



Journal of Applied Biosciences 161: 16642 - 16651
ISSN 1997-5902

Évolution et structuration génétique de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae) en zone climatique humide l'Afrique de l'Ouest et centrale (Cameroun, Ghana, Centrafrique, Côte d'Ivoire)

Ngagne Demba Sarr^{1ab*}, Mama Racky Ndiaye^{ac}, Déthie Ngom^{ae}

^a Faculty of sciences and Technology, Department of Animal Biology, BIOPASS Laboratory UMR 022 IRD-CBGP, University Cheikh Anta DIOP, Dakar, Senegal

Corresponding author email : ngagnedembasarr@gmail.com

^cEmail : kiiraa12@gmail.com ^eEmail : dethie.ngom@ucad.sn

Submitted on 3rd March 2021. Published online at www.m.elewa.org/journals/ on 31st May 2021
<https://doi.org/10.35759/JABs.161.8>

RÉSUMÉ

Objectif : Les objectifs de cet article étaient d'étudier la structure génétique de l'insecte ravageur principal de stocks de maïs, à l'occurrence *Sitophilus zeamais*, en Afrique, dans 4 pays de la même zone climatique humide (Ghana, Côte d'Ivoire, Centrafrique, Cameroun), de connaître les modèles d'évolution démographique de ces populations ainsi que leur degré de parenté.

Méthodologie et résultats : Pour cela des insectes ont été récoltés dans chacun de ces pays de la zone agroclimatique en question, puis minutieusement conservés. L'exploitation des séquences du gène cytochrome b des individus à partir de paramètres de différenciation génétique, d'évolution démographique et phylogénétique a révélé une structuration génétique de l'insecte en fonction des 4 pays considérés. Des tests ont démontré que cette différenciation génétique n'est pas le fait la distance géographique entre pays, mais serait le résultat des actions anthropologiques. Les tests démo-génétiques ont révélé une expansion démographique au Ghana et en Côte d'Ivoire tandis le Cameroun et le Centrafrique aurait connu une évolution neutre. Seules les populations du Centrafrique, de la Côte d'Ivoire et du Cameroun présentent une relation de parenté d'après les arbres phylogénétiques.

Conclusion et application des résultats : D'après nos résultats, il existe une structuration génétique de *Sitophilus zeamais* en fonction des 4 pays, En d'autres termes, chacun de ces pays de la zone humide de l'Afrique de l'Ouest et Centrale se caractérise par un groupe d'insectes qui lui est spécifique. L'importance d'avoir mis en exergue cette différenciation génétique de l'insecte entre ces pays est de pouvoir appréhender le degré d'hétérogénéité génétique de chaque et de la corrélér avec l'adaptabilité de l'insecte car la diversité génétique influe sur l'adaptation de l'espèce.

Evolution and genetic structuring of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae) in humid climatic zones of West and Central Africa (Cameroon, Ghana, Central African Republic, Ivory Coast)

ABSTRACT

Objective : The objectives of this article were to study the genetic structure of the main insect pest of maize stocks, named *Sitophilus zeamais* (Motschulsky), in Africa, in 4 countries of the same humid climatic zone (Ghana, Ivory Coast, Central African Republic, Cameroon), to know the demographic evolution models of these populations as well as their degree of kinship.

Methodology and results: The insects were collected in each of these countries of the agro-climatic zone in question and then carefully preserved. The exploitation of the sequences of the cytochrome b gene of individuals from parameters of genetic differentiation, demographic and phylogenetic evolution revealed a genetic structure of the insect according to the 4 countries considered. Tests have shown that this genetic differentiation is not the result of the geographical distance between countries, but is the result of anthropological actions. Demogenetic tests revealed a demographic expansion in Ghana and Ivory Coast and the Central African Republic would have seen a neutral evolution. Only the populations of the Central African Republic, Côte d'Ivoire and Cameroon show a kinship relationship according to phylogenetic trees.

Conclusion and application of results: According to our results, there is a genetic structuring of *Sitophilus zeamais* according to the 4 countries, In other words, each of these countries of the humid zone of West and Central Africa is characterized by a group of insects specific to it. The importance of having highlighted this genetic differentiation of the insect between these countries is to be able to understand the degree of genetic heterogeneity of each and to correlate it with the adaptability of the insect because genetic diversity influences the adaptation of the species.

INTRODUCTION

La question séculaire de la pauvreté se pose toujours avec acuité, de par ses dégâts multisectoriels. Elle est encore ravivée en 2002 à travers les objectifs du millénaire pour le développement (OMD) du fond monétaire international (FMI) (Rapport FMI, 2002). En Afrique, beaucoup de politiques agricoles, depuis sont mises en branle pour combattre ce fléau. L'une d'entre elles est la production qualitative et quantitative de céréales. Ainsi, le maïs particulièrement est exploité en Afrique où il est l'aliment de base le plus important pour les paysans, car fournissant de la nourriture et des revenus à des milliers d'individus. Malheureusement cette céréale est fortement détériorée à cause d'une mauvaise gestion post-récolte, entraînant des pertes allant de 14% à 36% de la production Face à ces déperditions de céréales, des alternatives d'usage de pesticides ont vu le jour, mais leurs

conséquences néfastes sur les animaux et les végétaux ont vite marqué leurs limites. Des études mettant en exergue les effets contraignants de plantes au ravageur principal de cette céréale ont été aussi développées (Tamgno, 1999). Mais, la connaissance de la distribution génétique du ravageur principal du maïs, à l'occurrence *Sitophilus zeamais* est nécessaire pour une solution durable et efficace. C'est pourquoi cet article vise à mettre en exergue une éventuelle structuration génétique de *Sitophilus zeamais* en fonction de quatre pays de la zone humide de l'Afrique de l'ouest et centrale, mais aussi de connaître l'évolution phylogénétique et démographique des populations de l'insecte. L'avantage de déterminer les ensembles génétiques de l'insecte est de pouvoir appréhender après la diversité génétique de chaque population et par voie de conséquence, sa capacité adaptative,

car la perte de diversité génétique réduit la capacité de reproduction et donc de développement d'une population (Reed and Frankham, 2003). Ainsi des insectes ont été échantillonnés au Cameroun, en Centrafrique, au Ghana et en Côte d'Ivoire, pays partageant les mêmes caractéristiques climatiques. Les séquences du gène Cyt B correspondant à ces

individus ont été exploitées en rapport à des paramètres de différenciation génétique, d'évolution démographique et phylogénétique, par des logiciels d'étude en génétique des populations (Arlequin, Bioédit, DNAsp, Mega), afin d'atteindre les objectifs que nous nous sommes fixés.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Échantillonnage

Localités d'échantillonnage : La récolte d'individus de *Sitophilus zeamais* a été faite

dans quatre (4) pays de la zone humide. (White, 1983). Il s'agit de la Côte d'Ivoire, du Ghana, du Centrafrique et du Cameroun.

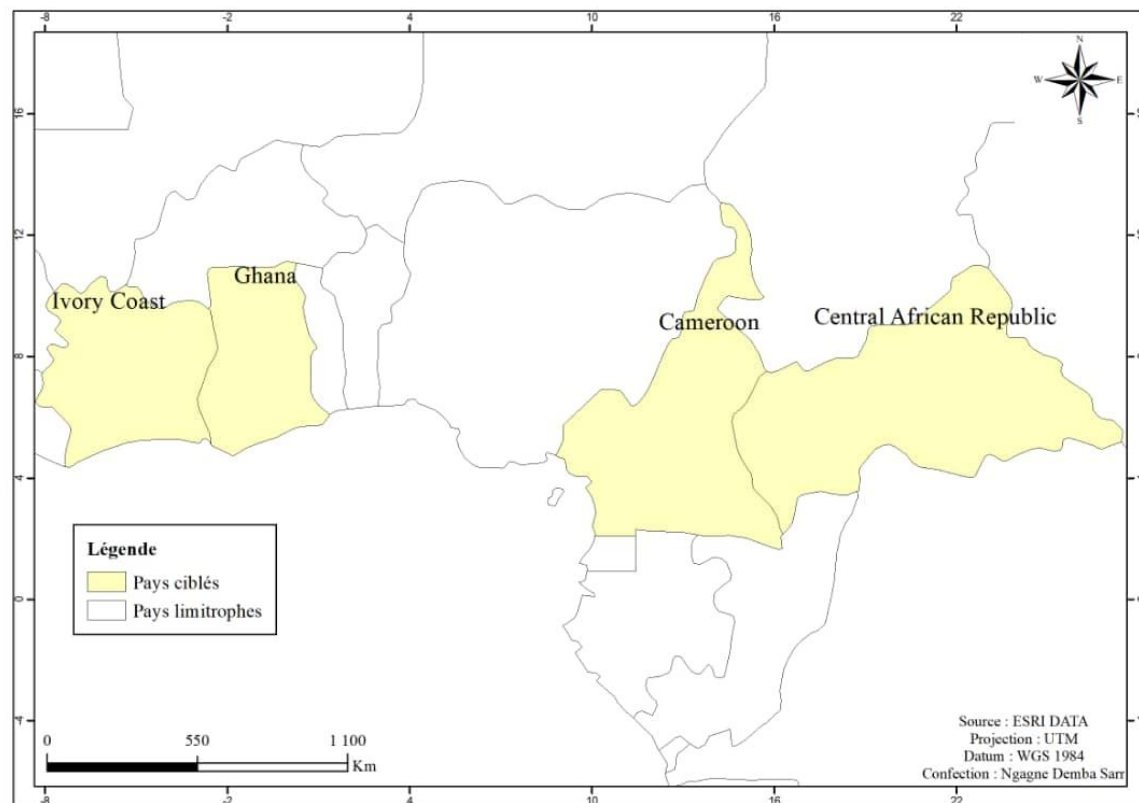


Figure 1 : Pays d'échantillonnage

Tableau 1 : coordonnées géographiques des pays d'échantillonnage

Pays	Code d'échantillons	Nombre d'individus	Coordonnées géographiques	
			Latitude	Longitude
Côte d'Ivoire	SzCi	15	07°32'96''N	05°32'49''O
Centre-Afrique	SzCa	20	06°36'40''N	20°56'22''E
Ghana	SzGh	10	07°56'47''N	01°01'23''O
Cameroun	SzCn	07	07°22'11''N	12°21'17''E

Récolte d'individus : Dans chacun des pays ci-dessus, 250 g à 1 kg de maïs infesté ont été prélevés au niveau de lieux de stockage, par l'entremise de partenaires au projet. Les échantillons ont été acheminés au laboratoire où ils sont conservés dans des bocaux à couvercle grillagés pour un élevage de masse. Les insectes collectés à l'issue de cet élevage ont été conservés dans de l'alcool à 95°C, puis transportés au laboratoire pour une étude génétique. Chaque échantillon est identifié par un code : les 2 ères lettres désignent le nom binomial de l'espèce (S pour *Sitophilus* et z pour *zeamais*), les 2 lettres qui suivent indiquent le pays d'origine (exemple : SzGh, avec S = *Sitophilus*, z = *zeamais*, Gh = Ghana. SzCn, avec S = *Sitophilus*, z = *zeamais*, Cn = Cameroun.

Méthode moléculaire d'analyse : Le gène cytochrome B a été choisi pour être amplifié. Le choix s'explique par sa particularité à se conserver très longtemps sans usure et il est utilisé régulièrement dans les études des insectes. (Hillis et al, 1996).

Extraction d'ADN, PCR et séquençage du gène cytochrome b : L'extraction est la technique de libération d'ADN de la cellule. Elle comprend l'individualisation des cellules (digestion) et la destruction de leurs membranes plasmiques et nucléaires (lyse). La digestion des cellules a consisté à placer leurs

pattes et prothorax dans des tubes contenant du tampon ATL et des protéinases K. Après incubation, les tubes ont été centrifugés pour séparer le surnageant des débris cellulaires. Pour détruire les membranes cellulaires d'abord du tampon lyse cellulaire (AL) a été ajouté, puis de l'éthanol (96%) après incubation, dans les tubes. Ensuite les tubes sont transverses dans des colonnes à membrane à silice. Enfin la centrifugation des tubes permis de retenir l'ADN sur les membranes siliceuses des colonnes car chargé négativement. L'ADN des tubes a été purifié en ajoutant 2 tampons AW1 et AW2 dans chaque colonne. Après centrifugation des tubes et précipitation de l'ADN au fonds, les tampons et les contaminants sont jetés. Les colonnes sont ensuite replacées dans d'autres tubes dans lesquels du tampon AE a été ajouté pour décrocher l'ADN. L'ADN est ainsi retiré et conservé à -20°C. La PCR du gène mitochondrial Cyt B a été réalisé par 2 amorces définies par Simon et al (1996). Pour chaque échantillon (tube), l'amplification a été faite à partir d'un volume total de 25µl, dont un volume mixte de 23µl et un volume de 2µl d'extrait d'ADN. Le volume mixte a été constitué par : 18,3µl d'eau milli, 2,5µl de tampon 10X, 1µl de MgCl₂ supplémentaire, 0,5µl de Dntp, 0,25µl de chaque amorce et 0,2µl de Taq polymérase.

Tableau 2 : Identification des amorces utilisées et programmation de la PCR

Gène	Nom des amorces	Séquences des amorces	Programme de la PCR
Cyt.B	CB-J-10933(F)	5-TATGTACTACCATGAGGACAAATATC-3	1. Dénaturation initiale : 94°C, 3 min ; 35 cycles de dénaturation : 94°C, min
	CB-N-11367(R)	5-ATTACACCTCCTAATTATTAGGAAT-3	2. Hybridation : 47°C, 1 min 3. Élongation : 72°C, 2 min ; finale : 72°C, 8 min

Analyses bio-informatiques : Les séquences ont été corrigées et alignées par le logiciel Clustal implanté dans le programme Bioédit

version 7.2.5 La structuration génétique de *Sitophilus zeamais* a été appréhendée par rapport à des paramètres de différenciation

génétique. Il s'agit de la distance génétique, du Fst, du Nm et du Test Amova. La distance génétique entre pays a été calculée par le logiciel Mega 7 version 7.0.14. Les indices de Nm et Fst globaux par le logiciel DNAsp, tandis que les valeurs du Fst entre populations ont été calculées par le logiciel Arlequin version 3.5.1.3 (Excoffier and Lischer, 2010). Le test AMOVA quant à lui, a permis de connaître la part des populations, des individus dans la structuration génétique de l'insecte. Le test de Mantel nous a permis de savoir l'effet de la distance géographique sur la structure génétique de l'insecte. L'histoire démographique des populations échantillonnées dans les différents pays a été appréhendée à partir d'une analyse « mismatch distribution » des populations, corrélée à l'évaluation des tests démographiques de D de Tajima, de Fs de Fu du R₂ de Ramos et H de Fay et Wu. Cette analyse est accréditée par les indices

démographiques SSD (sommes des carrées des déviations) et RAG, calculés entre distributions observées et attendues par le logiciel Arlequin 3.5.13. Les valeurs de D de Tajima, de Fs de Fu ont été calculées par le logiciel Arlequin 3.5.13. Tandis que celles de du R₂ de Ramos et H de Fay et Wu ont été calculées par le logiciel DNA sp. La reconstruction phylogénétique permet de clarifier les relations de parenté existantes entre haplotypes recensés dans les différentes zones agroécologiques. Ainsi dans notre étude, nous avons construits 2 arbres phylogénétiques l'un selon la méthode du maximum de parcimonie (MP) et l'autre par le maximum de vraisemblance (MC), à partir du logiciel Mega version 7.0.14. La comparaison de ces 2 arbres a permis de vérifier la cohérence de l'interprétation de la phylogénie des populations.

RÉSULTATS

Paramètres de structuration génétique : Les individus du Cameroun et du Centrafrique sont individuellement homogènes. Ceux de la Côte

d'Ivoire sont très proches génétiquement. Toutefois les individus du Ghana sont plus ou moins génétiquement divergents.

Tableau 3 : Distance génétique de *S. zeamais* à l'intérieur des pays (toutes les valeurs sont significatives).

Pays	Distance Génétique	Standard de déviation
Cameroun	0,000	0,000
Côte d'Ivoire	0,002	0,001
Ghana	0,056	0,023
Afrique Centrale	0,000	0,000

La distance génétique entre les populations des pays montre une forte divergence génétique entre le Ghana et chacun des autres pays de la zone humide. En revanche, les populations de

la Côte d'Ivoire et d'une part du Cameroun et d'autre part de la Centrafrique sont proches génétiquement. Les populations du Cameroun et de la Centrafrique sont identiques.

Tableau 4 : Distance génétique entre les pays (toutes les valeurs sont significatives).

	Cameroun	Côte d'Ivoire	Ghana	Centre-Afrique
Cameroun		0,001	0,034	0,000
Côte d'Ivoire	0,001		0,034	0,001
Ghana	0,078	0,078		0,034
Centre-Afrique	0,000	0,001	0,078	

Les valeurs de F_{st} confirment cette tendance. En effet, la population du Ghana est génétiquement très divergente de celles du Cameroun, de la Côte d'Ivoire et du Centrafrique. Les populations d'une part du

Cameroun et du Centrafrique et d'autre part de la Côte d'Ivoire et du Centrafrique sont proches génétiquement, d'après les valeurs élevées de F_{st} , qui ne sont pas cependant significatives.

Tableau 5 : Les valeurs de F_{st} entre les pays (les valeurs en gras ne sont pas significatives).

	Cameroun	Côte d'Ivoire	Centre-Afrique	Ghana
Cameroun				
Côte d'Ivoire	-0,0022			
Centre-Afrique	0,0000	0,0998		
Ghana	0,5659	0,6619	0,7211	

Même si le N_m est plus utilisé avec les microsatellites, ses valeurs ici attestent aussi celles des paramètres précédents de différenciation génétique. En effet le flux de

gènes entre la Côte d'Ivoire, le Cameroun, le Centrafrique est très élevé. C'est le contraire entre le Ghana et les autres pays de la zone soudano-guinéenne où le N_m est faible.

Tableau 6 : Valeurs de N_m entre les pays (toutes les valeurs sont significatives).

Pays 1	Pays 2	N_m
Cameroun	Côte d'Ivoire	5,11
Cameroun	Ghana	0,32
Côte d'Ivoire	Ghana	0,23
Côte d'Ivoire	Centre-Afrique	2,84
Ghana	Centre-Afrique	0,20

Enfin le Test AMOVA corrobore la forte différenciation génétique de *Sitophilus*

zeamais en fonction des pays avec une valeur de F_{st} très élevée et significative.

Tableau 7 : Test AMOVA (toutes les valeurs en gris sont significatives).

Source de Variance	Degré de liberté	Somme des carrées de déviation	Composantes de variance	Pourcentage de variance	Indice de Fixation
Entre pays	3	35,647	0,91863 V_a (F_{st})	63,98	
Au sein de pays	48	24,833	0,51736 V_b	36,03	$F_{st}=0,63972$
Total	51	60,481	43,599	100	

Toutefois la structuration génétique de l'insecte en fonction des pays n'est le fait de la distance géographique. Car le Test de Mantel révèle une corrélation entre la distance

génétique et la distance géographique avec une valeur de N_m positive, qui n'est pas cependant significative ($r=0,490$, $P=0,129$).

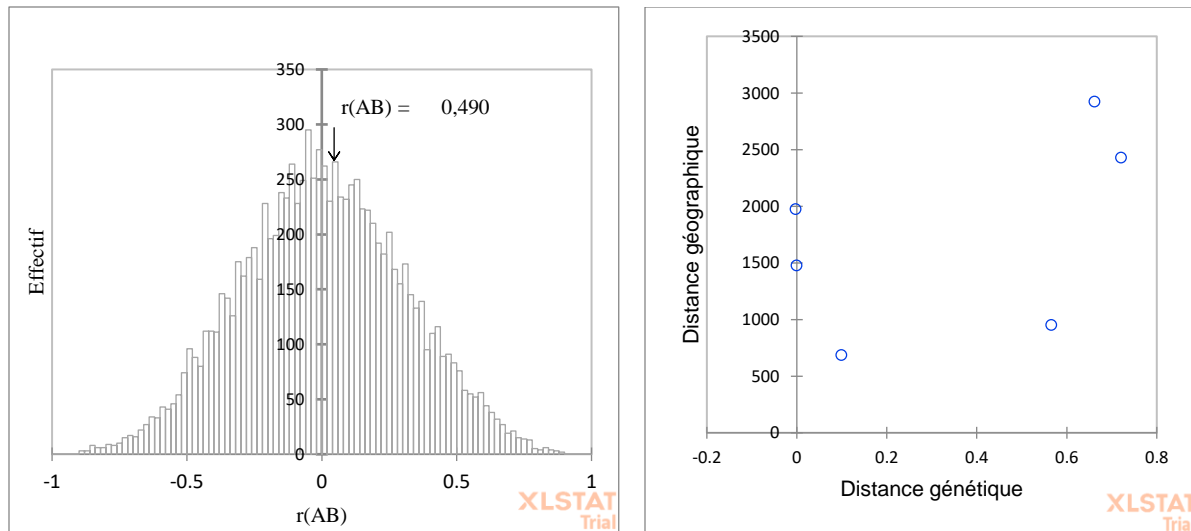


Figure2 : Test de Mantel

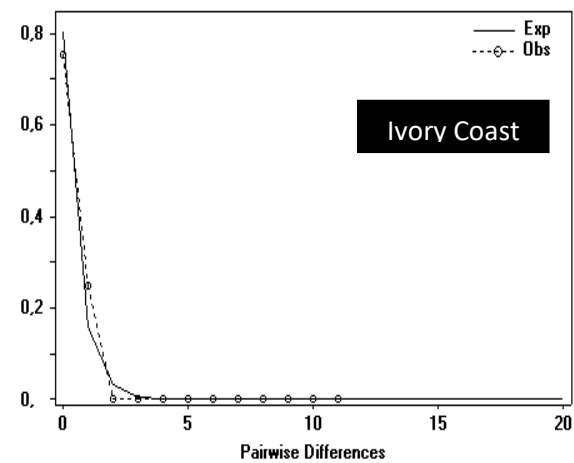
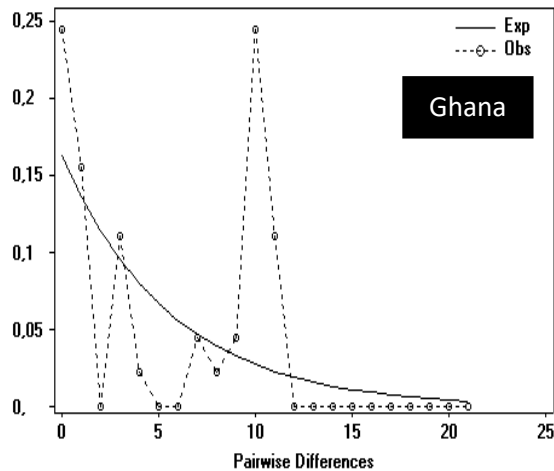
Paramètres d'évolution démogénétique et d'évolution phylogénétique : La population de la côte d'Ivoire présente des valeurs de D de Tajima et de H de Fay et Wu négatives et non significatives. La valeur de SSD de cette population est positive et significative alors celle de Rag est positive et non significative. La population de côte d'Ivoire présente se caractérise par une diversité haplotypique élevée et nucléotidique faible. Les valeurs de D de Tajima, de Fs de Fu et de Fay et Wu de la population de Ghana sont positives et non significatives. Les valeurs de SSD et de Rag de cette population sont positives mais non

significatives. La population du Ghana présente une très forte diversité haplotypique et une faible diversité nucléotidique. La population de la Côte d'Ivoire présente une valeur négative non significative de D de de Tajima, une valeur de SSD négative et significative. Toutefois la valeur de Fs de Fu de cette population est positive et est non significative avec celle de SSD. Les valeurs de D de T Tajima, de Fs de Fu, de Fay et Wu, de SSD et de Rag des populations de de Centrafrique et du Cameroun sont nulles. C'est le cas aussi de leurs valeurs de diversités haplotypique et nucléotidique.

Tableau 8 : Tests démo-génétiques

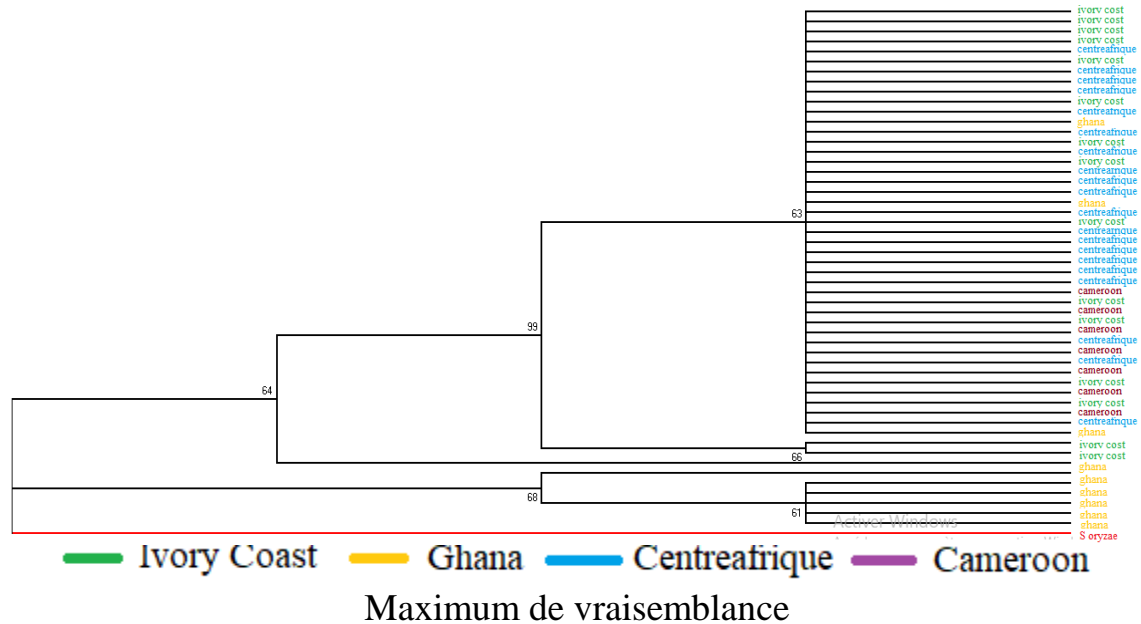
Pays	Paramètres démographiques						Diversité génétique	
	D de Tajima	Fs de Fu	R ²	H de Fay et Wu	SSD	Rg	Hd	Pi
Caméroun	0,000 (1,000)	0,000 (N.A.)	0,161	----	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)
Côte d'Ivoire	-0,398 (0,293)	0,133 (0,290)	0,159	-0,076	0,281 (0,090)	0,316 (0,300)	0,248 (0,131)	0,0005 (0,0003)
Centre-Afrique	0,000 (1,000)	0,000 (N.A.)	0,160	----	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)	0,000 (0,000)
Ghana	1,433 (0,945)	1,637 (0,781)	0,161	----	0,082 (0,270)	0,125 (0,420)	0,756 (0,130)	0,011 (0,002)

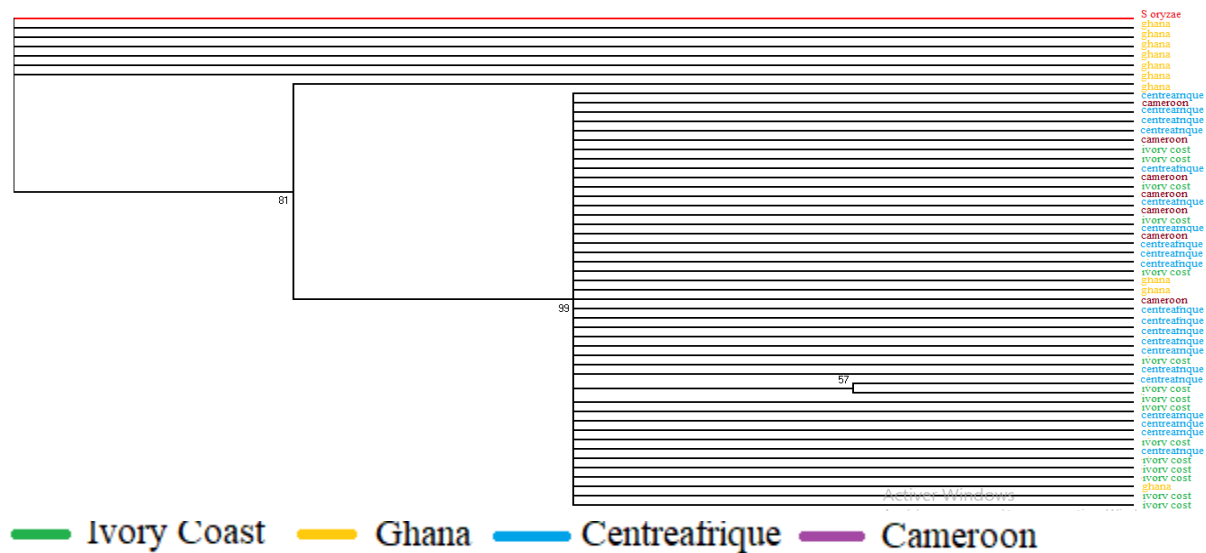
Les courbes de distribution Mismatch sont multimodales pour tous le Ghana et unimodale pour la Côte d'Ivoire.



Les arbres phylogénétiques construits selon la méthode du maximum de vraisemblance et la méthode du maximum de parcimonie ont mis en exergue tous 2 clades. Un clade regroupant les individus du Cameroun, du Centrafrique et

de la Côte d'Ivoire, soutenus dans les 2 arbres par valeurs 99% de Bootstrap et un autre clade formé uniquement d'individus du Ghana et soutenu par une valeur de 69% de Bootstrap.





Maximum de parcimonie
Figure 3 : Arbres phylogénétiques (Maximum de vraisemblance et Maximum de parcimonie)

DISCUSSION

Il a été question dans cet article de détecter une éventuelle structuration génétique de *Sitophilus zeamais* dans 4 pays de l'Afrique de l'ouest et centrale partageant les mêmes réalités climatiques, d'identifier s'il en existe des modèles d'évolution des populations de l'insecte et leur degré de parenté. La distribution unimodale de la population de la Côte d'Ivoire suggère qu'elle est en expansion démographique, même si cette forme d'évolution est contestée par la significativité de la valeur de SSD. Mais la valeur négative de D de Tajima, gage de l'existence d'un excès de variants dans cette population, accreditée cette expansion démographique. Elle est aussi appuyée par la forte valeur de diversité haplotypique et faible de diversité nucléotidique. Car ces valeurs signalent une croissance démographique rapide à partir d'une population ancestrale à faible taille efficace depuis un temps suffisant pour un rétablissement de la diversité haplotypique par mutation, mais trop court pour l'accumulation de fortes différences entre séquences. La valeur négative et significative de H de Fay et Wu indique que la population de la Côte d'Ivoire a subi une sélection positive. En

revanche la population de Ghana aurait subi une sélection négative de par sa valeur de D de Tajima positive. La multimodalité de la courbe de distribution de mismatch de cette population suggère qu'elle est stable. Mais la non significativité des valeurs de RAG et de SSD sont en faveur d'une expansion démographique, une expansion démographique bien confortée par les fortes valeurs de Hd et de Pi. Tous les paramètres de structuration génétique (DG, Fst, Nm) ont montré une forte différenciation génétique de l'insecte entre ces pays. Cette répartition génétique de *Sitophilus zeamais* en fonction des pays a été même corroborée par le Test Amova. Une autre étude a révélé aussi une structuration génétique de l'insecte au Sénégal (Ndong *et al.*, 20005). D'autres insectes ont connu aussi le même phénomène dans cette zone humide de l'Afrique centrale. C'est le cas de l'insecte *Busseola fusca* Fuller au Cameroun (Sézonlin *et al*, 2006). D'après le Test de Mantel, la structuration génétique de l'insecte n'est pas le fait des distanciations géographiques entre les pays. L'isolation génétique peut être due à un autre facteur non géographique (Bossart et Prowell, 1998). Le

fait que les pays présentent les mêmes caractéristiques climatiques suggèrent que le climat n'est pas non plus à l'origine de la différenciation génétique. Ainsi les actions anthropologiques comme les modes, les systèmes de culture, de conservation des stocks de maïs pourraient être à l'origine de cette

différenciation génétique. Les arbres phylogénétiques ont mis en exergue un lien de parenté entre les insectes du Cameroun, du Centrafrique et de la côte d'Ivoire. Toutefois les insectes du Ghana sont génétiquement distincts de ceux de ces 3 pays.

CONCLUSION ET APPLICATION DES RÉSULTATS

Cette étude a révélé d'une part une structuration génétique de *Sitophilus zeamais* en fonction des quatre pays de la zone agroclimatique humide en question et d'autre part une expansion démographique en Côte d'Ivoire et au Ghana et neutre en Centre-Afrique et au Cameroun. Dès lors qu'il y a eu différenciation génétique de *Sitophilus*

zeamais en fonction de ces pays, une étude supplémentaire peut être réalisée pour tester le degré de diversité génétique de l'insecte dans chaque pays, histoire de savoir le pays où l'insecte est plus vulnérable car la diversité génétique est liée positivement à l'adaptabilité de l'insecte.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bossart JL, Prowell DP, 1998. Genetic estimates of population structure and gene flow : limitation, lessons, and new directions. Trends Ecol. Evol. 13, 202e206.
- Ndong A, 2015. Caractérisation génétique de *Sitophilus* spp., ravageur des stocks de maïs et essais d'éradication du virus de la mosaïque du manioc *Manihot esculenta* par la culture de tissus in vitro. Thèse de Doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar (Sénégal), 314p.
- Rapport FMI, 2002
- Reed DH et Frankham R, 2003. Correlation between Fitness and Genetic Diversity. *Conservation Biology*, 17 : 230-237.doi :10.1046/j.1523-1739.2003.01236. X.
- Sezonlin M, Dupas S, Moyal P, Calatayud PA, Giffard I, Faure N, Silvain JF, 2006. Phylogeography and population genetics of the maize stalk borer *Busseola fusca* (Lepidoptera, Noctuidae) in sub-Saharan Africa. Mol. Ecol. 15, 407e420.
- Tamgno BR et Ngamo T, 2018. Potentialisation de l'efficacité insecticide des poudres de feuilles ou amandes de neemier *Azadirachta indica* A. juss par formulation avec la cendre de tiges de mil contre *Sitophilus zeamais* Motsch. et *Sitophilus oryzae* (coleoptera : curculionidae). *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*.18 (1) : 13254-13270. Doi : 10.18697/ajfand.81.17095.