Élevage, cytogénétique et spermatogénèse des insectes du genre *Glossina*. Stérilisation des mâles par irradiation gamma

par J. ITARD

Institut d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux, 10 rue Pierre-Curie,
F 94 - Maisons-Alfort

Résumé

I. — Les élevages de *Glossines* à Maisons-Alfort.

Des élevages de quatre espèces de *Glossines* sont entrepris depuis quelques années à Maisons-Alfort, et comprennent : une souche de *G. morsitans morsitans*, une souche de *G. tachinoides*, une souche de *G. austeni* et une souche de *G. fuscipes fuscipes*.

Les adultes sont maintenus dans une pièce à une température de 25° C et une humidité relative de 70 à 75 p. 100. Les pupes et les mouches de moins de 10 jours sont stockées dans une deuxième pièce, à 25° C et entre 75 et 80 p. 100 d'H.R.

Les mouches sont nourries chaque jour, sauf le dimanche, sur les oreilles du lapin.

Les effectifs des femelles ont dépassé une moyenne de 2.000 femelles par jour et par espèce, à la fin de l'année 1967 pour *G. tachinoides* et *G. morsitans* et à la fin de l'année 1968 pour *G. austeni*. Chez *G. fuscipes fuscipes*, les effectifs atteignent actuellement 800 femelles/jour et sont en progression constante.

II. — Cytogénétique et spermatogénèse des *Glossines*.

Des recherches sur les chromosomes des *Glossines* ont permis de définir le caryotype des espèces suivantes :

G. tachinoides, qui possède 6 chromosomes.

G. fuscipes fuscipes, ayant également 6 chromosomes.

G. morsitans morsitans, qui possède 10 chromosomes, dont 2 paires de grands chromosomes, 1 paire de moyens et 2 paires de petits chromosomes.

G. austeni, avec 14 chromosomes, dont 2 paires de grands, 1 paire de moyens et 4 paires de petits chromosomes.

III. — Stérilisation des mâles de Glossines par irradiation aux rayons gamma.

L'irradiation gamma de mâles adultes de Glossines provoque, dans les conditions du laboratoire, la stérilité totale à des doses comprises entre 19.000 et 20.000 rads chez *G. morsitans* et entre 15.500 et 17.000 rads chez *G. tachinoides*. A ces doses, la fertilité des mâles irradiés est nulle mais leur compétitivité et leur pouvoir inséminant sont conservés et leur longévité reste suffisante.

Une application pratique de la méthode de lutte par lâchers de mâles stériles sera réalisée, au début de 1970, en République Centrafricaine.

Summary

I. — *Glossina* breeding in Maisons-Alfort.

Four colonies of *Glossina* species have been maintained for some years in Maisons-Alfort, including: a strain of *G. morsitans morsitans*, a strain of *G. tachinoides*, a strain of *G. austeni* and a strain of *G. fuscipes fuscipes*.

Adults are kept in a controlled climate room where climate is maintained at about 25° C and 70-80 per. cent relative humidity. Pupae and young flies are kept in a second room, at 25° C and between 75 and 80 p. 100 R.H.

The flies are fed daily, except on Sunday, on the ears of rabbits. The number of females reach an average of 2.000 females per day and per species, at the end of 1967 with regard to *G. tachinoides* and *G. morsitans* and at the end of 1968 with regard to *G. austeni*. The *G. fuscipes fuscipes* population now reaches 800 females/day and is continually progressing.

II. — *Glossina* cytogenetics and spermatogenesis.

Investigations on chromosomes of *Glossina* allowed to determine the karyotype of the following species:

G. tachinoides, that has three pairs of chromosomes.

G. fuscipes fuscipes, that also has three pairs of chromosomes.

G. morsitans morsitans, that has five pairs of chromosomes: two long, one medium and two short.

G. austeni that has seven pairs of chromosomes: two long, one medium and four short.

III. — Sterilization of males of *Glossina* by gamma irradiation.

The gamma irradiation of adult males of tsetse flies causes, in laboratory conditions, the total sterility with a dose of between

19.000 and 20.000 rads in *G. morsitans* and 15.500 and 17.000 rads in *G. tachinoides*.

With doses of this magnitude the fertility of the irradiated males is zero but their competitiveness and power of insemination are preserved and their longevity remains sufficient.

A practical application of the sterile males technique will be carried out, at the beginning of 1970, in Central African Republic.

Des élevages de Glossines (*Diptera-Muscidae*) ont été réalisés, à l'Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux, à Maisons-Alfort, depuis 1965. Ces insectes sont les vecteurs et les hôtes intermédiaires des trypanosomiasés africaines qui provoquent, chez le bétail vivant dans les zones infestées, des pertes souvent supérieures aux grandes affections épizootiques (peste bovine, péripneumonie). Les trypanosomiasés présentent donc un intérêt économique considérable.

Les élevages de Glossines facilitent les études de biologie de ces insectes, et la mise au point des méthodes de lutte, en particulier de lutte biologique, qui, en coupant le cycle de transmission, permettent d'espérer une diminution des taux d'infestations trypanosomiennes.

Les élevages de Maisons-Alfort sont uniques en France. Nous exposons ici les principaux résultats obtenus tant sur les élevages proprement dits que sur la cytogénétique de ces insectes et sur la lutte biologique par stérilisation sexuelle des mâles irradiés.

I. Elevage des Glossines.

A. — Introduction.

Des élevages de quatre espèces de Glossines sont entrepris depuis quelques années à Maisons-Alfort. Les insectes ont été nourris jusqu'à la fin de l'année 1966 sur cobaye. A partir du début de l'année 1967, les Glossines ont été nourries sur oreilles de lapin, selon le procédé décrit par Nash.

Les effectifs ont alors progressé de façon remarquable, et atteignaient le 18 janvier 1968, malgré une intoxication accidentelle par insecticide en juin 1967, 2.362 femelles de *G. tachinoides* et 2.306 femelles de *G. morsitans morsitans*. Les effectifs de *G. austeni* ont dépassé 2.000 femelles à la fin octobre 1968. Nous limitons actuellement ces effectifs à 2.000 femelles et à 500 mâles environ par jour et par espèce, tout le surplus étant utilisé à des fins expérimentales.

Outre les trois espèces ci-dessus mentionnées, un élevage de *G. fuscipes fuscipes* a été entrepris depuis juin 1968 à partir de 3 lots de pupes qui nous ont été expédiées de Bouar (R.C.A.).

B. — Origine des élevages.

a) *G. tachinoides*.

Les premiers essais d'élevage de cette espèce ont été réalisés à partir d'un lot de 124 pupes en provenance de Fort-Lamy (République du Tchad), reçu à Maisons-Alfort en avril 1965, et dont sont issus 36 mâles et 31 femelles. Cette souche originelle n'a survécu que difficilement, malgré une nouvelle expédition de 147 pupes en février 1966, ayant donné 60 mâles et 79 femelles, puisque l'effectif n'atteignait que 32 femelles le 7 novembre 1966.

C'est alors que nous avons reçu deux lots de pupes en provenance de la même région. Le premier lot, reçu le 5 novembre 1966, comprenait 150 pupes dont sont éclos 39 mâles et 43 femelles. Le deuxième lot, reçu le 15 décembre 1966, comprenait 3.162 pupes qui ont donné 657 mâles et 858 femelles.

La souche actuelle provient de ces deux derniers lots.

b) *G. morsitans morsitans*.

Cette souche a été constituée à partir de deux lots de pupes en provenance de Rhodésie du Sud. Le premier envoi reçu le 8 février 1965, contenait 122 pupes dont sont éclos 18 mâles et 25 femelles. Le deuxième envoi, reçu le 21 juillet 1965, comprenait 984 pupes qui donnèrent 403 adultes (202 mâles et 201 femelles).

c) *G. austeni*.

Le D^r Nash, Directeur du Laboratoire de recherche sur les Tsétsés, Université de Bristol (Grande-Bretagne), nous a expédié deux lots de pupes provenant de son élevage, et qui ont constitué l'origine de la souche actuelle. Le premier lot, reçu le 14 octobre 1966, comprenait 149 pupes ayant donné 74 mâles et 71 femelles. Le deuxième lot, reçu le 3 janvier 1967, comprenait 100 pupes dont sont éclos 46 mâles et 47 femelles.

d) *G. fuscipes fuscipes*.

13 pupes de *G. fuscipes fuscipes* en provenance de Bouar (R.C.A.) ont été reçues le 15 mai 1968, et ont donné 5 mâles et 5 femelles. Un deuxième lot, reçu le 27 novembre 1968, comprenait 39 pupes qui ont donné 13 mâles et 21 femelles. Le troisième envoi, reçu le 9 janvier 1969 comprenait 43 pupes ayant donné 22 mâles et 13 femelles. Ces trois envois constituent l'origine de la souche de *G. fuscipes fuscipes* actuellement élevée à Maisons-Alfort.

C. — Technique d'élevage.

Les imagos sont maintenus dans une pièce à une température de 25°C et une humidité relative d'environ 70 à 75 %. Les pupes et les mouches de moins de 10 jours sont stockées dans une deuxième pièce, séparée de la première par un sas, à 25°C, et entre 75 et 80 % d'humidité relative.

Les pupes, récoltées chaque matin, sont placées dans des tubes de Borrel stériles, sans sable, à raison de 30 à 35 pupes par tube.

Les femelles sont accouplées à l'âge de 3 à 4 jours, avec des mâles âgés de 7 à 10 jours. Après la période de réunion des sexes, qui dure de 4 à 6 jours, les femelles sont séparées des mâles et placées, par groupes de 20 à 30 mouches, dans des cages de type Roubaud, constituées par une armature métallique plastifiée de $14 \times 8,5 \times 5$ cm recouverte d'une housse en tulle de tergal à mailles carrées de 2 mm de côté pour *G. tachinoides* et de 2,5 mm de côté pour les autres espèces. Ces dimensions permettent aux larves pondues de passer à travers la maille. Les cages sont placées dans un appareil métallique incliné formant gouttière. Sous l'ouverture située à l'extrémité inférieure de cet appareil, se trouve un tiroir dans lequel tombent les larves, et où elles se transforment en pupes. Chaque appareil peut contenir 10 cages, soit 300 femelles.

Les mouches sont nourries, chaque jour sauf le dimanche, sur les oreilles du lapin. Nous avons suivi la technique décrite par Nash, quant au mode de fixation des cages sur les oreilles du lapin, et à la contention de celui-ci. Nous utilisons 8 lapins par jour pour nourrir la totalité de nos mouches. Depuis novembre 1968, chaque lapin est utilisé pendant une matinée, puis reste au repos pendant six jours, ce qui nécessite le maintien d'un effectif total de 48 lapins.

Nous nous sommes servis, dans les premiers temps, de lapins de race « Bélier français », caractérisés par leurs oreilles pendantes et longues d'environ 15 à 20 cm. Ces lapins, qui sont obtenus par sélection et croisements consanguins sont très peu rustiques et d'un prix d'achat élevé. Aussi leur préférons-nous actuellement des lapins adultes de race Bouscat, pesant de 5 à 7 kg, dont les oreilles mesurent une quinzaine de centimètres. Ces animaux nous donnent d'aussi bons résultats que les Béliers français.

Les cages ne sont maintenues sur l'oreille du lapin que pendant 3 à 4 minutes. Nous n'incitons pas les mouches à se nourrir, et celles qui n'ont pas pris leur repas de sang ne peuvent se nourrir que le lendemain. En ne maintenant les cages que 3 à 4 minutes sur l'oreille du lapin, la totalité de nos effectifs sont nourris en une matinée.

La récolte des pupes se fait chaque matin en retirant le tiroir de l'appareil de stockage. Les femelles mortes sont dénombrées, les mouches écloses réparties dans des cages correspondant à leur sexe et leur espèce.

Tous les renseignements obtenus sont consignés sur fiches.

D. — Résultats.

a) *G. tachinoides*.

Les effectifs des femelles, après avoir augmenté brusquement à la fin de l'année 1966, grâce aux éclosions massives des femelles issues des pupes reçues en décembre, sont restés stationnaires pendant quatre mois au cours desquels l'H.R., par suite du mauvais fonctionnement d'un humidificateur, fut inférieure à 70 %, puis ont diminué en juin 1967, après une intoxication accidentelle par insecticide, jusqu'à 260 femelles.

Après l'achat d'un nouvel humidificateur, et grâce au stockage des pupes dans une salle adjacente, ce qui a soustrait ces pupes à l'action de l'insecticide, les effectifs ont remonté après le 16 juin de façon régulière et atteignaient une moyenne de 2.326 femelles par jour pour la période du 20 décembre 1967 au 18 janvier 1968, en dépit de l'utilisation, à des fins expérimentales, de 660 femelles et 3.218 pupes entre le 20 novembre 1967 et le 18 janvier 1968. Depuis cette date, les effectifs des femelles sont maintenus entre 2.000 et 2.500 femelles par jour (graphique 1).

GRAPHIQUE 1. — Courbe des effectifs et productions de pupes par période de 30 jours, au cours de l'année 1967, des femelles de *G. tachinoides*. [Les flèches indiquent les époques où se sont produits des événements particuliers (intoxication par insecticide, prélèvements de pupes ou de femelles pour expérimentation)]

La production de pupes suit une progression parallèle à celle des effectifs, et atteint 4.427 pupes à la fin de la période comprise entre le 20 décembre 1967 et le 18 janvier 1968.

Entre le 20 décembre 1967 et le 12 janvier 1969, nous avons prélevé 31.671 pupes et 2.826 femelles qui ont été utilisées à des recherches diverses.

Le nombre de pupes par femelle vivante (jeunes femelles et femelles reproductives), en 30 jours, oscille constamment autour de 2.

Le pourcentage d'éclosion des pupes varie entre 90 et 94 %.

Si toutes les femelles écloses et toutes les pupes produites avaient été conservées, on peut estimer que les effectifs des femelles auraient atteint 10.000 femelles par jour au cours du mois d'avril 1968, et que la production mensuelle de pupes aurait approché 20.000 pupes à la même époque.

Depuis juillet 1967, la survie des femelles est très satisfaisante, avec 67,6 % en moyenne de femelles vivantes au 60^e jour suivant l'éclosion, 50 % des femelles vivantes au 90^e jour, et une longévité maximale de 210 jours.

La production de pupes, pour 100 femelles accouplées, atteint 349 pupes au 60^e jour, et 695 pupes le 210^e jour.

Le poids moyen des pupes âgées de 24 heures oscille autour de $16,2 \text{ mg} \pm 0,17$ avec un minimum de 8 mg et un maximum de 24 mg.

b) *G. morsitans morsitans*.

Le nombre moyen de femelles par jour, qui était de 455 femelles pour la période du 25 décembre 1966 au 23 janvier 1967, a été en augmentation constante, cette souche ayant été beaucoup moins affectée par l'intoxication d'insecticide que *G. tachinoides*.

Les effectifs atteignaient, pour la période du 20 novembre 1967 au 19 décembre 1967, une moyenne de 2.710 femelles par jour, malgré l'utilisation, à des fins expérimentales, de 2.000 femelles et 1.000 pupes (graphique 2).

Les effectifs sont maintenus, depuis cette date, entre 1.900 et 2.300 femelles par jour.

La production de pupes en 30 jours atteint 5.153 pupes le 19 décembre 1967.

Entre le 20 décembre 1967 et le 12 janvier 1969, l'excédent de production a été de 14.542 pupes et de 1.233 femelles.

La production de pupes par femelle vivante, par période de 30 jours, est cependant légèrement inférieure à celle de *G. tachinoides* et avoisine 1,7.

Le pourcentage d'éclosion des pupes est constamment voisin de 93 %.

Si toutes les femelles écloses et les pupes produites avaient été conservées, on peut estimer que les effectifs de femelles de cette souche auraient atteint 10.000 femelles par jour au cours du mois de mars 1968, et que la production mensuelle de pupes aurait approché 17.000 pupes à la même époque.

Une étude portant sur 888 femelles écloses entre le 1^{er} et le 23 février 1968 montre que 70,9 % des femelles accouplées sont vivantes au 60^e jour suivant l'éclosion, et que 50 % des femelles vivent plus de 80 jours.

La production de pupes, pour 100 femelles accouplées, atteint 271 pupes au 60^e jour et 378 pupes au 150^e jour.

La longévité et la production de pupes sont inférieures à celle de *G. tachinoides*.

L'humidité relative devant être élevée pour le maintien des autres espèces, il est vraisemblable que *G. morsitans* en souffre, ce qui peut expliquer les moins bons résultats que nous obtenons avec cette espèce.

Le poids moyen des pupes âgées de 24 heures oscille autour de $26,4 \text{ mg} \pm 0,39$, avec un minimum de 17 mg et un maximum de 38 mg.

GRAPHIQUE 2. — Courbe des effectifs et productions de pupes, au cours de l'année 1967 des femelles de *G. morsitans morsitans*

c) *G. austeni*.

Le nombre moyen de femelles par jour, qui était de 19 femelles entre le 25 décembre 1966 et le 23 janvier 1967, atteint 2.168 femelles par jour pour la période du 14 décembre 1968 au 12 janvier 1969, soit un an plus tard, en dépit de l'utilisation de 15.862 pupes à des fins expérimentales. La production de pupes, en 30 jours, atteint 4.034 pupes à la même époque (graphique 3).

Le nombre moyen de pupes par femelle vivante, en 30 jours, oscille, comme pour *G. tachinoides*, autour de deux.

Le pourcentage d'éclosion des pupes oscille entre 89 et 93 %.

Une étude portant sur 279 femelles écloses entre le 12 novembre 1967 et le 8 février 1968 montre que, au 60^e jour suivant l'éclosion, 77,06 % des femelles sont vivantes ; 50 % des femelles vivent plus de 130 jours. La longévité maximale atteint 270 jours. La production de pupes est de 339 pupes pour 100 femelles accouplées, au 60^e jour, et de 850 pupes, pour 100 femelles accouplées, au 250^e jour.

GRAPHIQUE 3. — Courbe des effectifs et productions de pupes, de janvier 1967 à juillet 1968, des femelles de *G. austeni*

Le poids moyen des pupes âgées de 24 heures est de $23,3 \text{ mg} \pm 0,46$ avec des variations extrêmes de 11 à 35 mg.

d) *G. fuscipes fuscipes*.

L'élevage de cette espèce a débuté en juin 1968 avec les quatre premières femelles écloses du lot de pupes reçues le 15 mai 1968. Le 10 septembre 1969, l'effectif des femelles atteignait 805 femelles. La production de pupes, en 30 jours (entre le 11 août et le 9 septembre 1969) a atteint 757 pupes pour un effectif moyen journalier de 766 femelles.

Le pourcentage d'éclosion des pupes est supérieur à 91 %.

Les 97 premières femelles, écloses entre le 27 mai 1968 et le 31 janvier 1969, ont vécu, en moyenne, 149 jours (minimum 22 jours, maximum 283 jours) et ont produit 9 pupes par femelle accouplée.

Les durées de pupaison des mâles ont été de :

- 34,4 jours pour les pupes reçues le 28 mai 1968,
- 35,6 jours pour les pupes reçues le 27 novembre 1968,
- 36,6 jours pour les pupes reçues le 9 janvier 1969,
- 34,8 jours pour les pupes pondues au laboratoire entre le 15 juin et le 6 décembre 1968.

Chez les femelles, pour les lots correspondants, ces durées ont été respectivement de :

- 32,4 jours,
- 33,2 jours,
- 33,4 jours,
- 32,8 jours.

Les poids moyens des pupes ont été les suivants :

- Lot du 18 mai 1960 : $33,00 \text{ mg} \pm 1,55$.
- Pupes pondues au laboratoire entre le 15 juin et le 9 novembre 1968 : $30,90 \text{ mg} \pm 1,02$.

E. — Intoxication par insecticide.

Le 7 juin 1967, on constate une mortalité anormale qui, chez les femelles reproductrices de *G. tachinoides*, dépasse 10 % de l'effectif. Une enquête aussitôt entreprise révèle que des plaquettes insecticides Vapona (marque déposée Shell) avaient été disposées dans des bureaux voisins de la salle d'élevage dans le but de détruire les mouches domestiques. L'insecticide a probablement été véhiculé des bureaux à la salle d'élevage par le personnel chargé du nettoyage.

Les plaquettes Vapona ont été immédiatement retirées, mais la mortalité est restée supérieure à la normale jusqu'au 16 juin.

Seules les femelles reproductrices ont été atteintes. Les jeunes femelles de moins de 10 jours et les pupes n'ont pas été en contact avec l'insecticide grâce à l'isolement de la salle adjacente où elles sont stockées.

Des différentes espèces en élevage, c'est *G. tachinoides* qui a le plus souffert de l'intoxication. Alors que la mortalité moyenne par jour atteint 4,75 % de l'effectif total des femelles, entre le 24 mai et le 22 juin, chez *G. tachinoides*, elle n'est que de 2,18 % chez *G. morsitans* et 1,05 % chez *G. austeni*.

Les femelles reproductrices de ces différentes espèces sont toutes stockées dans la même salle et nourries sur les mêmes animaux. Il faut donc en conclure, d'une part, que les quantités d'insecticide introduites dans la salle d'élevage ont été très faibles, puisqu'elles ont très peu affecté *G. morsitans* et *G. austeni*, et, d'autre part, que *G. tachinoides* est particulièrement sensible à l'action des insecticides.

Les femelles de *G. tachinoides* affectées par l'intoxication ont eu une longévité très réduite, ne dépassant pas 80 jours, avec une survie de 50 % n'atteignant pas 40 jours. La production totale des pupes n'a été que de 151 pupes pour 100 femelles accouplées.

L'insecticide n'a par contre eu qu'une très faible influence sur les taux d'éclosion des pupes produites. Chez *G. tachinoides*, le pourcentage d'éclosion, qui était avant l'accident de 88,6 %, atteint 89,51 % entre le 24 mai et le 22 juin et dépasse 94 % au cours du mois de juillet, pour osciller pendant les mois suivants entre 91 et 93 %.

Il est vraisemblable que le fait de récolter les pupes chaque matin et de les transférer aussitôt dans la salle voisine a soustrait ces pupes à l'action néfaste de l'insecticide.

F. — Conclusions.

Les résultats obtenus par Nash et ses collaborateurs avec *G. austeni* démontrent de façon évidente que l'utilisation du lapin comme animal-hôte constitue un facteur primordial dans la réussite complète d'un élevage de glossines. Ces auteurs, à la suite de différents essais comparatifs, estiment en outre que le volume nécessaire à chaque mouche doit être de l'ordre de 64 cm³, et que ces insectes doivent être nourris chaque jour, à l'exception du dimanche, pendant 15 minutes sur le lapin.

La surface de nos installations ne pouvant, dans l'immédiat, être augmentée et le personnel dont nous disposons ne pouvant être accru, nous avons dû limiter le volume accordé à chaque mouche à environ 30 cm³ et ne laisser les mouches sur le lapin que pendant 4 minutes au maximum.

Nous avons donc quelque peu sacrifié le rendement au bénéfice de la rapidité et de la simplification des méthodes.

L'objectif essentiel de Nash est d'atteindre le potentiel reproducteur maximum de l'espèce qu'il élève.

Les élevages que nous avons entrepris à Maisons-Alfort ne peuvent viser exactement au même but. Si nous cherchons à obtenir une longévité maximale et une production de pupes élevée, notre principal objectif est de réaliser, dans des conditions pouvant être facilement utilisées dans la pratique, des élevages à effectifs nombreux, fournissant un matériel abondant en vue d'effectuer diverses expérimentations. C'est ainsi que nous avons pu, au cours de l'année 1968, utiliser plus de 62.000 pupes et plus de 4.000 femelles.

Les résultats que nous avons obtenus sont cependant très encourageants. Ceux obtenus, en particulier, avec la dernière espèce élevée, *G. fuscipes fuscipes*, semblent confirmer la valeur des techniques d'élevage mises au point.

II. Cytogénétique et spermatogénèse des Glossines.

A. — Introduction.

Les études de cytogénétique des insectes vecteurs prennent une importance de plus en plus grande, car elles sont à la base de toutes les méthodes génétiques de lutte et fournissent de précieux renseignements sur la biologie fondamentale de ces insectes.

Plusieurs espèces vectrices ont fait l'objet de nombreux travaux, tels qu'étude des caryotypes, des chromosomes polyténiques, établissement de cartes de linkage, cytotauxonomie, etc. Les espèces pour lesquelles les renseignements sont les plus complets concernent essentiellement les moustiques.

Mais on ne possède que très peu de renseignements sur de nombreuses autres espèces vectrices. Les Glossines, en particulier, jusqu'à ces dernières années, n'avaient fait l'objet d'aucune étude dans ce domaine, à l'exception d'une observation non publiée du D^r Slysinski, observation citée par Vanderplank (1948), selon laquelle *Gl. morsitans morsitans* possède deux paires d'autosomes et deux chromosomes sexuels.

Nous avons entrepris, depuis 1966, une étude sur les chromosomes des Glossines que nous élevons au laboratoire de l'I.E.M.V.T.

Nos recherches ont porté sur *Glossina tachinoides* West., originaire du Tchad, *Glossina morsitans morsitans* West., originaire de Rhodésie, *Glossina austeni* Newst., dont les pupes nous ont été obligeamment fournies par le D^r Nash, de l'Université de Bristol, et *Glossina fuscipes fuscipes* Newst., originaire de R.C.A.

Hulley (1968) a d'autre part étudié à Salisbury le caryotype de *Glossina pallidipes* Austen ; enfin, Riordan (1968) a décrit les chromosomes de *Glossina palpalis palpalis* R.D. au Nigéria.

B. — Technique.

La recherche du matériel chromosomique a le plus souvent été effectuée dans le ganglion nerveux péri-œsophagien de la pupa âgée de 24 heures. Des recherches sur la spermatogénèse nous ayant permis de préciser l'âge auquel se produit la méiose chez la pupa mâle, nous pouvons maintenant mettre aisément en évidence les figures de méiose dans les testicules.

Chez la pupa mâle, les organes génitaux sont déjà bien formés deux jours après la ponte de la larve. Les spermatogonies sont visibles dès le 5^e jour. La première division méiotique se produit entre le 7^e et le 9^e jour. Les spermatides à tête ronde et à queue courte sont visibles dès le 11^e jour, et les spermatides à tête allongée sont tous formés vers le 18^e jour. Toutes les cellules sexuelles subissent en même temps les mêmes transformations. Le mâle adulte éclot avec son stock de spermatozoïdes entièrement constitué. Il n'y a plus de spermatogénèse chez l'adulte.

Jusqu'à présent, dans aucune des espèces étudiées il n'a pu être décelé de chromosomes sexuels cytologiquement distincts.

Chez l'insecte adulte, la recherche des chromosomes, en particulier dans les cellules sexuelles, a jusqu'ici été décevante. Il n'a d'autre part pas encore été possible d'obtenir de bonnes préparations des chromosomes polyténiques.

La technique préparatoire suivie s'inspire des travaux publiés par Breland. Les pupes sont disséquées sous la loupe binoculaire, dans une ou deux gouttes de sérum physiologique. L'enveloppe pupale est fendue au rasoir, dans le sens longitudinal, et le contenu interne de la pupa isolé.

Au cours des dissections suivantes, il est nécessaire de transférer plusieurs fois les tissus sur des lames propres et de renouveler fréquemment le sérum physiologique,

afin d'éliminer les globules graisseux, toujours très abondants, et qui obscurcissent la préparation. A l'aide de fines aiguilles montées, on isole le tractus digestif en totalité. A l'extrémité antérieure, au niveau de l'œsophage, se trouve la masse nerveuse, aisément repérable. Celle-ci est isolée, divisée en deux ou trois parties, et chacune d'elles transférée dans une lame à concavité, contenant de l'orcéine acétolactique, dont la composition est la suivante :

Eau distillée	33 ml
Acide lactique	33 ml
Acide acétique	33 ml
Orcéine	2 g

La concavité est recouverte avec une lamelle, afin de limiter l'évaporation du colorant, et les tissus sont laissés au contact du colorant pendant trois heures.

On procède de même pour les organes sexuels chez la pupe mâle.

Le D^r Hulley, qui a suivi la même technique, remplace toutefois l'acide acétique par de l'acide propionique et maintient les tissus dans le colorant pendant toute une nuit.

A la fin du temps de coloration, les tissus sont transférés sur une lame propre contenant une goutte d'acide acétique à 50 % et la préparation est abondamment rincée avec cet acide. Après orientation au centre de la lame, le matériel est recouvert d'une lamelle et écrasé entre deux couches de papier filtre. La lamelle est ensuite scellée avec du vernis à ongle incolore.

Les préparations ainsi obtenues peuvent être conservées un mois au réfrigérateur.

Les lames sont examinées à l'objectif à immersion, au microscope à contraste de phase. Les chromosomes apparaissent ainsi nettement et peuvent être aisément photographiés.

C. — Résultats.

a) *Glossina tachinoides*.

Chez cette espèce, qui appartient au groupe *palpalis* (sous-genre *Nemorhina*), le nombre somatique de chromosomes est de six.

Les six chromosomes présentent une morphologie pratiquement identique et sont tous métacentriques. Une des paires paraît avoir un bras légèrement plus court que l'autre ; les deux autres paires ont des bras de longueur égale.

Des mensurations effectuées sur les chromosomes en méiose (métaphase I) révèlent toutefois des différences de longueur entre les trois paires. La paire la plus longue mesure en moyenne 6,9 μ . La deuxième paire mesure 5,5 μ en moyenne. La troisième paire mesure 3,8 μ (photos 4 et 5).

b) *Glossina palpalis*.

Cette espèce, qui a été étudiée par Riordan, possède également six chromosomes somatiques, dont deux paires de grands chromosomes, mesurant 5,1 μ en moyenne, et une paire de petits chromosomes d'une longueur moyenne de 3,6 μ .

PHOTOS 4 et 5. — Chromosomes en meiose de *G. tachinoides* ($n = 3$) (testicule d'une pupe âgée de 7 jours)

c) *Glossina fuscipes fuscipes*.

Cette espèce possède, comme les deux précédentes, six chromosomes somatiques. Les mensurations effectuées sur les chromosomes en méiose (métaphase I) permettent de distinguer (photo 6) :

- une paire I, d'une longueur moyenne de 9,6 μ ,
- une paire II, d'une longueur moyenne de 8,1 μ ,
- une paire III, d'une longueur moyenne de 5,9 μ .

d) *Glossina morsitans morsitans*.

Chez cette espèce, nous avons pu mettre en évidence, dans les tissus somatiques, cinq paires de chromosomes, qui se répartissent en deux groupes : six chromosomes de taille relativement grande et quatre petits chromosomes (photo 7).

Les mensurations effectuées sur ces chromosomes semblent indiquer que, parmi les trois paires de grands chromosomes, deux paires seraient légèrement plus longues que la troisième, les deux premières paires mesurant en moyenne 6,4 μ , alors que la troisième paire mesure environ 5,2 μ . La longueur des petits chromosomes est en moyenne de 1,9 μ .

Dans les figures de méiose (métaphase I), les longueurs moyennes des différentes paires se répartissent comme suit : première paire, 12,4 μ ; deuxième paire, 11,6 μ ; troisième paire, 8,4 μ ; quatrième paire, 3,2 μ ; cinquième paire, 2,8 μ .

Tous les grands chromosomes sont métacentriques. Les quatre plus longs chromosomes sont isobrachiaux ; les deux autres chromosomes paraissent avoir un bras légèrement plus court que l'autre.

Les quatre petits chromosomes sont tous acrocentriques.

e) *Glossina austeni*.

Chez cette espèce, nous avons pu observer des figures de mitose dans le système nerveux central et des figures de méiose dans les testicules de pupes âgées de huit jours.

L'observation des images obtenues montre que l'on trouve chez cette espèce sept paires de chromosomes qui se répartissent en deux paires de grands chromosomes (longueur : 5,9 à 6,5 μ), une paire de moyens chromosomes (longueur : 5,3 μ) et quatre paires de petits chromosomes (2,7 μ de longueur en moyenne) (photos 8 et 9).

Tous les grands chromosomes sont métacentriques. Les huit petits chromosomes semblent tous être acrocentriques.

f) *Glossina pallidipes*.

Le D^r Hulley, qui a étudié cette espèce, a mis en évidence dans le système nerveux quatre paires de chromosomes : deux paires de grands chromosomes, une paire de moyens chromosomes et une paire de petits chromosomes.

Les six plus grands chromosomes sont métacentriques, bien que, dans quelques préparations, un de ces chromosomes semble être subacrocentrique.

PHOTO 6. — Chromosomes en méiose de *G. fuscipes fuscipes* ($n = 3$) (testicule d'une pupe âgée de 9 jours)

PHOTO 7. — Chromosomes en mitose de *G. morsitans morsitans* ($2n = 10$) (cellules nerveuses d'une pupe âgée de 24 heures)

PHOTOS 8 et 9. — Chromosomes en meiose de *G. austeni* ($n = 7$) (testicule d'une puppe âgée de 8 jours)

Les mensurations effectuées par le D^r Hulley indiquent que les quatre plus longs chromosomes mesurent en moyenne 7,80 μ ; les deux moyens chromosomes mesurent 5,72 μ , et les deux petits chromosomes 1,68 μ .

D. — Conclusions.

Les recherches effectuées chez les espèces de Glossines qui ont été étudiées montrent de façon très nette qu'il existe de grandes différences entre les espèces appartenant au sous-genre *Nemorhina* (groupe *palpalis*) et celles qui appartiennent au sous-genre *Glossina* (groupe *morsitans*).

Toutes les espèces appartenant au groupe *palpalis* (*Gl. tachinoides*, *G. palpalis*, *G. fuscipes fuscipes*) possèdent $2n = 6$ chromosomes.

Les trois autres espèces, *G. pallidipes*, *G. morsitans morsitans*, *G. austeni*, qui appartiennent toutes au groupe *morsitans*, possèdent trois paires de grands chromosomes et, suivant le cas, une, deux ou quatre paires de petits chromosomes.

Dans l'état actuel des recherches, une interprétation exacte du caryotype des Glossines ne peut être effectuée. Elle ne pourra avoir lieu que lorsque, non seulement toutes les espèces auront été étudiées, mais encore lorsque l'on aura examiné les populations appartenant à une même espèce, mais d'origines géographiques différentes.

III. Stérilisation des mâles de *Glossina morsitans morsitans* Newst. et de *Glossina tachinoides* West. par irradiation aux rayons gamma.

A. — Introduction.

Les premières recherches sur les possibilités de stérilisation des Glossines par irradiation gamma ont été réalisées par Potts en 1958 sur des pupes de *Glossina morsitans* importées d'Afrique orientale. Bien que, comme le souligne l'auteur, les résultats n'aient guère été probants, en raison du petit nombre d'expérimentations, Potts conclut que les tsé-tsés peuvent être stérilisés à des doses comprises entre 6.000 et 12.000 rads, et que les mouches irradiées sont compétitives avec les mouches normales, bien que la longévité soit réduite.

Ces recherches ont été reprises, à partir de l'année 1964, en Rhodésie par Dean, Dame, Ford et Phelps, sur des pupes et des adultes de *Gl. morsitans orientalis* et *Gl. pallidipes*, et ont porté à la fois sur l'utilisation des produits chimiostérilisants et sur des rayonnements gamma.

Nous avons, à la fin de l'année 1966, effectué quelques essais d'irradiation sur des lots de pupes d'âges divers mais connus, et des mâles adultes âgés de 24 heures, de *Gl. morsitans morsitans* élevés au laboratoire d'entomologie de l'I.E.M.V.T., qui ont été irradiés au moyen d'un irradiateur au Césium 137. Les résultats obtenus avec les

pupes ont confirmé ceux qui ont été publiés par les chercheurs rhodésiens. La dose d'irradiation optimale semble se situer autour de 7.000 rads et doit être appliquée à des pupes âgées de plus de douze jours.

Chez les mâles issus de pupes irradiées, la stérilité est totale à partir de 13.000 rads, mais à cette dose le taux d'éclosion est faible, même chez les pupes âgées. La longévité des mâles éclos est en outre considérablement réduite (survie de douze jours en moyenne).

Par contre, de meilleurs résultats furent obtenus, tant en ce qui concerne la longévité que la diminution de fertilité, par irradiation des mâles adultes.

Ces essais, ayant été effectués avec de très faibles effectifs, ont été repris en 1967 et 1968 et ont porté uniquement sur des mâles adultes de *Gl. morsitans* et de *Gl. tachinoides*.

B. — Matériel et techniques.

Les insectes utilisés proviennent de l'élevage permanent réalisé au laboratoire d'entomologie de l'I.E.M.V.T.

Les irradiations ont été effectuées, pour *Gl. morsitans*, au moyen d'un irradiateur au Césium 137 de 155.000 curies, au Centre d'études nucléaires de Saclay. Pour *Gl. tachinoides*, les irradiations ont été effectuées au moyen d'un irradiateur au Cobalt 60 d'une puissance de 35.056 rads/heure mis à notre disposition par le service de biophysique du Centre d'études nucléaires de Saclay.

Les insectes, placés dans des cages de type Roubaud, ont été transportés dans des boîtes isothermes jusqu'au Centre d'études nucléaires.

C. — Irradiation gamma de mâles adultes de *Gl. morsitans*.

Ces irradiations ont été réalisées avec les effectifs suivants :

A. — 62 mâles témoins transportés dans les mêmes conditions que les mâles irradiés, et âgés de quatre jours en moyenne ;

- 38 mâles irradiés à 10.100 rads, âgés de 3 jours ;
- 38 mâles irradiés à 14.600 rads, âgés de 3 jours ;
- 38 mâles irradiés à 20.000 rads, âgés de 4 jours ;
- 38 mâles irradiés à 25.000 rads, âgés de 4 jours.

B. — 40 mâles témoins, âgés de 8 à 3 jours (moyenne = 5 jours)

- 40 mâles irradiés à 19.000 rads
- 40 mâles irradiés à 20.000 rads
- 40 mâles irradiés à 21.000 rads
- 40 mâles irradiés à 22.000 rads
- 40 mâles irradiés à 23.000 rads
- 40 mâles irradiés à 24.000 rads

même âge que les
mâles témoins

Les durées d'exposition ont été comprises entre 60 mn et 30 mn pour les mâles du lot A, et de 50 à 40 mn pour les mâles du lot B, suivant la dose administrée.

1. LONGÉVITÉ DES MÂLES TÉMOINS ET DES MÂLES IRRADIÉS (graph. 10, 11, 12, 13).

Lot A :

- 50 p. 100 des mâles témoins ont vécu 65 jours,
- 50 p. 100 des mâles irradiés à 10.100 rads ont vécu 50 jours,
- 50 p. 100 des mâles irradiés à 14.600 rads ont vécu 35 jours,
- 50 p. 100 des mâles irradiés à 20.000 rads ont vécu 28 jours,
- 50 p. 100 des mâles irradiés à 25.000 rads ont vécu 24 jours.

A l'âge de 10 jours, période où l'activité sexuelle est maximale et qui doit être choisie pour les lâchers, les pourcentages de mâles vivants ont été les suivants :

Témoins	96,77 p. 100
10.100 rads	97,36 p. 100
14.600 rads	92,10 p. 100
20.000 rads	97,30 p. 100
25.000 rads	97,30 p. 100

La longévité maximale, qui dépasse 120 jours chez les mâles témoins, atteint 72 jours chez les mâles irradiés à 10.100 rads, 65 jours chez les mâles irradiés à 14.600 rads, 44 jours chez les mâles irradiés à 20.000 rads, et 39 jours chez les mâles irradiés à 25.000 rads.

Lot B :

- 50 p. 100 des mâles témoins ont vécu 64 jours,
- 50 p. 100 des mâles irradiés à 19.000 rads ont vécu 28 jours,
- 50 p. 100 des mâles irradiés à 22.000 rads ont vécu 23 jours,
- 50 p. 100 des mâles irradiés à 23.000 rads ont vécu 21 jours,
- 50 p. 100 des mâles irradiés à 24.000 rads ont vécu 22 jours.

A l'âge de 10 jours, les pourcentages de mâles vivants ont été les suivants :

Témoins	92,5 p. 100
19.000 rads	95 p. 100
22.000 rads	100 p. 100
23.000 rads	95 p. 100
24.000 rads	97,5 p. 100

La longévité maximale, qui atteint 130 jours chez les mâles témoins, est chez les mâles irradiés respectivement de 37, 33, 32 et 29 jours.

GRAPHIQUES 10, 11, 12, 13. — Courbes de longévité des mâles de *G. morsitans morsitans* irradiés à 10.100 rads, 14.600 rads, 20.000 rads et 25.000 rads

2. STÉRILITÉ DES MÂLES.

Le contrôle de la stérilité a été effectué par comparaison entre le nombre de pupes produites au bout de 60 jours par des femelles normales accouplées avec les mâles témoins et le nombre de pupes produites dans le même temps par des femelles normales accouplées avec les mâles irradiés.

Les femelles accouplées avec les mâles témoins ont produit entre 306 et 328 pupes pour 100 femelles, en 60 jours.

Les femelles accouplées avec les mâles irradiés ont produit un nombre de pupes d'autant plus faible que la dose d'irradiation reçue par les mâles a été plus élevée. A partir de 19.000 rads, aucune production de pupe n'a été enregistrée, ou le nombre de pupes produites a été très faible (graphique 20).

GRAPHIQUE 20. — Nombre de pupes produites, en 100 jours, par les femelles de *G. morsitans* accouplées avec des mâles témoins et les mâles irradiés à 10.100, 14.600, 20.000 et 25.000 rads

Les réaccouplements des mâles irradiés du lot A, à l'âge de 20 jours, avec des femelles normales, n'ont pas modifié de façon significative ces taux de production de pupes.

Les mâles du lot A irradiés à 25.000 rads et à 20.000 rads ont été réaccouplés une troisième fois à l'âge de 27 jours avec des femelles normales. Ces femelles normales ont été réaccouplées 5 jours plus tard avec des mâles normaux. Le nombre de pupes produites par femelle a été le suivant :

Femelles X ♂ 20.000 rads X ♂ normaux = 0,05,

Femelles x ♂ 25.000 rads x ♂ normaux = 0,00.

3. POUVOIR INSÉMINANT DES MÂLES.

Les proportions obtenues, après dissection des femelles et examen au microscope des spermathèques, entre le nombre de femelles ayant leurs spermathèques parfaitement pleines, le nombre de femelles ayant leurs spermathèques partiellement remplies et le nombre de femelles ayant des spermathèques vides, permettent d'apprécier le pouvoir inséminant des mâles.

Toutes les femelles accouplées avec les mâles témoins et les mâles irradiés du lot B ont été sacrifiées après le 60^e jour et disséquées. L'examen des spermathèques a permis de noter que les mâles irradiés ont un pouvoir inséminant sensiblement identique à celui des mâles témoins et que ce pouvoir inséminant est indépendant de la dose d'irradiation.

4. MÉLANGE DE MÂLES NORMAUX ET DE MÂLES IRRADIÉS.

Des lots de mâles irradiés à 20.000 rads et 21.000 rads ont été mélangés avec des mâles normaux dans les proportions suivantes :

- a) 12 mâles irradiés et 8 mâles normaux,
- b) 8 mâles irradiés et 12 mâles normaux,
- c) 4 mâles irradiés et 16 mâles normaux.

On a ainsi constitué six groupes comprenant chacun 20 mâles (trois groupes de mélange pour chacune des deux doses précédentes). Chacun de ces groupes a été mis en présence de 20 femelles normales, vierges, âgées de trois jours.

Les nombres moyens de pupes par femelle reproductrice, au bout de 60 jours, ont été les suivants :

Mâles irradiés à 20.000 rads :

groupe a = 1,63 pupes par femelle (30 pupes en 60 jours pour une moyenne de 18,38 femelles),

groupe b = 2,38 pupes par femelle (45 pupes en 60 jours pour une moyenne de 18,83 femelles),

groupe c = 3,65 pupes par femelle (64 pupes en 60 jours pour une moyenne de 17,5 femelles).

Mâles irradiés à 21.000 rads :

groupe a = 2,10 pupes par femelle (36 pupes en 60 jours pour une moyenne de 17,1 femelles),

groupe *b* = 2,82 pupes par femelle (49 pupes en 60 jours pour une moyenne de 17,36 femelles),

groupe *c* = 3,07 pupes par femelle (58 pupes en 60 jours pour une moyenne de 18,84 femelles).

Les femelles accouplées avec les mâles témoins ont produit 114 pupes pour 30,44 femelles, soit 3,74 pupes par femelle.

Ainsi, à l'exception des groupes *c* (80 % de mâles normaux), le nombre de pupes produites par femelle reproductrice a été inférieur au nombre de pupes produites par les femelles témoins.

Dans les conditions de l'expérience, les mâles irradiés ont donc été compétitifs, et ont concurrencé les mâles normaux.

5. CONTRÔLE DE LA STÉRILITÉ DES FEMELLES NORMALES ACCOUPLÉES AVEC DES MÂLES IRRADIÉS.

Les lots de mâles irradiés à 22.000 rads, 23.000 rads et 24.000 rads, accouplés une première fois avec des femelles normales, ont été réaccouplés une deuxième fois avec des femelles normales, vierges, âgées de trois jours.

Aussitôt la séparation faite, ces femelles ont été mises en présence de mâles normaux âgés de sept jours. La période de réunion des nouveaux couples a duré cinq jours.

Alors que les femelles accouplées avec les mâles témoins ont produit 3,74 pupes par femelle, les femelles accouplées avec les mâles irradiés ont produit :

1,31 pupes par femelle (♂ irradiés à 22.000 rads) (45 pupes pour 34,26 femelles)

2,05 pupes par femelle (♂ irradiés à 23.000 rads) (62 pupes pour 30,24 femelles)

1,29 pupes par femelle (♂ irradiés à 24.000 rads) (42 pupes pour 32,38 femelles)

Les productions de pupes de ces femelles ne représentent que 35 à 55 % de la production de pupes des femelles accouplées avec les mâles témoins.

D. — Irradiation gamma de mâles adultes de *Gl. tachinoides*.

Nous avons constitué 13 lots de 40 mâles et 1 lot de 38 mâles dont l'âge, au moment de l'irradiation, était compris entre 1 et 9 jours. Les proportions des mâles aux différents âges étaient pratiquement identiques dans chaque lot.

Les irradiations ont été effectuées à deux époques différentes : une première série comprenait :

un lot de 40 mâles témoins,

un lot de 40 mâles irradiés à 2.000 rads,

un lot de 40 mâles irradiés à 6.000 rads,

un lot de 40 mâles irradiés à 10.000 rads,

un lot de 40 mâles irradiés à 15.000 rads,

un lot de 40 mâles irradiés à 20.000 rads,

un lot de 40 mâles irradiés à 25.000 rads.

La deuxième série comprenait :

un lot de 40 mâles témoins,
deux lots de 40 mâles irradiés à 15.500 rads,
un lot de 40 mâles irradiés à 17.000 rads,
un lot de 38 mâles irradiés à 17.000 rads,
deux lots de 40 mâles irradiés à 18.500 rads.

1. LONGÉVITÉ DES MÂLES TÉMOINS ET DES MÂLES IRRADIÉS.

L'âge moyen des mâles témoins et des mâles irradiés, au moment de l'irradiation, est de quatre jours pour les lots de la première série et de six jours pour les lots de la deuxième série.

Les mâles témoins ont une longévité 50 % de 77 et 78 jours. La longévité maximale dépasse 93 jours (les survivants, soit 30 %, ont été sacrifiés le 93^e jour).

Chez les mâles irradiés, la longévité décroît en fonction de la dose reçue. La longévité 50 % diminue rapidement entre 2.000 et 10.000 rads, puis plus lentement entre 10.000 et 25.000 rads. La longévité maximale est également inversement proportionnelle à la dose reçue. Par contre, quelle que soit la dose administrée, la mortalité est très faible au cours des dix premiers jours qui suivent l'irradiation et n'est pas significativement différente de celle des mâles témoins (graph. 14, 15, 16, 17, 18, 19).

GRAPHIQUES 14, 15, 16, 17, 18, 19. — Courbes de longévité des mâles de *G. tachinoides* irradiés à 2.000, 6.000, 10.000, 20.000 et 25.000 rads

--- Mâles témoins
— Mâles irradiés
-.- Survie 50%

2. STÉRILITÉ DES MÂLES.

Les femelles accouplées avec les mâles témoins ont produit entre 308 et 335 pupes pour 100 femelles, en 60 jours.

Les femelles accouplées avec les mâles irradiés ont produit un nombre de pupes d'autant plus faible que la dose d'irradiation reçue par les mâles a été plus élevée. Au-delà de 15.500 rads, aucune production de puce n'a été enregistrée (graph. 21).

GRAPHIQUE 21. — Nombre de pupes produites, en 60 jours, par les femelles de *G. tachinoides* accouplées avec les mâles témoins et mâles irradiés à 2.000, 6.000, 10.000, 15.000 et 15.500 rads

On constate :

a) que le nombre moyen de pupes par femelle reproductrice diminue lorsque la dose d'irradiation administrée aux mâles augmente, et est nul au-delà de 15.500 rads ;

b) qu'il n'y a pas de différence entre le nombre de pupes produites par les femelles accouplées avec les mâles irradiés à 2.000 rads et le nombre de pupes produites par les femelles accouplées avec les mâles témoins, mais cette différence est très hautement significative dès 6.000 rads ;

c) qu'il n'y a pas de différence significative entre le nombre de pupes produites après deux accouplements successifs des mâles irradiés, y compris ceux ayant été irradiés à 6.000 rads.

3. POUVOIR INSÉMINANT DES MÂLES.

a) Les mâles irradiés ont généralement un pouvoir inséminant supérieur aux mâles témoins, même lors du deuxième accouplement, sauf peut-être aux doses les plus élevées (20.000 et 25.000 rads).

b) Aux doses inférieures à 18.500 rads, le pouvoir inséminant est indépendant de la dose d'irradiation.

4. MÉLANGE DE MÂLES NORMAUX ET DE MÂLES IRRADIÉS.

Des lots de mâles irradiés à 15.500 rads, 17.000 rads et 18.500 rads ont été mélangés avec des mâles normaux dans les proportions suivantes :

- a) 16 mâles irradiés et 4 mâles normaux ;
- b) 12 mâles irradiés et 8 mâles normaux ;
- c) 8 mâles irradiés et 12 mâles normaux ;
- d) 4 mâles irradiés et 16 mâles normaux.

On a ainsi constitué douze groupes comprenant chacun 20 mâles (quatre groupes de mélange pour chacune des trois doses précédentes). Chacun de ces groupes a été mis en présence de 20 femelles normales, vierges, âgées de trois jours.

Les nombres moyens de pupes par femelle reproductrice, au bout de 60 jours, ont été les suivants :

Mâles irradiés à 15.500 rads :

groupe a = 0,36 pupe par femelle (6 pupes en 60 jours) ;
groupe b = 0,78 pupe par femelle (15 pupes en 60 jours) ;
groupe c = 1,61 pupe par femelle (33 pupes en 60 jours) ;
groupe d = 2,60 pupes par femelle (46 pupes en 60 jours).

Mâles irradiés à 17.000 rads :

groupe a = 0,73 pupe par femelle (14 pupes en 60 jours) ;
groupe b = 0,55 pupe par femelle (10 pupes en 60 jours) ;
groupe c = 1,24 pupe par femelle (24 pupes en 60 jours) ;
groupe d = 2,17 pupes par femelle (39 pupes en 60 jours) ;

Mâles irradiés à 18.500 rads :

groupe a = 0,82 pupe par femelle (14 pupes en 60 jours) ;
groupe b = 1,00 pupe par femelle (16 pupes en 60 jours) ;
groupe c = 2,07 pupes par femelle (39 pupes en 60 jours) ;
groupe d = 2,25 pupes par femelle (27 pupes en 60 jours) ;

Il apparaît ainsi que :

a) le nombre de pupes produites par femelle augmente, d'une façon générale, lorsque la proportion de mâles normaux s'accroît ;

b) cependant, dans tous les cas, et en particulier pour les groupes *d* (80 % de mâles normaux), le nombre de pupes produites par femelle reproductrice a été inférieur au nombre de pupes produites par les femelles témoins (3,65 pupes).

Dans les conditions de l'expérience, les mâles irradiés ont donc été pleinement compétitifs et ont concurrencé de façon significative les mâles normaux.

5. CONTRÔLE DE LA STÉRILITÉ DES FEMELLES NORMALES ACCOUPLÉES AVEC DES MÂLES IRRADIÉS.

Les lots de mâles irradiés à 15.500 rads, 17.000 rads et 18.500 rads, accouplés une première fois avec des femelles normales, ont été réaccouplés une deuxième fois avec des femelles normales, vierges, âgées de trois jours.

Aussitôt la séparation faite, ces femelles ont été mises en présence de mâles normaux âgés de sept jours. La période de réunion des couples a duré cinq jours.

Les productions de pupes par femelle reproductrice, au bout de 60 jours, ont été respectivement de 0,34 pupe, 0,38 pupe et 0,46 pupe (témoins : 3,65 pupes).

E. — Conclusions.

L'irradiation gamma de mâles adultes de Glossines diminue à la fois la longévité et la fertilité des mâles irradiés, proportionnellement à la dose reçue.

Quelle que soit la dose administrée, la mortalité dans les dix premiers jours qui suivent l'irradiation reste cependant faible et n'est pas significativement différente de celle des mâles témoins.

Les productions de pupes des femelles normales accouplées avec les mâles irradiés diminuent lorsque les doses d'irradiation administrées aux mâles augmentent. Chez *Gl. morsitans*, les femelles accouplées avec des mâles irradiés à des doses supérieures à 19.000 rads ne produisent aucune pupe.

Chez *Gl. tachinoides*, les femelles accouplées avec des mâles irradiés à des doses supérieures à 15.500 rads ne produisent également aucune pupe.

Il n'y a pas de différence significative entre le nombre de pupes produites lorsque les mâles irradiés sont accouplés deux fois de suite avec des femelles vierges.

Jusqu'à 18.500 rads, le pouvoir inséminant des mâles irradiés de *Gl. tachinoides* est supérieur à celui des mâles témoins, et est indépendant de la dose d'irradiation.

Dans des mélanges en différentes proportions de mâles normaux et de mâles irradiés, ces derniers se sont montrés pleinement compétitifs.

Dans les conditions de l'expérience, il semble donc que les doses d'irradiation optimales se situent entre 19.000 et 25.000 rads chez *Gl. morsitans* et entre 15.500 et 17.000 rads chez *Gl. tachinoides*.

A ces doses, la fertilité des mâles irradiés est nulle, mais leur compétitivité et leur pouvoir inséminant sont conservés, et leur longévité reste satisfaisante.

Les résultats obtenus chez *G. morsitans* sont en accord avec ceux obtenus par Dame, Dean et Ford (1964) et par Curtis (communication personnelle). Les résultats obtenus avec *G. tachinoides* sont très proches de ceux obtenus par Curtis (1968) avec *G. austeni*. Ces deux espèces semblent donc être plus sensibles aux effets des rayons gamma que *G. morsitans*.

F. — Projet de lutte contre *G. fuscipes fuscipes* par lâchers de mâles stériles en R.C.A.

Un projet ayant pour but d'étudier, sur le terrain, les modalités d'exécution de la méthode de lutte contre les Glossines par lâchers de mâles stériles est en cours de réalisation. Ce projet, qui permettra d'évaluer tous les paramètres conditionnant la mise en œuvre ultérieure de cette méthode à plus grande échelle, sera réalisé en République centrafricaine, près de Bangui.

Le dossier, rédigé par l'Institut en étroite collaboration avec des spécialistes de l'Euratom, a été soumis au Fonds européen de Développement, qui l'a accepté et vient de signer la convention de financement.

Le déroulement des travaux prévus, qui s'étaleront sur quatre ans, consiste essentiellement en :

a) Création d'un élevage à haut rendement de *G. fuscipes fuscipes* permettant de disposer d'environ 100.000 mâles par an, dont 18.000 par mois pendant les trois premiers mois. Il faudra, pour obtenir cette production, maintenir en permanence un stock de 30.000 femelles, qui seront nourries sur oreille de lapin ou sur chèvre.

b) Etude de la densité des populations naturelles dans des galeries forestières proches de Bangui. Le projet prévoit les lâchers de mâles dans deux galeries forestières isolées, d'une vingtaine de kilomètres de longueur. Dans l'une, les mâles stériles seront lâchés sans traitement préalable de la galerie. Dans l'autre, le lâcher sera précédé d'un unique traitement insecticide destiné à diminuer la densité de la population naturelle.

c) Comparaison du comportement, sur le terrain, des mouches d'élevage et des mouches sauvages. Le marquage radioactif des insectes sera étudié à cette occasion.

d) Irradiation, par rayonnement gamma, des mâles d'élevage et lâchers dans les galeries.

e) Etude du devenir des populations naturelles après les séries de lâchers de mâles stériles et comparaison technique et économique de cette méthode avec les traitements classiques.

L'I.E.M.V.T. sera chargé de l'exécution des travaux. Des pourparlers entre la R.C.A. et l'Institut sont actuellement en cours pour l'établissement du contrat d'exécution des travaux. Les appels d'offre pour la construction des bâtiments et l'achat du matériel sont lancés. Le projet pourra vraisemblablement démarrer au cours du deuxième trimestre de l'année 1970.

Bibliographie

- BRELAND (O. P.), 1959. — Preliminary observations on the use of the squash technique for the study of the chromosomes of mosquitoes. *Texas Journ. Sci.*, 9, 183-190.
- , 1961. — Studies on the chromosomes of mosquitoes. *Ann. Ent. Soc. America*, 54 (3), 360-375.
- BUXTON (P. A.) et LEWIS (D. J.), 1934. — Climat et mouches tsé-tsé : études en laboratoire sur *Gl. submorsitans* et *tachinoides*. (Climate and Tse-tse flies : laboratory studies upon *Gl. submorsitans* and *tachinoides*). *Philos. Trans. (B.)*, 224, 175-240.
- CURTIS (C. F.), 1968. — Radiation, sterilization and effect of multiple mating of females in *Glossina austeni*. *J. Insect Physiol.*, 14, 1365-1380.
- DAME (D. A.), DEAN (G. J. W.) et FORD (J.), 1964. — Investigations of the sterile male technique with *Glossina morsitans*. Proc. 10 th. Mtg. *International Scientific Committee for Trypanosomiasis Research* (Kampala, Uganda), 93-96.
- FRADA DE AZVEDO (J.) et PINHAO (R. C.), 1967. — Perspectives offertes par l'élevage en laboratoire de *Glossina morsitans* à Lisbonne. (Prospects offered by the laboratory breeding of *Glossina morsitans* in Lisbon). *Panel on control of Livestock Insect Pests by the sterile Male Technique Joint F.A.O./I.A.E.A.*, Vienne (Autriche), 23-27 janvier.
- HULLEY (P. E.), 1968. — Mitotic chromosomes of *Glossina pallidipes* Austen. *Nature*, 217, 977-979.
- ITARD (J.), 1966. — Chromosomes de Glossines (Diptera-Muscidae). *Comptes rendus Acad. Sciences*, 263, 1395-1397.
- , 1967. — Premiers résultats d'un essai d'irradiation gamma sur des pupes et des mâles adultes de *Gl. morsitans morsitans*. Groupe d'étude sur la lutte contre les Insectes nuisibles au bétail par la technique du lâcher de mâles stériles ; Division Conjointe F.A.O./I.A.E.A., Vienne, Autriche, 23-27 janvier.
- , 1968. — Observations sur les caryotypes de quatre espèces de glossines. *I.S.C.T.R.*, 12^e réunion, Bangui (sous presse).
- et MAILLOT (L.), 1966. — Notes sur un élevage de Glossines (Diptera-Muscidae) entrepris à partir de pupes expédiées d'Afrique, à Maisons-Alfort (France). *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 19 (1), 29-44.
- , —, BRUNET (J.) et GIRET (M.), 1968. — Observations sur un élevage de *Glossina tachinoides* West, après adoption du lapin comme animal-hôte. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 21 (3), 387-403.
- JORDAN (A.-M.), NASH (T.-A.-M.) et BOYLE (J.-A.), 1967. — L'élevage de *Glossina austeni* Newst. sur les lapins à oreilles pendantes. I. Efficacité de la méthode. (The rearing of *Glossina austeni* Newst. with lop-eared rabbits as hosts. I. Efficacy of the method). *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 61 (2), 182-188.

- NASH (T.-A.-M.), JORDAN (A.-M.) et BOYLE (J.-A.), 1966. — Une méthode prometteuse pour élever *Glossina austeni* (Newst.) à petite échelle, basée sur l'utilisation du lapin à oreilles pendantes comme donneur de sang (A promising method for rearing *Glossina austeni* (Newst.) on a small scale, based on the use of rabbits' ears for feeding). *Trans. roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 60 (2), 183-188.
- PHELPS (J.-J.), 1967. — The sterile male technique in relation to tsetse control. *Rhodesian Scientific Association*, 52 (1), 29-32.
- POTTS (W.-H.), 1958. — Sterilisation of tsetse flies (*Glossina*) by gamma radiation. *Ann Trop. Med. Parasitol.*, 52, 484-499.
- RIORDAN (K.), 1968. — Chromosomes of the tsetse-fly, *Glossina palpalis*. *R.D. Parasitology*, 58, 835-838.
- VANDERPLANK (F.-L.), 1948. — Experiments in cross breeding tsetse flies (*Glossina* species). *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 42, 141.
- WHITE (M. J. D.), 1954. — *Animal cytology and Evolution*, Cambridge University Press. 1 volume.
-