique

Un échantillon de 32 espèces de phlébotomes du Nouveau Monde a pour le moment été étudié. La liste de ces espèces est donnée figure II. Ces espèces ont été retenues parmi celles dont il nous était possible de collecter environ 10 individus mâles et/ou 10 individus femelles pour chaque. Ces individus proviennent, quand cela a été possible, de régions différentes afin de tenir compte, au moins partiellement, de la variation intra-spécifique. Les lames ont été choisies avec soin dans différentes collections et parmi les lames dont l'identification (sur la base de tous les caractères morphologiques) ne présentait aucun doute. Les lames n'ont été retenues que si les ailes étaient correctement montées et surtout bien étalées.

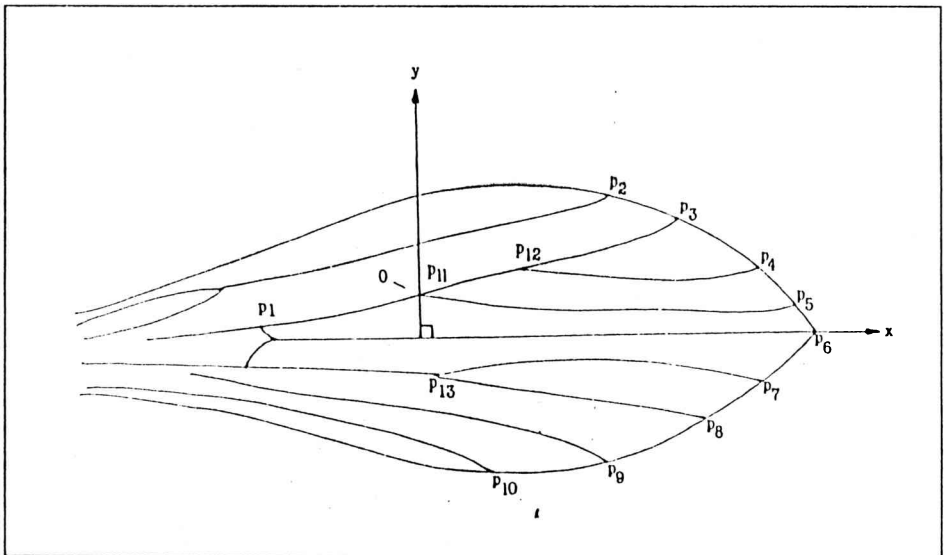


Figure 1 : Nervation alaire des phlébotomes et identification des points de mesure, de l'origine et de la position des axes.

Les nervures des ailes de phlébotomes ont une topologie constante d'une espèce à l'autre. Ceci permet de garantir la comparaison de points homologues. Les 13 points notés de 1 à 13 sur la figure I sont repérés sur toutes les ailes et leurs coordonnées cartésiennes relevées selon des axes et une origine définis : l'axe des X correspond à la nervure R5, l'axe Y lui est perpendiculaire vers le bord antérieur de l'aile, et l'origine est placé en un point repérable avec assez de précision sur toutes les ailes (voir figure I).

- Lutzomyia antunesi* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia aragai* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia atroclavata* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia ayrozai* 10 spécimens femelles.  
*Lutzomyia choli* 10 spécimens femelles.  
*Lutzomyia columbiana* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia dendrophyla* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia evansi* 10 spécimens femelles.  
*Lutzomyia gomezi* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia lichi* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia longipalpis* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia lutziana* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia micropyga* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia olmeca bicolor* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia ovallesi* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia panamensis* 10 spécimens femelles.  
*Lutzomyia rorotaensis* 9 spécimens femelles, 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia saulensis* 8 spécimens femelles, 9 spécimens mâles.  
*Lutzomyia shannoni* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia spathotrichia* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia spinicrassa* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia spinosa* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia squamiventris* 10 spécimens femelles.  
*Lutzomyia townsendi* 7 spécimens femelles, 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia trichopyga* 10 spécimens femelles, 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia tumidadensis* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia umbratilis* 20 spécimens femelles, 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia venezualensis* 9 spécimens femelles, 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia vespertilionis* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia wagleyi* 10 spécimens femelles, 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia yencanensis* 10 spécimens mâles.  
*Lutzomyia youngi* 10 spécimens mâles.

Figure II : Liste des espèces étudiées.

## **B. Matériel de mesure**

Dans toutes les études morphométriques, la récolte manuelle des données est fastidieuse, source possible d'erreurs et apparaît souvent comme le facteur limitant aux études envisagées. Les technologies informatiques permettent, à l'heure actuelle d'effectuer des mesures rapides et précises, rendant accessibles au traitement de nombreuses données morphologiques.

Nous avons mis au point un système de mesure semi-automatique comprenant un microscope, une chambre claire, une tablette graphique, un micro-ordinateur et un logiciel approprié développé dans le cadre de ce travail. La chambre claire permet de projeter l'image de l'aile à mesurer sur la tablette graphique. L'opérateur pointe avec un curseur les points dont on veut relever les coordonnées et le programme informatique prend en charge le calcul des mesures et leur stockage.

## **C. Méthode de récolte des données**

En pratique avant toute série de mesures, le système est étalonné à l'aide d'un micromètre objectif. Puis pour chaque aile, l'opérateur commence par indiquer les axes X et Y et l'origine. Ensuite à l'aide du curseur de la tablette graphique il repère successivement chacun des 13 points choisis. Les nervures ayant une épaisseur non négligeable, la position exacte de chaque point de mesure par rapport aux intersections des nervures a été définie.

Les études préliminaires faites sur une cinquantaine de lames par 3 opérateurs différents ont montré une très bonne reproductibilité des mesures. Il est possible de mesurer environ 50 ailes par heure avec une répétabilité donnant des variations de mesure au plus égales à 5 microns.

Les coordonnées en X et en Y de chacun des points sont automatiquement stockées sur le disque du micro-ordinateur, évitant ainsi les erreurs de recopie.



## **D. Méthodes de traitement des données**

### **1. Recherche de nouveaux caractères**

De nouveaux caractères ont été recherchés afin de discriminer au mieux toutes les espèces, certaines espèces contre d'autres, un sexe contre l'autre etc.

A partir des coordonnées mesurées il est possible de calculer de nombreux caractères par exemple : longueur entre deux points, rapport de longueurs ou de somme de longueurs, angle délimité par trois points, surface délimitée par N points etc. L'exploration exhaustive de tous ces caractères pour découvrir les plus efficaces est évidemment impossible même grâce à l'informatique ; par exemple il existe près de 6000 rapports de longueurs mesurables sur une aile.

Une autre difficulté est causée par le fait que les caractères ne sont pas indépendants, ainsi les deux caractères les plus efficaces séparément ne forment pas forcément le couple de deux caractères donnant la meilleur discrimination.

Afin de rechercher des ensembles de caractères discriminants un programme faisant appel à des algorithmes dits d'apprentissage automatique a été développé. Il consiste à ajouter pas à pas à l'ensemble des caractères déjà choisis le caractère améliorant au mieux le pouvoir discriminant (rapport variance intra/extra groupe), puis à calculer de nouveaux caractères par l'application d'un ensemble modifiable d'opérateurs (somme, différence, rapport etc.) et enfin à répéter le processus jusqu'à ce qu'aucune amélioration ne soit possible.

### **2. Analyse Discriminante**

A partir des tableaux bruts et des tableaux construits avec les nouveaux caractères, une analyse discriminante non paramétrique (plus proche voisin) (James, 1985) a été réalisée afin d'évaluer la qualité des résultats que l'on peut attendre de l'identification par les caractères alaires.

---

### III. RESULTATS ET DISCUSSION

L'application de ces méthodes sur l'ensemble des données récoltés a donné lieu à de nombreux résultats en changeant les divers paramètres.

La recherche de nouveaux caractères a montré que les rapports  $\text{distance}(p2, p3) / \text{distance}(p3, p12)$  et  $\text{distance}(p1, p6) / \text{distance}(p5, p11)$  permettaient à eux seuls une forte discrimination tant des sous-genres ou groupes d'espèces que des espèces étudiées et ce malgré la variation intra spécifique.

L'évaluation de la qualité de l'identification que l'on peut attendre des caractères alaires indique qu'il est possible d'obtenir 79% d'identification spécifique correcte et 87% d'identification du sous-genre ou du groupe d'espèces. Certaines espèces comme *L. umbratilis* ou *L. venezuelensis* se discriminent parfaitement de toutes les autres. Par contre *L. aragoi* et *L. shannoni* se discriminent très difficilement entre elles.

Bien entendu, comme l'on pouvait s'y attendre, les caractères alaires ne peuvent à eux seuls permettre une identification spécifique parfaite de tous les spécimens de plébotomes, mais cette première étude montre que les ailes peuvent être la source de nouveaux caractères utiles pour faciliter l'identification d'une grande proportion des spécimens.

Dans la suite du projet le système de mesure sera entièrement automatisé. L'image de l'aile au microscope sera digitalisée. Un programme d'analyse d'images recherchera automatiquement les points correspondant aux intersections des nervures, aboutissant à un système de mesure totalement automatique. La récolte aisée de données par un tel système permettra d'envisager des études plus larges.

Bien qu'appliqué ici aux ailes de plébotomes, le système de mesure pourrait être utilisé pour l'étude d'autres groupes zoologiques.

### IV. REMERCIEMENTS

Nous remercions les membres du groupe CIPA pour le prêt de lames de collection, ainsi que l'équipe de l'IBBA pour l'aide apportée dans la réalisation des mesures.

**V. REFERENCES**

JAMES M., 1985. "Classification algorithms". Collins, London.

LEBBE, R. VIGNES & J. P. DEDET, 1987. "Identification assistée par ordinateur des phlébotomes de la Guyane Française". Edition Institut Pasteur de la Guyane Française, 165 p.

LEBBE, R. VIGNES & J. P. DEDET, 1989. "Computer-aided identification of insect vectors". *Parasitology Today*, Vol. 5, n°9.

Rohlf F.J. & Archie J.W., 1984. "A comparison of Fourier methods for the description of wing shape in mosquitoes (Diptera: Culicidae)." *Syst. Zool.*, 33(3) : 302-317.

Terzian C., 1986. "De l'optimisation du nombre de variables morphologiques dans la discrimination entre populations (le cas de l'aile chez *Drosophila melanogaster*)." *Genetica* 69 : 219-225.

Zhou Y.H., Ling L.B. & Rohlf F.J., 1985. "Automatic description of the veination of mosquito wings from digitized images." *Syst. Zool.*, 34(3) : 346-358.