

Essais de détermination de la dose optimale d'irradiation des mâles de *Glossina palpalis gambiensis* (Vanderplank, 1949) en vue de la lutte biologique par lâchers de mâles stériles dans la région de Bobo-Dioulasso (Haute-Volta)

par Y. TAZE (*), D. CUISANCE (*), H. POLITZAR (*), M. CLAIR (*),
E. SELLIN (*)

RÉSUMÉ

Les auteurs ont cherché à déterminer la dose d'irradiation optimale en vue d'essais de lâchers de mâles irradiés de *Glossina palpalis gambiensis*, en Haute-Volta. Deux expériences successives leur ont permis de définir la dose optimale (11 000 rads) induisant un taux de stérilité élevé sans amoindrir de façon trop considérable la compétitivité des mâles.

Les différents critères permettant d'évaluer la stérilité et la compétitivité des mâles irradiés à la dose de 11 000 rads font ensuite l'objet d'une étude plus approfondie.

I. INTRODUCTION

Le Centre de Recherche sur les Trypanosomiases Animales (C. R. T. A.) de Bobo-Dioulasso, créé en 1972, a pour mission d'établir une colonie de *G. palpalis gambiensis* élevée au laboratoire et de tester sur le terrain la technique des lâchers de mâles stériles comme moyen de lutte contre les glossines, vecteurs des trypanosomiases animales.

En raison du risque de contamination des mouches tsé-tsé, par des trypanosomes animaux ou humains lors du premier repas de sang, il a été décidé que les mâles nés de l'élevage seraient nourris sur oreilles de lapins et stérilisés par rayonnement gamma à l'état adulte avant d'être lâchés.

Les travaux antérieurs de POTTS (1958),

DEAN et WORTHAM (1968), ITARD (1968 et 1969), DAME et SCHMIDT (1970) ont montré que l'on obtient une stérilisation des mâles de l'ordre de 95 p. 100, en utilisant des doses de 8 000 à 16 000 rads. C'est dans cette fourchette qu'a été recherchée la dose optimale pour laquelle on obtient à la fois une bonne stérilité et une conservation acceptable de la compétitivité des mâles irradiés vis-à-vis des mâles sauvages présents dans le gîte où ont lieu les lâchers.

Une expérience préliminaire de lâchers en nombre limité a eu lieu alors que la colonie élevée était encore peu importante et qu'une expérimentation complète des doses d'irradiation ne pouvait être entreprise. Seules les doses limites ont été essayées et le choix s'est porté sur la plus élevée. Par la suite, une expérimentation systématique des différentes doses possibles a été effectuée, aboutissant au choix de la dose optimale.

Il nous a paru intéressant d'approfondir

(*) Centre de Recherche sur les Trypanosomiases Animales, B. P. 454, Bobo-Dioulasso (Haute-Volta).

l'étude des différents effets de la dose d'irradiation retenue après l'expérience précédente.

L'ensemble de ces travaux est ici présenté et analysé.

II. MATERIEL ET TECHNIQUE

Les insectes utilisés proviennent de l'élevage de *G. palpalis gambiensis* réalisé au laboratoire du C. R. T. A. à Bobo-Dioulasso depuis mars 1975.

A l'éclosion, mâles et femelles sont séparés après immobilisation par le froid (+ 4 °C).

Les mouches sont nourries sur oreilles de lapins ; les femelles sont accouplées à l'âge de 3 jours avec des mâles âgés de 7 jours, puis séparées 48 heures plus tard.

Le laboratoire est équipé d'un irradiateur G. A. A. A. (*), muni de quatre sources radioactives (Caesium 137) d'une puissance totale de 12 400 Curies, donnant un débit de dose de 63 000 rads/h \pm 7 250 soit environ 1 000 rads/mn. Le décompte du temps est assuré par une minuterie électrique avec alarme sonore.

Les insectes, placés dans des cages de type Roubaud, sont introduits dans un four de 12 dm³ où une circulation d'air est assurée par un ventilateur placé sous l'irradiateur et qui pulse de l'air ambiant par un système de chicanes.

III. PREMIERE EXPERIENCE VISANT A TESTER LES DOSES LIMITES EN VUE D'UN ESSAI PRELIMINAIRE DE LACHERS DURANT LA SAISON DES PLUIES 1975

PROTOCOLE

Des lots de 10 mâles sont irradiés soit à l'éclosion, soit âgés de un jour ou de trois jours à des doses de 8 000, 12 000 et 15 000 rads. Après ce traitement, les mâles sont introduits dans des cages contenant autant de femelles vierges, puis séparés au bout de 48 heures. Quinze jours plus tard les mâles restant sont à nouveau mis en présence d'un nombre égal de femelles vierges, puis séparés 48 heures plus tard.

Les lots de femelles sont conservés dans les conditions du laboratoire (24,5 °C \pm 1 °C ; 75-85 p. 100 HR) et leur production de pupes est notée chaque jour pendant trois mois.

Un lot de 8 mâles non irradiés a été, suivant le même protocole, réuni à des femelles vierges dont la production de pupes est notée de façon à servir de référence.

RESULTATS

Les témoins ont eu une production de 50 pupes. Dans le même temps, les femelles accouplées à des mâles irradiés à 8 000 rads, ont donné, selon les lots, 5, 8 ou 14 pupes. Celles accouplées aux mâles irradiés à 12 000 rads ne donnèrent que 4 pupes et seules les femelles accouplées aux mâles irradiés à 15 000 rads ne produisirent aucune pupes.

Après le deuxième accouplement, les productions de pupes furent nulles pour les lots de femelles mises en présence de mâles irradiés à 12 000 et 15 000 rads.

Seule la dose de 15 000 rads induit une stérilité totale. Avec les doses plus faibles, une partie du sperme demeure fécondant.

Pour évaluer la capacité d'insémination des mâles, les femelles ont été disséquées et les proportions entre les femelles ayant leurs spermathèques totalement pleines, partiellement pleines ou vides ont été établies.

Chez les femelles témoins et celles accouplées aux mâles irradiés à 8 000 rads, le taux de spermathèques pleines (55 à 75 p. 100) est supérieur au taux de spermathèques plus ou moins pleines ou vides (45 à 25 p. 100).

A partir de 12 000 rads, cette proportion s'inverse et le taux de spermathèques plus ou moins pleines augmente avec les doses croissantes d'irradiation. Ainsi entre 12 000 et 15 000 rads, la proportion de spermathèques incomplètement remplies varie-t-elle de 67 p. 100 à 86 p. 100. Ceci traduit une réduction du pouvoir inséminant des mâles.

CONCLUSION

Le peu de mâles dont nous disposions alors n'a pas permis de tester les doses d'irradiation intermédiaires ; le choix s'est porté sur la dose de 15 000 rads qui assure une stérilité totale.

(*) Groupement pour les Activités Atomiques et Avancées, 20, av. Edouard-Herriot, Le Plessis Robinson, 92350 (France).

Ne sachant pas quel pouvait être l'impact des accouplements multiples des femelles avec des mâles irradiés puis avec des mâles sauvages, la dose de 15 000 rads a été préférée à celle de 12 000 rads qui donnait un degré de remplissage des spermathèques meilleur mais qui n'induisait pas une stérilité totale.

Les résultats, après 4 mois de lâchers sur le terrain, ont montré que ces mâles avaient induit une stérilité de l'ordre de 25 p. 100 chez les femelles capturées dans le gîte à la fin de l'expérience et conservées au laboratoire. Il faut noter que le rapport mâle irradié/mâle non irradié n'a jamais été supérieur en moyenne à 1/1.

En revanche, la dispersion et la longévité des mâles irradiés étaient significativement moindres que celles des mâles sauvages capturés dans le gîte et relâchés en même temps.

Nous pensons que la dose de 15 000 rads est trop élevée. Avec des doses d'irradiation plus faibles, on peut espérer, malgré un taux de stérilité légèrement inférieur, une amélioration des durées de survie et du pouvoir inséminant, facteurs favorables à une meilleure compétitivité des mâles irradiés lâchés.

IV. DETERMINATION DE LA DOSE OPTIMALE D'IRRADIATION

Les résultats précédents nous ont conduit à penser que la dose optimale devait se situer aux alentours de 12 000 rads. En novembre 1975, disposant d'une plus grande quantité de mâles élevés au laboratoire, nous avons entrepris une nouvelle expérimentation, avec des doses d'irradiation s'étageant, par tranches de 1 000 rads, entre 9 000 et 14 000 rads.

PROTOCOLE

Quatorze lots de 45 mâles chacun, nés les 26, 27 et 28 novembre 1975 ont été constitués. Ils ont été répartis comme suit :

1 et 1'	2 lots	témoins non irradiés
2 et 2'	—	irradiés à 9 000 rads
3 et 3'	—	10 000 rads
4 et 4'	—	11 000 rads
5 et 5'	—	12 000 rads
6 et 6'	—	13 000 rads
7 et 7'	—	14 000 rads

Tous les mâles ont été irradiés le 28 novembre 1975, à jeun. Ils ont été, entre le 2 et le 4 décembre, soit 5 à 6 jours après leur naissance, mis en présence de lots numériquement égaux de femelles vierges. Ils ont été séparés entre le 4 et le 6 décembre, soit 48 h plus tard.

Toutes les femelles réunies aux lots 1', 2', 3', 4', 5', 6', 7' ont été mises à nouveau, entre le 6 et le 8 décembre, en présence de quantités égales de mâles d'élevage, non irradiés, âgés de 6 ou 7 jours. Elles ont été séparées entre le 8 et le 10 décembre 1975.

Ces femelles, placées en cage de type Roubaud, ont été conservées dans les conditions du laboratoire et nourries chaque jour sur oreilles de lapins.

Les pupes ont été comptabilisées quotidiennement pour chaque lot de femelles. Les femelles mortes ont été sorties des cages chaque jour, et disséquées de façon à évaluer le taux de remplissage des spermathèques.

Au bout de 60 jours, les femelles restantes ont été tuées et disséquées.

D'autre part, les mâles ont été conservés au laboratoire de façon à étudier leur longévité.

RESULTATS

Calcul du taux de stérilité des lots de femelles

Pour chaque lot, ont été calculés le nombre de pupes produites et le nombre de femelles reproductrices/jour.

Le calcul de ce dernier se fait en additionnant les femelles vivantes chaque jour, à partir du jour 18 après la naissance, âge moyen de la première larviposition (*).

A partir de ces deux chiffres, on a pu calculer :

$$p = \text{nombre de pupes/femelle reproductrice /jour}$$

Considérant que le lot témoin a un taux de stérilité de 0 p. 100, il en a été déduit le taux de stérilité de chaque lot de femelles. Le tableau I présente ces résultats.

(*) Cet âge moyen de la première larviposition a été déterminé au cours d'une expérience antérieure d'élevage individuel de femelles de notre colonie.

TABL. N° I - Taux de stérilité des femelles accouplées avec des mâles irradiés.

Taux d'irradiation des mâles	Femelles avec 1 seul accouplement				Femelles avec 2 accouplements (2e avec des mâles non irradiés)			
	Nombre pupes	Nombre ♀ X jour	P	p.100 stérilité	Nombre pupes	Nombre ♀ X jour	P	p.100 stérilité
Témoins	126	1 356	0,0929	0	106	1 517	0,0698	0
9 000 rads	21	1 815	0,0115	87,63	18	1 739	0,0103	85,25
10 000 rads	11	1 781	0,0061	93,44	13	1 719	0,0075	89,26
11 000 rads	7	1 710	0,0040	97,70	10	2 137	0,0046	93,41
12 000 rads	8	1 776	0,0045	95,16	11	1 878	0,0058	91,70
13 000 rads	8	1 794	0,0044	95,27	14	1 568	0,0089	87,25
14 000 rads	5	1 783	0,0028	96,99	21	1 638	0,0128	81,67

Nous constatons que, dans le cas d'un seul accouplement, un taux de stérilité de 95 p. 100 est atteint à partir de 11 000 rads ; l'augmentation du taux de stérilité est ensuite faible.

Dans le cas d'un deuxième accouplement par un mâle non irradié, les taux de stérilité sont comparables à ceux des premiers lots jusqu'à 12 000 rads. Il y a ensuite une baisse très nette.

Degré de remplissage des spermathèques

Les femelles disséquées ont été classées en trois catégories selon que leurs spermathèques étaient totalement pleines, partiellement pleines ou vides.

Le degré de remplissage des spermathèques des femelles mises en présence de mâles irradiés diminue progressivement au fur et à mesure que la dose d'irradiation des mâles augmente.

Bien qu'il n'y ait aucune différence significative entre les taux de remplissage des spermathèques des femelles accouplées une fois ou deux fois, on constate qu'à partir de la dose de 13 000 rads, cette différence a tendance à s'accroître.

Longévité des mâles

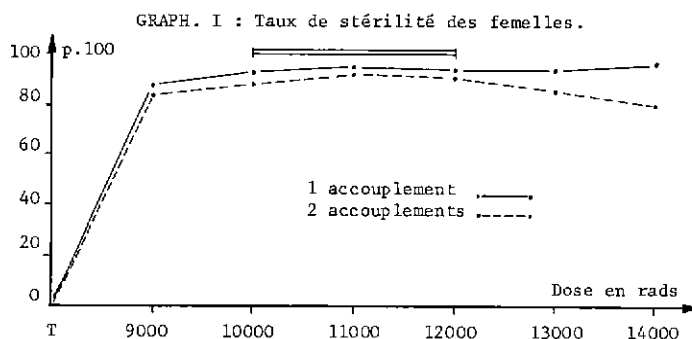
On a considéré la longévité 50 p. 100 (temps au bout duquel 50 p. 100 des individus ont disparu) et la longévité maximale (date de la mort du dernier individu).

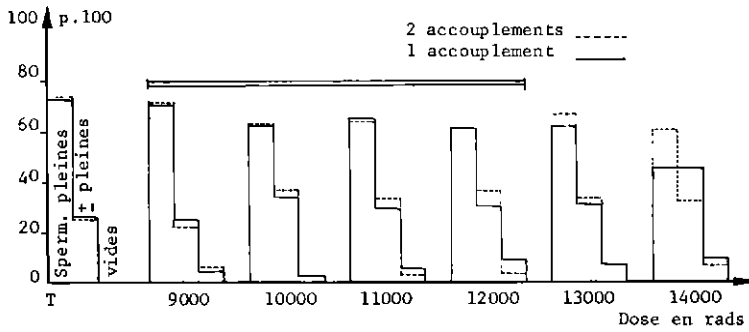
La longévité des mâles irradiés est inférieure à celle des témoins, en moyenne de 8 jours (38 jours), pour la mortalité 50 p. 100 et de 27 jours pour la longévité maximale (82 jours). En revanche, il n'y a pas de différence significative entre la longévité des mâles irradiés aux différentes doses.

CONCLUSION

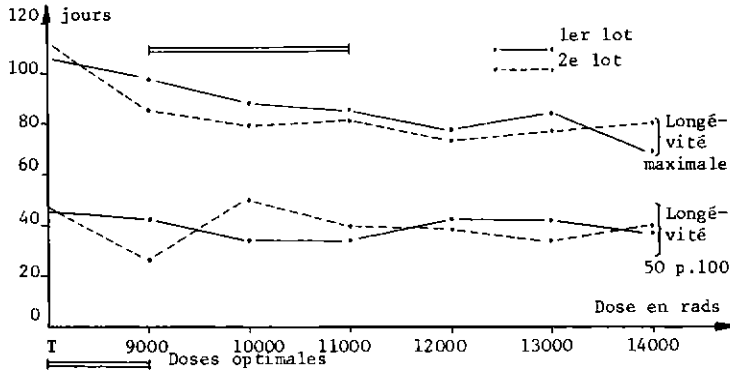
Il s'agit de choisir la dose d'irradiation donnant la plus forte stérilité possible des mâles (mesurée par le taux de stérilité des femelles accouplées avec les mâles irradiés) tout en conservant la meilleure compétitivité des mâles (mesurée par la longévité et le taux de remplissage des spermathèques).

Le graphique 1 montre qu'on obtient une stérilité satisfaisante des femelles ayant subi un ou deux accouplements lorsque les mâles ont été irradiés à des doses comprises entre 10 000 et 12 000 rads.





GRAPH. 2 : Remplissage des spermathèques des femelles.



GRAPH. 3 : Longévité des mâles.

Le degré de remplissage des spermathèques après 1 ou 2 accouplements est convenable pour des doses d'irradiation des mâles variant de 9 000 à 12 000 rads (cf. graphique 2).

Le graphique 3 montre que la longévité maximale des mâles reste supérieure, en moyenne, à 80 jours, pour des doses d'irradiations de 9 000 à 11 000 rads.

Ceci montre que les doses de 10 000 et 11 000 rads réunissent au mieux les conditions exposées plus haut.

Considérant que dans cette fourchette c'est avec la dose de 11 000 rads que nous avons obtenu le meilleur taux de stérilité chez les femelles accouplées aux mâles irradiés, cette dose a été choisie pour les mâles qui sont lâchés depuis mars 1976 dans un gîte d'expérience proche de Bobo-Dioulasso.

V. ETUDE DES EFFETS D'UNE IRRADIATION DES MALES A 11 000 RADS SUR LES FEMELLES ACCOUPLEES A CES MALES PUIS A DES MALES NON IRRADIES

Lors de lâchers de mâles stériles dans un gîte, ceux-ci se trouvent mélangés à des mâles

sauvages et les accouplements des femelles se font au hasard avec les uns ou les autres.

Nous avons cherché à connaître l'influence des mâles irradiés sur les femelles auxquelles ils s'accouplent lorsqu'il y a ensuite accouplement de ces mêmes femelles avec des mâles sauvages.

PROTOCOLE

Deux cents mâles nés le 15 octobre 1976 ont été répartis en 4 lots de 50 chacun. Trois de ces lots ont été irradiés à 11 000 rads le 15 octobre après avoir été nourris.

Le quatrième lot est conservé comme témoin.

Le 20 octobre, 40 mâles de chacun des 4 lots ont été mis en présence de 40 femelles vierges âgées de 3 jours.

Le 22 octobre, mâles et femelles sont séparés. Les femelles témoins et celles du lot I sont disposées en élevage individuel. Les femelles des lots II et III sont réaccouplées avec des mâles âgés de 6 jours, non irradiés.

Le 24 octobre, ces femelles sont séparées des mâles. Les femelles du lot II sont mises en élevage individuel. Celles du lot III sont réac-

couplées avec des mâles âgés de 6 jours, non irradiés.

Le 26 octobre, ces dernières femelles sont séparées et mises en élevage individuel.

En résumé, les accouplements suivants ont eu lieu :

femelles T × mâles T

femelles Lot I × mâles irradiés 11 000 rads

femelles Lot II × mâles irradiés 11 000 rads × mâles non irradiés

femelles Lot III × mâles irradiés 11 000 rads × mâles non irradiés × mâles non irradiés.

Chaque femelle a été élevée individuellement dans une petite cage ronde de verre (type ventouse), fermée par du tulle moustiquaire.

Quotidiennement, les pupes sont récoltées et les femelles mortes disséquées en vue de connaître l'état de remplissage des spermatèques et les anomalies pouvant survenir dans la configuration ovaro-utérine.

Le décompte des pupes a été arrêté au 50^e jour pour les 4 lots.

Toutes les femelles survivantes ont été sacrifiées entre le 51^e et le 58^e jour, et disséquées.

RESULTATS

Afin d'apprécier l'effet des mâles irradiés à 11 000 rads, cinq critères d'observations ont été retenus :

- le taux de stérilité des femelles auxquelles ils sont accouplés ;
- le taux de remplissage des spermatèques ;
- la configuration ovaro-utérine ;
- le poids des pupes produites ;
- le taux d'éclosion des pupes.

Calcul du taux de stérilité des lots de femelles

Comme dans l'expérience précédente, ont été calculés le nombre de pupes produites et le nombre de femelles reproductrices × jour. A partir de ces deux chiffres, on a calculé le nombre p donnant une estimation de la stérilité globale du lot de femelles.

Les résultats sont présentés dans le tableau 2.

TABL. N° II - Taux de stérilité des femelles accouplées avec les mâles stériles et les mâles normaux.

Lot	Nombre pupes	Nombre ♀ X jours	P	p. 100 stérilité
Témoins	49	982	0,0498**	0
Lot I	8	1044	0,0076	84,74
Lot II	11	1134	0,0097	80,52
Lot III	23	1234	0,0186	62,66

** Ce chiffre paraît faible mais il correspond à la productivité de l'ensemble de notre colonie au moment de l'expérimentation.

Titre : Lire "irradiés" au lieu de "stériles" et "non irradiés" au lieu de "normaux".

La production de pupes du lot témoin paraît très faible. Cependant, elle correspond à la productivité de l'ensemble de notre colonie au moment de l'expérimentation. Ceci est dû à un accident survenu plusieurs mois auparavant dans l'élevage et qui avait entraîné une très forte chute de la production de pupes par femelle. Au moment de l'expérience, la productivité s'améliorait peu à peu.

Cependant, la comparaison avec la production de pupes des femelles accouplées avec des mâles irradiés reste valable, tous les individus étant issus du même élevage et maintenus dans les mêmes conditions.

La stérilité induite chez les femelles décroît quand le nombre d'accouplements avec des mâles normaux augmente.

L'élevage individuel des femelles a permis de montrer que la stérilité induite par les mâles irradiés est de 2 sortes.

D'une part, certaines femelles ne produisent aucune puce tout au long de leur vie, d'autre part, certaines femelles produisent une puce de temps en temps, avec des périodes inter-larvaires très allongées au cours desquelles se produisent un ou plusieurs avortements précoces, probablement en raison des lésions chromosomiques provoquées par les rayons gamma au niveau des spermatozoïdes des mâles. Parmi les lots de femelles accouplées avec les mâles irradiés, une seule femelle a produit le nombre de pupes correspondant à la fertilité normale. Toutes les autres ont produit un nombre inférieur.

Cette femelle appartenait au lot III.

Le nombre de femelles ayant produit au moins une larve au cours de l'expérimentation,

augmente avec le nombre d'accouplements avec des mâles normaux.

Ceci est en faveur d'une hypothèse de mélange des spermatozoïdes dans les spermathèques, avec ensuite, lors de chaque ponte ovulaire, une fécondation par un spermatozoïde provenant au hasard du sperme stérile ou du sperme normal.

Dans le cas de la femelle du lot III ayant produit les 5 larves attendues, nous pouvons envisager deux hypothèses : soit il n'y a pas eu d'insémination par un mâle irradié, mais seulement par des mâles normaux, soit il y a bien eu d'accouplements multiples mais le hasard a fait que chaque fécondation d'ovule a eu lieu avec un spermatozoïde issu du sperme fertile.

Remplissage des spermathèques

Comme dans l'expérience précédente, les femelles disséquées ont été classées en trois catégories selon que leurs spermathèques étaient pleines, partiellement pleines ou vides.

Bien que les différences entre les lots ne soient pas significatives, on constate une augmentation du nombre des spermathèques totalement pleines avec l'augmentation du nombre d'accouplements. Ce qui confirme des observations faites par PINHAO et GRACIO (8).

Il n'y a pas de différence significative non plus entre le lot témoin et le lot I, ce qui montre que les mâles irradiés à 11 000 rads et les mâles non irradiés ont le même pouvoir inséminateur lorsqu'ils sont placés dans les mêmes conditions.

Configurations ovaro-utérines

VAN DER VLOEDT (9) a défini des paramètres permettant de mettre en évidence le rôle des mâles irradiés par dissection de l'appa-

reil génital interne des femelles inséminées par ces mâles. Deux nous ont paru intéressants à rechercher, sur les femelles mortes au cours de l'expérience ou sacrifiées à la fin de celle-ci.

1) Elles ont un « nombre repère » (6) anormal pour leur âge, c'est-à-dire en avance par rapport au « nombre repère » théorique en raison des mortalités des embryons *in utero* entraînant un raccourcissement des cycles reproductifs.

2) Elles présentent une fréquence exagérément élevée d'utérus vides ou contenant un œuf. Dans une situation normale, le développement embryonnaire durant 3 jours et le développement larvaire 7 jours, la fréquence d'utérus vides ou contenant un œuf est de l'ordre de 30 p. 100, celle d'utérus contenant une larve de 70 p. 100. VAN DER VLOEDT a montré que chez les femelles inséminées par des mâles irradiés, la fréquence d'utérus vides ou contenant un œuf est au moins de 70 p. 100.

Configuration ovarienne

Sachant que l'âge moyen de la première ovulation est de 18 jours (*), et que la période interlarvaire moyenne est de 10 jours (*) nous pouvons prévoir la configuration ovarienne des femelles au jour de leur dissection. Les femelles ont été classées en quatre catégories selon que la configuration ovarienne était normale, en avance, en retard ou totalement anormale (blo-cages ovariens, ovaires dégénérés, etc...).

Le tableau 3 présente ces résultats.

Les différences sont significatives entre le lot témoin et le lot I ($X^2 = 18,61$, ddl : 1, $p = 0,001$), entre le lot témoin et le lot II ($X^2 = 22,57$, ddl : 1, $p = 0,001$) et entre le lot témoin et le lot III ($X^2 = 26,14$, ddl : 1, $p = 0,001$).

(*) Expérience antérieure déjà citée.

TABL. N°III-Configuration ovarienne des femelles accouplées avec des mâles stériles et les mâles normaux.

Lot	Femelles disséquées	Configuration normale		Configuration en avance		Configuration en retard		Configuration anormale	
		Nombre	p. 100	Nombre	p.100	Nombre	p. 100	Nombre	p. 100
I	33	21	63,63	3	9,09	5	15,15	4	12,12
I	33	4	12,12	20	60,60	3	9,09	6	18,18
II	35	3	8,57	24	68,57	3	8,57	5	14,28
III	36	2	5,55	28	77,78	3	8,33	3	8,33

Titre : Lire "irradiés" au lieu de "stériles" et "non irradiés" au lieu de "normaux".

En revanche, il n'y a aucune différence significative entre les lots I et II ($X^2 = 0,0303$), I et III ($X^2 = 0,3547$) et II et III ($X^2 = 0,0181$).

Nous avons vu précédemment qu'à une exception près, les femelles accouplées aux mâles irradiés avaient produit un nombre de larves inférieur à ce qu'on pouvait attendre. Il s'est donc produit un certain nombre d'avortements, sûrement précoces (au stade œuf), qui ont entraîné un raccourcissement des cycles reproductifs et de ce fait une configuration ovarienne en avance sur le « nombre repère » théorique au moment de la dissection, cette observation rejoignant celle de VAN DER VLOEDT (9).

Contenus utérins

Les femelles ont été classées en deux catégories, selon que leur utérus contenait un œuf ou était vide, d'une part, ou contenait une larve, quel que soit son stade de développement, d'autre part.

Comme VAN DER VLOEDT (9), nous constatons que, chez les femelles ayant été inséminées par des mâles irradiés, la fréquence des utérus vides ou contenant un œuf est supérieure à 70 p. 100 (90,90 p. 100, 86,11 p. 100 et 83,78 p. 100). Les différences sont significatives entre le lot témoin et les autres lots avec une probabilité de $p = 0,05$ pour les lots I ($X^2 = 6,593$) et II ($X^2 = 4,350$), de $p = 0,10$ pour le lot III ($X^2 = 3,407$).

Les différences ne sont pas significatives entre les lots de femelles accouplées avec des mâles irradiés (lots I et II, $X^2 = 0,0953$; lots I et III, $X^2 = 0,3534$; lots II et III, $X^2 = 0,0789$).

La forte proportion de femelles dont l'utérus était vide ou contenait un œuf chez les témoins (64,70 p. 100) est due au fait que ces femelles ont été sacrifiées au 50^e, 51^e et 52^e jour, époque suivant immédiatement une larviposition et entraînant des images de ce type.

En revanche, les autres femelles ont été disséquées entre le 52^e et 58^e jour, époque où l'utérus devait normalement contenir une larve.

Poids des pupes

Toutes les pupes recueillies ont été pesées le jour de la ponte.

Le poids moyen des pupes des témoins est de $21,67 \pm 1,22$ mg alors que ceux des pupes des lots I, II et III sont respectivement de $24,02 \pm 5,54$ mg, $24,54 \pm 5,09$ mg et $24,59 \pm 2,69$ mg.

Nous constatons que le poids moyen des pupes des témoins est significativement inférieur au poids moyen des pupes des lots II ($t = 2,079$, ddl = 57, $p = 0,05$) et III ($t = 2,155$, ddl = 69, $p = 0,01$).

Aucune différence significative n'est notée entre les lots I, II et III (I et II, $t = 0,319$; I et III, $t = 0,454$; II et III, $t = 0,040$).

Ce poids moyen plus élevé est dû au fait que les femelles ne donnant naissance qu'à quelques larves au cours de leur vie, chacune de ces larves bénéficie d'une alimentation intra-utérine plus importante. Ceci corrobore l'observation faite à la dissection : toutes les femelles des lots I, II et III présentaient des réserves graisseuses bien plus importantes que les femelles du lot témoin.

Éclosions des pupes

Les pupes ont été conservées dans les conditions de stockage des pupes de l'élevage (temp. : $24,5^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$; HR : 75-90 p. 100).

Les adultes éclos ont été comptés puis sacrifiés.

Les taux d'éclosion des pupes sont comparables quels que soient les lots de femelles envisagés (77,77 p. 100 à 84,37 p. 100).

Il existe une nette prépondérance des mâles par rapport aux femelles chez les pupes produites par les femelles accouplées à des mâles irradiés, mais le très petit nombre d'individus fait que le calcul statistique ne montre aucune différence significative entre le sex-ratio des différents lots. Aucun d'eux n'est non plus significativement différent du rapport 50/50.

Ceci confirme que les larves produites par des femelles accouplées avec des mâles irradiés sont moins nombreuses mais parfaitement viables.

CONCLUSIONS

Cette expérience montre, qu'au laboratoire, les femelles de glossines sont capables de s'accoupler plusieurs fois. En effet le degré de remplissage des spermathèques augmente avec

l'accroissement du nombre d'accouplements. En outre, il est identique après un accouplement avec des mâles stériles ou des mâles normaux.

L'observation de l'existence de périodes interlarvaires allongées et le fait qu'il ne s'agit pas d'une stérilité régie par une loi du « tout ou rien » prouvent qu'il se produit au niveau des spermathèques un mélange de sperme stérile et de sperme normal. Les fécondations successives ont vraisemblablement lieu avec des spermatozoïdes venant au hasard de l'un ou de l'autre. La probabilité pour que ce soit les spermatozoïdes stériles qui fécondent les ovules sera fonction du rapport quantitatif $\frac{\text{sperme stérile}}{\text{sperme normal}}$ et de la compétitivité des spermatozoïdes produits par les mâles irradiés.

Ceci implique que dans toute campagne de lutte contre les glossines par cette méthode, les deux facteurs les plus importants à prendre en considération sont la dose optimale d'irradiation et le rapport $\frac{\text{mâles stériles}}{\text{mâles sauvages}}$ dans le gîte de lâcher.

Ainsi les expériences en cours sur notre gîte se font avec une dose d'irradiation de 11 000 rads et un rapport $\frac{\text{mâles irradiés}}{\text{mâles sauvages}}$ que nous essayons de maintenir égal ou supérieur à 6 mâles irradiés pour 1 mâle sauvage.

Les résultats des dissections des femelles et l'observation des configurations ovaro-utérines confirment les travaux de VAN DER VLOEDT. Ce moyen de contrôle de l'action des mâles stériles sur une population de femelles nous semble intéressant, au cours d'une campagne d'éradication. Trois facteurs en limitent cependant sérieusement l'application :

— la nécessité d'obtenir régulièrement un grand échantillon de femelles (une cinquantaine au moins) dans une population de faible densité, condition nécessaire à l'utilisation des mâles irradiés ;

— la nécessité de disséquer les femelles sur place afin d'éviter les avortements dus au transport ;

— la nécessité de posséder un moyen de capture des femelles permettant de s'assurer que l'ensemble de la population est représentée dans l'échantillon. En effet, les femelles por-

teuses d'une larve L₃ ne s'alimentent généralement pas durant les 2 ou 3 jours qui précèdent la larviposition. De ce fait, elles sont difficiles à capturer car elles ne viennent pas aux pièges. Or leur absence dans l'échantillonnage aura tendance à faire augmenter la proportion de femelles s'étant apparemment accouplées avec des mâles irradiés.

On peut tourner la difficulté en établissant avant le début des lâchers une sorte « d'étalement » de la population femelle. Il faudra alors ensuite être sûr que le moyen de capture utilisé reste fidèle tout au long de la campagne.

VI. LONGEVITE DES MALES IRRADIES EN FONCTION DU MOMENT DE L'IRRADIATION

Dans nos expériences de lâchers, les mâles éclos le matin sont séparés et marqués (tache colorée) après immobilisation à + 4 °C, puis nourris, irradiés, transportés sur le gîte et lâchés dans l'après-midi. Nous avons voulu savoir si le moment du repas de sang (avant ou après l'irradiation) influait sur la longévité des mâles stériles.

PROTOCOLE

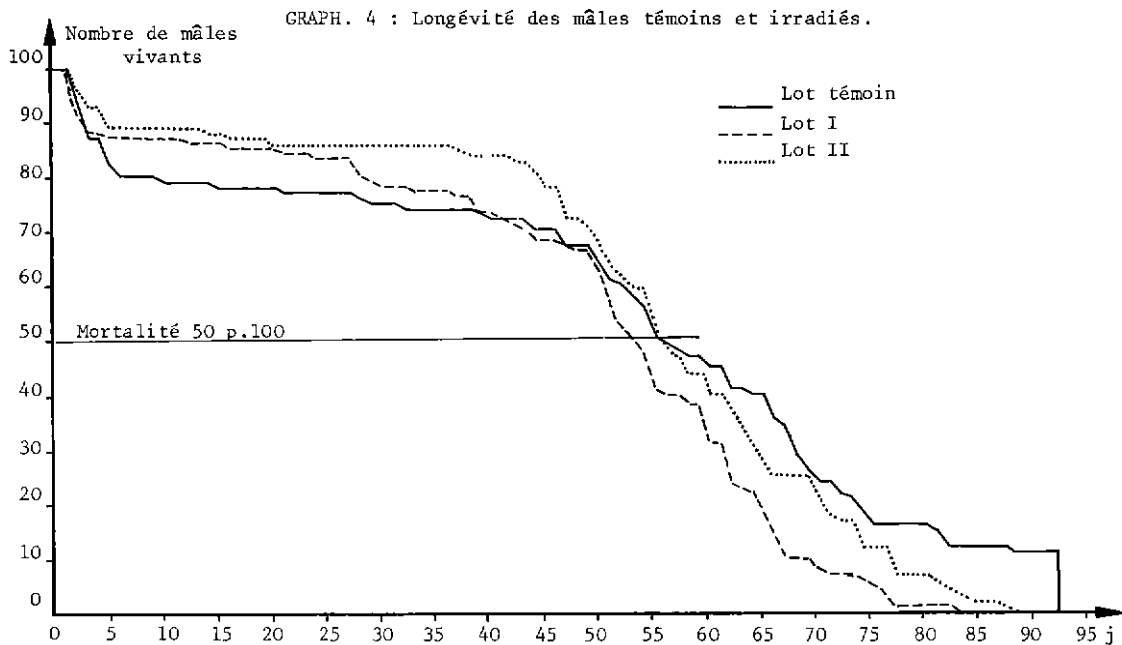
Trois lots de 100 mâles nés le 4-11-76 ont été constitués : un lot témoin non irradié, un lot nourri puis irradié (I) et un lot irradié puis nourri (II). Ils ont été conservés en cage de type ROUBAUD dans les conditions du laboratoire et nourris chaque jour sur oreilles de lapins. Les morts ont été sortis des cages et comptés quotidiennement.

RESULTATS

Le graphique n° 4 présente les courbes de survie des trois lots de mâles.

CONCLUSIONS

Les moments respectifs du repas et de l'irradiation n'influent pas sur la survie des mâles de *G. palpalis gambiensis*. L'irradiation elle-même, à la dose de 11 000 rads, ne semble pas provoquer une mortalité 50 p. 100 plus importante que chez les témoins, dans les conditions du laboratoire. Cependant, il faut noter que la longévité maximale des mâles témoins est supérieure à celle des mâles irradiés.



Nota : L'expérience a volontairement été arrêtée au 92e jour.

VII. CONCLUSION

L'irradiation gamma de mâles adultes de *G. palpalis gambiensis* âgés de 0 à 3 jours, à des doses de 8 000, 12 000 ou 15 000 rads, abaisse la fertilité des mâles proportionnellement à la dose reçue. A 15 000 rads, ils sont totalement stériles ; mais des essais de lâchers et l'étude du degré de remplissage des spermathèques des femelles auxquelles on les accouple, ont montré que leur compétitivité était diminuée.

Des essais aux doses de 9 000, 10 000, 11 000, 12 000, 13 000 et 14 000 rads ont montré qu'avec une dose de 11 000 rads, on obtient à la fois une stérilité des femelles accouplées avec les mâles irradiés supérieure à 95 p. 100, une capacité d'insémination et une longévité comparables à celles des témoins.

La dose de 11 000 rads est donc la dose optimale que nous avons choisie pour les expériences de lâchers de mâles irradiés.

Des essais d'accouplements multiples de femelles avec des mâles irradiés à la dose de 11 000 rads et des mâles normaux ont montré qu'il n'y a pas de différence entre la capacité d'insémination des mâles irradiés et des témoins, lors d'un seul accouplement. En revanche, le degré de remplissage des spermathèques des femelles augmente quand il y a

ensuite réaccouplements multiples, ce qui peut influencer sur la stérilité ultérieure des femelles.

Corrélativement, le nombre de pupes produites augmente avec le nombre d'accouplements fertiles ayant suivi l'accouplement stérile.

Ces faits sont en faveur d'une hypothèse du mélange des spermés dans les spermathèques des femelles avec fécondations successives des ovules par des spermatozoïdes provenant au hasard du sperme stérile ou du sperme fertile.

Ceci est encore confirmé par le fait qu'il n'existe pas chez les femelles accouplées avec des mâles irradiés et des mâles normaux, de « loi du tout ou rien » quant à leur production de pupes. Ces accouplements multiples entraînent seulement des allongements des périodes interlarvaires en raison des avortements qui se produisent.

La méthode de VAN DER VLOEDT, consistant à évaluer l'impact des mâles irradiés lâchés dans une population de femelles, par observation des configurations ovaro-utérines anormales, s'est révélée efficace. Cependant, elle est limitée par la nécessité de capturer un échantillon représentatif donc important des femelles sauvages de la population que l'on tend à contrôler, ce qui paraît difficilement réalisable dans un gîte de faible densité.

Les pupes produites par les femelles ayant subi des accouplements multiples sont parfaitement viables et ont un taux d'éclosion normal. Elles sont simplement plus lourdes que celles produites par les témoins. Chaque femelle donnant naissance à moins de larves, la larve se nourrit plus abondamment pendant sa vie intra utérine.

L'irradiation à la dose de 11 000 rads n'influe pas sur la longévité moyenne des mâles, au laboratoire. Ceci est également vrai,

que les mâles soient irradiés à jeun ou après un repas de sang.

Cette série d'observations constitue une étape fondamentale avant tout essai de lâchers de mâles stériles puisqu'elle définit les paramètres d'irradiation conditionnant une bonne compétitivité des mâles irradiés que l'on va libérer. Les résultats concernant la dose optimale d'irradiation corroborent ceux d'ITARD (7) pour *G. palpalis gambiensis* et sont déjà mis à profit pour l'expérience de lutte génétique engagée en Haute-Volta.

SUMMARY

Trials on the determination of optimum irradiation level of male *Glossina palpalis gambiensis* (Vanderplank, 1949) to biological control by sterilized male releases in Bobo Dioulasso area (Upper-Volta)

The authors determined the irradiation optimum level to release trials of sterilized male *Glossina palpalis gambiensis* in Upper-Volta. Two experiments allowed to determine the optimum dosis (11 000 rads) inducing a high sterility level without decreasing male competitiveness too considerably.

The various factors allowing to estimate irradiated male sterility and competitiveness with 11 000 rads level are emphasized.

RESUMEN

Ensayos de determinación de la dosis óptima de irradiación de los machos de *Glossina palpalis gambiensis* (Vanderplank, 1949) para la lucha biológica mediante soltares de machos esteriles en la región de Bobo-Diulaso (Alta-Volta)

Los autores realizaron busquedas para determinar la dosis óptima de irradiación durante ensayos de soltares de machos irradiados de *Glossina palpalis gambiensis*, en Alta-Volta. Dos experiencias sucesivas permitieron determinar la dosis óptima (11 000 rads) induciendo una tasa de esterilidad elevada sin aminorar de modo excesivamente considerable la competitividad de los machos.

Se estudian más particularmente los diferentes factores permitiendo evaluar la esterilidad y la competitividad de los machos irradiados con dosis de 11 000 rads.

BIBLIOGRAPHIE

1. CLAIR (M.), POLITZAR (H.), CUISANCE (D.), LAFAYE (A.), SELLIN (E.). Observations sur un essai préliminaire de lâchers de mâles stériles de *Glossina palpalis gambiensis* (Haute-Volta). *Rev. Elev. Med. vét. Pays trop.*, 1976, 29 (4) : 341-351.
2. DAME (D.), SCHMIDT (C.). The sterile male technique against tsetse flies, *Glossina sp. p.* Bull. ent. Soc. Am., 1970, 16 (1) : 24-29.
3. ITARD (J.). Stérilisation des mâles de *Glossina tachinoïdes* west, par irradiation aux rayons gamma. *Rev. Elev. Med. vét. Pays trop.*, 1968, 21 (4) : 479-491.
4. ITARD (J.). Stérilisation des mâles de *Glossina morsitans morsitans* et de *Glossina tachinoïdes* west, par irradiation aux rayons gamma. Premier symposium sur l'élevage en laboratoire de la mouche tsé-tsé et ses applications pratiques. 22-23 avril 1963, Lisbonne (Portugal).
5. ITARD (J.). Sterilization by gamma irradiation of adult male *glossinae*. Low dosage irradiation (4 000 to 6 000 rads) of adults male *G. tachinoïdes* I. S. C. T. R. 13^e réunion Lagos (Nigéria) 7-11 septembre 1971, Doc. n° 4.
6. ITARD (J.). Cycle de l'oogenèse chez les femelles de *Glossina tachinoïdes* (Westwood) et détermination de l'âge physiologique. *Rev. Elev. Med. vét. Pays trop.*, 1966, 19 (3) : 331-350.
7. ITARD (J.). Rapport d'activité du Service d'Entomologie de l'I. E. M. V. T. 1975 (non publié).
8. PINHAO (R. C.), GRACIO (J. S.). The degree of spermathecal impregnation and the number of matings in *Glossina austeni*. *An. Inst. Hig. Med. trop.*, 1973, 1 (1-4) : 000-000.
9. VAN DER VLOEDT (A. M. V.), TAHER (M.), CZOCK (K. H.), MALKGHASSEMI (B.), HASELBERGER (N.). Laboratory studies on the sexual sterilization of the tsetse fly *Glossina palpalis palpalis* (Robineau Desvoidy) by ionizing radiation. II. Ovarian configuration and uterine contents of females mated by irradiated males (pre-publication. I. A. E. A., oct. 1976).