

ROYAUME DU MAROC



INSTITUT AGRONOMIQUE ET VETERINAIRE HASSAN II RABAT

THESE
POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT VETERINAIRE

**Comparaison Génétique des Populations de
Stomoxys calcitrans au Maroc**

Présentée et soutenue publiquement Par :

Mme NMILA Soumia

Devant le jury composé de :

Pr. A. HAMLIRI :	IAV Hassan II	Président
Pr. G. CHLYEH :	IAV Hassan II	Examineur
Pr. M. PIRO :	IAV Hassan II	Examineur
Dr. Y. LHOR :	L.N.E.Z	Examineur
Pr. K. KHALLAAYOUNE :	IAV Hassan II	Rapporteur

Juillet 2009

REMERCIEMENTS

Arrivée enfin au bout de ce travail, je voudrais exprimer le plus simplement et le plus naturellement mes remerciements à toutes les personnes ayant contribué à ce que cette thèse soit finalisée.

A mon encadrant Mr le Pr. KHALLAAYOUNE. K

Vous m'avez fait l'honneur de me confier, me guider et m'orienter dans ce travail veuillez retrouver à travers, l'expression de ma sincère gratitude.

A mon co-encadrant Monsieur le Professeur Gérard DUVALLÉT,

Professeur émérite à l'Université Montpellier III

Président honoraire de la Société Française de Parasitologie

Veillez trouver dans ce travail, mes plus profonds hommages. Vous m'avez accueillie dans votre laboratoire pendant trois mois, durant lesquels j'ai énormément appris sur le plan scientifique et humain. Ces trois mois m'ont beaucoup marquée, ce fut un grand honneur de travailler avec vous.

A Mme et Mrs les membres du jury,

Mme le Pr. G. CHLYEH

Mr le Pr. A. HAMLIRI

Mr le Pr. M. PIRO

Mr le Dr. Y. Lhor

Vous me faites l'honneur d'accepter de juger mon travail

Hommages respectueux

A Mr le Dr. Mohamed Kharroba

Pour avoir rassemblé lors de sa thèse, le matériel de base qui a servi à cette étude, représenté par les individus de Stomoxys calcitrans.

Mes sincères remerciements

A toute l'équipe du Département de Biologie-Ecologie-Environnement, Université Montpellier III.

A Mr Jean-pierre Lumaret

Vous m'avez permis d'effectuer mes analyses au sein de votre laboratoire. Mes sincères remerciements.

A Mr Eric de Stordeur,

Un profond respect et de grands remerciements pour m'avoir initiée à la biologie moléculaire, et d'avoir contribuer en majeure partie à la réalisation de ce travail. Merci pour votre disponibilité et votre bonne humeur.

A Anne-Emanuel Félix,

Vous avez été présente à chaque étape de réalisation de ce travail, vous avez eu la patience de m'accompagner et m'expliquer avec gentillesse et élégance toutes les démarches. Mon respect pour vous et celui de l'élève à son maître. Vous m'avez également offert une belle amitié. Mes sincères respects.

*Un grand remerciement à tous les autres membres du laboratoire, **Najla, Martine, Nassera, Alexandre** et bien nombreux d'autres.*

A ma famille :

Chers parents c'est en faite grâce à vous que ce travail a pu être réalisé, vous qui m'avez mise au monde. Merci maman d'avoir toujours veillé sur nous, pour nous avoir accompagnées et soutenues dans chaque marge de notre vie.

A ma grande sœur, qui fut pour moi l'exemple à suivre.

Aux jumelles.

A Mme Claudine Barre,

Vous m'avez accueillie chez vous à Montpellier, et m'avez permis de jouir d'un agréable séjour. Vous étiez l'oreille qui écoute et le cœur qui reconforte, ma plus profonde gratitude.

A la famille Jarjat : Xavier, Anne-Marie et Gilbert.

Vous avez eu confiance en moi, vous m'avez ouvert votre porte et fait partager vos moments de bonheur. Mon profond hommage.

A tous mes amis et collègues pour leur soutien et leur présence. Un spécial pour la 34ème promotion vétérinaire du Maroc.

*Ce travail n'aurait pu voir le jour sans le support financier et logistique. Il a été réalisé grâce à un financement pour le projet de coopération interuniversitaire (GDRJ France- Maroc) sur la biodiversité de l'ouest méditerranéen. Ce projet regroupe le CNRS, le CNRST Maroc, l'Université de Montpellier III et l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II. Je tiens à remercier particulièrement **Mr Finn Kjelberg**.*

Que tous les frères, amis et sœurs que je n'ai pas cités, retrouvent ici ma plus grande reconnaissance.

SOMMAIRE

Partie I : Bibliographie	1
Chapitre 1 : Présentation de l'espèce.....	6
1. Morphologie et classification :	7
2. Biologie des stomoxes :.....	8
2.1. Préférences trophiques, comportement et dispersion :	8
2.2. Reproduction :	11
2.3. Cycle de développement :	12
3. Importance des stomoxes :	13
3.1. Effet sur la production animale :	13
3.2. Rôle dans la transmission d'agents pathogènes :.....	14
3.2.1. Les parasites :	14
3.2.1.1. La Trypanosomose bovine :.....	14
3.2.2. Rickettsie :	15
3.2.2.1. <i>Anaplasma marginale</i> :	15
3.2.3. Les bactéries :	15
3.2.3.1. <i>Bacillus anthracis</i> :	15
3.2.3.2. <i>Dermatophilus congolensis</i> :	16
3.2.4. Les virus :	16
3.2.4.1. <i>Capripoxvirus</i> :	16
3.2.4.2. <i>Deltarétrovirus</i> :	17
3.2.4.3. <i>Bunyavirus</i> :	17
3.2.4.4. Le virus du HIV :	18
3.2.5. Autres agents pathogènes transmis :	18
Chapitre 2 : La lutte contre les diptères	19
1. Lutte environnementale :	20
2. Lutte mécanique :	20
3. Lutte chimique :	21

3.1. Les organochlorés :	22
3.2. Les organophosphorés et les méthylcarbamates:	22
3.3. Les pyrèthrinoides :	22
3.4. Les lactones macrocycliques :	23
4. Lutte biologique :	23
Conclusion :	23
Chapitre 3 : Présentation des régions	24
1. La région de Rabat-Salé et du Gharb :	26
2. La région du Doukkala :	27
3. Région de l'oriental :	28
4. La région du Souss-Massa-Draa :	29
Chapitre 4 : L'ADN mitochondrial et notion de polymorphisme	31
1. L'ADN mitochondrial :	32
1.1. Généralités :	32
1.2. Structure de l'ADN mitochondrial :	32
1.3. Intérêt de l'ADN mitochondrial :	33
2. Notion de polymorphisme :	34
PARTIE II : Partie expérimentale	37
Chapitre 1 : Matériel et méthodes	38
1. Les Populations de <i>Stomoxys calcitrans</i> :	39
1.1 Echantillonnage :	39
2. Préparation des échantillons pour l'extraction de l'ADN :	40
2.1. Dissection et séchage :	40
2.2. Broyage :	40
3. Extraction de l'ADN :	40
4. Amplification par PCR :	41
5. Electrophorèse sur gel d'agarose :	43
5.1. Principe :	43

5.2. Préparation :	44
6. Séquençage de l'ADN :	45
7. Traitements des séquences :	45
Chapitre 2 : Résultats	49
1. Amplification par PCR :	50
2. Séquençage des gènes :	51
3. Alignement des séquences :	51
4. Distances génétiques :	51
4.1. Indice Fst :	51
4.2. Pourcentage de similitude :	52
4.2.1. Cytochrome b :	52
4.2.2. Cytochrome oxydase I :	55
Partie III : Discussion et Conclusion Générale	58
Références Bibliographiques	63
Annexes	72

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Mouche stomoxes.	7
Figure 2: Morphologie générale de <i>Stomoxys calcitrans</i>	8
Figure 3: Zones préférentielles de localisation des stomoxes sur le corps des animaux. (Photos Dr. Khallaayoune).	9
Figure 4: Gîtes de ponte et de pullulation des stomoxes (Photo Dr Khallaayoune).	12
Figure 5: Cycle de développement de <i>S. calcitrans</i> (Gilles, 2005)	13
Figure 6: Piège Vavoua (Desquesnes).	21
Figure 7: Etages bioclimatiques au Maroc.	25
Figure 8: photos des plaques de séquençage du <i>Cytochrome b</i> et du <i>Cytochrome oxydase I</i>	45
Figure 9: Photo du gel d'électrophorèse de la PCR4 pour le gène <i>cox I</i>	50
Figure 10: photo du gel d'électrophorèse de la PCR 7 du gène <i>cyt B</i>	50
Figure 11: Pourcentages de similitude de la région du Gharb avec les autres régions étudiées.	52
Figure 12: Pourcentages de similitude de la région du Doukkala avec les autres régions étudiées.	53
Figure 13: Pourcentages de similitude de la région de l'Oriental avec les autres régions étudiées.	53
Figure 14: Pourcentages de similitude de la région de Zagora-Draa avec les autres régions étudiées.	54
Figure 15: Pourcentages de similitude de la région de l'Oriental avec les autres régions étudiées.	54
Figure 16: Pourcentages de similitude de la région du Gharb/ Rabat-Salé avec les autres régions étudiée pour la cytochrome oxydase I	55
Figure 17: Pourcentages de similitude de la région du Doukkala avec les autres régions étudiée pour la cytochrome oxydase I.	55
Figure 18: Pourcentages de similitude de la région de l'Oriental avec les autres régions étudiées pour le gène cytochrome oxydase I.	56
Figure 19: Pourcentages de similitude de la région de Zagora-Draa avec les autres régions étudié pour la cytochrome oxydase I	56
Figure 20: Pourcentages de similitude de la région de Souss-Massa avec les autres régions étudiées.	57

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Amorces pour le gène cytochrome b.	41
Tableau 2: mélange de PCR pour le gène cytochrome b.	41
Tableau 3: Amorces pour le gène cytochrome oxydase I.	43
Tableau 4: Mélange de PCR pour le gène cytochrome I.	43
Tableau 5: Les valeurs de l'indice Fst des régions étudiées pour le gène cytochrome b. ...	51
Tableau 6: Les valeurs Fst des régions étudiées pour le gène cytochrome oxydase I.	52

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide DésoxyriboNucléique
ATPase : Adénosine Triphosphate Synthétase (ou Synthase)
ARNt : Acide RiboNucleique de transfert
ARNr : Acide RiboNucleique ribosomique
BET : Bromure d'éthidium
CBGP : Centre de Biologie et de Gestion des Populations
CYT b: Cytochrome b.
Cox I: Cytochrome oxydase I.
DNC: Dermatose Nodulaire Contagieuse
EDTA: Acide Ethylène Diamine Tetra Acétique
ITS₂ : Ribosomal internal transcribed spacer 2.
Kb: Kilo base
LBE: Leucose Bovine Enzoootique
MgCl₂: Chlorure de Magnésium
Pb: Paire de base
PCR: polymerase Chain Réaction
Primer CoxI 2183: Primer cytochrome oxydase I 2183.
Primer CoxI 3014 : Primer cyochrome oxydase I 3014.
Primer Cytb CBJ : Primer cytochrome b J
Primer Cytb CBN : primer cytochrome b N
TBE : Tris , Borate (acide borique) , EDTA
VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

Résumé:

Les Stomoxes sont des diptères hématophages, qui causent une énorme nuisance aux animaux d'élevage par leurs piqûres douloureuses, et par la transmission de nombreux agents pathogènes. Le genre *Stomoxys spp.* comprend 18 espèces, dont *Stomoxys calcitrans* qui représente la seule espèce cosmopolite.

L'étude des relations phylogénétiques parmi les populations de *Stomoxys calcitrans* capturées dans cinq régions du Maroc (Gharb, Doukkala, l'Oriental, Souss-Massa et Zagoura-Draa), a été réalisée en utilisant des séquences extraites à partir de deux gènes mitochondriaux (Cytochrome oxydase I, Cytochrome-b). L'ADN mitochondrial est choisi pour sa facilité de manipulation, sa transmission clonale et son abondance dans la cellule.

La relation phylogénétique entre les populations étudiées est déduite par le biais du calcul de deux paramètres, l'indice F_{st} et le pourcentage de similitude. Les résultats obtenus montrent que les populations de *Stomoxys calcitrans* dans les cinq régions étudiées sont fortement similaires, avec des pourcentages qui varient entre 95,78 % à 100% pour le cytochrome b (510 Pb) et entre 98,04 % à 100% pour la cytochrome oxydase I (755 Pb). Ces deux paramètres, montrent ainsi qu'il n'existe réellement pas de polymorphisme génétique entre les populations de *Stomoxys calcitrans* dans les cinq régions étudiées au Maroc.

La présente étude a confirmé que les populations de stomoxes au Maroc, appartiennent à la seule espèce *Stomoxys calcitrans*.

Mots clés : *Stomoxys calcitrans*, phylogénie, ADN mitochondrial, Cytochrome oxydase I, Cytochrome-b, polymorphisme, Maroc.

Abstract:

Genetic comparison of the populations of *Stomoxys calcitrans* in Morocco

Stomoxys flies is an haematophagous fly, which cause a serious annoyance to livestock because of their painful sting, and could be a mechanical vector of several pathogens. The genus *Stomoxys* Spp. includes 18 different species, from which *Stomoxys calcitrans* has a cosmopolitan distribution.

The study of genetic relationships among populations of *Stomoxys calcitrans* captured from five regions of Morocco (Gharb, Doukkala, l'Oriental, Souss-Massa and Zagoura-Draa), was assessed using mitochondrial (Cytochrome oxydase subunit I, Cytochrome-b) nucleotide sequences. Mitochondrial DNA (mtDNA) was chosen as it is easy to manipulate, clonally inherited and abundant in cells.

Genetic relationships was inferred using too parameters the Fst and the percentage of resemblance. The results showed that in the five regions, the populations of *Stomoxys calcitrans* are closely similar with percentage of similitude that range from 95, 78 % to 100% for the cythocrome b (510Pb) and from 98, 04 % to 100% for the cytochrome oxydase I (755Pb). Therefore, it can be concluded that there is no genetic polymorphism between the populations of *Stomoxys calcitrans* in the five regions studied in Morocco.

This study confirmed that the populations of *Stomoxys* spp. In Morocco, are composed of the only species *Stomoxys calcitrans*.

Keywords: *Stomoxys calcitrans*, Phylogeny, mitochondrial DNA, Cytochrom b, Cytochrome oxydase subunit I, polymorphism.

Partie I : Bibliographie

Introduction et objectifs :

Les arthropodes constituent une grande partie de notre écosystème. Il en existe des bénéfiques et des nuisibles, qui contribuent à sa diversité et à son équilibre. Cependant, les nombreux changements climatiques que connaît notre planète, suite à l'action humaine sur l'environnement : déforestation, pollution... ont fait que de nombreuses espèces bénéfiques ont disparu au profit d'une pullulation d'espèces nuisibles. L'exemple le plus frappant réside dans l'émergence de plusieurs maladies, essentiellement à transmissions vectorielles.

En effet, le réchauffement climatique global caractérisé par une augmentation des températures et une abondance des précipitations, accompagnées de vents violents, pourraient avoir un impact sur la biologie de nombreux organismes vivants et causer des modifications de leurs aires de répartition. Les premiers touchés par ces modifications sont les animaux très mobiles tels que les insectes et les oiseaux migrateurs.

Tous ces facteurs confondus, peuvent avoir comme conséquences une forte exposition des populations humaines et animales aux agents pathogènes véhiculés par des insectes vecteurs, et pourrait favoriser les échanges de pathogènes entre l'homme, la faune, et le milieu (Shope 1991, Haines 1991, Epstein et *al.* 1993). Parmi les insectes vecteurs potentiels d'agents pathogènes, les stomoxes. Ces derniers sont des diptères hématophages, qui ont suscité beaucoup d'intérêt du fait de leur rôle dans la transmission de nombreuses maladies parasitaires, bactériennes et virales.

Ainsi, une lutte efficace contre ces diptères hématophages nécessite une bonne maîtrise de leur écologie et de leur répartition géographique. C'est dans ce cadre que plusieurs études ont été réalisées dans le monde.

En France, une étude réalisée par Gilles en 2005 a eu pour but d'acquérir les connaissances indispensables sur la biologie, la dynamique et la génétique des populations de *S. calcitrans* et *S. niger niger* les seules espèces présentes sur l'île de la Réunion, mais avec un grand taux de pullulation. Lors de cette étude, la température a été testée sur tous les stades immatures des deux espèces et également sur la survie des adultes et la fécondité des femelles. Cette étude a également traité la génétique des populations des stomoxes en relation avec la dynamique des populations. Pour cela, une banque microsatellite enrichie a été réalisée. A l'aide de ces marqueurs, le génotypage de plusieurs populations de *S. calcitrans* et *S. niger niger* a été réalisé et des flux des gènes entre les différentes localités de l'île ont été inférés. Cette étude est très importante dans le cadre d'une lutte efficace, dans l'île de la Réunion.

Au Gabon, une autre étude réalisée par Mavoungou. J en 2007, dans laquelle les stomoxes ont été capturés à l'aide de piège Vavoua (Lavisseissière et Grébaut, 1990). Les captures ont été réalisées entre Février et Mai 2005, se qui correspond à la grande saison de pluie. L'identification des captures a mis en évidence sept espèces ou sous espèces (*S. calcitrans*, *S. n. niger*, *S. n. bilineatus*, *S. transvittatus*, *S. inornatus*, *S. omega*, *S. xanthomelas*) ce qui représente 50% des espèces connues en région afrotropicale (Zumpt, 1973). L'espèce *S. niger niger* serait l'espèce la plus répandue dans les zones de savanes et les forêts tropicales humides africaines (Zumpt, 1973). Elle semble abondante dans le centre du Kenya (Mihok, 1996) et au tour des campements d'éleveurs du sud de Soudan (Zumpt, 1973). Cette étude s'est également intéressée à l'origine des repas de sang des différentes espèces de stomoxes capturées à Makokou dans le nord est du Gabon, une étape essentielle pour une meilleure compréhension du rôle épidémiologique des stomoxes dans la transmission de pathogènes (Mavoungou J-F. et al., 2007). Pour cela, les individus capturés ont été disséqués et les repas de sang contenu dans leurs tubes digestifs ont été collectés sur des disques de papier Wattman n°2 (2 cm²), et stockés dans les tubes Eppendorf. Ensuite, des échantillons de la faune vertébrée locale ont été pris. Une extraction des deux ADN (des tissus animaux et des repas de sang) a été

réalisée. L'identification des repas de sang a été faite selon la technique basée sur l'amplification du gène du cytochrome B suivie de la formation des hétéroduplexes entre les produits d'amplification du Rat de Gambie et ceux des autres vertébrés ou du repas de sang (Njiokou et *al.* 2004). Les résultats obtenus sur 139 repas identifiés, montrent que 55% des repas sont pris sur le Céphalophe à front noir (*Cephalophus nigrifrons*, 1871) et 19% sur le porc. A noter également que pour l'espèce *S. xanthomelas* 50% des repas amplifiés ont été pris sur le singe Moustac (*Cercopithecus cephus*) et pour l'espèce *S. calcitrans* 33% des repas amplifiés ont été pris sur l'homme.

Une étude similaire réalisée au Maroc, par Kharrouba M. en 2008 dans six régions, couvrant des étages bioclimatiques différents, a permis l'identification d'une seule espèce de Stomoxes : *S. calcitrans*. Cette étude a également concernée l'activité journalière et saisonnière de *S. calcitrans*. Elle a montré que le début de la saison sèche est la période favorable pour la capture des stomoxes, et que *S. calcitrans* a une activité diurne dans les deux sexes, caractérisée par un pic au milieu de la journée.

Toujours dans le but de comprendre l'origine et la répartition des stomoxes, une autre étude réalisée par Dsouli-Aymes N. en 2009, a porté sur la phylogénie de 12 espèces ou sous-espèces choisis du genre stomoxys. Dans son étude, elle a tenté de vérifier la monophylie du genre stomoxys et d'élucidé la relation phylogénétique des individus de ce genre par l'utilisation des séquences nucléotidiques de deux gènes mitochondriaux (la cytochrome oxydase I et le cytochrome oxydase b) et du gène ribosomal (ITS2). Ainsi la combinaison des données nucléaire et mitochondriaux a révélé la présence de trois clades dans ce genres. Un premier qui inclut les espèces asiatiques *S. indicus*. Le second clade correspond strictement aux espèces africaines et un troisième clade qui regroupe certaines espèces africaines et d'autres espèces plus répandues.

Comme suite à ces nombreuses études, cette étude s'est intéressée à la comparaison génétique entre les populations de stomoxes présentes au Maroc, afin de déterminer l'éventuelle présence d'un polymorphisme. Les modèles pris pour cette comparaison sont les populations de *Stomoxys calcitrans* capturées lors de l'étude précitée réalisée par Kharrouba en 2008. Le matériel génétique utilisé est l'ADNmt, en raison de sa manipulation et son isolement faciles, son abondance ainsi que son évolution rapide (Brown 1985, Mortiz et *al.* 1987).

La comparaison entre les individus de chaque population se fera par l'étude de gène codant pour deux sous-unités protéiques du métabolisme mitochondrial, la *Cytochrome oxydase I* (CoxI) et le *cytochrome b* (Cyt b). Ces deux gènes feront l'objet d'un ensemble de techniques de biologie moléculaire (amplification par PCR, séquençage et analyses phylogénétiques).

La présentation de ce travail s'articule autour de trois parties :

- 1- Une présentation de l'espèce étudiée : *Stomoxys calcitrans*, une présentation des régions concernées par cette étude, ainsi que quelques notions de polymorphisme et l'intérêt de l'utilisation de l'ADN mitochondriale.
- 2- Une présentation de l'étude réalisée.
- 3- Une partie pour les résultats et conclusions générales.

Chapitre 1 : Présentation de l'espèce

1. Morphologie et classification :

Les stomoxes sont des diptères hématophages. Ils sont classés comme suit :

- Classe: *Hexapoda*,
- Ordre: *Diptera*,
- Superfamille : *Muscoidea*,
- Famille: *Muscidae*,
- Sousfamille : *Stomoxiinae*
- Genre: *Stomoxys*.



Figure 1: Mouche stomoxes.

Les stomoxynae ‘stable flies, buffalo flies, horn flies’ sont des mouches piqueuses de 3-10 mm de longueur, hématophages dans les deux sexes. Les stomoxynae sont très proches des mouches domestiques communes (*Musca domestica* Linnaeus) mais avec des pièces buccales modifiées en organes piqueurs (Zumt, 1973), le proboscis, compatible avec leur mode de nutrition, dirigé en amont et dans l’axe du corps.

La sous famille des stomoxynae regroupe dix genres (Zumt, 1973) :

- *Rhinomusca* ;
- *Haematostoma*;
- *Neivamyia*;
- *Parastomoxys*;
- *Prostomoxys*;
- *Haematobosca*;
- *Bruceomyia*;
- *Stygeromyia*;
- *Stomoxys*;
- *Haematobia*;

Le genre *Stomoxys* est bien caractérisé et comprend 18 espèces appelées communément stomoxes. Originaire de l’ancien monde, à l’exception de *S. calcitrans* qui est cosmopolite (Zumt, 1973), les 17 autres espèces ont des aires de distribution plutôt africaine et/ou asiatique.

La différenciation entre les espèces de stomoxes se fait à l'aide de leurs caractères morphologiques, en grande partie par la variabilité de leurs motifs abdominaux.

Ainsi, *S. calcitrans* mesure 4 à 7 mm, avec un abdomen ponctué de taches arrondies de couleur noire et un trait médian discontinu.

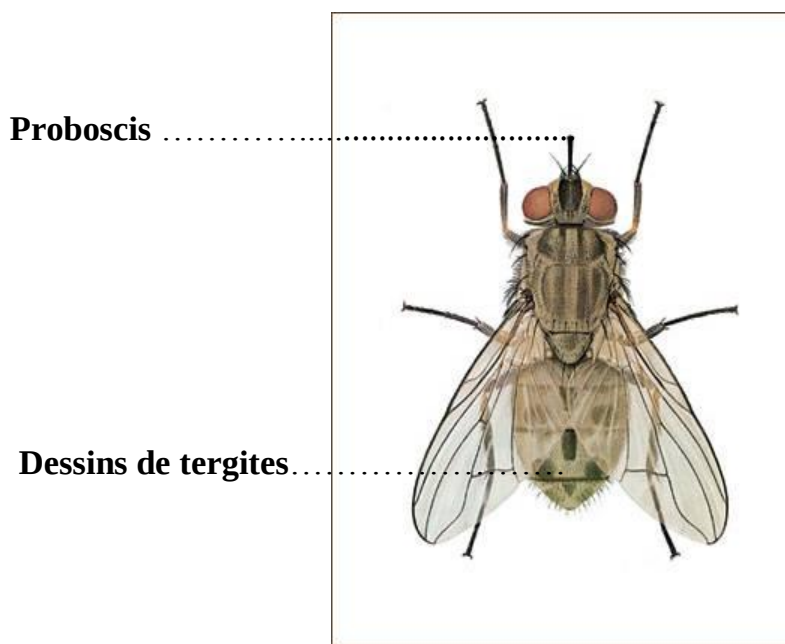


Figure 2: Morphologie générale de *Stomoxys calcitrans*.

2. Biologie des stomoxes :

2.1. Préférences trophiques, comportement et dispersion :

Les stomoxes sont des diptères hématophages, le choix de leurs victimes se fait grâce à leur sens visuel et leur thermotropisme bien développés, aussi par leur sens olfactif affiné par des chémorécepteurs de contact. Il est conditionné par la couleur et l'épaisseur du pelage, de la taille, des mouvements et des odeurs (température cutanée, transpiration, CO₂, odeurs particulières voire spécifiques).

S. calcitrans se nourrit essentiellement du sang des grands mammifères tels que les équidés et les bovidés. Une étude réalisée en Egypte, par Hafez et Gamal-Eddin (1959a) a montré que les préférences trophiques de *S. calcitrans* sont, par

ordre décroissant d'intérêts, les ânes, les chevaux, les buffles, les vaches, les chameaux, les moutons et les chèvres. Les hommes peuvent également être attaqués, comme rapporté lors d'une pullulation de stomoxes sur les plages de Florides (Hogsette *et al.*, 1981).

Les stomoxes peuvent être retrouvés sur toutes les parties du corps, cependant ils se retrouvent préférentiellement sur la partie inférieure des membres, en particuliers les membres antérieurs. A cet endroit, en effet, le pelage est plus fin, les vaisseaux sanguins sont superficiels et les mouvements de défense des animaux (les mouvements de queue, les frémissements de la peau, les mouvements de la tête et des oreilles) chassent les stomoxes des autres parties du corps (Dougherty *et al.*, 1995).

L'activité du vol et du nourrissage des stomoxes est très fortement liée aux variations de température (Lysyk, 1995; Gatehouse et Lewis, 1973; Berry et Campbell, 1985).



Figure 3: Zones préférentielles de localisation des stomoxes sur le corps des animaux. (Photos Dr. Khallaayoune).

Les stomoxes attaquent de jour et avec agressivité (Harley, 1965a; Schofield et Brady, 1996). Une prise de repas complet dure en moyenne de 2 à 30 minutes selon les espèces et la saison (Hafez et Gamal-Eddin, 1959a; Kunz et Monty, 1976; Lysyk, 1995; Schofield et Torr, 2002).

En fonction des conditions climatiques, deux situations existent :

- En région chaude ou tropicale, une activité journalière bimodale chez deux espèces de stomoxes (*S.n. niger* et *S. calcitrans*), avec deux pics d'activité : un tôt le matin et un autre en fin d'après-midi (Hafez et Gamal-Eddin, 1959a; Harley, 1965; Kangwagye, 1973; kunz et Monty, 1976; Charlwood et Lopes, 1980; Charlwood et Sama, 1996; Mihok et Clausen, 1996). Ces pics présentent des variations saisonnières et interspécifiques (Kunz et Monty, 1976).
- En pays tempéré ou en saison fraîche des régions tropicales, une activité journalière unimodale chez *S. calcitrans*, avec un seul pic d'activité en début d'après-midi (Hafez et Gamal-Eddin, 1959a; Harley, 1965; Berry et Campbell 1985).

Berry et Campbell (1985) et Lysyk (1995) ont montré, en conditions contrôlées, que le nombre de stomoxes venant prendre un repas de sang et le temps qu'ils passent sur les membres du bétail sont corrélés à la température. Le nombre de ces mouches est maximal entre 30°C et 32°C (Hafez et Gammal-Eddin 1959a, Berry et Campbell 1985), et diminue nettement au-delà de 34°C pour devenir nul à partir de 14°C (Hafez et Gamal-Eddin 1959a, Kunz et Monty 1976). Lysyk (1995) a estimé que la température minimale autorisant le vol est de 10,7°C.

Enfin, les stomoxes semblent être capables de parcourir de grandes distances pour se nourrir et migrer vers des conditions plus favorables (Bailey et *al.*, 1979). Hogsette et *al.* (1987) ont montré que *S. calcitrans* peut parcourir 5 Km ou plus à la recherche d'un repas de sang.

2.2. Reproduction :

Des études réalisées au laboratoire ont permis de comprendre les particularités de reproduction de *S. calcitrans*. Une femelle de stomoxe ne peut être inséminée que par un seul mâle (Hafez et Gammal-Eddin, 1959b), de 4 à 5 jours après son émergence. Ce dernier doit avoir digéré un repas de sang de vertébrés (Anderson, 1966) avant de pouvoir inséminer avec succès. La copulation dure en moyenne 5 minutes et le positionnement des ailes des femelles réceptives semble être un paramètre important pour l'orientation des mâles (Anderson, 1978).

Chez *S. calcitrans*, Le nombre de repas de sang est un facteur important pour la production et le développement de nouvelles séries d'œufs. En effet, la maturation de la première ponte nécessite au moins trois repas de sang (Killough et McKinstry 1965; Sutcliffe et *al.*, 1993), c'est la raison pour laquelle les femelles doivent se nourrir de sang plus fréquemment que les mâles (Barré, 1981).

Le lieu de ponte de *S. calcitrans* correspond à de la matière organique d'origine végétale en décomposition, éventuellement mélangée à des déjections animales (fumier, végétaux coupés ou feuilles d'arbres en décomposition, refus de fourrages du bétail) (Barré, 1981 ; Lysyk, 1993). La surface croûtée du lisier peut aussi constituer un milieu de développement pour les larves. Le milieu doit être poreux, friable et avoir un fort taux d'humidité (Hafez et Gammal-Eddin, 1959b). Les femelles de *S. calcitrans* se déplacent souvent pour déposer les œufs en petit nombre un peu partout sur le milieu de ponte choisi (Foil et Hogsette, 1994).

Le développement larvaire nécessite une température comprise entre 15 et 30°C. Les larves ne sont en revanche jamais retrouvées dans le fumier et recherchent des conditions d'humidité proches de la saturation (Hafez et Gammal-Eddin, 1961; Berry et *al.*, 1978). Avant la pupaison, les larves recherchent une humidité de 75 à 83% et une température de 15 à 25 °C. La survie des immatures est maximale à 20-22°C (Lysyk, 1998).



Figure 4: Gîtes de ponte et de pullulation des stomoxes (Photo Dr Khallaayoune).

2.3. Cycle de développement :

Le cycle de développement des stomoxes comprend 6 stades : l'œuf, trois stades larvaires, la nymphe et l'adulte. Le passage d'un stade à l'autre est fonction de la température et de l'humidité (Lysyk, 1998 ; Gilles, 2005).

L'œuf (environ 1mm) éclot pour donner une jeune larve (stade L1) ; cette dernière va se développer et subir des transformations (stades L2 et L3). A la fin du stade L3, l'asticot s'immobilise sous la matière organique en décomposition, dans le sol humide et se tasse sur lui-même. Le tégument se durcit formant une enveloppe (le puparium) renfermant la nymphe qui va subir des modifications internes jusqu'à l'émergence du jeune imago (Itard et *al.*, 2000).

Chez *S. calcitrans*, la durée moyenne du stade « œuf » au stade «adulte» est inversement proportionnelle à la température ; il faut plus de 60 jours à 15°C et moins de 12 jours à 30°C, la durée minimale étant observée à 31°C (Lysyk, 1998). Sutherland (1979) a montré que la température optimale pour l'incubation des œufs est de 30°C, mais une température de 41°C est létale. Les pupes de *S. calcitrans* tolèrent apparemment des températures comprises entre 20°C et 30°C. Lysyk (1998) a démontré que la survie des immatures est maximale à 20-22°C. *S. calcitrans* semble passer l'hiver à tous les stades de développement (Somme, 1961; Berry et *al.*, 1978; Berkerile et *al.*,1994) et se développer lentement dans des milieux

permettant d'échapper aux basses températures, sans qu'il y est de vrai diapause (Somme, 1961; Lysyk, 1998).

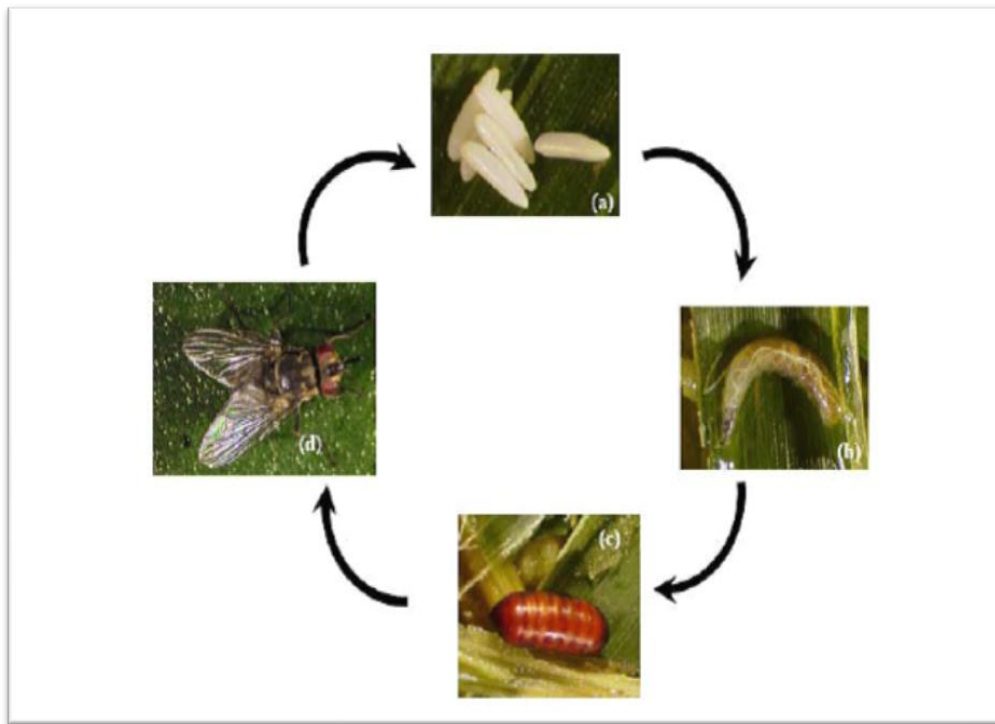


Figure 5: Cycle de développement de *S. calcitrans* comprend quatre stades (a) l'œuf (environ 1mm), (b) la larve (au stade L3 mesurant jusqu'à 1cm), (c) la pupa renfermant la nymphe (4-7mm) et l'imago (5à7mm). (Gilles, 2005)

3. Importance des stomoxes :

Les stomoxes sont des diptères hématophages dans les deux sexes. Leurs piqûres à la fois fréquentes et douloureuses, causent un énorme stress pour les animaux, ce qui conduit à la diminution de la production. Le changement fréquent d'hôtes au cours d'un même repas, fait des stomoxes des vecteurs potentiels de nombreux agents pathogènes.

3.1. Effet sur la production animale :

Bishop (1913) nota plusieurs conséquences directes de la présence de stomoxes sur le bétail : le harcèlement, une spoliation sanguine importante, une diminution de la production de lait et une perte de poids de 10 à 20% et parfois des

boiteries, avec des articulations enflées et raides du fait que les animaux restent longtemps debout dans l'eau pour échapper aux piqûres.

Les bovins réagissent de façon intense aux piqûres de stomoxes : coups de pattes, mouvements de tête, d'oreilles, de queue, trémulations des muscles peauciers. La fréquence de ces diverses réactions peut être rattachée à l'abondance de mouches (Mullens *et al.*, 2006).

3.2. Rôle dans la transmission d'agents pathogènes :

Les repas de sang chez les stomoxes sont souvent interrompus par les réactions de l'hôte, ce qui les oblige à changer d'hôtes au cours d'un même repas sanguin. Ce changement rapide d'hôtes est favorable à la transmission de nombreux agents pathogènes par le biais de la régurgitation. L'insecte régurgite chez son nouvel hôte une partie des matières infectieuses ingérées chez un hôte précédent. Les stomoxes sont ainsi considérés comme des vecteurs potentiels d'agents pathogènes (Leclercq, 1971; Zumpt, 1973; Foil et Gorham, 2000).

Les stomoxes sont susceptibles de transmettre un grand nombre d'agents pathogènes :

3.2.1. Les parasites :

3.2.1.1. La Trypanosomose bovine :

La trypanosomose bovine est une maladie inoculable non contagieuse, causée par un protozoaire flagellé de la famille des *Trypanozomatidae*.

Les stomoxes sont suspectés pouvoir jouer un rôle dans la transmission des agents de la trypanosomose bovine. Mihok *et al* (1995) ont démontré que *Stomoxys niger* est capable de transmettre mécaniquement *Trypanosoma brucei* et *Trypanosoma vivax* après un repas interrompu sur du sang ayant une forte concentration de parasites. D'Amico *et al.* (1996) ont également démontré que les stomoxes pourraient être de bons vecteurs de *Trypanosoma vivax* car ils sont très

abondants dans les aires de repos des bovins où il existe de fortes interactions entre les bovins et les stomoxes.

3.2.2. Rickettsie :

3.2.2.1. *Anaplasma marginale* :

L'Anaplasma marginale, est une rickettsie qui se multiplie dans les érythrocytes et agent causal de l'anaplasmose (Foil et Gorham, 2000), elle pourrait être transmise par les stomoxes. En effet, Potgieter *et al.* (1981) ont tenté de transmettre expérimentalement l'anaplasmose via *Hippobosca rufipes* et *S. calcitrans*. Après trois tentatives avec chaque diptère, une transmission s'est avérée possible avec *S. calcitrans*.

Par ailleurs, l'incidence maximale de cette maladie a lieu de février à avril, ce qui correspond à la période de pullulation des stomoxes. Les stomoxes sont ainsi considérés comme des vecteurs mécaniques potentiels de l'anaplasmose (Itard *et al.*, 2000).

3.2.3. Les bactéries :

3.2.3.1. *Bacillus anthracis* :

La fièvre charbonneuse ou l'anthrax, causée par *Bacillus anthracis*, est une maladie infectieuse d'origine tellurique affectant les mammifères, principalement les herbivores, et transmissible à l'Homme. La mouche stomoxe a un rôle non négligeable dans la transmission de cette maladie, à qui elle doit le surnom de «mouche charbonneuse ».

Une expérience est réalisée par Turell *et al.* (1987) pour tenter d'évaluer la capacité des mouches charbonneuses (*S. calcitrans*) et deux autres espèces d'insectes (*Aedes aegypti* et *Aedes taeniorhynchus*) à transmettre le charbon. Dans cette expérience, l'anthrax est inoculé à des cobayes qui sont anesthésiés, les insectes sont mis en contact avec ces cobayes, une piqûre d'une minute maximum est permise. Les insectes sont ensuite mis en contact avec des rongeurs sains soit

directement après le repas, soit quatre heures ou 24 heures après. Au bilan, les mouches ont permis la transmission de 5 cas sur 24 cas, soit 21% de réussite. Les moustiques eux ont transmis la maladie à 7 cas sur 60, soit une efficacité de 12%. Cette transmission est plus probable juste après le repas sur l'animal contaminé, elle est nulle à 24 heures.

Cette expérience montre alors, qu'une transmission de l'anthrax s'avère possible par les insectes hématophages et ce pendant les premières heures qui suivent le repas sanguin.

3.2.3.2. *Dermatophilus congolensis* :

La dermatophilose causée par *Dermatophilus congolensis* est une maladie infectieuse transmissible, qui affecte les ruminants, les équidés, le chien, ainsi que l'homme. Les animaux malades et les porteurs chroniques sont les principaux réservoirs de la maladie. L'humidité est un facteur de risque important.

La transmission de cette maladie peut être directe par contact entre les animaux, ou indirecte par l'intermédiaire d'arthropodes piqueurs ou lécheurs. Une transmission indirecte a été expérimentée sur des lapins. Ces derniers sont infectés au laboratoire, puis des insectes sont mis à leur contact et au contact des lapins sains réceptifs. Quarante cinq transmissions ont été réalisées par *S. calcitrans*. En outre, l'auteur remarque que le risque de transmission est élevé lorsque la peau du donneur et celle du receveur sont humides (Richard et Pier, 1966).

3.2.4. Les virus :

3.2.4.1. *Capripoxvirus* :

Ce poxvirus est responsable de la dermatose nodulaire contagieuse (DNC), il s'agit d'une maladie virale des bovins, qui se manifeste par des lésions cutanées généralisées. Plusieurs études réalisées ont permis de montrer le rôle des stomoxes dans la transmission de ce virus. Chihoa *et al.* (2003) ont permis à des stomoxes de se nourrir sur des bovins infectés par la DNC ou à travers une membrane posée sur

du sang contenant le virus. Ces stomoxes ont pu se nourrir ensuite sur des hôtes sensibles non infectés. Les auteurs ont mis en évidence par PCR dans les pièces buccales des stomoxes une quantité de virus suffisante pour permettre l'infection d'un nouvel hôte.

3.2.4.2. Deltarétrovirus :

Ce rétrovirus est responsable de la leucose bovine enzootique (LBE). C'est une maladie contagieuse spécifique des bovins à transmission essentiellement horizontale. Cependant, de nombreux auteurs rapportent l'hypothèse de sa transmission par des insectes hématophages.

La transmission de LBE par les moustiques a été évaluée par (Buxton *et al.*, 1985). Dans leur étude, du sang d'animal présentant une lymphocytose due au virus de la LBE a été prélevé, puis déposé sur une membrane destinée à l'alimentation de moustiques. Ces derniers sont ensuite anesthésiés, leurs pièces buccales sont prélevées puis inoculées par voie sous cutanée à des moutons. Après cette inoculation, 4 des 9 moutons ont développé des anticorps contre la LBE. L'auteur rapporte que les moustiques ne sont généralement pas considérés comme de bons vecteurs mécaniques, car ils finissent souvent leur repas sur un même hôte. Contrairement à *S. calcitrans* qui semble être meilleure candidate à la transmission mécanique.

Ainsi, l'effet vectoriel des stomoxes est envisageable dans la transmission de cette maladie.

3.2.4.3. Bunyavirus :

Ce *Bunyavirus* est l'agent causal de la fièvre de la vallée du Rift (Hoch *et al.*, 1985). Il s'agit d'un arbovirose commune à l'homme et à de nombreuses espèces animales. Le sang constitue la matière virulente essentielle dans cette maladie.

La transmission à l'homme se fait suite à un contact direct ou indirect avec du sang ou des organes d'animaux contaminés. Cet arbovirose est transmis

essentiellement par les moustiques (Diallo *et al.*, 2000). La transmission mécanique par *S. calcitrans* a également été démontrée par Hoch *et al.* (1985).

3.2.4.4. Le virus du HIV :

Des expérimentations menées au laboratoire par Eigen *et al.* (2002) ont montré que l'infectivité du virus n'est pas réduite dans les régurgitas de *S. calcitrans*, alors qu'il l'est chez les autres espèces de diptères hématophages. Il émet donc l'hypothèse selon laquelle, les stomoxes seraient impliqués dans la transmission du virus HIV.

3.2.5. Autres agents pathogènes transmis :

- i. Le *Pestivirus* responsable de la peste porcine africaine (Foils et Gorham, 2000).
- ii. Le *Rétrovirus* de l'anémie infectieuse des équidés (Foil et Issel, 1991).

Chapitre 2 : La lutte contre les diptères

Introduction :

L'homme a depuis toujours développé de nombreux moyens de lutte contre les insectes nuisibles, à commencer par la lutte environnementale, visant à supprimer leurs sites de reproduction, passant par la lutte chimique en synthétisant des produits insecticides, puis une lutte biologique par le biais de bactéries, parasites ou prédateurs des arthropodes.

Il a également cherché à perturber leur comportement grâce à des attractifs ou répulsifs, notamment les phéromones.

1. Lutte environnementale :

Cette lutte consiste en une modification du biotope des stomoxes, afin de le rendre incompatible à leur mode de reproduction, de ponte et de développement des larves. Ce moyen de lutte nécessite l'application par les éleveurs d'une bonne gestion des effluents de l'élevage, notamment celle du fumier et du lisier qui abritent souvent les formes larvaires des parasites. Le nettoyage régulier des lieux de stabulation des animaux et l'élimination régulièrement des reposoirs des mouches doivent être systématiques pour lutter contre les mouches.

Cette méthode permet de réduire significativement la densité des stomoxes dans un élevage, néanmoins elle reste secondaire devant les autres moyens de lutte directe.

2. Lutte mécanique :

Il s'agit d'un moyen de lutte qui passe par l'utilisation de plusieurs pièges. Le principe de base du piège est d'attirer les insectes en vol lors de leur recherche d'hôtes. Parmi les pièges qui ont prouvé leur efficacité dans la capture des populations de stomoxes, le piège Vavoua initialement conçu pour l'attraction des glossines en Afrique.

Description du piège Vavoua :

Le piège Vavoua mesure 80 cm de diamètre et 118 cm de hauteur, un cône de tulle moustiquaire coiffe trois écrans se coupant à 120° ; la partie centrale de chaque écran est noire et la partie externe bleue phtalogène. Le piège est supporté par un piquet vertical planté dans le sol et un cône de soutien qui fonctionne comme un dispositif anti-retour portant une cage de collecte (Bouyer et *al.*, 2005)



Figure 6: Piège Vavoua (Desquesnes).

Afin d'améliorer la qualité des captures plusieurs mesures sont à prendre en considération. Lors de l'utilisation du piège Vavoua contre les stomoxes, une grande variabilité de rendement (1 à 100) peut être observée en fonction de la position du piège dans l'élevage. Ainsi, pour la lutte, il faut disposer les pièges entre les sites de repos (massifs de végétation, murs, barrières où l'on peut observer de fortes densités de mouches) et les sites d'attaque (aire de stabulation, parc à bétail, etc...) pour obtenir une efficacité maximale (Bouyer et *al.*, 2005).

3. Lutte chimique :

Il est indéniable qu'à l'heure actuelle et dans la majorité des cas, la protection des cultures, des animaux et de l'homme ne peut être menée à bien que par l'emploi d'insecticides (Lhoste, 1982).

Une grande variété de famille d'insecticides est proposée sur le marché mondial :

3.1. Les organochlorés :

Parmi les composés de cette famille le DDT et le lindane, ces deux produits ont été largement utilisés pour la lutte contre les insectes. Ils ont une action neurotoxique, en agissant sur les canaux sodique causant une hyperexcitation de l'insecte intoxiqué. Cependant, ils furent retirés du marché à cause de leur grande rémanence dans le milieu extérieur ainsi que leur toxicité pour l'homme et les autres mammifères.

3.2. Les organophosphorés et les méthylcarbamates:

Ce sont des composés de synthèse, analogues à l'acétylcholine et qui ont pour rôle de bloquer l'activité des acétylcholinestérases et ainsi causer une paralysie de l'insecte jusqu'à sa mort. Ils sont également très rémanents et toxiques.

3.3. Les pyréthrinoïdes :

Développés à partir des années 70, avec la perméthrine (1973) et la deltaméthrine (1974) (Ehrhardt, 2006). Ce sont des composés neurotoxiques récemment utilisés, ils ont une action sur les canaux sodiques présynaptiques provoquant ainsi une paralysie tonique de l'insecte ciblé. Connu sous l'effet « Knock down », il s'agit d'une paralysie de l'insecte. Cette dernière se produit suite à l'atteinte des ganglions nerveux centraux en premier. Les insectes paralysés conservent leur activité de respiration. Après un certain délai, ils peuvent récupérer leurs fonctions motrices.

La réversibilité de la paralysie va dépendre de la dose reçue par l'insecte, l'effet létal est observé au-delà d'une certaine dose.

Pour les stomoxes qui entrent en contact avec des supports traités, la principale voie de pénétration de l'insecticide correspond aux tarses. Les pièces buccales des

stomoxes sont également en contact avec la peau lors du repas sanguin. L'effet dans ce cas du 'Knock down' est bénéfique en évitant les piqûres des animaux.

3.4. Les lactones macrocycliques :

Ce sont des molécules qui provoquent une paralysie flasque des insectes atteints, Elles agissent par stimulation de la sortie de GABA et ouverture des canaux à Chlore. Les lactones macrocycliques ont un large spectre d'activité en atteignant la plupart des nématodes et arthropodes parasite

4. Lutte biologique :

Cette technique repose sur l'exploitation des relations antagonistes qui existent entre les différents organismes vivants. De nombreuses espèces sont mises à contribution et servent d'auxiliaires notamment dans la lutte contre les insectes à savoir : Virus, Bactéries ou parasites, champignons ou des familles d'insectes prédateurs.

A l'île Maurice, dans le cadre de lutte contre les stomoxes des lâchers de parasitoïdes (un micro-hyménoptère), *Spalangia cameroni*, sont réalisés régulièrement dans plusieurs élevages. Le parasitoïde pond dans la puppe de Muscidae, l'œuf s'y développe jusqu'à l'émergence de l'adulte, la puppe de Muscidae n'est plus viable. Dans cette île, et depuis plus de vingt ans, la lutte s'appuie uniquement sur cette méthode étant non seulement durable mais également économique en comparaison à la lutte chimique (Ehrhardt, 2006).

Conclusion :

Les méthodes de lutte contre les insectes nuisibles sont donc variables et vont du naturel au synthétique. Cependant, une nouvelle vision propose une lutte intégrée qui vise à trouver un équilibre, en regroupant à la fois les moyens de lutte chimique, qui ont l'avantage d'être très efficace mais toxique pour l'environnement et les moyens de lutte biologique et mécanique, qui sont moins efficaces, mais qui respectent plus l'équilibre de la nature.

Chapitre 3 : Présentation des régions

Introduction :

Les populations de *S. calcitrans*, qui font l'objet de cette étude, ont été prélevées de 5 régions du Maroc dans le cadre de la thèse de Kharrouba réalisée en 2008 de façon à couvrir les principaux étages bioclimatiques du Maroc.

L'étude alors concerne les régions suivantes :

- La région de Rabat-Salé et du Gharb pour le nord-ouest du Maroc,
- La région du Doukkala pour l'ouest du Maroc,
- La région de l'Oriental pour l'Est du Maroc,
- La région du Souss-Massa pour le sud-ouest du pays,
- La région du Zagora-Draa pour le sud-est,

Dans cette partie, il s'agit de présenter les caractéristiques géomorphologiques et climatologiques de ces cinq régions ainsi que les caractéristiques de leur élevages.

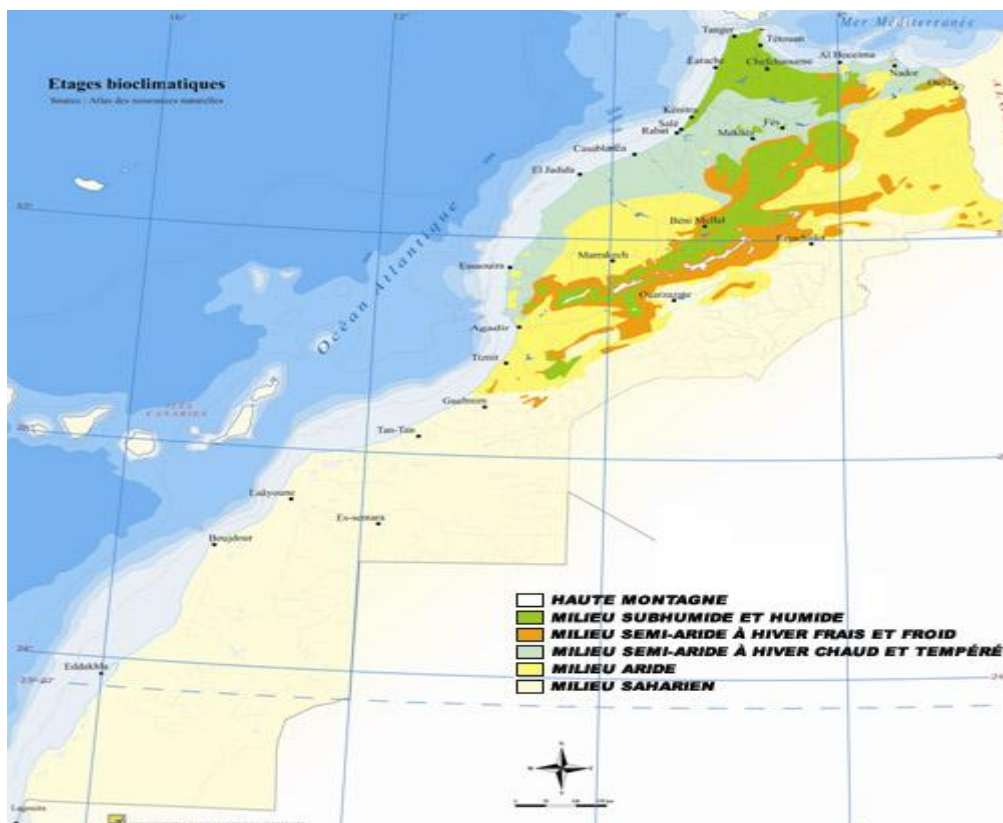


Figure 7: Etages bioclimatiques au Maroc.

1. La région de Rabat-Salé et du Gharb :

1.1. Situation géographique :

- A. La région de Rabat- Salé se situe au Nord-Ouest du pays, elle s'étale sur une superficie de 9 580 km², elle conte plus de 3 123 595 habitants. La région est limitée par la Région du Gharb-Chrarda, Bni hssin, au Nord, l'Océan Atlantique, à l'Ouest, la Région de Meknès-Tafilalet à l'Est, la Région de Chaouia-Ouardigha au Sud.
- B. La région du Gharb est également au Nord- ouest du pays, d'une superficie de 8 805 km² pour une population de 1 859 540 habitants. La région est limitée par la région de Tanger-Tétouan au nord, la région de Taza-Al Hoceima-Taounate au nord-est, la région de Fès-Boulmane et la région de Meknès-Tafilalet, au sud-est, la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaër au sud, l'Océan Atlantique à l'ouest.

1.2. Caractéristique géo-climatologique :

Cette région se caractérise par un patrimoine écologique riche et varié. Le domaine forestier couvre une superficie de 305 500 ha, ce qui représente 3,4% du patrimoine forestier national. C'est donc une zone à vocation forestière. Les forêts naturelles, notamment celles de Maâmora, représentent 80% (244 000 ha) de cette superficie totale.

Le climat de cette région est méditerranéen de part sa douceur tant hivernale qu'estivale et l'irrégularité de ses précipitations. Il est, ainsi, tempéré, doux et humide en raison de l'influence atlantique le long de la côte (45 km de plage). On y connaît trois aspects climatologiques :

- Océanique : température de 12° à 23°,
- Semi-continental (khémisset) 10° à 27°,
- Moyenne montagne (zone d'oulmès) 7° à 26°.

Les régimes pluviométriques se caractérisent par deux aspects: Le pays bas de 500 mm/an (Rabat-Tiflet-Tiddas) et la moyenne montagne de 528 mm/an (oulmès).

1.3. Elevage :

L'élevage dans la région du Gharb est constitué des quatre espèces suivantes : bovins, ovins, caprins et équidés. La région compte un total de 343 610 bovins, 1 080 740 ovins, 33 900 caprins et 130 500 équidés, répartis sur sidi-Kacem et Kénitra. (Source : ORMVAG (Kénitra), DPA (Sidi-Kacem), 2001).

2. La région du Doukkala :

Cette région se situe au sud de la plaine centrale, sur la côte atlantique. Elle s'étale sur 13 285 km², pour une population de 1 984 039 habitants. La région appartient à un cadre géographique privilégié lui offrant un sol agricole fertile et une façade maritime de 300Km. Elle est limitée par l'océan atlantique à l'ouest et au nord ouest, par les provinces de Settat et d'El Kelaâ des seraghna à l'est et la province d'Essaouira au sud et au sud-est.

2.1. Climat :

La région se caractérise par un climat semi-aride, néanmoins le climat se ressent du voisinage ou de l'éloignement de la mer. Sur la côte, le minimum moyen d'hiver descend à 7° environ, le maximum moyen d'été ne dépasse pas 30°. Un minimum absolu de 2 à 3°, en janvier- février, et un maximum absolu de 39 à 40°, en juin-juillet, semblent constituer le plus grand écart enregistré dans une même année. Le sud de la région paraît avoir un climat plus sec et plus continental (J.Goulven, 1920).

2.2. Pluviométrie et ressources hydriques :

La région connaît une rareté des eaux courantes, le seul fleuve est l'Oum er Rabia « la mère des pâturages », qui arrose le nord-est. (J.Goulven, 1920).

La région connaît des précipitations entre Octobre et Avril, 40 à 50 cm d'eau ; novembre et mars paraissent être les mois où les pluies, qu'amènent de violent vent d'ouest, sont les plus fréquentes et les plus fortes. (J.Goulven, 1920).

2.3. L'élevage :

Dans cette région le cheptel est également constitué des quatre espèces : Bovins, ovins, caprins et équidés. L'espèce bovine comprend des races locales et des races améliorées. La région compte dans la province d'El - jadida en milliers de tête : 264.2 bovins, 665.7 ovins, 4.3 caprins et 13.4 équidés. (Source : DPAE/Mars- Avril 2006).

3. Région de l'oriental :

Cette région occupe le Nord-est du Maroc, elle s'étend sur une superficie de 82 900 km² pour une population de 1 918 094 habitants. Elle est limitée par la mer méditerranée au Nord, La région de Nador et de Fès-Boulmane, l'Algérie à l'Est et la région de Meknès-Tafilalet au sud-ouest.

La région de l'Oriental est constituée principalement de trois types de reliefs :

- Les plaines de la Basse Moulouya ;
- Les hauts plateaux (plateaux du Rekkam et de Berguent);
- Le domaine montagneux formé des massifs septentrionaux du nord, la chaîne des Béni Snassen et la chaîne des Horsts.

3.1. Climat et pluviométrie :

Pour la région de l'Oriental, le climat qui règne est de type aride à semi-aride. La pluviométrie moyenne annuelle est de l'ordre de 350 mm dans la partie nord, et ne dépasse pas 150 mm dans la partie sud.

3.2. Elevage :

La région de l'Oriental compte dans son cheptel les trois espèces suivantes : les bovins, ovins, caprins, ils représentent respectivement

88.300,1 746 600, 376 100 têtes. (Sources : Délégation régionale l'orientale de la prévision Economique et du plan (2005).

4. La région du Souss-Massa-Draa :

Elle regroupe deux des régions concernées par cette étude, le Souss-Massa (Tiznit) à l'est et le Zagora-Draa à l'ouest. Elle s'étend sur 70 880 km² et est peuplée de 3 113 653 habitants.

A. Tiznit : Elle couvre une superficie de 8 200 km², avec 786 000 hab. elle est limitée par la ville d'Ait Baha au nord, la ville de Guelmim au sud, La ville de Tata et Taroudant à l'Est, L'océan atlantique à l'ouest.

B. Zagora-Draa : elle couvre une superficie de 22.215 km², et conte 285.000 habitants. Elle est limitée par les massifs du haut-atlas occidental et du haut-Atlas Oriental au nord, elle est traversée par l'Oued Massa et l'anti-Atlas au centre et par la rivière Draa au sud.

4.1. Climat :

Le climat de la région est à prédominance aride mais il varie du type humide à hiver froid sur les sommets du Haut-Atlas Occidental à présaharien, à hiver frais en plaine. Le caractère aride est atténué par la proximité de l'Océan et l'influence du courant froid des Canaries ainsi que par la protection contre les vents du Sud, assurée par la barrière montagneuse de l'Anti-Atlas.

Les températures moyennes annuelles varient de 14°C sur le Haut-Atlas au Nord à 20°C sur l'Anti-Atlas au Sud. La température maximale journalière atteint 49°C et la température minimale descend jusqu'à 3°C au dessous de zéro. Les amplitudes thermiques sont également élevées et peuvent atteindre 48°C. La région est relativement ventée. Des vents d'Est chauds, communément appelés Chergui, peuvent souffler en été et en automne. La vitesse moyenne annuelle du vent est de

l'ordre de 3 km/h en montagne et 5 km/h en plaine. Elle peut atteindre au piémont des montagnes près de 8 km/h.

4.2. L'activité d'élevage :

L'élevage constitue l'une des principales activités agricoles de la région notamment dans la zone du Drâa. Ainsi, en 2006, la région a compté un cheptel de 2,7 millions de têtes soit 11,3% du cheptel national. Ce cheptel se compose respectivement de 277 milliers de bovins, 1,2 million d'ovins et 1,2 million de caprins soit des contributions parmi les plus notables dans le cheptel national avec respectivement 10,4%, 7,5% et 23,2%.

Chapitre 4 : L'ADN mitochondrial et notion de polymorphisme

1. L'ADN mitochondrial :

1.1. Généralités :

Les mitochondries des organismes eucaryotes possèdent un certain nombre de molécules d'ADN, attachées à la face interne de leur membrane interne. Ce génome est probablement celui qui subsiste du génome de la bactérie ancestrale de laquelle sont issues les mitochondries (Margulis et Sagan, 1985). Les mitochondries ont été conservées et continuent à transmettre un minimum d'informations génétiques par des voies qui leur sont propres.

L'ADN mitochondrial (ADNmt) des animaux est donc une petite molécule, présente à un grand nombre d'exemplaires dans chaque cellule, ce qui la rend particulièrement accessible à de nombreuses études. Cette molécule est actuellement un des marqueurs moléculaires les plus utilisés pour explorer la diversité des populations naturelles et contribuer à l'établissement de phylogénies.

1.2. Structure de l'ADN mitochondrial :

Le génome mitochondrial animal est constitué d'une seule molécule d'ADN circulaire contenue en plusieurs copies dans la mitochondrie et dont la réplication est autonome. La taille du génome varie autour de 16 000 paires de bases. Le plus petit génome mitochondrial animal connu est celui du nématode *Onchocerca volvulus* : 13 747 paires de bases (Keddie et Unnasch, 1998) ; la plus grande taille se trouve chez la coquille Saint Jacques *Placopecten magellanicus* où le génome peut atteindre plus de 40 000 paires de bases avec une grande variation intra spécifique (La Roche *et al.* 1990; Gjetvaj *et al.* 1992).

Le génome mitochondrial contient trente-six ou trente-sept gènes. Deux gènes codent pour des ARNr(1), la petite et la grande sous-unité (12S et 16S). Vingt-deux gènes codent pour des ARNt(2) (on utilise pour les nommés le code de l'acide aminé avec lequel ils se lient). Douze ou treize gènes codent pour des sous-unités des protéines de la chaîne de transport d'électrons : le cytochrome b (Cyt b), les sous-unités 1 à 3 du cytochrome c oxydase (COI-III), les sous-unités 6 et 8 de

l'ATP synthétase (ATPase 6 et 8), l'ATPase 8 étant absente chez les nématodes et chez la moule (*Mytilus edulis*) (Hoffmann *et al.* 1992 ; Okimoto *et al.*, 1992 ; Keddie *et al.* 1998) et les sous-unités 1 à 6 et 4L de la NADH déshydrogénase (NADH 1 à 6 et 4L). Enfin, il contient un nombre variable de régions non codantes dont la taille s'échelonne d'une à plusieurs milliers de paires de bases.

1.3. Intérêt de l'ADN mitochondrial :

L'ADNmt(3) porte un intérêt particuliers pour plusieurs raison : parce qu'il est facile à isoler, qu'il évolue rapidement et qu'il se transmet de façon clonale (transmission uniquement maternelle). Cependant, la transmission clonale a été remise en question par des résultats qui ont montré que l'ADNmt peut se transmettre par les mâles au moins chez certaines espèces, à un taux faible mais non négligeable. En effet, une forme d'ADNmt très minoritaire est susceptible de se fixer dans une lignée, soit parce qu'elle présente un avantage sélectif, soit par dérive s'il existe un goulet d'étranglement lors de l'ovogénèse (Hauswirth, 1982). Dans ce cas, des phylogénies mitochondriales ne coïncident plus avec les lignées maternelles, ce qui peut modifier les interprétations concernant la structure des populations (Avisé, 1991).

L'utilisation la plus originale de l'ADNmt est la recherche de relations phylogénétiques à l'intérieur des espèces. Si on admet qu'il n'y a pas de recombinaison intermoléculaire, la diversité de l'ADNmt peut s'interpréter comme étant le résultat d'une diversité clonale. Ainsi les phylogénies moléculaires permettent non seulement de retracer les phylogénies d'espèces différentes, mais aussi celles des lignées maternelles à l'intérieur des espèces et des populations. Cette nouvelle approche constitue un pont entre la systématique et la génétique des populations (Avisé *et al.*, 1987).

(1)ARNr : ARN ribosomal.

(2)ARNt : ARN de transfert.

(3)ADNmt : ADN mitochondrial

La structuration géographique des lignées mitochondriales peut mettre en évidence des événements de l'histoire de l'espèce : subdivisions, isolements géographiques, regroupements, réductions d'effectifs, migrations.

2. Notion de polymorphisme :

Dans sa définition historique (Ford, 1940), le polymorphisme concernait les caractéristiques phénotypiques accessibles aux observations de cette époque : la couleur, la forme. Cette définition du polymorphisme peut être résumée de la façon suivante :

« Il y a polymorphisme si dans une même population coexistent pour un caractère donné plusieurs formes phénotypiques discontinues, déterminées génétiquement, et dont la plus fréquente ne représente pas plus d'une certaine fraction de la population totale, fixée à 95 ou 99%. La population est alors qualifiée de polymorphe. »

L'utilisation de plus en plus répandue des techniques de biologie moléculaire permettant d'étudier la variabilité non exprimée au niveau phénotypique (portion non codante d'ADN) a donné une définition plus large du polymorphisme qui peut être la suivante :

« on dit qu'il y a polymorphisme si dans une même population une portion codante ou non codante d'ADN présente une variation de séquence correspondant à plusieurs formes alléliques dont la plus fréquente ne présente pas plus d'une certaine fraction de la population totale fixée de 95 à 99 %. » (Fleury. F, Cours de Génétique des Populations). »

La caractéristique première du polymorphisme de séquence de l'ADN est que les nombreuses mutations qu'il porte permettent de retracer plus ou moins fidèlement l'histoire des populations et de leurs variations: cette dimension historique est la seule base que le polymorphisme moléculaire partage avec la phylogénie moléculaire. Elle implique que la filiation des polymorphismes actuellement trouvés dans une espèce peut être suivie dans le passé, les différents allèles ayant un "**MRCA**" (most recent common ancestor: dernier ancêtre commun).

Au delà de ce MRCA, aucun polymorphisme n'a subsisté, et une seule filiation réunit tel gène au grand arbre de l'évolution : nous sommes en phylogénie moléculaire. En deçà de ce MRCA, plusieurs lignées du gène ont subsisté dans l'espèce : nous sommes en génétique des populations. Un trait également intéressant du polymorphisme moléculaire est qu'il nous livre une double information, car il existe dans les séquences des positions silencieuses et des positions de remplacement d'acides aminés (Veuille M., 2002-2003).

La génétique mendélienne nous a habitués à comparer des individus différents les uns des autres par leurs allèles à des locus identifiés. Cependant, à partir du moment où nous disposons d'un nombre quasiment infini de locus, et où nous savons que les uns et les autres ont subi des histoires corrélées entre elles, la méthode qui s'est établie depuis la fin du 20^{ème} siècle en génétique des populations consiste à prendre comme premier objet d'étude l'histoire des lignes de filiation. Dans un second temps seulement, on utilise le polymorphisme de tel ou tel locus comme marqueur de cette histoire. La variation à chaque locus n'apportera pas exactement la même version de l'histoire parce que les taux de mutations varient entre gènes, et parce que les générations et les individus où se seront produites les mutations seront différents d'un locus à l'autre. La démarche de la génétique des populations moléculaire est de rechercher les filiations de gènes, en faisant comme s'il suffisait de projeter secondairement sur cette trame historique les événements mutationnels intervenus à tel locus (Veuille M., 2002-2003).

Encadré : Méthodes d'estimation de polymorphisme (Veuille M, 2002-2003).

➤ Le modèle à nombre infini de sites :

L'étude du polymorphisme moléculaire a l'immense avantage de pouvoir faire ses prédictions sous un modèle neutre. Ce modèle neutre repose sur un modèle mutationnel et sur un modèle populationnel. Le modèle mutationnel s'appelle le **modèle à nombre infini de sites**. En premier lieu, il suppose que le taux de mutation est suffisamment bas pour que le nombre de sites ayant subi plusieurs mutations dans l'échantillon soit négligeable. Si la proportion de sites polymorphes par paire de base est de $k = 10^{-2}$, on admet que la proportion de sites ayant subi deux mutations est de l'ordre du carré $k = 10^{-4}$, ce qui est négligeable. Cela permet de ne pas tenir compte des **homoplasies** et des **mutations réverses**. Par ailleurs, ce modèle suppose que chaque mutation nouvelle est indépendante des autres, c'est-à-dire que les mutations ne se produisent pas en paquet, et qu'une première mutation ne favorise pas une seconde mutation. Ce modèle est approximatif. D'une part, il n'est pas certain que plusieurs mutations ne puissent se produire de façon simultanée. D'autre part, certaines mutations en favorisent d'autres. Ce sont par exemple les "mutations compensatoires" qui permettent le maintien des tiges-boucles de la structure secondaire des acides nucléiques. Ce sont aussi les biais de réparation des conversions géniques: ainsi, les polymorphismes AT / CG sont réparés préférentiellement dans le sens AT à CG. Avec toutes ces conditions, le modèle à infini de sites se ramène à un modèle d'horloge moléculaire dans des conditions non-saturantes en mutations : le nombre moyen de différences neutres entre deux séquences suivra donc simplement une loi de Poisson. Ces présupposés du modèle sont réalistes au niveau de généralité où on l'utilise habituellement, ce qui le rend très robuste. Cependant, il faut avoir ces présupposés présents à l'esprit au moment de l'interprétation des données.

➤ Le modèle de Wright-Fisher :

Le modèle populationnel utilisé pour l'étude du polymorphisme moléculaire est le modèle dit de "Wright-Fisher". Il suppose une population dont l'**effectif efficace constant N_e** est resté stable pendant suffisamment longtemps pour qu'aucun effet de goulot d'étranglement (bottleneck) ou d'expansion de population n'ait d'incidence sur les profils de distribution du polymorphisme. Il suppose aussi une **population non structurée**. Cela revient à admettre soit que population et espèce se confondent, soit que cette population s'est séparée du reste de l'espèce sans bottleneck et n'a pas échangé de migrants avec elle depuis. Enfin, condition imposée par le fait que **N_e** soit bien l'effectif efficace, il faut que chaque individu se reproduise au hasard, c'est-à-dire que sa descendance suive une distribution binomiale. Mais puisque l'effectif efficace est constant chaque individu engendre seulement en moyenne un descendant (espèces hermaphrodites) ou deux (espèces à sexes séparés). Cette faible moyenne signifie que le nombre de descendants suit une loi de Poisson. La variance d'une loi de Poisson est égale à sa moyenne. Pour se ramener au modèle de Wright-Fisher, on estime que si **s** est la variance réelle du nombre de descendants dans une espèce hermaphrodite, l'ensemble de ces conditions implique que

$$N_e = N/s.$$

PARTIE II : Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

Introduction :

Il s'agit dans la présente étude de déterminer la présence éventuelle de polymorphisme génétique au sein de populations de *S. calcitrans* capturées dans les cinq régions précédemment décrite: la région du Gharb, la région de l'Oriental, la région de Doukkala, la région de Souss-Massa et la région de Zgoura-Draa. Le matériel génétique choisi, est l'ADN mitochondrial. La comparaison entre les individus de chaque population a été réalisée par l'étude de gène codant pour deux sous-unités protéiques du métabolisme mitochondrial, la *Cytochrome oxydase I* (CoxI) et le *cytochrome b* (Cyt b).

La partie expérimentale de cette étude se présente alors comme suit :

- L'échantillonnage.
- L'extraction de l'ADN mitochondrial, et l'amplification par PCR.
- L'électrophorèse sur gel d'Agarose
- Le séquençage et les méthodes d'analyse des séquences.

1. Les Populations de *Stomoxys calcitrans* :

Les individus de chaque population ont été conservés dans de l'alcool 95°, dans des tubes de 2 ml, au nombre de quatre individus par région, par date de capture et par sexe. Chaque région est désignée par une lettre alphabétique et chaque tube porte la lettre de la région ainsi qu'un numéro attribué par date de capture et par sexe (Annexe I).

1.1 Echantillonnage :

Ce travail a été réalisé au centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive à l'Université de Montpellier III (Paul Valéry) en France.

Un échantillonnage aléatoire est réalisé pour former 4 groupes de 24 individus (pour une raison pratique : la centrifugeuse comporte 24 puits), chaque groupe est formé de la manière suivante : 5 individus de chacune des 4 régions du Gharb, du Doukkala, de l'Oriental et de Zagora-Draa, et quatre individus de la région du

Souss-Massa (Annexe II). Le but est d'arriver à la fin à un total de 96 individus qui est le nombre de puits dans une plaque de séquençage. Un cinquième groupe a été rajouté par défaut des résultats négatifs de certains individus extraits (Annexe II, groupe 5). Des individus de l'espèce *Musca autumnalis* des états unis et de France ont été pris comme extra-groupe (Annexe II, Extra-groupe).

2. Préparation des échantillons pour l'extraction de l'ADN :

2.1. Dissection et séchage :

Les échantillons préalablement conservés dans de l'alcool 95° sont préparés par groupe de 24 individus. Tout d'abord, ils sont sujets à une dissection, qui consiste à leur enlever la tête et l'abdomen, le reste (thorax et pattes) de chaque individu est mis dans un tube identifié auquel on ajoute une bille spéciale qui servira au broyage. On laisse sécher le tout à l'air libre pour évacuer l'alcool résiduel.

2.2. Broyage :

Le broyage se fait par un appareil agitateur, à une vitesse de trente agitations par seconde (30g/s) et ce pendant trente secondes (30s). Le but étant de transformer les individus dans les tubes en une infime poussière.

3. Extraction de l'ADN :

L'extraction de l'ADN mitochondrial des échantillons des populations de *S. calcitrans* du Maroc est réalisée par le protocole décrit dans le kit DNeasy® Blood and Tissue Kit (QIAGEN), (Annexe III).

Après quelques essais, une modification a été portée au protocole décrit en annexe III. L'étape de dégradation des protéines de 2h à 55°C a été remplacée par toute une nuit à cette même température (ce changement a été proposé par Félix A.E). Ce qui a probablement été derrière l'améliorer de la qualité et la quantité d'ADN récupéré.

4. Amplification par PCR :

L'amplification par PCR de l'ADN extrait concerne deux gènes, le cytochrome oxydase I et le cytochrome b.

a. Le cytochrome b :

Les amorces utilisées pour ce gène sont représentées dans le tableau qui suit:

Tableau 1: Amorces pour le gène cytochrome b.

Amorces	Séquences (5'-3')	Référence
CB-J10933	GTTTACCTTGAGGACAAATATC	Simon et al., 1994
CB-N11526	TTCAACTGGTCGAGCTCCAATTCA	

Dans ce protocole, les deux amorces sont préparées à une concentration de 25µM par ajout d'eau pure (une dilution au 1/4).

Chaque tube de PCR contient, 30 µl d'un mélange d'éléments dont chacun a un rôle particulier dans la réaction de PCR (Annexe Tableau) aux doses suivantes :

Définition des éléments du mélange PCR :

Tableau 2: mélange de PCR pour le gène cytochrome b.

Les composés	La dose en (µl)
H2O	18.55
10xBUFFER	3
MgCl2	2
dNTP	0.3
Primer CBJ	1.5
Primer CBN	1.5
Taq	0.15
ADN	3

- **dNTP** : est l'appellation du mélange des quatre désoxyribonucléotides : dATP (désoxy adénine tri-phosphate), dCTP (désoxy cytosine tri-phosphate), dGTP (désoxy guanine tri-phosphate), dTTP (désoxy thymine tri-phosphate). Il est utilisé au cours d'une PCR comme élément de synthèse de l'ADN complémentaire.
- **Taq** (Eurogentec Red GoldStar®) : appelée également « Taq pol » ou « Taq polymérase » est une enzyme, plus exactement une ADN polymérase .

Un tube est préparé pour chaque échantillon d'ADN, en plus d'un tube témoin (blanc) sans ADN.

Le thermocycleur est réglé pour l'amplification du cytochrome b avec le programme suivant :

1. Une dénaturation à 94°C pendant 3min, qui correspond à un premier chauffage.
2. Une dénaturation à 94°C pendant 30 sec qui permet de déshybrider les ADN, de « décrocher » les polymérases, qui seraient encore liées à une matrice et d'homogénéiser le milieu réactionnel.
3. Une troisième étape très importante, l'hybridation qui permet aux amorces sens et anti-sens de se fixer aux brins d'ADN à amplifier. Pour cela, la température choisie lors de cette étape est spécifique à chaque amorce. Au cours de cette expérimentation pour le cytochrome b, la température recommandée varie entre 57 et 58°C. Cependant, il s'est avéré, après des essais d'amplification à des températures inférieures, que les résultats de l'amplification sont meilleurs à 55°C.
4. Une élongation à 72°C pendant 1min, qui permet aux polymérases de synthétiser le brin complémentaire de leur ADN matrice. Ce brin est fabriqué à partir des dNTPs libres présents dans le milieu réactionnel. La durée de cette étape dépend normalement de la longueur du gène à amplifier (environ une minute pour 1Kb).
5. Les étapes 2 à 4 sont répétées 35 fois pour augmenter à chaque cycle le nombre de fragments d'ADN amplifiés.
6. Une élongation à 72°C, pendant 10 min.
7. Une septième étape à 4°C, qui permet le refroidissement et la conservation de l'ADN amplifié.

L'amplification réalisée les tubes de PCR sont récupérés pour une préparation sur gélose.

b. La cytochrome oxydase I:

Les deux amorces utilisées pour ce gène sont :

Tableau 3: Amorces pour le gène cytochrome oxydase I.

Amerces	Séquences (5'-3')	Référence
C1-J-2813	CAACATTTATTTTGATTTTGG	Simon et al.,1994; 2006
TL2-N-3014	TCCATTGCACTAATCTGCCATATTA	

Les deux amorces sont diluées de la même façon que pour l'autre gène. Chaque tube contient 30 µl des éléments indiqués dans le tableau suivant :

Tableau 4: Mélange de PCR pour le gène cytochrome I.

Les composés	La dose en (µl)
H2O	19.05
10xBUFFER	3
MgCl2	3
dNTP	0.3
Primer Co I : 2183	0.75
Primer Co I : 3014	0.75
Taq	0.15
ADN	3

La suite de l'étape de préparation de la PCR est identique à celle du *cytochrome b*, la seule différence résidant dans la température d'**hybridation** a baissée à **48°C** (étape3).

Ainsi 138 échantillons ont été préparés pour le *cytochrome b*, et 107 échantillons pour le *cytochrome oxydase I*. Le résultat de chaque PCR est vérifié au fur et à mesure grâce au passage sur gel d'Agarose 1%

5. Electrophorèse sur gel d'agarose :

5.1. Principe :

L'électrophorèse sur gel d'agarose est une méthode largement utilisée en biochimie et en biologie moléculaire pour la séparation de l'ADN, l'ARN ou des protéines en fonction de leur taille. Dans cette étude, on utilise la propriété de

l'ADN d'être chargé négativement pour faire la migration sous l'effet d'un champ électrique à travers une matrice (gel d'agarose), ceci nous permettra de vérifier la qualité de la réaction de PCR et la quantité d'ADN amplifié.

5.2. Préparation :

➤ Le gel d'agarose :

Il s'agit d'un gel à 1% d'agarose : La préparation du gel nécessite de l'Agarose qui est un polymère d'Agar purifié et un tampon, le plus souvent utilisé étant le TBE (Tris, Borate (acide borique), l'EDTA (Acide-éthylène-diamine-tétra-acétique) et le BET (le bromure d'éthidium) qui est un agent d'intercalation couramment utilisé comme marqueur d'acide nucléique. Lorsqu'il est exposé à des rayonnements ultraviolets, il devient fluorescent avec une couleur rouge-orangée, 20 fois plus intense lorsqu'il est lié à l'ADN. Le gel est ensuite mis dans une cuve de migration qui contient une solution tampon de TBE. Chaque individu amplifié par PCR est vérifié sur gel d'agarose (Annexe IV)

Le gel est chargé de la manière suivante :

- Un puits par individu avec 6µl d'ADN amplifié et 4 µl du bleu de charge « bleu de bromophénol ». Le bleu de bromophénol est légèrement chargé négativement à un pH modéré, il migre alors dans la même direction que l'ADN. Il est ainsi utilisé comme marqueur coloré pour vérifier le bon déroulement de l'électrophorèse.
- Deux autres puits, un pour le témoin de PCR et l'autre pour le marqueur de taille. Le témoin PCR ne doit pas contenir de bande (pas d'ADN) et permet de vérifier que la réaction de PCR n'a pas été polluée.

Le marqueur de taille, dont la taille et la quantité d'ADN présent sont connues, permet d'identifier la taille des brins amplifiés ainsi que la quantité d'ADN présent.

La visualisation des brins d'ADN qui ont migrés se fait sous lumière UV grâce au BET. L'appareil est lié à un appareil photographique et à un ordinateur.

6. Séquençage de l'ADN :

Le séquençage de l'ADN, consiste à déterminer l'ordre d'enchaînement des nucléotides d'un fragment d'ADN donné.

Dans cette étude, nous avons séquençé 96 individus pour chaque gène étudié. Le séquençage est réalisé par le laboratoire CBGP (Centre de Biologie et de Gestion des Populations) (Evry, France). Les plaques de séquençage sont accompagnées de 25µl de chaque amorce et d'un ensemble de tableaux d'identification (Annexe ; V , VI et VII).

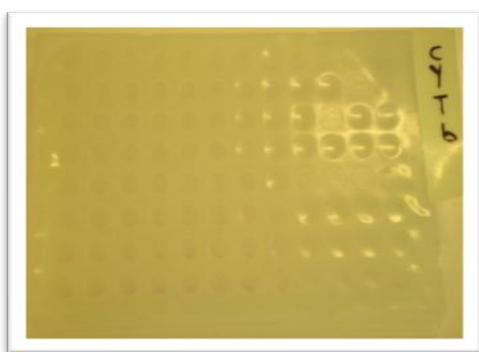


Figure 8: photos des plaques de séquençage du Cytochrome b et du Cytochrome oxydase I.

7. Traitements des séquences :

Pour chaque gène, un séquençage sens et anti-sens est réalisé. Les séquences de gène obtenu sont traitées par le programme BioEdit Alignment Editor version 7.0.4.1 (Hall, 1999). Ce programme permet de fournir les fonctions de base, d'alignement, de manipulation et d'analyse des protéines et des séquences d'acides nucléiques. Une correction visuelle des séquences est également réalisée selon un code nucléotidique (Annexe VIII).

Une analyse de la distance génétique des séquences de *Stomoxys* est réalisée par le logiciel Arlequin 3.1 (Excoffier et *al.*, 2005). Ce programme a pour but de fournir un moyen d'extraction des informations sur les caractéristiques génétiques et démographiques d'un ensemble d'échantillons dans une population, à travers un jeu de méthode de base et des tests statistiques.

Le paramètre, qui fut utilisé dans l'analyse de la distance génétique, est l'indice F_{st} : La quantité F_{st} est généralement utilisée pour évaluer les niveaux de subdivision de population.

L'indice F_{st} caractérise la structuration génétique d'une population. Cette dernière correspond à la structuration en sous-population d'une plus grande population et aux relations qu'elles entretiennent entre elles, en termes de flux de gènes. C'est donc le degré d'isolement entre ces sous-groupes qui exprime la structure génétique de la population dans son ensemble.

L'indice F_{st} varie entre 0 et 1, il correspond à une probabilité. Un F_{st} égal à 1 signifie que les sous-populations considérées sont totalement isolées les unes des autres et n'échangent aucun gène. Un F_{st} égale à 0 correspond à une population entièrement homogène, non divisée en sous-groupe et donc finalement sans structure. On peut alors considérer le F_{st} entre deux sous-populations pour estimer leur degré d'apparentement génétique.

Un autre paramètre a été calculé à partir de l'indice F_{st} qui est le pourcentage de similitude et ce par la formule suivante :

$$\% \text{ de similitude} = (1 - F_{st}) * 100$$

- **Comment mesurer la différenciation génétique entre populations au niveau de marqueurs moléculaires?** Indice F_{st} .

La différenciation génétique entre populations, qui peut être due à une structure en populations (suite aux contraintes géographiques ou environnementales) est associée à des croisements non-aléatoires entre individus. Cet écart à la panmixie, connu sous le nom d'effet Wahlund (1928) se traduit par un déficit d'hétérozygotes observé dans la population dans son ensemble par rapport à la valeur théorique d'une population panmictique.

➤ **Indices de fixation :**

Wright (1943, 1951, 1965) propose d'exprimer l'écart à la panmixie dans une population structurée en sous-populations au moyen de trois paramètres, également appelés indices de fixation ou statistiques F : (F_{ST} , F_{IT} et F_{IS}). Ces indices sont dérivés du coefficient de consanguinité F (probabilité que deux gènes identiques proviennent du même ancêtre). Il sont donc définis en termes de corrélation entre 2 gènes tirés dans une souspopulation par rapport à deux gènes tirés aléatoirement dans la population totale (F_{ST} ou coefficient de différenciation génétique), corrélation entre gènes d'un même individu par rapport à deux gènes tirés aléatoirement dans la population totale (F_{IT}), et corrélation entre deux gènes d'un même individu par rapport à deux gènes tirés aléatoirement dans une sous-population (F_{IS}), et sont reliés par la formule :

$$F_{IT} = (1 - F_{IS})(1 - F_{ST})$$

➤ **Identité par descendance :**

Par la suite, plusieurs estimations de ces paramètres seront proposées, notamment en définissant ces trois indices de fixation en fonction de probabilités d'identité par descendance (IBD) de deux gènes.

Ainsi le F_{ST} est défini tel que : $F_{ST} = (Q_S - Q_T) / (1 - Q_T)$, avec Q_S , la probabilité d'IBD de deux gènes entre individus d'une même sous-population, et Q_T , la probabilité d'IBD de deux gènes entre individus de différentes sous-populations (Rousset, 2001).

➤ **Hétérozygotie :**

En 1973, Nei propose de calculer les statistiques F en fonction des paramètres hétérozygoties (opposés des probabilités d'IBD) observés et attendus. Le coefficient de différenciation génétique est alors défini tel que :

$$F_{ST} = \frac{(H_T - H_S)}{H_T}$$

avec H_T , l'hétérozygotie totale attendue et H_S , l'hétérozygotie intra population attendue. Il généralise également le F_{ST} au cas de locus multi-alléliques (G_{ST}).

➤ **Analyse de variance :**

Cockerham (1969, 1973) propose d'estimer ces statistiques F en utilisant une analyse de variance (ANOVA) hiérarchisée sur des variables indicatrices de la présence des allèles intra-individu, inter-individus à l'intérieur de sous-populations, et entre sous-populations à l'intérieur de la population totale. Une estimation du F_{ST} moyen pondéré sur l'ensemble des allèles et l'ensemble des loci est proposée (Weir et Cockerham 1984). Par la suite, plusieurs méthodes d'estimation de la différenciation génétique entre populations seront basées sur la même idée d'une analyse de variance des fréquences alléliques (Long 1986, Long *et al.* 1987).

➤ **Temps de coalescence :**

Plus tard, Slatkin et Voelm (1991) montreront la relation entre les probabilités d'IBD et les temps de coalescence, en partant de l'hypothèse que la probabilité que deux gènes soient identiques par descendance correspond à la probabilité que deux gènes aient coalescé avant qu'il y ait eu une mutation. Le F_{ST} est alors reformulé tel que :

$$F_{ST} = \frac{(t_N - t_0)}{t_N}$$

avec t_N , le temps de coalescence moyen de deux gènes pris dans deux sous-populations différentes, et t_0 , le temps de coalescence moyen de deux gènes pris dans une même sous-population. On comprend alors que plus la divergence entre deux gènes pris dans une même sous-population est récente, plus la différenciation génétique est élevée.

Chapitre 2 : Résultats

1. Amplification par PCR :

Au total 10 PCRs sont réalisées pour le gène cytochrome b, pour 138 échantillons, et 5 PCRs pour le gène cytochrome oxydase I pour 107 échantillons. Les résultats de ces amplifications sont vérifiés par passage sur gel d'électrophorèse.

Les bandes noirâtres au niveau des deux photos de gel représentent l'ADN amplifié, le témoin blanc vérifie l'absence de pollution lors de l'extraction et la préparation du mélange de PCR. Le marqueur de taille permet d'estimer la taille de l'ADN dans les bandes formées.

a. la cytochrome oxydase I :

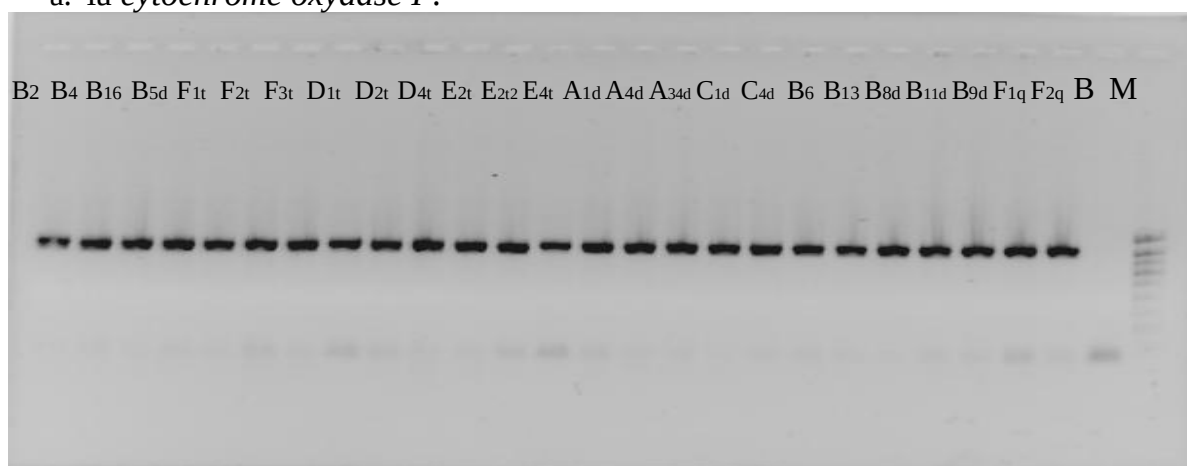


Figure 9: Photo du gel d'électrophorèse de la PCR4 pour le gène cytochrome oxydase I, B : Témoin blanc ; M : marqueur de taille.

b. Pour le Cytochrome b :

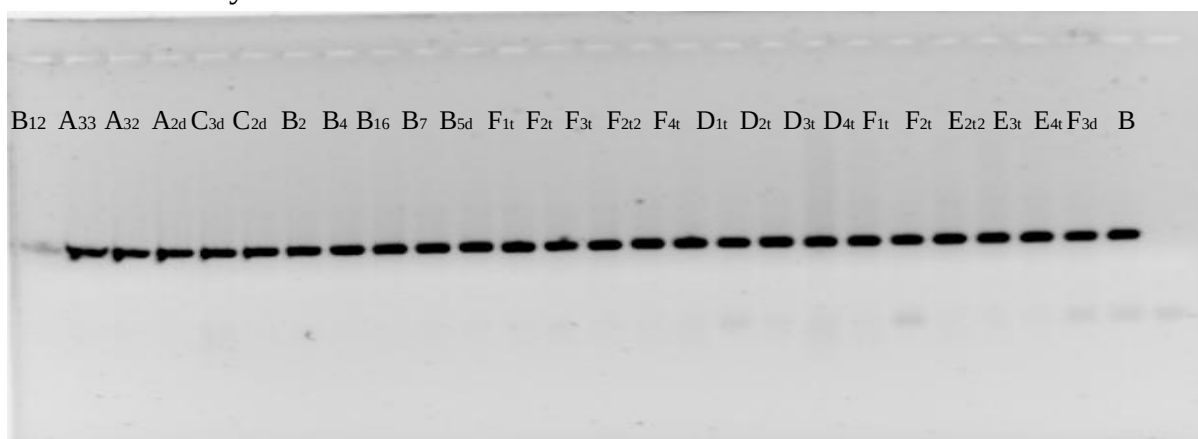


Figure 10: photo du gel d'électrophorèse de la PCR 7 du gène Cytochrome b. B : Témoin Blanc.

2. Séquençage des gènes :

Le séquençage des deux gènes étudiés au laboratoire CBGP (Centre de Biologie et de Gestion des Populations) (Evry, France) a permis d'obtenir: Pour le *cytochrome b*, 96 séquences d'acide nucléique pour l'amorce sens et 96 pour l'amorce anti-sens. Les mêmes résultats sont obtenus pour la *cytochrome oxydase I*.

3. Alignement des séquences :

Les résultats de l'alignement des séquences nucléotidiques des deux gènes étudiés par le programme BioEdit Alignment Editor (Hall, 1999) sont :

- pour le *cytochrome b* : 174 séquences alignées d'une longueur de 510 Pb.
- pour la *cytochrome oxydase I* : 171 séquences alignées d'une longueur de 755 Pb. (Annexe IX et X).

4. Distances génétiques :

4.1. Indice Fst :

Les distances génétiques calculées par le logiciel Arlequin 3.1 (<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3/>), à partir du paramètre Fst ont donné les résultats suivants :

- a. Pour le Cytochrome b (510 Pb), les distances génétiques entre les cinq régions sont très faibles, les seules valeurs qui sont relativement élevées sont celles entre le Gharb et les régions de Zagora et Doukkala (Tableau 5).

Tableau 5: Les valeurs de l'indice Fst des régions étudiées pour le gène cytochrome b.

	Gharb/Rabat-Salé	Oriental	Souss-Massa 'Tiznit'	Zagora-Draa	Doukkala
Gharb/Rabat Salé	0,00000				
Oriental	-0,01883	0,00000			
Souss-Massa 'Tiznit'	-0,00861	0,00486	0,00000		
Zagora-Draa	0,04167	0,00199	-0,00630	0,00000	
Doukkala	0,04213	0,00533	-0,00739	-0,00150	0,00000

- b. Pour le gène COX I (755 Pb), les distances génétiques entre les 5 régions sont également très faibles et se rapprochent toutes de la valeur zéro (Tableau 6).

Tableau 6: Les valeurs Fst des régions étudiées pour le gène cytochrome oxydase I.

	Gharb/Rabat-Salé	Oriental	Souss-Massa 'Tiznit'	Zagora-Draa	Doukkala
Gharb/Rabat Salé	0,00000				
Oriental	0,01129	0,00000			
Souss-Massa 'Tiznit'	0,01306	0,01956	0,00000		
Zagora-Draa	-0,01587	-0,00993	0,00451	0,00000	
Doukkala	0,01254	0,00991	0,00946	0,00920	0,00000

4.2. Pourcentage de similitude :

4.2.1. Cytochrome b :

- a. Région du Gharb :

La comparaison des pourcentages de similitude entre la région du Gharb avec les autres régions de l'étude, pour le cyt b, montre que cette région présente **95,78%** de similitude avec la région du Doukkala, **95,83%** de similitude avec la région de Zagora-Draa et **100%** de similitude pour les deux régions du Souss-Massa et de l'Oriental (Figure 10).

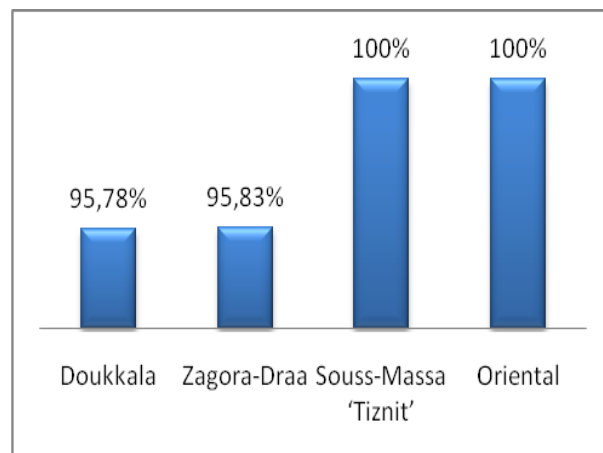


Figure 11: Pourcentages de similitude de la région du Gharb avec les autres régions étudiées.

b. Région du Doukkala :

Les pourcentages de similitude entre la région du Doukkala et les autres régions de l'étude, pour le gène cyt b, montrent que cette région présente **95,78%** de similitude avec la région du Gharb, **99,48%** de similitude avec la région de l'Oriental, et **100%** de similitude avec les deux régions du Zagora-Draa et le Souss-Massa (Figure 11).

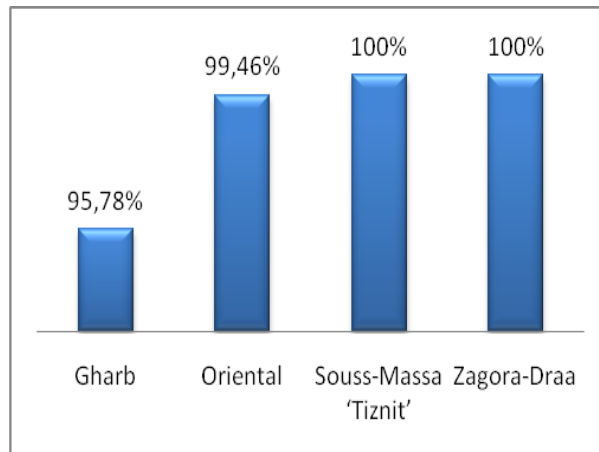


Figure 12: Pourcentages de similitude de la région du Doukkala avec les autres régions étudiées.

c. Région de l'Oriental :

Les différents pourcentages de similitude obtenus entre la région de l'oriental et les autres régions de l'étude, pour le gène cyt b, montre que cette région présente **99,46%** de similitude avec la région du Doukkala, **99,51%** de similitude avec le Souss-Massa, **99,80%** de similitude avec la région de Zagora-Draa et **100%** avec la région du Gharb (Figure 12).

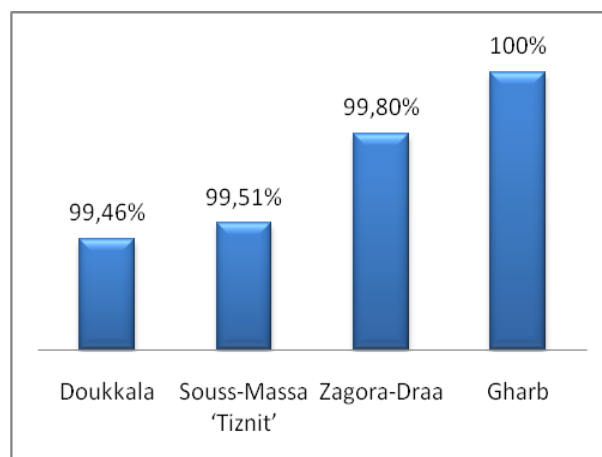


Figure 13: Pourcentages de similitude de la région de l'Oriental avec les autres régions étudiées.

d. Région de Zagora-Draa :

La comparaison des pourcentages de similitude entre la région du Zagora-Draa et les autres régions de l'étude, pour le gène *cytb*, montre que cette région présente **95,83%** de similitude avec la région du Gharb/Rabat-Salé, **99,80%** de similitude avec la région de l'Oriental, **100%** pour les deux régions du Souss-Massa et du Doukkala (Figure13).

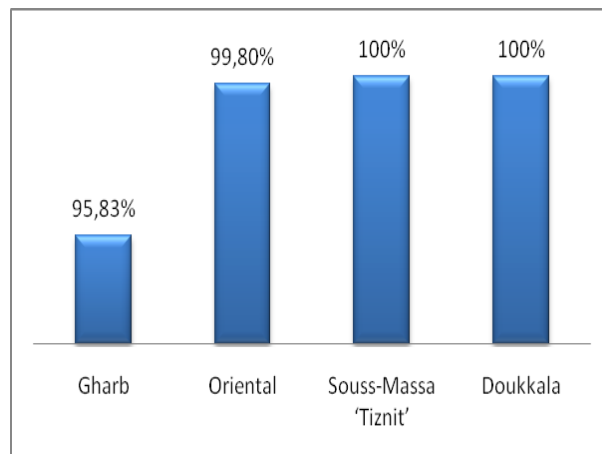


Figure 14: Pourcentages de similitude de la région de Zagora-Draa avec les autres régions étudiées.

e. Pour la région du Souss-Massa :

Les pourcentages de similitude entre la région du Souss-Massa et les autres régions de l'étude, pour le gène *cytb*, montre que cette région présente **99,51%** de similitude avec la région de l'Oriental et **100%** de similitude avec les régions du Ghard, Doukkala et Zagora-Draa (Figure14).

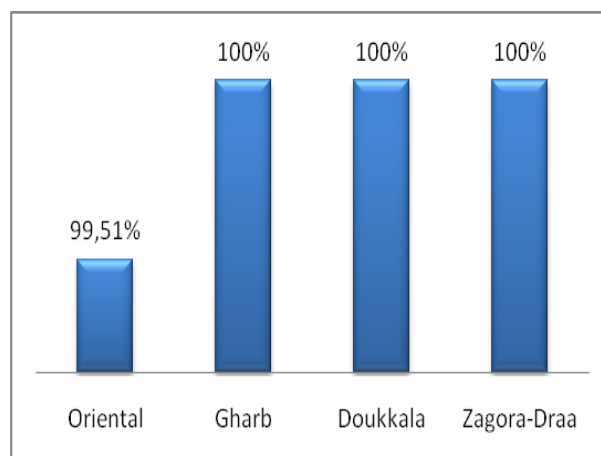


Figure 15: Pourcentages de similitude de la région de l'Oriental avec les autres régions étudiées.

4.2.2. Cytochrome oxydase I :

a. Région du Gharb:

Les pourcentages de similitude entre la région du Gharb et les autres régions de l'étude, pour la CoxI, montre que cette région présente **98,69%** de similitude avec la région du Souss-Massa, **98,74%** de similitude avec la région du Doukkala, **98,87%** de similitude avec l'Oriental et **100%** de similitude avec le Zagora-Draa. (Figure15).

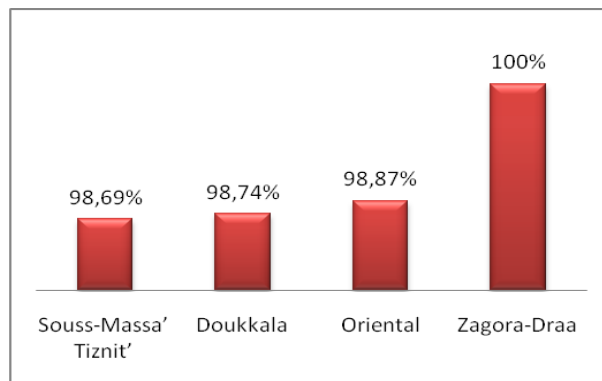


Figure 16: Pourcentages de similitude de la région du Gharb/ Rabat-Salé avec les autres régions étudiée pour la cytochrome oxydase I

b. Région du Doukkala :

Les pourcentages de similitude entre la région du Doukkala et les autres régions de l'étude, pour la CoxI, montre que cette régions présente **98,74%** de similitude avec la région du Gharb/Rabat-Salé, **99,01%** avec la région de l'Oriental, **99,05%** avec le Souss-Massa et **99,08%** avec le Zagora-Draa (Figure16).

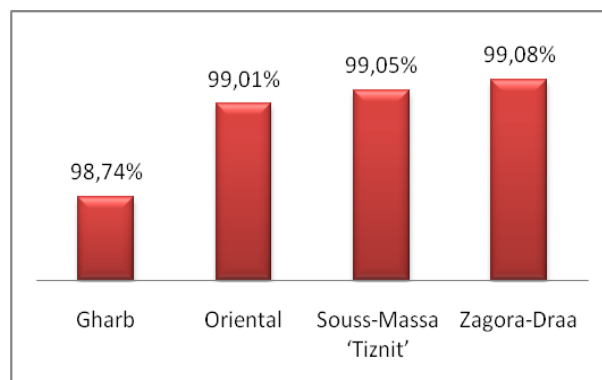


Figure 17: Pourcentages de similitude de la région du Doukkala avec les autres régions étudiée pour la cytochrome oxydase I.

c. Région de l'Oriental :

Les comparaisons réalisées pour les pourcentages de similitude calculés entre la région de l'Oriental et les autres régions de l'étude, pour le gène CoxI, montre que cette région présente **98,04%** avec le Souss-Massa, **98,87%** avec la région du Gharb/Rabat-Salé, **99,01%** avec la région de l'oriental et **100%** avec le Zagora-Draa (Figure17).

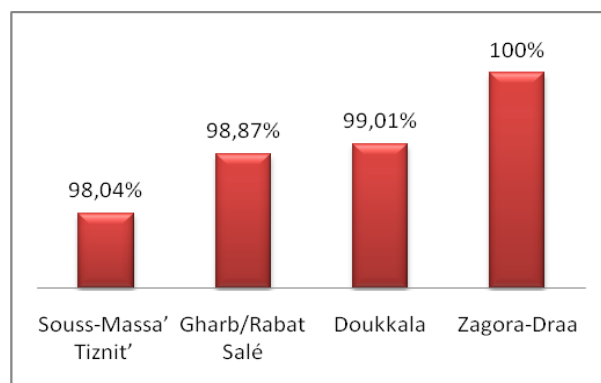


Figure 18: Pourcentages de similitude de la région de l'Oriental avec les autres régions étudiées pour le gène cytochrome oxydase I.

d. Région de Zagora-Draa :

Les pourcentages de similitude entre la région de Zagora-Draa et les autres régions de l'étude, pour le gène CoxI, montre que cette région présente **99,08%** de similitude avec la région du Doukkala, **99,55%** avec la région de Souss-Massa et **100%** de similitude avec les régions de l'Oriental et du Gharb (Figure 18).

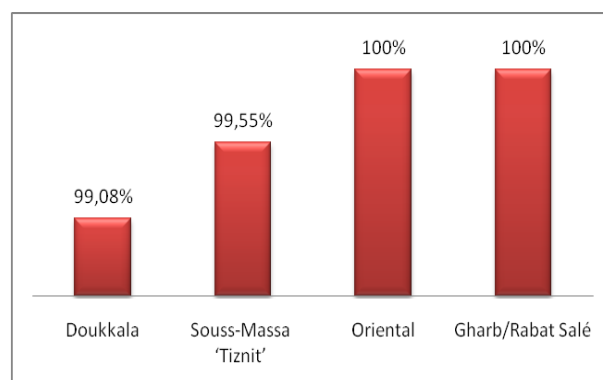


Figure 19: Pourcentages de similitude de la région de Zagora-Draa avec les autres régions étudié pour la cytochrome oxydase I .

e. Région du Souss-Massa :

Les comparaison des pourcentages de similitude entre la région du Souss-Massa et les autres régions de l'étude, pour le gène CoxI, montre que cette région présente **98,04%** de similitude avec la région de l'Oriental, **98,69%** avec le Gharb/Rabat-Salé, **99,05%** avec la région de Doukkala et **99,55%** avec le Zagora-Draa (Figure19).

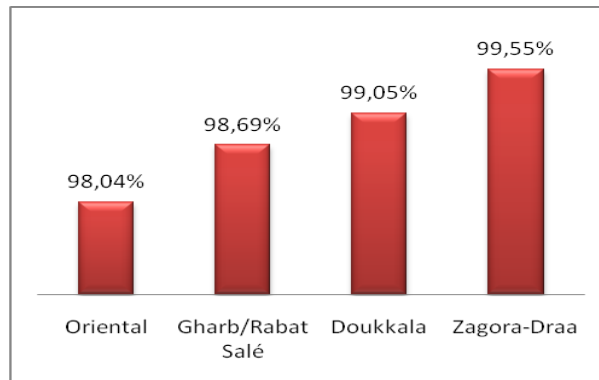


Figure 20: Pourcentages de similitude de la région de Souss-Massa avec les autres régions étudiées.

Partie III : Discussion et Conclusion Générale

Les résultats de cette étude constituent un complément aux autres études réalisées à travers le monde, sur les populations de stomoxes et plus particulièrement *S. calcitrans*, (une espèce cosmopolite). De par ses effets de nuisance et son caractère anthropophile (Zumt, 1973; Campbell et al., 1977 ;Wieman et al., 1992; Catangui et al., 1997; Campbell et al. 1987, Mavoungou et al. 2007), cette espèce fréquente essentiellement les milieux anthropisés ce qui l'a rendue cosmopolite en suivant l'homme dans ses pérégrinations à travers le monde.

Ainsi, les résultats obtenus dans cette étude constituent les premières données sur la comparaison génétique des populations de *S. calcitrans* au Maroc.

L'amplification par PCR :

Dans cette étude 10 PCRs ont été réalisées pour le cytochrome b, à partir de 138 échantillons au total, et 5 PCRs pour la cytochrome oxydase I, à partir de 107 individus. Le but était d'arriver à amplifier 96 échantillons pour chaque gène. Le nombre d'échantillons ainsi séquencés dépassaient 96 pour les raisons suivantes :

- Echantillons négatifs à la PCR (absence de bande lors du passage par gel d'électrophorèse).
- Volume d'amplification insuffisant pour le séquençage pour certains échantillons.

L'Électrophorèse sur gel d'Agarose 1% :

Les résultats du passage des échantillons amplifiés sur les gels d'électrophorèses montrent que l'ADN mitochondrial a été correctement extrait, ce qui a été vérifié par la formation au niveau des gels de bandes denses de l'ADN amplifié. L'absence de bandes au niveau du témoin blanc, indique l'absence de pollutions des échantillons lors de l'étape de l'amplification et celle de la préparation de gel (Figures 8,9).

Séquençage de l'ADN :

Le séquençage de l'ADN des 96 échantillons par gène, a permis d'obtenir après l'alignement et les corrections visuelles, des séquences d'une longueur de 510 pb pour le gène cytochrome b et de 755 pb pour la cytochrome oxydase sous unité I. La cytochrome oxydase I est considérée comme étant le gène le plus conservé en terme d'évolution de ses acide-aminés. Plusieurs études préalables ont permis le séquençage de ce même gène chez de nombreuses espèces. Nigro et al. (1991) ont séquencé 503 pb à la portion 5' terminale du COI pour deux espèces de *Drosophila* et 263 pb d'une troisième autre espèce. Brown (1994) a séquencé ≈ 800 pb de la portion 3' terminal du même gène.

Distance génétique : valeur Fst et pourcentage de similitude.

La distance génétique exprimée par la valeur Fst et le pourcentage de similitude, ont été obtenu grâce au programme Arlequin.

Dans cette étude le calcul de l'indice Fst montre que toutes les valeurs obtenues sont inférieures à 0,05, ce résultat indique qu'il y a une très faible différenciation entre les cinq populations étudiées, donc qu'il y a très peu ou pas de migration, ou d'échange entre ces populations. Les deux valeurs les plus élevées sont observées avec le Cytochrome b entre le « Gharb / Rabat-Salé » et « Zagoura-Draa/ Doukkala », ce qui indiquerait qu'il y a très peu de migration ou contact entre « Gharb / Rabat-Salé » et « Zagoura-Draa/ Doukkala ».

Le calcul du pourcentage de similitude par ailleurs montre, avec des valeurs proches de 100%, que les populations de *S. calcitrans* des cinq régions étudiées sont presque identiques. En effet, les valeurs minimales observées pour les deux gènes sont de 98,04% entre la région de l'Orientale et celle du Souss-Massa, et de 95,78% entre la région du Doukkala et celle du Gharb/Rabat-Salé pour la cytochrome oxydase I.

Conclusion et recommandation :

Les résultats des deux paramètres, l'indice F_{st} et le pourcentage de similitude, montrent ainsi qu'il n'existe pas réellement de polymorphisme génétique entre les populations de *S. calcitrans* dans les cinq régions étudiées du Maroc.

L'utilisation des données moléculaires permet de comprendre les bases de la génétique et les processus moléculaires impliqués dans la substitution nucléotidique. Cependant, deux grands problèmes existent (Simon et al., 1994).

- le polymorphisme héréditaire partagé : les problèmes de reconstitution de l'histoire des espèces à partir des données moléculaires apparaissent lorsque les variantes fixées pour les différentes espèces sont originaires d'une variation polymorphe chez l'ancêtre commun. Ainsi, les changements substitutionnels sont plus vieux que les espèces qui les portent et sont devenus alors fixes ou sont perdus aléatoirement parmi les espèces. Dans de tels cas, la relation phylogénétique des gènes ne va pas probablement refléter la relation phylogénétique des espèces qui les portent.
- Les substitutions multiples au même site : autres problèmes de l'évaluation des relations qui existent entre les différentes espèces à travers des données moléculaires, proviennent du fait qu'il existe uniquement quatre caractères pour la représentation des acides nucléotidiques G, A, C et T et que les substitutions des bases nucléotidiques au même site peuvent être masquées par des substitutions ultérieures. Les acides aminés aussi bien que les nucléotides peuvent subir de multiples substitutions. Ainsi comme pour les caractères morphologiques, les caractères moléculaires qui sont partagés dans un ordre donné peuvent être le résultat de convergence fortuite plutôt qu'un ancêtre commun.

Des biais sont également à prendre en considération dans chaque étape des méthodes de biologie moléculaire utilisée dans cette étude :

- Détermination des animaux,
- Contamination des échantillons par un ADN d'un autre animal lors de l'extraction (acarien, autre mouche) *
- Permutation des ADN lors de la PCR *
- Permutation/contamination des amplifiats (PCR) lors de l'envoi des séquences *
- Erreurs de séquençages et de lecture par le séquenceur
- Erreurs de correction des séquences *
- Erreurs lors de l'analyse par Arlequin et détermination des Fst.

Au terme de ce travail, nous suggérons que des études soient consacrées à la comparaison des populations de *S. calcitrans* au Maroc, avec celles des pays voisins notamment d'Afrique (Algérie, Mauritanie, Tunisie....) et d'Europe (Espagne, France, Italie...).

* Les erreurs les plus généralement constatées.

Références Bibliographiques

Anderson J.R (1966). Effect of nutrition on mating of *Stomoxys calcitrans* (L.) *Bulletin of the Entomological Society of America* **12**: 285- 302.

Anderson J.R (1978). Mating behavior of *Stomoxys calcitrans* : effects of a blood meal on the mating drive of males and its necessity as a prerequisite for proper insemination of females. *Journal of Economic Entomology* **71**(2):379-386.

Avise J.C. (1986). Mitochondrial DNA and the evolutionary genetics of higher animals. *Phil Trans R Soc Lond B* **312**: 325-342

Avise J.C., Arnold J., Bail R.M., Berningham E., Lamb T., Neigel J.E., Reeb C.A., Saunders N.C. (1987). Intraspecific phylogeography: The mitochondrial bridge between population genetics and systematics. *Ann Rev Ecol Syst* **18**:489-522.

Avise J.C. (1991). Ten unorthodox perspectives on evolution prompted by comparative population genetic findings on mitochondrial DNA. *Annu Rev Genet* **25**:45-69.

Bailey D.L., Whitfield T.L et Smith B.J (1979). Flight and dispersal of the stable fly. *Journal of Economic Entomology* **66**: 410-411.

Barré N. (1981). Les stomoxes ou mouches bœuf à la réunion. Pouvoir pathogène, écologie, moyen de lutte. Maison Alfort (FRA) - GERDAT-IEMVT : 90 pp.

Berkerile D.R, Thomas G.D & Campbell J.B (1994); Overwintering of the stable fly (Diptera : Muscidae) in southeastern Nebraska. *Journal of Chemical Ecology* **19**: 2347-2351.

Berry, I.L et Campbell J.B. (1985). Time and weather effects on daily feeding patterns

Berry, I.L, Foerster K .W. et Campbell J.B. (1978). Overwintering behaviour of

Bishop F.C. (1913). The stable fly (*Stomoxys calcitrans* L.), an important live-stock pest. *Journal of Economic Entomology* **6**:112-126.

Bouyer J. , M. Desquesnes, I. Kaboré, M. L .Dia, J. Gilles, W. Yoni et D. Cuisance (2005). Le piègeage des insectes vecteurs.p :4.

Brown J.M., Pellmyr O., Thompson J.N. et Harisson R.G. (1994). Phylogeny of Greya (Lepidoptera: Prodoxidae) based on nucleotide sequence variation in mitochondrial cytochrome oxydase I and II: congruence with morphological data. *Mol. Bio. Evol.* **11**: 128 – 141.

Brown W.M. (1985). The mitochondrial genomes of animals. in: Mac intyre Rd (ed) Molecular evolutionary genetics. *Plenum Press, NewYork*, 85-130.

Bruce W.N. et Decker G.C. (1958). The relationship of stable fly to milk production in dairy cattle. *Journal of Economic Entomology* **51**(3): 269-275.

Buxton B.A., Hincle N.C. et Schultz R.D. (1985). Rôle of insects in the transmission of bovine leukosis virus: potential for transmission by stable flies, horn flies, and tabanids. *American Journal of Veterinary Research*, **46**(1):123-126.

Campbell J.B., Berry I.L., Boxler D.J, Davis R.L, Clanton D.C. et Deutscher G.H. (1987). Effects of stable flies (Diptera: Muscidae) on weight gains and feed efficiency of feedlot cattle. *Journal of economic Entomology* **80**: 117-119.

Campbell J.B., Wright R.G., Wright J.E., Crookshank R. et Clanton D.C. (1977). Effects of stable flies (Diptera: Muscidae) on weight gains and feed-efficiency of calves on growing and finishing rations. *Journal of economic Entomology* **70** (5): 592-594.

Catangui M.A., Campbell J.B., Thomas G.D. et Boxler D.J. (1997). Calculating economic injury levels for stable flies (Diptera: Muscidae) on feeder heifers. *Journal of economic Entomology* **90** (1):6.

Charlwood, J.D. et Lopes J. (1980). The age-structure and biting behavior of *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera: Muscidae) from Manaus, Brazil. *Bulletin of Entomological Research* **70**: 549-555.

Charlwood, J.D. et Sama S. (1996). The age structure, biting cycle and dispersal of *Stomoxys niger* Macquart (Diptera : Muscidae) from Ifakara, Tanzania. *African Entomology* **4** (2): 274-277.

Chihoa C.M., Rennie L.F., Kitching R.P. et Mellor P.S. (2003). Attempted mechanical transmission of lumpy skin disease virus by biting insects. *Medical and Veterinary Entomology* **17**(3): 294-300.

Cockerham CC. 1969. Variance of gene frequency. *Evolution* **23**: 72-74.

Cockerham CC. 1973. Analysis of gene frequencies. *Genetics* **74**: 679-700.

D'Amico F., Gouteux J.P., Le Gall F. et Cuisance D. (1996). Are stable flies (Diptera : Stomoxyinae) vectors of *Trypanosoma vivax* in the central African Republic ? *Veterinary research* **27**: 161-170.

Diallo M., Louchouart K.Ba., Sall A.A., Mondo M., Girault L.D. et Mathiot C.(2000). First isolation of the Rift Valley Fever virus from *Culex poicilipes*... **22**: 2285-2297.

Dougherty C.T., Knapp F.W., Burrus P.B., Willis D.C. et Cornelius P.L. (1995). Behaviour of grazing cattle exposed to small populations of stable flies (*Stomoxys calcitrans* L.). *Applied Animal Behavior Sciences* **42**: 231-248.

Ehrhardt. N (2006). Etude de l'activité d'une formulation à 50% de deltaméthrine sur *Stomoxys calcitrans* à la Réunion : résistance et rémanence. *Thèse Pour le doctorat vétérinaire*, p :11.

Eigen M., Kloft W.J et Brandner G. (2002). Transferability of HIV by arthropods supports the hypothesis about transmission of the virus from apes to man. *Naturwissenschaften* **89**(4): 185-186.

Epstein P.R., Ford T.E. et Colwell R.R. (1993). Marine ecosystems: emerging diseases as indicators of change. *Lancet* **342**: 1216-1219.

Excoffier, Laval L. G., and Schneider S. (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* **1**:47-50.

Fleury F., cours de génétique des populations : <http://gen-net-pop.univ-lyon1.fr>. Univ. CB Lyon 1

Foil L.D. et Hogsette J.A. (1994). Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. *Revue scientifique et technique de l'Office International des Epizooties* **13** (4): 1125-1158.

Foild L.D. et Issel C.J. (1991). Transmission of retroviruses by arthropods. *Annual Review of Entomology* **36**: 355-381.

Foild L.D. et Gorham J.R. (2000). Mechanical transmission of disease agents by arthropods. In: B.F. Eldridge and J.D. Edman, *Medical Entomology*. Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic Publishers: 461-514.

Gathouse A.G. et Lewis C.T. (1973). Host location behavior of *Stomoxys calcitrans*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **16**(2) :275-290.

Gilles, J. (2005). Dynamique et génétique des populations d'insectes vecteurs. Les stomoxes, *Stomoxys calcitrans* et *Stomoxys niger niger* dans les élevages bovins réunionnais. *Thèse Doctorat d'Université, Université de la réunion, St-Dennis* : 140p.

Gjetvaj B., Cook D.I. et Zouros E. (1992). Repeated sequences and large-scale size variation of mitochondrial DNA: a common feature among Scallops (Bivalvia; Pectinidae). *Mol.biol. Evol.* **9**: 106-124.

Guyer R.L. et Koshland D.E., jr (1990). The molecule of the year. *Science* (Washington,DC) **246**:1543-1544.

Hall T., 1997-2005, BioEdit Alignment Editor version 7.0.4.1

Hafez M. et Gamal-Eddin F.M. (1959b). On the feeding habits of *Stomoxys calcitrans* L. and *sitiens* Rond in Egypt, with special reference to their biting cycle in nature. *Bulletin de la Société d'Entomologie d'Egypte* **43**: 291-301.

Hafez M. et Gamal-Eddin F.M. (1961). The behaviour of the stable fly larva, *Stomoxys calcitrans* L., towards some environmental factors. *Bulletin de la Société d'Entomologie d'Egypte* **45**: 341- 367.

Hafez M. et Gamal-Eddin F.M. (1959a). Ecological studies on *Stomoxys calcitrans* L. and *sitiens* Rond in Egypt, with suggestions on their control cycle in nature. *Bulletin de la Société d'Entomologie d'Egypte* **43**: 245-254.

Haines A. (1991). Global warming and health. *British Medical Journal* **302**: 669-670.

Hall, (1999) Bioedit alignement editor.

Harrison R.G. (1989). Mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. *Trends Ecol Evol* **4**:6-11.

Harley J.M.B (1965). Seasonal abundance and diurnal variations inactivity of some *Stomoxys* and tabanidae in Uganda. *Bulletin of entomological research* **56**: 319-332.

Hoch A.L., Gargan T.P. et Bailey C.L. (1985). Mechanical transmission of Rift Valley fever virus by Hematophagous Diptera. *American Journal of Tropical Medicine and Hygièna* **34**(1): 188-193.

Hoffmann R.J., Boore J.L. et Brown W.M. (1992). A novel mitochondrial genome organization for the blue mussel, *Mytilus edulis*. *Genetics* **131**: 397-412.

Hogsette J.A., Ruff J.P. et Jones C.J. (1987). Stable fly biology and control in the northwest Florida. *Journal of Agriculture Entomology* **4**(1):1-11.

Hogsette J.A., Ruff J.P. et McGowan M.J. (1981). Stable flies integrated pest management (IPM) in the northwest Florida. *Journal of Florida Anti-Mosquito Association* **52**:48-52.

Innes M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J. et White T.J.(1990). PCR protocols. Academic, San Diego.

Itard J., Chartier P.C., Morel P.C. et Troncy P.M. (2000). Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Paris, Cachan, technique et documentation, édition médicale internationale : 774p.

Kangwagye T.N. (1973). Diurnal and nocturnal biting activity of flies (Diptera) in western Uganda. *Bulletin of Entomological Research* **63**:17-29.

Keddie E.M. et Unnasch T.R. (1998). Complete sequence of mitochondrial genome of *Onchocerca volvulus*. Non publié.

Killough R.A. et McKinsty D.M. (1965). Mating and oviposition studies of stable fly. *Journal of Economic Entomology* **58**(3): 489-491.

Kocher T.D., Thomas W.K., Meyer A., Edwards S.V., Pääbo S., Villablanca F.X. et Wilson A.C. (1989). Dynamic of mitochondrial DNA evolution in animals amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. **86**: 6196-6200.

Kunz S.E. et Monty J. (1976). Biology and ecology of *Stomoxys nigra* Marcquart and *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera: Muscidae) in Mauritius. *Bulletin of Entomological Research* **66**: 745-755.

LA roche J., Snyder M., Cook D.I., Fuller K. et Zouros E. (1990). Molecular characterization of a repeat element causing large-scale size variation in the mitochondrial DNA of the sea scallop *Placopecten magellanicus*. *Mol Biol Evol* **7**: 45-64.

Lavessière C. et Grébaut P. (1990). The trapping of tsetse flies (Diptera : Glossinidae). Improvemet of a model: the Vavoua trap. *Tropical medicine and parasitology* **41** (2):185-192.

Long JC, Smouse PE, Wood JW. 1987. The allelic correlation structure of Gainj- and Kalamspeaking people. II. The genetic distance between population subdivisions. *Genetics* **117**:273-83.

Long JC. 1986. The allelic correlation structure of Gainj- and Kalam-speaking people. I. The estimation and interpretation of Wright's F-statistics. *Genetics* **112**: 629-647.

Lysyk T.J. (1993). Adult resting and larval development sites of stable flies and house flies (Diptera : Muscidae) on dairies in Alberta. *Journal of Economic Entomology* **86**(6):1746-1753.

Lysyk T.J. (1995). Temperature and population density effects on feeding activity of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *Journal of Economic Entomology* **32**(4): 508-514.

Lysyk T.J. (1998). Relationships between temperature and life-history parameters of *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *Journal of Economic Entomology* **35**(2): 107-119.

Leclercq M. (1971). Les mouches nuisibles aux animaux dometiques. Press agronomique de Gembloux: 199pp.

Margulis L. et Sagan D. (1985) L'origine des cellules eucaryotes. *La Recherche* **163**:200-219

Mavoungou J.F., Gilles G. et Duvallet (2007). G. *Stomoxys xanthomelas* Roubaud, 1937 : une espèce de la canopée en Afrique équatoriale. *Bulletin de la société Entomologique de France* (in press)

Mihok S. et Clausen P.H. (1996). Feeding habits of *Stomoxys* spp. Stable flies in a Kenyan forest. *Medical and Veterinary Entomology* **10**: 392-394.

Mihok S., Maramba O., Munyoki E. et Kagoiya J. (1995). Mechanical transmission of Trypanosome spp. by African *Stomoxys* spp. *Tropical Medicine and Parasitology* **46**:103-105.

Mortiz, C., Dowling T.E. et Brown W.M.(1987). Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual Rev.Ecol.Syst.* **18**: 269-292.

Mullens BA., et al (2006). : Behavioural responses of dairy cattle to the stable fly, *Stomoxys calcitrans*, in an open field environment. *Medical and Veterinary Entomology* **20** : 122-137.

Mullis K., Faloona F., Scharf.S.,Saik R., Horn G. et Herlihy H. (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro : the polymerase chain reaction. Cold spring harbor symp. *Quant. Boil.* **51**:263-273.

Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **70**: 3321-3323.

Nigro L., Solignac M. et Sharp P. (1991). Mitochondrial DNA sequence Divergence in the melanogaster and oriental species subgroups of *Drosophila*. *J.Mol. Evol.* **33**:156-162.

Okimoto R., Macfarlane J.L., Clary D.O. et Wolstenholme D.R. (1992). The mitochondrial genomes of two nematodes, *Caenorhabditis elegans* and *Ascaris suum*. *Genetics* **130**: 471-498.

Njiokou F., Simo G., Mbida Mbida A., Truc P., Guny G. et Herder S. (2004). A study of preference in tsetse flies using a modified heteroduplex PCR-based method. *Acta Tropica* **91**: 117-120.

Pääbo S. (1990). Amplifying ancient DNA, pp. 159-166. In M.A.Innes, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky et T.J. White (eds), PCR protocols. Academic, San Diego.

Potgieter F.T., Sutherland B. et Biggs H.C (1981). Attempts to transmit *Anaplasma marginal* with *Hippobosca rufipes* and *Stomoxys calcitrans*. Onderstepoort . *Journal of Veterinary Research*, **48**: 119-122.

Richard J.L et Pier A.C. (1966).Transmission of *Dermatophilus congolensis* by *Stomoxys calcitrans* and *Musca domestica*. *American Journal of Veterinary research* **27**(117):419-423.

Rousset F. 2001. Inferences from spatial population genetics. In: Handbook of statistical genetics. Balding D, Bishop M, Cannings C. (eds). Wiley. 239-269.

Saiki R.K., Scharf S., F.faloon, Mullis K.B., Horn G.T., Erlich H.A. et Arnheim. (1985). Enzymatic amplification of B-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* (Washington, DC) **230**:1350-1354).

Scofield S. et Brady J. (1996). Circadian activity pattern in the stable fly, *Stomoxys calcitrans*. *Physiological Entomology* **21**: 159-163.

Scofield S. et Torr S.J. (2002). A comparison of the feeding behavior of tsetse and stable flies. *Medical and Veterinary Entomology* **16**:177-185.

Shop R. (1991). Global climate Change and infectious diseases. *Environmental Health Perspectives* **96**:171-174.

Simon C., Frank A. et Martin A. (1991). The polymerase chain reaction : DNA extraction and amplification, pp 329-355. In G.M. Hewitt (ed.), molecular technique in taxonomy NATO advanced Studies Institute, H57. Springer; Berlin.

Simon C., Frati F., Beckenbach A., Crespi B., Liu H. et Flook. P. (1994). Evolution, Weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved Polymerase Chain Reaction Primers. *Ann. Entomol.Soc. Am.* **87**(6): 651-701.

Slatkin M., Voelm. 1991. *FST* in a Hierarchical Island Model. *Genetics* **127**: 627-629.

Somme L. (1961). On the overwintering of house flies (*Musca domestica* L.) and stable flies (*Stomoxys calcitrans* (L.)) in Norway. *Norsk Entomologiskl Tidsskrift* **11**:191-223.

Sutcliffe J.F., Dcambre C. et Downe A.E.R (1993). Effect of 2 blood-feeding regimes on mortality and female reproduction in a laboratory colony of stable Flies, *Stomoxys calcitrans*. *Medical and Veterinary Entomology* **7**(2):111-116.

Sutherland B. (1979). Some effects of temperature on the adults, eggs and pupae of *Stomoxys calcitrans* (L.)(Diptera : Muscidae). *Onderstepoort journal of veterinary research* **46**:223-227.

Turrell M.J., Knudson G.B. Mechanical transmission of *Bacillus anthracis* by stable flies and mosquitoes. *Infect Immun* 1987; **155**:1859-1869.

Veuille M., (2002-2003) polymorphisme moléculaire et théorie de la coalescence : génétique des populations, EPHE - Ecole Pratique D'écologie.

Wahlund S. 1928. Zusammensetzung von populationen und korrelation-serscheiunungen vonstandpunkt der vererbungslehre aus betrachtet. *Hereditas* **11**: 65-106.

Wieman G.A., Campbell J.B., Deshazer J.A. et Berry I.L.(1992). Effects of stable flies (Diptera: Muscidae) and heat-stress on weight-Gain and feed-Efficiency of feeder cattle. *Journal of Economic Entomology*.**85**:1835-1842.

Wilson AC, Cann A.L., Carr S., George M., Gyllenstein U.B., Helm-Bychowsky K.M., Higuchi R.G., Palumbi S.R., Prager E.M., Sage R.D., Stoneking M. (1985). Mitochondrial ONA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biol J Linn Soc* **26**:375-400.

Weir BS, Cockerham CC. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**: 1358-1370.

Wright S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* **28**: 114-138.

Wright S. 1951. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* **16**: 97-159.

Wright S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* **19**: 395-420.

Zumpt F.(1973). The stomoxyine biting flies of the world. Taxonomy, biology, economic, importance and controle measure. Gustav Fischer Verlag, *Stuttgart*, **175p**.

ANNEXE

Annexe I : Tableau représentatif des individus des populations étudiées.

REGIONS	fermes	N° ECHANTILLON, SEXE	DATES
GHARB (SIDI KACEM)	1	c1 F ; C2 M	mai-08
	2	C3 F ; C4 M	mai-08
Rabat-Salé (Ain-AOUDA)	1	A1 F ; A2 M	24-JANV
		A3 F ; A4 M	31-JANV
		A5 F ; A6 M	07-FEVR
		A7 F ; A8 F	14-FEVR
		A9 F ; A10 M	21-FEVR
		A11 F ; A12 M	06-mars
		A13 F ; A14 M	13-mars
		A15 F ; A16 M	20-mars
		A17 F ; A18 M	27-mars
		A19 F ; A20 M	24-AVR
		A21 F ; A22 M	03-AVR
		A23 F ; A24 M	10-AVR
		A25 F ; A26 M	08-mai
		A27 F ; A28 M	15-mai
		A29 F ; A30 M	24-mai
		A31 F ; A32 M	05-juin
		A33 F ; A34 M	15-juin
ORIENTAL (Berkane)	1	B1 F ; B2 M	04-mai
		B5 F ; B6 M	09-mai
		B9 F ; B10 M	12-mai
		B13 F ; B14 M	14-mai
	2	B3 F ; B4 M	04-mai
		B7 F ; B8 M	09-mai
		B11 F ; B12 M	12-mai
		B15 F ; B16 M	14-mai
DOUKKALA	1	F1 F ; F2 M	févr.-08
	2	F3 F ; F4 M	févr.-08
SOUSS MASSA (TIZNITE)	1	D1 F ; D2 M	juin
	2	D3 F ; D4 M	juin
ZAGOURA-DRAA	1	E1 F ; E2 M	05-mars
	2	E3 F ; E4 M	05-mars

Clé :

➤ **F : femelle.**

➤ **M : mâle.**

Annexe II : Tableaux des groupes d'échantillons.

Groupe I :

Gharb / Rabat-Salé	Oriental	DOUKKALA	SOUS-MASSA "TIZNITE"	ZAGOURA-Draa
A1 - A4 - A34 - C2 - C3	B1- B3- B10- B11- B12	F1- F2- F3- F'2=F21 - F4	D1- D2 -D3 - D4	E1- E2- E'2-E3- E4

Groupe II :

Gharb- Rabat/Salé	Oriental	DOUKKALA	SOUS-MASSA "TIZNITE"	ZAGOURA-Draa
A2- A3- A31- C1-C4	B5-B8-B9-B14- B15	F1d - F2d -F3d -F'2d - F4d	D1d - D2d -D3d- D4d	E1d- E2d -E'2d- E3d-E4d

Groupe III :

Gharb- Rabat/Salé	Oriental	DOUKKALA	SOUS-MASSA "TIZNITE"	ZAGOURA-Draa
A33- A32- A2d- C3d-C2d	B2- B4- B16- B7- B5d	F1t- F2t -F3t - F'2t=F2t2- F4t	D1t- D2t- D3t - D4t	E1t- E2t- E'2t=E2t2-E3t- E4t

Groupe IV :

Gharb- Rabat/Salé	Oriental	DOUKKALA	SOUS-MASSA "TIZNITE"	ZAGOURA-Draa
A1d -A4d- A34d - C1d -C4d	B6-B13- B8d - B11d -B9d	F1q- F2q -F3q -F4q - F'2q=F2q2	D1q- D2q- D3q - D4q	E1q-E2q -E3q - E'3q=E3q2 -E4q

Groupe V :

Oriental	DOUKKALA	SOUS-MASSA "TIZNITE"	ZAGOURA- Draa
B2- B15d- B2d	F1c - F4c -F1s	D2c - D3c - D2s	E1c -E'1c=E1c1-E2c- E3c- E4c -E1s

Extra-groupe:

Musca. Autumnalis (USA) Etat Unis d'Amérique	Musca. Autumnalis France
(G1 , G2) mâle ; (G3 , G4, G5) femelle	(H1, H2) mâle ; (H3, H4, H5) femelle

Annexe III: Protocol d'extraction de l'AND par le KIT DNEASY.

1. Centrifuger les tubes 1 minute à 13000 tours/minute.
2. Ajouter **20 µL de protéinase K.**
3. Vortexer doucement.
4. Mettre au bain-marie à 55 °C pendant au minimum 2 heures.
5. Vortexer.
6. Ajouter **200 µL de tampon AL.**
7. Vortexer.
8. (Mettre au bain-marie à 70° C pendant 10 minutes).
9. Ajouter **200 µL d'éthanol 95°C.**
10. Vortexer.
11. Centrifuger **5 minutes à 13000 tours/minute**
12. Recueillir le surnageant avec un cône à filtre et le déposer sur une colonne de silice.
13. Centrifuger **2 minutes à 8000 tours/minute.**
14. Jeter le liquide recueilli dans le tube.
15. Ajouter **500 µL de tampon AW1.**
16. Centrifuger **2 minutes à 8000 tours/minute**
17. Jeter le liquide recueilli dans le tube.
18. Ajouter **500 µL de tampon AW2.**
19. Centrifuger **3 minutes à 8000 tours/minute.**
20. Récupérer la colonne et la placer dans un tube de 1.5 ml
21. Éluer avec **50 µL de tampon AE** au centre de la colonne (sans la toucher).
22. Incuber **10 minutes à température ambiante**
23. Centrifuger **2 minutes à 8000 tours/minute.**
24. Conserver à -20° C.

Annexe IV : Préparation du gel d'Agarose 1%.

1. mettre des gants.
2. peser 0.40 g d'agarose, pour un gel de 12 puits ; 1g pour un gel de 27 puits.
3. mettre l'agarose dans un erlenmeyer de 250 ml.
4. ajouter 40 ml de solution tampon TBE 0.5x, pour un gel de 12 puits ; 110 ml pour un gel de 27puits.
5. porter à ébullition : (30 sec au micro onde à 750 W si 40 ml).
6. mettre un petit barreau aimanté dans l'erlenmeyer.
7. laisser refroidir = (15 mn en agitant).
8. ajouter 15 micros litre de BET (bromure d'éthidium à 500 micro/ml), pour le gel de 12 puits ; 40µl pour un gel de 27 puits.
9. arrêter l'agitateur.
- 10.verser dans le moule à gel.
- 11.bien positionner le peigne.
- 12.attendre le refroidissement complet (minimum 20mn) : gel moins translucide.
- 13.enlever le peigne.
- 14.immerger le gel dans le tampon de la cuve.

Annexe V : Tableaux des plaques de séquençage : le cytochrome b et la cytochrome oxydase I.

Le cytochrome b.

Colonne1	A	B	C	D	E	F	G	H
1	A1	C3d	B13	D2	D3q	E'2t=E2t2	F1	F4t
2	A3	C1d	B14	D3	D4q	E3t	F2	F1q
3	A4	C4d	B15	D4	D2c	E4t	F3	F2q
4	A1d	B1	B16	D1d	D3c	E1q	F'2=F21	F4q
5	A2d	B3	B2d	D3d	D2s	E2q	F4	F'2q=F2q2
6	A4d	B4	B2c	D4d	E2	E3q	F2d	F1c
7	A31	B5	B5d	D1t	H1	E'3q=E3q2	F3d	F4c
8	A34	B6	B8d	D2t	H2	E4q	F4d	F1s
9	A34d	B7	B9d	D3t	E4	E'1c	F1t	G1
10	C1	B10	B11d	D4t	E3d	E2c	F2t	G2
11	C4	B11	B15d	D1q	E1t	E3c	F3t	G3
12	C2d	B12	D1	D2q	E2t	E4c	F'2t=F2t2	G5

La cytochrome oxydase I.

Colonne1	A	B	C	D	E	F	G	H
1	A1	C1	B5	B9d	D3q	E'2t=E2t2	F1	F2q
2	A2	C2	B6	B11d	D4q	E3t	F2	F3q
3	A3	C3	B7	B15d	D2c	E4t	F3	F4q
4	A4	C4	B8	F1S	D3c	E1q	F4	F'2q=F2q2
5	A1d	C5	B9	D1	D1t	E2q	F2d	F1c
6	A2d	C2d	B10	D2	D2t	E3q	F3d	F4c
7	A4d	C3d	B11	D3	D4t	E'3q=E3q2	F4d	H2
8	A31	C4d	B12	D4	E2	E4q	F1t	G1
9	A32	B1	B13	D1d	E4	E1c	F2t	G2
10	A33	B2	B14	D4d	E3d	E'1c=E1C1	F3t	G3
11	A34	B3	B15	D1q	E1t	E2c	F4t	G5
12	A34d	B4	B16	D2q	E2t	E4c	F1q	H1

Annexe VI : Tableau identifiant des plaques du cytochrome b.

numéro puits	nom échantillon	genre	espèce	gène	Taille	amorce
A1	SN1	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
B1	SN2	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
C1	SN3	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
D1	SN4	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
E1	SN5	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
F1	SN6	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
G1	SN7	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
H1	SN8	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
A2	SN9	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
B2	SN10	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
C2	SN11	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
D2	SN12	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
E2	SN13	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
F2	SN14	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
G2	SN15	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
H2	SN16	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
A3	SN17	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
B3	SN18	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
C3	SN19	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
D3	SN20	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
E3	SN21	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
F3	SN22	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-

						CBN11526
G3	SN23	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
H3	SN24	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
A4	SN25	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
B4	SN26	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
C4	SN27	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
D4	SN28	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
E4	SN29	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
F4	SN30	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
G4	SN31	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
H4	SN32	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
A5	SN33	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
B5	SN34	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
C5	SN35	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
D5	SN36	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
E5	SN37	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
F5	SN38	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
G5	SN39	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
H5	SN40	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
A6	SN41	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
B6	SN42	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
C6	SN43	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
D6	SN44	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
E6	SN45	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-

						CBN11526
F6	SN46	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
G6	SN47	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
H6	SN48	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
A7	SN49	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
B7	SN50	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
C7	SN51	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
D7	SN52	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
E7	SN53	<i>musca</i>	<i>autumnalis</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
F7	SN54	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
G7	SN55	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
H7	SN56	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
A8	SN57	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
B8	SN58	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
C8	SN59	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
D8	SN60	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
E8	SN61	<i>musca</i>	<i>autumnalis</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
F8	SN62	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
G8	SN63	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
H8	SN64	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
A9	SN65	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
B9	SN66	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
C9	SN67	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
D9	SN68	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-

						CBN11526
E9	SN69	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
F9	SN70	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
G9	SN71	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
H9	SN72	<i>musca</i>	<i>autumnalis</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
A10	SN73	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
B10	SN74	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
C10	SN75	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
D10	SN76	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
E10	SN77	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
F10	SN78	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
G10	SN79	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
H10	SN80	<i>musca</i>	<i>autumnalis</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
A11	SN81	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
B11	SN82	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
C11	SN83	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
D11	SN84	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
E11	SN85	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
F11	SN86	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
G11	SN87	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
H11	SN88	<i>musca</i>	<i>autumnalis</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
A12	SN89	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
B12	SN90	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-CBN11526
C12	SN91	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933-

						CBN11526
D12	SN92	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933- CBN11526
E12	SN93	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933- CBN11526
F12	SN94	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933- CBN11526
G12	SN95	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	cytob	600	CBJ10933- CBN11526
H12	SN96	<i>musca</i>	<i>autumnalis</i>	cytob	600	CBJ10933- CBN11526

Annexe VII : Tableau identifiant des plaques de séquençage du cytochrome oxydase I.

num puits	nom échantillon	genre	espèce	gene	taille	amorce
A1	SN97	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
B1	SN98	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
C1	SN99	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
D1	SN100	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
E1	SN101	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
F1	SN102	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
G1	SN103	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
H1	SN104	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
A2	SN105	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
B2	SN106	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
C2	SN107	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
D2	SN108	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
E2	SN109	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
F2	SN110	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
G2	SN111	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
H2	SN112	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
A3	SN113	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
B3	SN114	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
C3	SN115	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
D3	SN116	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
E3	SN117	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014

F3	SN118	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
G3	SN119	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
H3	SN120	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
A4	SN121	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
B4	SN122	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
C4	SN123	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
D4	SN124	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
E4	SN125	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
F4	SN126	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
G4	SN127	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
H4	SN128	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
A5	SN129	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
B5	SN130	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
C5	SN131	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
D5	SN132	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
E5	SN133	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
F5	SN134	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
G5	SN135	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
H5	SN136	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
A6	SN137	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
B6	SN138	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
C6	SN139	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
D6	SN140	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014

E6	SN141	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
F6	SN142	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
G6	SN143	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
H6	SN144	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
A7	SN145	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
B7	SN146	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
C7	SN147	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
D7	SN148	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
E7	SN149	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
F7	SN150	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
G7	SN151	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
H7	SN152	<i>musca</i>	<i>autumnalis</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
A8	SN153	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
B8	SN154	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
C8	SN155	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
D8	SN156	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
E8	SN157	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
F8	SN158	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
G8	SN159	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
H8	SN160	<i>musca</i>	<i>autumnalis</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
A9	SN161	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
B9	SN162	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014
C9	SN163	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxl	800	C1J2183-TL2N3014

D9	SN164	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
E9	SN165	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
F9	SN166	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
G9	SN167	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
H9	SN168	<i>musca</i>	<i>autumnalis</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
A10	SN169	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
B10	SN170	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
C10	SN171	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
D10	SN172	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
E10	SN173	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
F10	SN174	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
G10	SN175	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
H10	SN176	<i>musca</i>	<i>autumnalis</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
A11	SN177	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
B11	SN178	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
C11	SN179	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
D11	SN180	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
E11	SN181	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
F11	SN182	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
G11	SN183	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
H11	SN184	<i>musca</i>	<i>autumnalis</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
A12	SN185	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
B12	SN186	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014

C12	SN187	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
D12	SN188	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
E12	SN189	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
F12	SN190	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
G12	SN191	<i>stomoxys</i>	<i>calcitrans</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014
H12	SN192	<i>musca</i>	<i>autumnalis</i>	coxI	800	C1J2183-TL2N3014

Annexe VIII : Code nucléotidique.

CODE Nucléotides

autre A , C , G et T

N = A, C, G ou T

Y = C ou T

W = A ou T

M = A ou C

R = A ou G

S = C ou G

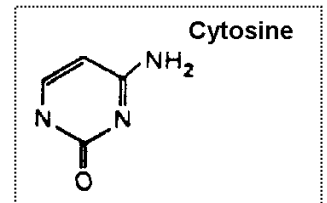
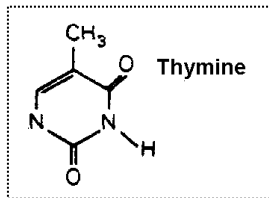
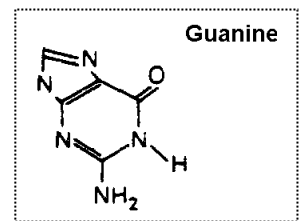
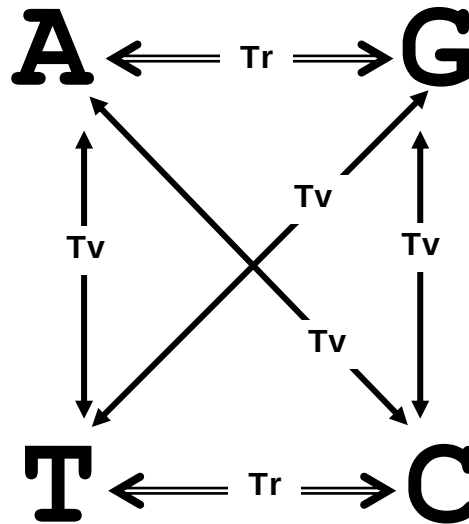
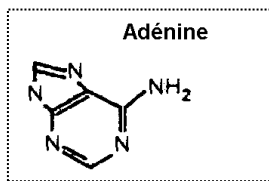
K = G ou T

B = C, G ou T

H = A, C ou T

D = A, G ou T

V = A, C ou G



Tr : Transition : purine $\longleftrightarrow$ purine ou pyrimidine $\longleftrightarrow$ pyrimidine
 Tv : Transversion : purine $\longleftrightarrow$ pyrimidine ou pyrimidine $\longleftrightarrow$ purine

Annexe XI : Tableaux des pourcentages de similitude pour les deux gènes.

Pourcentages de similitudes pour le cytochrome b (510 pb) pour les cinq régions de l'étude :

Pourcentage de similitude %	Gharb/Rabat -Salé	Oriental	Souss-Massa 'Tiznit'	Zagora-Draa	Doukkala
Gharb/Rabat -Salé	100				
Oriental	100	100			
Souss-Massa 'Tiznit'	100	99,51	100		
Zagora-Draa	95,83	99,80	100	100	
Doukkala	95 ,78	99,46	100	100	100

Pourcentage de similitudes pour la cytochrome oxydase I (755 pb).

Pourcentage de similitude %	Gharb/Rabat Salé	Oriental	Souss-Massa 'Tiznit'	Zagora-Draa	Doukkala
Gharb/Rabat Salé	100				
Oriental	98,87	100			
Souss-Massa' Tiznit'	98,69	98,04	100		
Zagora-Draa	100	100	99,55	100	
Doukkala	98,74	99,01	99,05	99,08	100

ملخص

تنتمي السطوموكسيس إلى ثنائية الأجنحة التي تتغذى على الدم وتتسبب في نقل العديد من الأمراض. يتضمن صنف سطوموكسيس 18 صنفا ويشكل سطوموكسيس كالسط رونس الصنف الوحيد ذي التوزيع العالمي.

تم تحديد العلاقة الجينية بين جماعات صنف سطوموكسيس كالسطرونس المأخوذة من خمس جهات بالمغرب (جهة الغرب، جهة دكالة، جهة الشرق، جهة سوس ماسة وجهة زاكورة درعة)، بواسطة متتاليات جينية لمورثين من الميتوكوندري (هنية الجبلية) . يرجع اختيار الحمض النووي للميتوكوندري إلى سهولة استعماله، انتقاله عن طريق الاستنساخ وتواجده بأعداد كافية في الخلية.

تم استنتاج العلاقة الجينية بين أفراد مجموعات سطوموكسيس كالسطرونس عن طريق حساب النسبة (Fst) ونسبة التشابه . تشير النتائج المحصل عليها إلى أن أفراد هذه المجموعات جد متشابهة حيث تتراوح نسبة التشابه ما بين 95.78% و 100 % بالنسبة (للسيطوكروم ب) وما بين 98.04% و 100 % بالنسبة (للسيطوكروم أوكسيداز I). مما يشير إلى عدم وجود اختلاف بين أفراد جماعات سطوموكسيس كالسطرونس المؤخوذة من الجهات الخمس بالمغرب.

الكلمات المفتاح : سطوموكسيس كالسطرونس، فيلوجينيا، حمض نووي ميتوكوندري، السيطوكروم ب، السيطوكروم أوكسيداز I، بيلوموغفيزم، المغرب.

المملكة المغربية



معهد الحسن الثاني للزراعة والبيطرة – الرباط



أطروحة لنيل شهادة الدكتوراه في الطب البيطري

مقارنة جينية بين جماعات سطوموكسيس كالمسترونس بالمغرب.

المنجزة من طرف:
السيدة نميلة سمية

المقدمة أمام اللجنة المكونة من:

رئيس	(معهد الحسن الثاني للزراعة والبيطرة)	الأستاذ: أ. حمليري
ممتحن	(معهد الحسن الثاني للزراعة والبيطرة)	الأستاذ: م. بيرو
ممتحنة	(معهد الحسن الثاني للزراعة والبيطرة)	الأستاذة: غ. الشليح
ممتحن		الدكتور: ي. الحر
مقرر	(معهد الحسن الثاني للزراعة والبيطرة)	الأستاذ: خ. كحلعيون

يوليو 2009

معهد الحسن الثاني للزراعة والبيطرة ص.ب. 6202 الرباط المعاهد. 10101. الرباط. المغرب