

Abonnez-vous à DeepL Pro pour traduire des fichiers plus volumineux. Visitez www.DeepL.com/pro pour en savoir plus.



Article



Effets de l'irradiation γ sur le comportement d'accouplement du charançon rouge du palmier, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera : Dryophthoridae)

Massimo Cristofaro¹, Chiara Fornari^{1,2}, Flaminia Mariani^{1,} *, Alessia Cemmi³, Michèle Guedj¹, Mohamed Lahbib Ben Jamaa^{4,5}, Meriem Msaad Guerfali⁶, Elisabeth Tabone⁷, Robert Castellana⁸, Raffaele Sasso⁹ et Sergio M u s m e c i ⁹

- ¹ Agence pour la biotechnologie et le contrôle biologique (BBCA), Via Angelo Signorelli 105, 00123 Rome, Italie ; m.cristofaro55@gmail.com (M.C.) ; fornari.1763472@studenti.uniroma1.it (C.F.) ; miniguedj@gmail.com (M.G.)
- ² Département de biologie environnementale, Université de Rome "La Sapienza", 00185 Rome, Italie
- ³ ENEA, Centre de recherche Casaccia, Laboratoire FSN-FISS-SNI, Via Anguillarese 301, 00123 Rome, Italie ; alessia.cemmi@enea.it
- ⁴ Direction Générale de la Santé Végétale et du Contrôle des Intrants Agricoles (DGSVCIA),
 30 Rue Alain Savary, Tunis 1002, Tunisie ; benjamaaml@gmail.com
- ⁵ Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts (INRGREF), Université de Carthage, Rue Hédi EL Karray El Menzah IV, Tunis 1004, Tunisie
- ⁶ Laboratoire de biotechnologie et de technologies nucléaires, LR2016CNSTN01, Centre National des Sciences et Technologies Nucléaires (CNSTN), Technopole Sidi Thabet, Tunis 2020, Tunisie ; msaad_tn@yahoo.fr
- INRAE UEVT, Laboratoire Biocontrôle, 90 Chemin Raymond, 06160 Antibes, France ; elisabeth.tabone@inrae.fr
- ⁸ Progetto Phoenix, Centre de Recherche sur le Patrimoine (CRP) 13 rue Victor Hugo, 06110 Le Cannet, France ; robert.castellana@laposte.net
- ⁹ ENEA, Centre de recherche Casaccia, Laboratoire SSPT-BIOAG-SOQUAS, Via Anguillarese 301, 00123 Rome, Italie ; raffaele.sasso@enea.it (R.S.) ; sergio.musmeci@enea.it (S.M.)
- * Correspondance : flaminia.mariani@uniroma3.it

Commons Attribution (CC BY) (https:// creativecommons.org/licenses/by/ 4.0/).



Citation : Cristofaro, M. ; Fornari, C. ; Mariani, F. ; Cemmi, A. ; Guedj, M. ; Ben Jamaa, M.L. ; Msaad Guerfali, M. ; Tabone, E. ; Castellana, R. ; Sasso, R. ; et al.Effets de l'irradiation γ sur le comportement d'accouplement du charançon rouge du palmier, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) (Coleoptera : Dryophthoridae). *Insects* **2023**, *14*, 661. https:// doi.org/10.3390/insects14070661

Reçu : 29 juin 2023 Révisé : 18 juillet 2023 Accepté : 22 juillet 2023 Publié : 24 juillet 2023



Copyright : © 2023 par les auteurs. Licencié MDPI, Bâle, Suisse. Cet article est un article en libre accès distribué selon les termes et conditions de la licence Creative

Résumé simple : Le charançon rouge du palmier (CRP) Rhynchophorus ferrugineus (Olivier, 1790) est une espèce très envahissante originaire d'Asie du Sud-Est et de Mélanésie qui s'est largement répandue au Moyen-Orient et dans la région méditerranéenne. causent des Ses larves dommages importants à plusieurs espèces de palmiers de la famille des Arecaceae, dont beaucoup économiquement sont importantes pour l'agriculture et l'ornement. C'est pourquoi de nombreuses études portent des stratégies sur de gestion durables et efficaces, notamment la technique de l'insecte stérile (TIS). Dans cette étude, des essais biologiques comportementaux ont été réalisés en laboratoire afin d'évaluer si les mâles adultes stériles de RPW sont capables d'entrer en compétition sexuelle avec les mâles fertiles dans des conditions de choix et de non-choix. Les résultats ont confirmé que l'irradiation n'induit aucun effet négatif sur le comportement d'accouplement et la performance des mâles stériles de l'espèce RPW.

Résumé : Le charançon rouge du palmier (CRP) Rhynchophorus ferrugineus (Olivier 1790) est une espèce très envahissante originaire d'Asie du Sud-Est et de Mélanésie. Au cours des 30 dernières années, ce ravageur exotique s'est largement répandu au Moyen-Orient et dans le bassin méditerranéen. Ses larves endophages se nourrissent de diverses espèces de palmiers, causant d'importants dégâts qui entraînent la mort des palmiers. La lutte contre les infestations de TBI est difficile en raison de leur nature grégaire et de l'absence de symptômes précoces détectables. Les insecticides systémiques sont des moyens de lutte efficaces, mais leur utilisation dans les zones urbaines est interdite et une résistance peut se développer. La technique de l'insecte stérile (TIS) a été étudiée pour trouver des solutions alternatives ayant un impact minimal sur l'environnement. Des recherches antérieures ont montré que les IPR mâles irradiés à 80 Gy ou plus atteignent une stérilité totale. Cette étude visait à déterminer en laboratoire si les mâles stériles (irradiés à 60 et 80 Gy) pouvaient entrer en compétition sexuelle avec les mâles non irradiés. Des essais biologiques en laboratoire dans des conditions de choix et de non-choix ont permis d'évaluer la performance sexuelle en termes de nombre d'accouplements, de durée d'accouplement et de temps écoulé jusqu'au premier accouplement. Les résultats ont confirmé que l'irradiation n'affecte pas négativement la performance d'accouplement des mâles stériles, démontrant leur capacité à concurrencer avec succès les mâles non irradiés dans les deux configurations expérimentales.

Insectes 2023, 14, 661. https://doi.org/10.3390/insects14070661

https://www.mdpi.com/journal/insects

Mots clés : charançon rouge du palmier ; SIT ; essais biologiques comportementaux ; qualité de l'insecte ; à l'échelle de la région

1. Introduction

Le charançon rouge du palmier, *Rhynchophorus ferrugineus (*Olivier, 1790) (Coleoptera, Dryoph- thoridae), est un insecte envahissant qui se nourrit de diverses espèces de palmiers de la famille des Arecaceae. Originaire d'Asie du Sud-Est [1,2], il s'est rapidement répandu au Moyen-Orient et, par la suite, dans le bassin méditerranéen, en Australie, en Chine, au Japon, en Californie et, plus récemment, dans les Caraïbes [3]. Comme pour de nombreuses espèces envahissantes, dans les zones de colonisation récente, les populations de tordeuses de la pomme de terre se sont stabilisées, faute d'ennemis naturels efficaces [4]. En Italie, par exemple, cet insecte a été signalé pour la première fois en 2005 [5], après avoir été introduit par le biais du commerce illégal de palmiers, qui se sont ensuite révélés infestés de larves du coléoptère. À ce jour, il est possible de trouver ce coléoptère dans la plupart des régions d'Italie [6].

La présence de ce ravageur en Italie a causé de nombreux problèmes, notamment des pertes économiques, des dommages environnementaux et l'utilisation de pesticides chimiques pour la lutte contre les ravageurs. En outre, il constitue une menace pour les espèces méditerranéennes endémiques telles que le palmier éventail méditerranéen (*Chamaerops humilis* L.) et le palmier dattier des Canaries (*Phoenix canariensis* Chabaud). La disparition de ces palmiers est préoccupante et il existe un risque d'infestation permanente du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), économiquement important dans les pays d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient qui bordent la Méditerranée [7]. Les deux espèces de palmiers, *P. canariensis* et *P. dactylifera*, sont phylogénétiquement proches. En fait, des études ont déjà montré comment le TBI est capable de pondre, de se développer et d'induire la mort du palmier dattier [7,8].

La lutte contre le TBI n'est pas facile, car le cycle biologique de cette espèce ne permet pas de suivre à temps les dégâts causés par les larves endophages qui vivent et se nourrissent exclusivement à l'intérieur du palmier. Lorsque les premiers symptômes de l'attaque sont visibles, comme la perte de l'apex végétatif et le port en parapluie des feuilles, l'infestation peut être bien établie, ce qui la rend plus difficile à contrôler [9]. En outre, le succès reproductif du TBI permet à cette espèce de se propager rapidement : les femelles peuvent pondre plusieurs centaines d'œufs au cours d'une longue période d'oviposition [10], parvenant à produire des œufs fertiles jusqu'à un mois après la copulation [11]. Ces caractéristiques comportementales et biologiques font que les tordeuses de la pelouse sont difficiles à combattre par des méthodes conventionnelles telles que l'utilisation d'insecticides [12]. Bien que des pesticides efficaces aient été identifiés [13], il n'est cependant pas facile d'atteindre les insectes cibles à l'intérieur de la plante avec des pesticides qui, de toute façon, peuvent avoir des effets nocifs sur la santé humaine et l'environnement.

Des stratégies plus appropriées basées sur l'approche territoriale, telles que la technique de l'insecte stérile (TIS), pourraient améliorer les chances de réussite de la lutte contre les tordeuses de la pelouse, surtout si l'on considère les zones physiquement et écologiquement isolées ou sensibles [14], seules ou en combinaison avec d'autres stratégies de lutte biologique [15]. Cette technique est une forme de lutte contre les ravageurs à l'échelle d'une zone qui repose sur des lâchers massifs d'adultes stérilisés par des radiations ionisantes, au sein d'une population de la même espèce de ravageur dont la capacité à s'accoupler est aussi réduite que possible, afin d'introduire une charge génétique qui pourrait conduire à sa diminution, voire à son éradication [16-18].

Dans les années 1950, l'application réussie de la TIS a permis d'éradiquer la mouche de la vis du nouveau monde, *Cochliomyia hominivorax*, des Amériques [19]. Depuis lors, la TIS a été utilisée pour lutter contre diverses espèces d'insectes [20,21].

L'un des principaux défis de l'utilisation de la TIS comme stratégie de lutte contre les insectes est le développement d'une souche de laboratoire qui soit à la fois reproductivement compatible et compétitive avec la population cible. Les processus impliqués dans le développement de souches pour la TIS comprennent l'optimisation d'une méthode de stérilisation ou d'irradiation [16], qui pourrait modifier les génotypes et phénotypes correspondants d'une souche d'insecte [22], entraînant une réduction de la compétitivité de l'accouplement avec la population cible ou parfois même une incompatibilité.

Bien que plusieurs études en laboratoire [23-28] et sur le terrain [23,29] aient déjà mis en évidence l'applicabilité de la TIS pour lutter contre les taupes brunes, certains aspects de la sphère reproductive de cette espèce ne sont pas encore résolus.

La polyandrie, les mécanismes de sélection post-copulative des spermatozoïdes et le comportement grégaire [30] peuvent rendre l'utilisation de cette technique inadaptée pour le contrôle de l'espèce. En fait, selon Lance et McInnis [25], le succès d'un accouplement infertile entre des mâles stériles et des femelles sauvages peut être perdu si les femelles s'accouplent à nouveau avec des mâles sauvages et sélectionnent les spermatozoïdes de ces derniers pour la fertilisation.

Cependant, même chez les espèces polyandriques, l'ITS reste applicable [30]. L'application réussie de l'ITS exige que les mâles stériles puissent rivaliser et s'accoupler avec succès avec leurs homologues sauvages [25], en conservant leur propension à l'accouplement, leur capacité à localiser une partenaire, à copuler et à inséminer, malgré les dommages physiologiques généralement causés par les radiations.

Dans le cas spécifique de R. ferrugineus, des études antérieures ont démontré que l'irradiation γ a des effets importants sur la mortalité des mâles : la longévité des mâles irradiés à 60 et 80 Gy a été réduite à 2-3 semaines par rapport à plus de 120 jours dans le contrôle [12]. En outre, les mâles irradiés à 80 Gy étaient capables d'induire la stérilité totale des femelles vierges non irradiées avec lesquelles ils s'accouplaient [12]. Des études plus récentes, utilisant des charançons rouges sauvages collectés sur le terrain, ont montré que les œufs pondus par les femelles sont exclusivement ceux fertilisés par le dernier mâle rencontré, selon le mécanisme de sélection post-copulatoire appelé "lastmale sperm precedence" (priorité au sperme du dernier mâle) [31-33]. Les mêmes résultats ont été obtenus avec des charançons rouges du palmier de type s a u v a g e: les mâles irradiés (80 Gy) de R. ferrugineus collectés sur le terrain ont pu induire une stérilité totale chez des femelles sauvages non traitées et déjà accouplées, capturées à l'aide de pièges Rhyncho-Traps® déclenchés avec une phéromone d'agrégation et de l'acétate d'éthyle [31]. Cependant, dans le contexte de l'application de la TIS, la dose d'irradiation la plus appropriée doit être considérée comme un compromis entre la stérilité effective et la compétitivité des mâles [34] : en effet, plus la dose augmente, plus la stérilité augmente, mais plus les conséquences sur la qualité, la longévité et la compétitivité des mâles pour l'accouplement sont importantes [12,31,35]. Il est donc nécessaire, pour la sélection de la dose, de disposer d'informations sur l'influence de la dose sur la stérilité et les indicateurs de la qualité des insectes.

L'étude suivante vise donc à poursuivre les essais biologiques comportementaux en laboratoire afin d ' évaluer la compétitivité des mâles irradiés dans l'accouplement par rapport aux mâles fertiles, à la fois dans des conditions de choix et de non-choix.

Pour exclure les effets secondaires possibles de la sélection de génotypes mieux adaptés à la captivité, nous avons décidé de n'utiliser que des adultes RPW de type sauvage, en gardant l'*irradiation* γ comme seule variable susceptible d'interférer avec leur compétitivité en matière d'accouplement.

Considérant que *R. ferrugineus* est un insecte grégaire, et que des interactions mâle-mâle sont donc à prévoir [6,36], l'objectif de cette étude était d'évaluer dans un contexte de promiscuité (un test de choix, confinant une femelle avec deux mâles, l'un fertile et l'autre stérile), lequel des deux s'accouplera en premier et si la préférence d'accouplement restera stable pendant les 12 jours de l'expérience.

En outre, nous avons concentré nos efforts sur la détection d'éventuelles différences dans le comportement d'accouplement entre les individus RPW fertiles et irradiés, et sur la question de savoir si ces différences pouvaient induire un mécanisme de préférence par les femelles.

2. Matériels et méthodes

2.1. Insectes et irradiation des mâles

Suivant un protocole utilisé dans des études précédentes [6,31], des adultes sauvages de *R. ferrugineus* ont été collectés en Sicile, près de Palerme et sur l'île de Pantelleria, entre novembre 2020 et août 2022, à l'aide de pièges Intrachem Rhyncho Trap[®] déclenchés avec la phéromone d'agrégation Ferrugineol et de l'acétate d'éthyle et placés à 400-500 m de palmiers *Phoenix canariensis* ou *P. dactylifera en* bonne santé ou à proximité de palmiers *Phoenix* spp. déjà attaqués par le

R. ferrugineus. Comme des études comportementales antérieures dans des conditions grégaires ont clairement montré que les schémas d'accouplement chez les mâles et les

femelles de RPW sont indépendants de l'état physiologique, de l'âge et de la taille des individus, nous avons utilisé pour les tests presque tous les adultes collectés (en écartant seulement les charançons qui présentaient des signes de dommages ou de déformations) [6,36].

L'élevage en laboratoire a consisté à placer des individus adultes collectés sur le terrain dans des terrariums trans-parentaux en plexiglas mesurant $35 \times 20 \times 30$ cm et à les nourrir avec un régime composé de tranches de pommes (variété Golden Delicious) mélangées à de la fibre de noix de coco. Les mâles et les femelles ont été

dans des conteneurs séparés. Un maximum de 15 individus a été placé dans chaque conteneur afin de s'assurer qu'ils ne subissent pas de stress dû à la surpopulation.

Les tranches de pommes ont été remplacées trois fois par semaine pour éviter la formation de moisissures et permettre aux charançons d'avoir toujours une source de nourriture fraîche.

L'irradiation a été effectuée dans l'installation "Calliope" de l'ENEA en exposant des mâles adultes sauvages à une source de rayons Cobalt-60 γ [37] à un taux de 12,5 Gy min⁻¹. Pour cette étude, des doses d'irradiation de 60 Gy et 80 Gy ont été sélectionnées comme étant les plus optimales d'après un examen préalable du rapport longévité-stérilité [12].

2.2. Conception expérimentale

Deux types d'essais biologiques comportementaux ont été réalisés, qui consistaient à confiner des individus adultes dans des bocaux en verre transparent de 500 ml, d'un diamètre de 12 cm et d'une hauteur de 5 cm, recouverts d'une maille de polyester blanc de 680 µm et dont le fond était recouvert de sable :

- 1. Sans choix : femelle sauvage + mâle irradié (60 ou 80 Gy). Un contrôle a été mis en place avec une femelle sauvage et un mâle sauvage.
- Choix : femelle sauvage + mâle irradié (60 ou 80 Gy) + mâle sauvage. Un contrôle a été mis en place avec une femelle sauvage et deux mâles sauvages.

Pour chaque combinaison, 15 répétitions ont été effectuées. Dans les essais de choix impliquant la coprésence de deux mâles, des marquages avec 2 couleurs différentes de peinture naturelle non toxique à base d'eau (marque Benecos) ont été effectués pour distinguer le mâle irradié du mâle fertile. Dans l'ensemble de contrôle de l'essai de choix, les deux mâles fertiles ont également été marqués avec deux couleurs différentes. Pour éviter les effets secondaires dus à une éventuelle interférence de l'une des deux couleurs de marquage, les couleurs de marquage ont été interverties dans 50 % des répétitions. Afin d'enregistrer les paramètres de reproduction et leurs éventuels changements en fonction du temps écoulé depuis l'irradiation, des observations du comportement des adultes ont été effectuées à intervalles réguliers (3, 6, 9 et 12 jours) après l'irradiation des mâles, afin de comparer les éventuelles différences en termes de compétitivité entre les mâles fertiles et les mâles irradiés au fil du temps. L'intervalle de 12 jours a été choisi à la suite d'un examen préalable des effets de l'irradiation gamma sur la physiologie du charançon rouge du palmier, qui a montré que la longévité des charançons irradiés à 60 et 80 Gy était réduite à 2 ou 3 semaines seulement [12].

Au début de l'expérience, tous les mâles ont d'abord été ajoutés à chacun des récipients de test, puis toutes les femelles, afin de garantir que la formation des paires soit aussi rapide et simultanée que possible pour toutes les répétitions. Des observations visuelles ont été effectuées toutes les minutes pendant une durée de 4 heures, toujours au même moment de la journée, de 11h00 à 15h00, considérées comme les heures de plus grande activité sexuelle chez *R. ferrugineus* [36].

Comme les interactions prénuptiales ne conduisent pas nécessairement à un accouplement réussi, l'insémination a été évaluée par l'observation visuelle de l'aedeagus dans l'ouverture génitale de la femelle pendant une durée supérieure à 30 s [36].

Les données comportementales suivantes ont été enregistrées :

- L'intervalle entre T₀ (moment où les individus ont été placés dans les conteneurs) et le premier accouplement, afin de comparer la compétition pour l'accouplement entre les mâles fertiles et stériles ;
- Durée de chaque accouplement ;
- Le nombre total d'accouplements qui ont eu lieu en 4 heures.

À la fin de chaque observation, les femelles ont été isolées dans des bocaux en verre (6 cm de diamètre) étiquetés de manière à pouvoir les retracer jusqu'au bocal d'accouplement d'où elles ont été prélevées. Un quart de quartier de pomme par femelle a été fourni comme source de nourriture. Les femelles ont été conservées dans ces bocaux jusqu'à l'observation suivante, au cours de laquelle elles ont été replacées dans le récipient d'où elles avaient été prélevées.

2.3. Analyse des données

2.3.1. Test à choix multiples

Une analyse glmer (modèle mixte généralisé avec effets aléatoires ; package lme4, [38] dans l'environnement statistique R [39]) a été réalisée sur la variable réponse fréquence d'accouplement qui a été enregistrée comme une occurrence d'événement ayant une distribution binomiale 0, 1.

La durée de l'accouplement, le nombre d'accouplements par jour et le temps écoulé jusqu'au premier accouplement ont également été considérés comme des variables de réponse, étant donné l'importance de ces paramètres comportementaux pour l'évaluation de l'aptitude à la reproduction dans la phase préparatoire des études SIT. Les variables de réponse que sont la durée de l'accouplement et le temps écoulé avant le premier accouplement ont été exprimées en nombre de minutes, tandis que le nombre d'accouplements par jour a été exprimé en nombre. La conception du modèle a été choisie sur la base du principe de parcimonie optimale (estimateurs AIC et BIC) et de la signification des effets globaux. Trois effets fixes (les variables explicatives) ont été considérés comme des facteurs : la dose appliquée au mâle irradié (0, 60 et 80 Gy), la phase expérimentale en heures (de 1 à 4), et le jour de l'expérience (à 3, 6, 9 et 12 jours de l'irradiation du mâle), afin d'analyser toute variation dans l'état comportemental et physiologique des insectes au cours de l'expérience. Le couple utilisé dans l'expérience a été considéré comme l'effet aléatoire, et le facteur "heures" a été considéré comme imbriqué dans l'effet aléatoire.

2.3.2. Test de choix

Dans ce cas également, un modèle glmer a été appliqué en utilisant les mêmes variables explicatives comme effets fixes (dose, jour et heure) sur les mêmes variables de réponse que dans le cas du test de non-choix. L'effet des mâles 1 et 2 a été considéré comme imbriqué dans le traitement de la dose. Dans le cas de la dose zéro, les mâles n'ont pas été irradiés et ont été utilisés comme contrôle séparé. L'unité expérimentale comprenant les trois individus à tester a été considérée comme un effet aléatoire. Deux différences principales ont été faites par rapport au test de non-choix : (1) Pour la variable réponse fréquence d'accouplement, les effets des jours et des heures ont été analysés séparément afin de simplifier l'analyse et d'éviter les problèmes de convergence dans le modèle. La fréquence d'accouplement a été exprimée ici en nombre de minutes par unité de temps (jours ou heures) et une distribution binomiale négative a été appliquée. (2) Dans le cas de la variable réponse "premier accouplement", deux modèles ont été envisagés : Dans le premier modèle, une distribution binomiale a été appliquée dans le cadre du modèle glmer. Ainsi, la variable réponse consistait à savoir si le premier accouplement avait eu lieu avec un mâle irradié ou non. Dans ce modèle, on a également considéré le cas où l'un des deux mâles ne s'est pas accouplé du tout pendant les 4 heures de l'expérience. Le second modèle a été réalisé afin d'analyser le cas où les mâles irradiés et sains étaient suffisamment compétitifs pour s'accoupler au moins une fois. Ainsi, dans le second modèle, seuls les cas où les deux mâles s'accouplaient au moins une fois ont été analysés. Le nombre de minutes écoulées avant le premier accouplement a été utilisé comme variable de réponse et une distribution binomiale négative a été appliqué au modèle glmer.

Le test de Tukey pour la séparation des moyennes a été réalisé dans l'environnement statistique R par le package multcomp [40]. Dans le texte, les moyennes sont toujours suivies des erreurs standard.

3. Résultats

3.1. Test à choix multiples

3.1.1. Période d'accouplement

Les valeurs moyennes de la proportion d'accouplement (exprimée par l'occurrence 0, 1) en fonction de la dose de Gy appliquée et des jours d'expérience sont indiquées dans la figure 1 et dans le tableau A1. Comme le montre le tableau 1, l'accouplement n'a pas eu lieu la plupart du temps.

Un effet significatif de la dose d'irradiation a été observé dans les estimations ANOVA réalisées sur les effets globaux du modèle glmer ($\chi^2 = 8,15$, df = 2, *p-value* = 0,0170). Des effets encore plus marqués ont été observés pour le jour de l'expérience (χ^2 = 15,20, df = 3, *p-value* = 0,0016) et pour les heures écoulées depuis le début de l'expérience quotidienne (df = 3, $\chi^2 = 53,64$, *p-value* = 1,3⁻¹¹). En ce qui concerne les effets d'interaction, aucune interaction significative entre les heures et la dose n'a été trouvée, alors que l'interaction dose*jour a atteint une signification statistique ($\chi^2 = 14,32$, df = 6, *p-value* = 0,0263) et pour cette raison, cette dernière a été introduite dans le modèle glmer.



Figure 1. Évolution de la proportion d'accouplements au cours des 4 heures d'expérience enregistrées aux 3e, 6e, 9e et 12e jours ; les doses de 60 et 80 Gy sont comparées au témoin non traité. Les phases expérimentales sont subdivisées en périodes de 1 h pour mettre en évidence les changements éventuels de la fréquence d'accouplement au cours de l'expérience. Les moyennes et les \pm erreurs standard sont indiquées.

Temps		0	0 Gy 60 Gy		Gy	80 Gy		Total	
ment	L'accouple								
Jours	Oui/Non	Min	%	Min	%	Min	%	Min	%
	non	2314	(96.0)	2261	(93.8)	2330	(96.7)	6905	(95.5)
3ème	oui	96	(4.0)	149	(6.2)	80	(3.3)	325	(4.5)
	non	2257	(93.7)	2244	(93.1)	2306	(95.7)	6807	(94.1)
6ème	oui	153	(6.3)	166	(6.9)	104	(4.3)	423	(5.9)
	non	2268	(93.7)	2216	(91.9)	2277	(94.5)	6761	(93.8)
9ème	oui	142	(5.9)	194	(8.1)	133	(5.5)	469	(6.2)
	non	2281	(94.6)	2218	(90.5)	2278	(94.5)	6739	(93.5)
12ème	oui	129	(5.4)	230	9.5	132	(5.5)	491	(6.5)
	non	9120	(94.6)	8.939	92.4	9191	(95.3)	27,212	(94.1)
Total	oui	520	(5.4)	739	7.6	449	(4.7)	1708	(5.9)

Tableau 1. Nombre total de minutes consacrées à l'accouplement ou à l'inactivité en fonction de la dose d'irradiation appliquée (0, 60 et 80 Gy). Les pourcentages de temps sont également indiqués.

Comme le montre le tableau 2, à la dose de 60 Gy, les insectes se sont accouplés pendant un plus grand nombre de minutes, mais ces valeurs étaient à la limite de la signification par rapport au témoin non traité. Cependant, une fréquence d'accouplement significativement plus élevée a été enregistrée à 60 Gy, par rapport à la dose de 80 Gy (coef = -0,763 z-value = -2,787 p-value = 0,0146).

Une tendance inverse a été observée pour les facteurs jours et heures (tableaux 2 et A1) : davantage d'accouplements ont eu lieu dans les jours suivant le troisième jour de l'expérience, tandis qu'une tendance générale à la diminution des accouplements a été observée au fil des heures (tableau A1 et figure 2a).

Tableau 2. Modèle de Glmer (famille = binomiale) avec la fréquence d'accouplement comme variable réponse. La variable réponse a été analysée comme l'occurrence d'un événement selon une distribution binomiale (0, 1): Les doses appliquées (0, 60, 80 Gy) sont comparées à la dose 0 (le niveau de référence) ; les tendances expérimentales (heures) de l'expérience sont traitées comme un facteur (quatre niveaux avec la première heure comme niveau de référence). L'effet des jours est également pris en compte dans l'analyse (quatre niveaux avec le troisième jour comme niveau de référence). En cas d'interaction, le niveau de référence était le 3e jour × la dose 0 Gy. Les *valeurs p* significatives sont mises en évidence en gras.

Effets fixes :	Estimation	±SE	z Valeur	<i>Valeur</i> p
(Intercept)	-2.8855	0.1990	-14.502	$<2 \times 10-16$
Dose 60 Gy	0.4658	0.2583	1.803	0.0714
Dose 80 Gy	-0.2703	0.2704	-1.000	0.3174
6ème jour	0.4994	0.1336	3.739	0.0002
9ème jour	0.4187	0.1354	3.093	0.0019
12ème jour	0.3144	0.1380	2.279	0.0227
heure2	-0.3635	0.1148	-3.166	0.0015
heure3	-0.6167	0.1181	-5.220	1.8×10^{-7}
heure4	-0.8324	0.1212	-6.871	6.4×10^{-12}
Dose 60 Gy : 6ème jour	-0.3810	0.1777	-2.144	0.0320
Dose 80 Gy : 6e jour	-0.2217	0.2019	-1.098	0.2722
Dose 60 Gy : 9ème jour	0.1282	0.1766	-0.726	0.4681
Dose 80 Gy : 9ème jour	0.1226	0.1980	0.619	0.5359
Dose 60 Gy : 12e jour	0.1682	0.1765	0.953	0.3403
Dose 80 Gy : 12e jour	0.2190	0.1999	1.095	0.2734



Figure 2. Test de non-choix. Évolution de la fréquence des accouplements : effets de la phase expérimentale (heures)

(a) et du jour (b) sont considérés séparément pour les doses de 0, 60 et 80 Gy. Les moyennes et les erreurs standard sont indiquées.

De manière surprenante, l'augmentation des accouplements au fil des jours était encore plus évidente pour les couples avec les mâles irradiés par rapport au contrôle non traité, en particulier dans le cas de la dose de 60 Gy (Tableau 1, Figure 2b). Pour le contrôle non traité, une augmentation plus importante de la fréquence des accouplements entre le 3e et le 6e jour de l'expérience a été constatée par rapport à la dose de 60 Gy (figure 2b ; effet d'interaction : coef = -0,381 z-value = -2,14, p-value = 0,0320), mais les jours suivants, les accouplements ont été significativement plus fréquents à 60 Gy par rapport au contrôle non traité, en particulier au 12e jour de l'expérience, comme l'a vérifié le test de Tukey. En fait, le contrôle non traité a atteint un maximum au cours du 6ème jour de l'expérience. jour de l'expérience et ont ensuite légèrement diminué les jours suivants (Figure 2b ; Tableau A1), tandis que les irradiés ont augmenté les fréquences d'accouplement jusqu'au 9ème jour (80 Gy) ou j u s q u ' au 12ème jour (60 Gy). Il convient de noter qu'au 12e jour de l'expérience, la dose de 80 Gy a atteint des valeurs de fréquence d'accouplement très similaires à celles du contrôle non traité (figure 2b ; tableaux 1 et A1).

3.1.2. Durée de l'accouplement

Les valeurs moyennes de la durée des accouplements en fonction de l'effet de la dose de Gy et des jours d'expérience sont indiquées dans le tableau A1, tandis que les accouplements divisés en catégories de durée sont indiqués dans le tableau A2. Seul un effet à peine significatif de la dose a été observé dans le modèle ANOVA ($\chi^2 = 4,87$, df = 2, *p-value* = 0,087), tandis qu'aucun effet significatif du jour ($\chi^2 = 4,22$, df = 3, *p-value* = 0,238) n'a été trouvé. Cependant, comme le montre le tableau 3, des accouplements plus longs ont été enregistrés à la dose de 60 Gy par rapport au contrôle non traité (coef = 1,988, z-value = 0,114, *p-value* = 0,0468), tandis que seule une signification limite a été observée à la dose de 80 Gy (coef = 0,121, z-value = 1,862, p-value = 0,0626).

Tableau 3. Modèle de Glmer (famille = binomiale négative) avec la durée de l'accouplement en minutes comme variable réponse. Les doses appliquées (0, 60, 80 Gy) sont comparées à la dose 0 (niveau de référence) ; l'effet des jours (quatre niveaux) est également pris en compte dans l'analyse (le troisième jour étant le niveau de référence). Les *valeurs p* significatives sont mises en évidence en gras.

Effets fixes	Estimation	±SE	z Valeur	<i>Valeur</i> p
(Intercept)	0.999	0.067	14.807	$<2 \times 10^{-16}$
Dose 60 Gy	0.114	0.057	1.988	0.0468
Dose 80 Gy	0.121	0.065	1.862	0.0626
6ème jour	0.141	0.074	1.903	0.0570
9ème jour	0.058	0.073	0.805	0.4210
12ème jour	0.034	0.071	0.483	0.6291

En tout état de cause, les différences étaient minimes (tableau A1 ; figure 3a). En particulier, les accouplements de plus de 2 minutes ont pris 29,3 % du temps d'accouplement à 60 Gy et 27,9 % à 80 Gy par rapport aux 20,1 % enregistrés à la dose zéro.



Figure 3. Durée de l'accouplement (**a**) et nombre d'accouplements par jour (**b**) au fil des jours de l'expérience en fonction des doses appliquées de 0, 60 et 80 Gy. Les moyennes et les erreurs standard sont indiquées.

3.1.3. Nombre d'accouplements par jour

Les valeurs moyennes du nombre d'accouplements par jour en fonction de la dose Gy et des jours écoulés sont reportées dans le tableau A1. Un effet significatif de la dose Gy a été trouvé pour ce paramètre de reproduction, selon les estimations du modèle ANOVA (χ^2 = 7,35, df = 2, p-value = 0,0254). Un effet significatif a également été trouvé pour le jour (χ^2 = 12,45, df = 3, *p-value* = 0,0060), avec une augmentation générale de la fréquence d'accouplement au fil des jours (figure 3b), mais en regardant les estimations du modèle glmer (tableau 4), les effets de dose n'étaient pas significativement différents du contrôle non traité. Cependant, la dose de 60 Gy a eu un nombre d'accouplements significativement plus élevé que la dose Gy 80, comme vérifié par le test de Tukey pour la séparation des moyennes.

Tableau 4. Modèle de Glmer (famille = binomiale négative) avec le nombre d'événements par jour comme variable de réponse. Les doses appliquées (0, 60, 80 Gy) sont comparées à la dose 0 (niveau de référence) ; l'effet des jours (quatre niveaux) est également pris en compte dans l'analyse (le troisième jour étant le niveau de référence). Les *valeurs p* significatives sont mises en évidence en gras.

Effets fixes	Estimation	±SE	z Valeur	<i>Valeur</i> p
(Intercept)	1.210	0.169	7.166	7.72×10^{-13}
dose60	0.269	0.204	1.316	0.188298
dose80	-0.300	0.213	-1.409	0.158757
6ème jour	0.136	0.130	1.046	0.295532
9ème jour	0.276	0.126	2.198	0.027981
12ème jour	0.405	0.122	3.315	0.000916

3.1.4. Temps écoulé avant le premier accouplement

En ce qui concerne les résultats sur le temps écoulé avant le premier accouplement (Figure 4, Tableau A1 pour les moyennes et Tableau A3 pour les catégories de temps écoulé), un effet significatif de la dose a été trouvé ($\chi^2 = 12.31$, df = 2, p = 0,0021), alors que seule une signification limite a été observée sur l'effet du jour ($\chi^2 = 7,33$, df = 3, p = 0,0621) et sur l'interaction entre le jour et la dose ($\chi^2 = 12,53$, df = 6, p = 0,0511).



Figure 4. Temps écoulé avant le premier accouplement par couple observé sur les doses d'irradiation de 0, 60 et 80 Gy. En (a), les moyennes totales des doses d'irradiation sont indiquées. En (b), les données sont regroupées en fonction des jours d'expérience. Les moyennes et les \pm erreurs standard sont indiquées.

Un temps écoulé significativement plus court a été observé à la dose de 60 Gy par rapport à la dose de 80 Gy lorsque cette dernière a été utilisée comme niveau de référence (coef = -1,8689, valeur z = 3,504, p = 0,0005), mais aucune différence n'a été trouvée pour les deux doses testées par rapport à la dose zéro (tableau 5).

Tableau 5. Modèle de Glmer (famille = binomiale négative) avec le temps écoulé en minutes avant le premier accouplement comme variable réponse. Les doses appliquées (0, 60, 80 Gy) sont comparées à la dose 0 (niveau de référence) ; l'effet du jour (quatre niveaux) est également pris en compte dans l'analyse. Les *valeurs p* significatives sont mises en évidence en gras.

Effets fixes	Estimation	±SE	z Valeur	<i>Valeur</i> p
(Intercept)	3.517	0.389	9.038	$<2 \times 10^{-16}$
Dose 60 Gy	-0.966	0.535	-1.806	0.0709
Dose 80 Gy	0.903	0.548	1.646	0.0997
6ème jour	0.121	0.460	0.262	0.7930
9ème jour	-0.556	0.476	-1.167	0.2431
12ème jour	-0.881	0.458	-1.923	0.0545
Dose 60 Gy : 6ème jour	0.836	0.660	1.266	0.2055
Dose 80 Gy : 6e jour	-0.554	0.668	-0.829	0.4072
Dose 60 Gy : 9ème jour	1.290	0.658	1.961	0.0499
Dose 80 Gy : 9ème jour	-0.330	0.667	-0.495	0.6207
Dose 60 Gy : 12e jour	1.323	0.622	2.126	0.0335
Dose 80 Gy : 12e jour	-0.698	0.655	-1.067	0.2862

Une réduction du temps écoulé a été observée à la dose de 80 Gy au cours du temps, et une différence statistiquement significative a été trouvée entre le 3ème jour et le 12ème jour à cette dose d'irradiation (Figure 4b, Tableau A1). De plus, au troisième jour de l'expérience, le temps écoulé avant l'accouplement était significativement plus élevé à 80 Gy qu'à 60 Gy (figure 4b), comme l'a vérifié le test de Tukey. Il convient de noter qu'au 12e jour de l'expérience à 80 Gy, le temps écoulé avant l'accouplement était très similaire à celui enregistré sur le témoin non traité (figure 4b), ce qui suggère une meilleure performance des mâles irradiés à 80 Gy au cours des derniers jours de l'expérience par rapport aux premières phases de l'expérience.

3.2. Test de choix

3.2.1. Durée totale de l'accouplement

Les insectes ont été sexuellement inactifs la plupart du temps pendant les expériences, comme cela a déjà été observé dans les expériences d'accouplement sans choix (tableau 6), l'accouplement n'ayant eu lieu que pendant 7,5 % de la durée de l'expérience.

Tableau 6. Nombre de minutes consacrées à l'accouplement pendant toute la durée de l'expérience, avec les trois alternatives possibles : pas d'accouplement, accouplement avec le mâle non traité (fertile) et accouplement avec le mâle irradié. Dans le contrôle, les deux mâles ne sont pas traités mais sont tout de même marqués pour distinguer leurs comportements, comme dans l'expérience avec les mâles irradiés. Les moyennes totales sont calculées uniquement pour les expériences à 60 et 80 Gy.

I raitement	0 60 écoulée (Cv)		80	i otai wioyenne	
Pas d'accouplement	902.3	888.2	873.6	877.9	
"fertile"	28.5	24.5	29.8	27.2	
"irradié"	29.2	47.3	56.6	51.9	
Total	960.0	960.0	960.0	960.0	

La durée totale de l'accouplement sur toute la durée de l'expérience était plus longue chez les mâles irradiés que chez les mâles fertiles, aussi bien à 60 Gy qu'à 80 Gy, avec 47,3 vs. 24,5 min d'accouplement par couple à 60 Gy et 56,6 vs. 29,8 à 80 Gy. Comme prévu, des fréquences d'accouplement similaires ont été observées sur les deux mâles fertiles non traités (28,5 vs. 29,2 min). Ces résultats ont été analysés par un modèle mixte généralisé avec effets aléatoires. Un effet statistiquement significatif du traitement dans les doses testées a été observé, selon le modèle ANOVA réalisé sur les effets globaux du modèle glmer ($\chi^2 = 14,62$, df = 3, p-value = 0,00217). En outre, un effet significatif du jour a été enregistré ($\chi^2 = 20,57$, df = 3, p-value = 0,00013).

En examinant les estimations du modèle glmer calculées pour les effets du jour et de la dose Gy (tableau 7), un nombre significativement plus élevé de minutes consacrées à la copulation a été observé aux sixième et neuvième jours de l'expérience par rapport au troisième jour, quelles que soient les doses testées (coef. = 0,701, z-value = 3,58, p-value = 0,0003 au sixième jour et coef = 0,577, z-value = 2,92, p-value = 0,0035 au neuvième jour) (tableau A4).

Tableau 7. Modèle de Glmer (famille = binomiale négative) : la variable réponse a été analysée comme le nombre de minutes passées en copulation par jour : Le traitement appliqué est imbriqué dans les doses appliquées (0, 60, 80 Gy) et les estimations du modèle se réfèrent à l'hypothèse zéro d'absence de différence entre les irradiés et les fertiles. L'effet des jours (quatre niveaux) est pris en compte dans l'analyse (le troisième jour étant le niveau de référence). Les mâles à la dose zéro ont été utilisés comme contrôle supplémentaire. Les *valeurs* p significatives sont mises en évidence en gras.

Effets fixes	Estimation	±SE	z Valeur	<i>Valeur</i> p
(Intercept)	1.2842	0.2032	6.319	2.64×10^{-10}
6ème jour	0.7007	0.1956	3.583	0.00034
9ème jour	0.5744	0.1966	2.922	0.00348
12ème jour	0.0329	0.1993	0.165	0.86885
treatm : dose 0 Gy	0.1895	0.2706	0.700	0.48380
traitement : dose de 60 Gy	0.7599	0.2697	2.818	0.00484
traitement : dose de 80 Gy	0.8177	0.2678	3.054	0.00226

Les mâles irradiés se sont accouplés plus longtemps que les mâles non traités (coef = 0,760, z-value = 2,818, *p*-value = 0,00484 à 60 Gy ; coef = 0,8177, z-value = 3,054, *p*-value = 0,00226 à 80 Gy) (tableaux 8 et A4). En revanche, aucun effet significatif n'a été observé sur le contrôle (coef = 0,189, valeur z = 0,700, valeur p = 0,484). Les mâles irradiés ont atteint un pic d'activité sexuelle au 6e jour de l'expérience (tableaux 8 et A4, figure 5).



Figure 5. Temps passé en copulation pendant les 12 jours de l'expérience. Les doses appliquées de 60 et 80 Gy sont comparées au contrôle non traité. Les deux mâles à la dose zéro ne sont pas traités. Les moyennes et les \pm erreurs standard sont indiquées.

Tableau 8. Moyennes et erreurs standard du temps passé en copulation en fonction de la dose d'irradiation appliquée, du jour et de l'heure à partir du début de l'expérience. Dans le cas des heures, la fréquence d'accouplement est additionnée sur les quatre jours de l'expérience. Le mâle portant l'indice "2" est le mâle irradié, sauf dans le cas de la dose zéro où les deux mâles ne sont pas traités.

Dose	Jours	Homm		Homm		Heures	Homm		Homm	
		e ₍₁₎ (Mins)	±SE	e ₍₂₎ (Mins)	±SE		e ₍₁₎ (Mins)	±SE	e ₍₂₎ (Mins)	±SE
	3	6.60	2.47	2.90	1.13	1	7.80	2.14	10.90	2.05
	6	10.60	2.87	13.60	3.56	2	9.40	2.95	7.50	1.81
0	9	8.30	2.09	6.60	1.92	3	5.50	1.55	6.30	1.37
	12	3.00	1.27	6.10	2.36	4	5.80	2.02	4.50	1.20
-	moyen	7.13	1.17	7.30	1.32	moyen	7.13	1.10	7.30	0.87
	3	2.80	1.19	10.80	3.82	1	9.60	3.63	16.30	4.58
60	6	7.80	3.06	14.00	3.43	2	5.90	1.87	13.70	2.50
	9	8.80	1.90	10.20	2.76	3	5.30	1.22	8.50	1.93
	12	5.10	1.52	12.30	2.41	4	3.70	1.11	8.80	2.27
-	moyen	6.13	1.05	11.83	1.53	moyen	6.13	1.11	11.83	1.54
	3	7.20	3.78	11.90	2.98	1	11.40	2.85	23.80	5.68
	6	8.10	2.01	18.10	5.26	2	5.40	2.24	12.30	2.83
80	9	10.60	2.15	15.20	2.81	3	8.70	2.63	11.20	2.79
	12	3.90	2.47	11.40	2.90	4	4.30	1.30	9.30	1.90
	moyen	7.45	1.35	14.15	1.80	moyen	7.45	1.21	14.15	1.95
	3	5.53	1.55	11.35	2.36	1	9.60	1.66	20.05	3.65
	6	8.83	1.52	16.05	3.09	2	6.90	1.38	13.00	1.84
Moyens totaux *	9	9.23	1.16	12.70	2.00	3	6.50	1.10	9.85	1.68
-	12	4.00	1.03	11.85	1.84	4	4.60	0.87	9.05	1.44
-	moyen	6.90	0.69	12.99	1.18	Total	6.90	0.66	12.99	1.18

* Dans le cas du mâle 2, les moyennes totales sont calculées uniquement pour l'accouplement avec les individus irradiés.

En ce qui concerne l'effet des heures écoulées, un effet important a été observé, selon l e modèle ANOVA ($\chi^2 = 35,85$, df = 3, *p-value* = $8,05 \times 10^{-8}$). Si l'on examine les estimations du modèle (tableau 9), le temps consacré à l'accouplement a diminué au fil du temps, quelle que soit la dose appliquée (tableau 8 et figure 6).

Tableau 9. Modèle de Glmer (famille = binomiale négative) : la variable réponse a été analysée comme le nombre de minutes d'accouplement par heure : Le traitement appliqué est imbriqué dans les doses expérimentales (0, 60 et 80 Gy) et les estimations du modèle se réfèrent à l'hypothèse zéro d'absence de différence dans les fréquences d'accouplement entre les irradiés et les fertiles ; les mâles à la dose zéro n'ont pas été irradiés et ont été utilisés comme contrôle supplémentaire. La tendance expérimentale (heures) de l'expérience est traitée comme un facteur (quatre niveaux, la première heure étant le niveau de référence). Les *valeurs p* significatives sont mises en évidence en gras.

Effets fixes :	Estimation	±SE	z Valeur	<i>Valeur</i> p
(Intercept)	2.003	0.166	12.075	<2 × ¹⁰⁻¹⁶
h2	-0.386	0.126	-3.104	0.001910
h3	-0.487	0.127	-3.834	0.000126
h4	-0.756	0.129	-5.846	5.05×10^{-9}
treatm : dose 0 Gy	0.202	0.268	0.752	0.451903
traitement : dose de 60 Gy	0.712	0.267	2.667	0.007645
traitement : dose de 80 Gy	0.753	0.266	2.832	0.004619



Figure 6. Temps passé en copulation pendant les 4 h de l'expérience ; les moyennes sont calculées sur les 4 jours de l'expérience. Les doses appliquées de 60 et 80 Gy sont comparées au mâle non traité. Les deux mâles à la dose zéro n'ont pas été traités. Les moyennes et les ± erreurs standard sont indiquées.

Le traitement par irradiation a eu un effet positif sur la compétitivité des mâles en termes de temps passé en copulation par rapport aux mâles fertiles, indépendamment des heures écoulées de l'expérience (à 60 Gy : coef = 0.712, valeur z = 2,667, *valeur* p = 0,00765; à 80 Gy : coef = 0,753, valeur z = 2,832, *valeur* p = 0,00462), alors qu'aucune différence significative n'a été enregistrée lorsque les deux mâles fertiles étaient en compétition pour l'accouplement (tableaux 9 et A5, figure 6). En particulier, a u cours de la première heure, les minutes consacrées à la copulation ont été plus que doublées à 80 Gy par rapport aux mâles fertiles. En outre, l'écart entre les mâles irradiés et les mâles fertiles a persisté jusqu'à la fin de l'expérience, tant à 80 qu'à 60 Gy (tableau 8 et figure 6), bien qu'à des fréquences moindres au fil des heures. En ce qui concerne la comparaison entre les expériences de choix, aucune différence significative n'a été trouvée entre les doses de 80 et 60 Gy pour les minutes consacrées à l'accouplement, comme l'a vérifié le test de Tukey.

3.2.2. Durée de l'accouplement

Aucune différence significative n'a été observée entre les mâles irradiés et les mâles fertiles pour la durée de l'accouplement (tableau 10), bien qu'une signification limite vers des épisodes d'accouplement plus longs ait été trouvée dans le cas des mâles irradiés à 60 Gy par rapport aux mâles fertiles (coef = 0,111, z-value = 1,919, *p-value* = 0,055). Enfin, aucun effet significatif du jour ou de son interaction avec le traitement n'a été détecté (tableaux 10 et 11, figure 7a).

3.2.3. Nombre d'accouplements par jour

Ce paramètre de reproduction était similaire aux données de fréquence (tableau 11, figure 7b), étant donné qu'aucune différence pertinente dans la durée de l'accouplement n'a été observée. En fait, si l'on examine les estimations du modèle présentées dans le tableau 12, on constate également pour ce paramètre un nombre nettement et significativement plus élevé d'accouplements par jour avec les mâles irradiés qu'avec les mâles fertiles (tableau 11), tant pour les traitements à 60 qu'à 80 Gy (à 60 Gy : coef = 0,4835, valeur z = 3,497, *valeur* p = 0,00047 ; à 80 Gy : coef = 0,572, valeur z = 4,252,

p-value = $2,1 \times 10^{-5}$). À 60 Gy, le nombre d'événements était de $3,48 \pm 0,42$ contre 1,97 ± 0,30 pour les mâles non traités, tandis qu'à 80 Gy, les mâles irradiés se sont accouplés $4,50 \pm 0,52$ fois contre $2,53 \pm 0,47$ fois pour les mâles fertiles.

Tableau 10. Modèle de Glmer (famille = binomiale négative) avec la durée des accouplements comme variable de résultat. La variable réponse a été analysée comme la durée de l'événement en minutes : Le traitement est imbriqué dans les doses appliquées (0, 60 et 80 Gy) et les estimations du modèle se réfèrent à l'hypothèse zéro d'absence de différence dans la durée de l'accouplement entre les mâles irradiés et les mâles fertiles. Les mâles à la dose zéro n'ont pas été irradiés et ont été utilisés comme contrôle supplémentaire. Les *valeurs p* significatives sont mises en évidence en gras.

Effets fixes	Estimation	SE	z Valeur	<i>Valeur</i> p
(Intercept)	1.1123	0.0354	31.465	$<2 \times 10-16$
treatm : dose 0 Gy	0.0130	0.0676	0.193	0.8472
traitement : dose de 60 Gy	0.1115	0.0581	1.919	0.0549
traitement : dose de 80 Gy	0.0291	0.0559	0.521	0.6025

Tableau 11. Moyennes et erreurs standard des variables de réponse durée de l'accouplement en minutes, événements d'accouplement par jour et minutes écoulées avant le premier accouplement, en fonction de la dose d'irradiation appliquée et du jour à partir du début de l'expérience. Le mâle avec l'indice "2" est le mâle irradié, sauf dans le cas de la dose zéro où les deux mâles ne sont pas traités. Le tiret indique qu'aucune donnée n'est disponible.

		Du	urée de l'accou (Min ^J	ıplement ^{our-1})			Événe d'ac ent (¹)	ments couplem n. ^{Jour-}		le	Temps ler acco (N	s écoulé ava ouplement lin)	int
Dose	Jours	Homm e ₍₁₎	±SE	Homme (2)	±SE	Homme (1)	±SE	Homme (2)	±SE	Homme ₍	±SE	Homme ₍ 2)	±SE
	3	3.47	0.39	2.90	0.38	1.90	0.71	1.00	0.39	108.0	-	1.50	0.50
	6	3.03	0.18	3.02	0.22	3.50	0.82	4.50	1.19	35.00	10.51	28.50	16.6
0	9	2.96	0.22	3.24	0.42	2.80	0.63	2.10	0.59	19.75	7.90	16.00	6.52
	12	3.00	0.30	3.15	0.28	1.00	0.42	2.00	0.63	18.00	6.00	13.00	4.36
	moyen	3.10	0.13	3.08	0.15	2.30	0.35	2.40	0.42	33.17	8.64	16.86	5.42
	3	2.55	0.31	3.45	0.35	1.10	0.43	3.10	1.07	-	-	16.50	2.50
	6	3.39	0.45	3.50	0.27	2.30	0.80	4.00	0.98	18.50	17.50	3.00	2.00
60	9	3.14	0.30	3.81	0.39	2.80	0.51	2.70	0.56	32.00	16.59	3.50	0.50
	12	3.00	0.19	3.00	0.19	1.70	0.50	4.10	0.74	-	-	21.29	10.8
	moyen	3.10	0.18	3.40	0.15	1.97	0.30	3.48	0.42	28.63	12.78	15.00	6.09
	3	3.00	0.17	3.16	0.32	2.40	1.29	3.70	0.94	58.67	56.67	-	-
	6	3.52	0.42	3.55	0.18	2.30	0.58	5.10	1.35	47.80	37.47	3.00	0.58
80	9	2.79	0.17	2.92	0.15	3.80	0.80	5.20	0.87	10.00	3.00	7.80	2.65
	12	2.44	0.13	2.82	0.16	1.60	0.98	4.00	0.97	4.00	-	3.33	0.33
	moyen	2.95	0.13	3.13	0.10	2.53	0.47	4.50	0.52	37.42	19.98	5.27	1.36
	3	3.07	0.17	3.35	0.50	1.80	0.50	3.40	0.70	71.00	41.93	16.50	2.50
	6	3.27	0.19	3.69	0.37	2.70	0.43	4.55	0.82	37.58	15.62	3.00	0.71
Moyenne totale *	9	2.95	0.13	3.14	0.19	3.13	0.38	3.95	0.58	23.15	8.04	6.57	2.00
-	12	2.79	0.12	3.17	0.24	1.43	0.38	4.05	0.59	13.33	5.81	15.90	7.90
	moyen	3.04	0.08	3.33	0.16	2.27	0.22	3.46	0.34	33.62	8.52	10.54	3.45

* Dans le cas du mâle 2, les moyennes totales des doses ne sont calculées que pour l'accouplement avec des individus irradiés.



Figure 7. Durée de l'accouplement (**a**) et nombre d'événements d'accouplement par jour (**b**) au fil des jours de l'expérience en fonction des doses appliquées de 0, 60 et 80 Gy. Les moyennes et les ± erreurs standard sont indiquées.

Tableau 12. Modèle de Glmer (famille = binomiale négative) avec le nombre d'accouplements par jour comme variable de résultat. Le traitement appliqué est imbriqué dans les doses appliquées (0, 60 et 80 Gy) et les estimations du modèle se réfèrent à l'hypothèse zéro d'absence de différence entre les mâles irradiés et les mâles fertiles. Les mâles à la dose zéro n'ont pas été irradiés et ont été utilisés comme contrôle supplémentaire. L'effet des jours est inclus dans le modèle (le troisième jour étant le niveau de référence). Les *valeurs* p significatives sont mises en évidence en gras.

Effets fixes :	Estimation	SE	z Valeur	<i>Valeur</i> p
(Intercept)	-0.0366	0.2291	-0.160	0.87303
6ème jour	0.5306	0.1585	3.348	0.00081
9ème jour	0.4429	0.1598	2.772	0.00557
12ème jour	0.0566	0.1654	0.342	0.73210
treatm : dose 0 Gy	0.2704	0.1420	1.905	0.05683
traitement : dose de 60 Gy	0.4835	0.1382	3.497	0.00047
traitement : dose de 80 Gy	0.5722	0.1346	4.252	2.11×10^{-5}

3.2.4. Occurrence du premier accouplement et temps écoulé avant le premier accouplement

En ce qui concerne le type de premier accouplement (mâle irradié ou fertile), aucun effet significatif n'a été trouvé, bien que le traitement à 60 Gy ait montré une signification limite (Tableau 13) vers plus d'événements de premier accouplement avec le mâle irradié qu'avec le mâle non traité (Figure 8), enregistrant 25 événements contre 12 observés avec le mâle fertile (coef = 0.974, z-value = 1.740, *p-value* = 0.0819).

Tableau 13. Modèle de Glmer (famille = binomiale) avec la première occurrence d'accouplement comme variable de résultat. La variable réponse était l'analyse de l'occurrence de l'événement (0, 1) : Le traitement appliqué est imbriqué dans les doses appliquées (0, 60, 80 Gy) et les estimations du modèle se réfèrent à l'hypothèse zéro d'absence de différence dans l'occurrence d'accouplement entre les mâles irradiés et les mâles fertiles. Les mâles à la dose zéro n'ont pas été irradiés et ont été utilisés comme contrôle supplémentaire.

Effets fixes	Estimation	SE	z Valeur	<i>Valeur</i> p
Dose 0 Gy	0.2089	0.5431	0.385	0.7005
Dose 60 Gy	0.9740	0.5598	1.740	0.0819
Dose 80 Gy	0.5459	0.5339	1.022	0.3066



Figure 8. Nombre d'événements du premier accouplement aux doses testées pour les mâles fertiles et irradiés (**a**) ; temps écoulé en minutes avant le premier accouplement observé aux doses d'irradiation de 0, 60 et 80 Gy (**b**) (seuls les cas où les deux mâles s'accouplent au moins une fois sont pris en compte). Les deux mâles à la dose zéro ne sont pas traités. Les moyennes et les ± erreurs standard sont indiquées.

Le mâle irradié à 80 Gy s'est accouplé plus fréquemment avant le mâle fertile (23 cas contre 15 cas pour le mâle non traité), mais la signification statistique n'a pas été atteinte, probablement aussi en raison de la petite taille de l'échantillon. Inversement, en ce qui concerne le temps écoulé avant le premier accouplement (tableau 11 ; figure 8), un temps beaucoup plus court a été enregistré sur le mâle irradié à 80 Gy par rapport au mâle fertile (tableau 14), (coef = -1,580, z-value = -3,631, *p-value* = 0,00028).

Tableau 14. Modèle de Glmer (famille = binomiale négative) avec le temps écoulé avant le premier accouplement comme variable de résultat. Les données ont été sélectionnées lorsque les deux mâles se sont accouplés au moins une fois. Le traitement appliqué est imbriqué dans les doses appliquées (0, 60 et 80 Gy) et les estimations du modèle se réfèrent à l'hypothèse zéro d'absence de différence entre les mâles irradiés et les mâles fertiles. Les mâles à la dose zéro n'ont pas été irradiés et ont été utilisés comme contrôle supplémentaire. Les *valeurs p* significatives sont mises en évidence en gras.

Effets fixes	Estimation	SE	Valeur Z	<i>Valeur</i> p
(Intercept)	3.2517	0.2305	14.110	$<2 \times 10-16$
treatm:dose 0 Gy	-0.5975	0.3738	-1.599	0.109918
treatm:dose 60 Gy	-0.6204	0.3965	-1.564	0.117722
treatm:dose 80 Gy	-1.5798	0.4351	-3.631	0.000282

4. Discussion

La technique des insectes stériles repose sur la propension des femelles fertiles à s'accoupler avec des mâles stériles qui sont beaucoup plus nombreux que les mâles fertiles [16,17]. Ainsi, les mâles stériles et leurs spermatozoïdes doivent être compétitifs, et donc fonctionnels dans leur propension à s'accoupler et compatibles sur le plan de la reproduction [20,32,34].

L'assurance qualité est obtenue par la réalisation d'essais biologiques comportementaux qui évaluent divers paramètres reflétant la capacité de l'insecte à survivre, à interagir avec son environnement, à localiser avec succès les femelles de la population cible, à s'accoupler avec elles et à les féconder [34]. Dans le passé, les faibles performances des mâles stériles en termes de compétitivité lors de l'accouplement ont toujours été attribuées aux effets secondaires de l'irradiation [41,42] ; au contraire, le processus d'élevage en masse peut favoriser les dérives génétiques, induisant des différences génotypiques entre les populations sauvages et les populations de laboratoire [43]. Des études antérieures ont confirmé que les adultes irradiés de type sauvage, collectés sur le terrain par piégeage de masse, ne différaient pas en termes d'aptitude et de comportement des adultes de *R. ferrugineus* nouvellement apparus [6,31]. Dans la présente étude, tous les charançons ont été récoltés à l'état sauvage, et leur compétitivité

en matière d'accouplement aurait donc été principalement influencée par l'irradiation. Il convient de noter que dans des études antérieures, les mâles adultes de RPW collectés sur le terrain ont montré une stérilité complète après irradiation, et qu'ils étaient capables d'induire une stérilité complète même lorsqu'ils étaient accouplés avec des femelles de type sauvage déjà fécondées [31].

L'objectif principal des bioessais comportementaux réalisés dans le cadre de cette étude était de mettre en évidence d'éventuelles différences entre les performances des mâles fertiles et des mâles stériles irradiés à deux doses différentes. Les doses sélectionnées (60 et 80 Gy) ont été choisies parce que, dans des études antérieures, elles ont fourni la meilleure réponse en termes de durée de vie et de stérilité des mâles [12,31]. Ces essais comportementaux ont non seulement permis de mieux comprendre la structure inhérente du système d'accouplement de *R. ferrugineus*, mais ont également révélé des schémas intéressants attribuables aux effets de la dose d'irradiation, pendant une période de 12 jours (jour 3, jour 6, jour 9 et jour 12), qui correspondent à des données antérieures sur la longévité des charançons irradiés à 60 et 80 Gy [12].

En excluant la variable "qualité des insectes élevés en captivité", les analyses statistiques de nos données ont clairement confirmé qu'aucune des deux doses de radiation testées n'a empêché les mâles RPW irradiés de s'accoupler. Ce résultat exclut la possibilité que le rayonnement interfère négativement avec la performance sexuelle de l'insecte mâle, empêchant l'accouplement ou induisant une répulsion de la part de la femelle. Dans ce travail, le temps consacré aux accouplements était inférieur au temps d'inactivité (tableaux 1 et 6), ce qui montre que la femelle RPW s'accouple plus souvent, pendant de courtes périodes et avec plus de mâles, conformément au comportement polyandre [6,36].

Dans les conditions de non-choix, le temps consacré à l'accouplement pendant toute la durée de l'expérience n'était pas significativement différent entre les mâles témoins et ceux des deux doses irradiées. De même, pour les autres variables (nombre d'accouplements, durée du premier accouplement et temps écoulé en minutes avant le premier accouplement), aucune différence particulière n'a été enregistrée entre les mâles de contrôle (mâles fertiles) et les mâles irradiés (tableaux 1-5 et figures 1-4), sauf pour la fréquence des accouplements, où les mâles irradiés à 60 Gy étaient légèrement plus performants que les mâles fertiles (figure 2).

Cependant, des différences notables ont été observées entre les mâles fertiles et stériles dans les conditions de choix. Les deux groupes de mâles irradiés ont fait preuve d'une compétitivité optimale face aux mâles sauvages, tandis que les femelles ont toujours eu un comportement passif pendant la phase d'accouplement, ne montrant aucune préférence active pour un mâle spécifique, conformément aux données précédentes sur les observations comportementales d'agrégation [6,36].

Les différences entre les mâles irradiés et les mâles fertiles concernent plusieurs aspects de l'accouplement. A l'exception de la durée de l'accouplement, qui ne montre pas de différences significatives entre les performances des mâles irradiés et des mâles fertiles, les résultats pour les deux autres variables comportementales (nombre d'accouplements et temps écoulé entre le début de l'expérience et le premier accouplement) montrent une meilleure performance évidente des mâles irradiés (tableaux 6 a 13 et figures 5 a 8). En particulier pour le nombre d'accouplements (figures 6, 7b et 8a) et pour le temps écoulé entre le début de l'expérience et le premier accouplement (figure 8b), les résultats soulignent que les mâles irradiés (en particulier ceux irradiés à 80 Gy) étaient sexuellement plus compétitifs que les mâles fertiles. Ceci est particulièrement vrai si l'on considère les études comportementales antérieures sur les TBI réalisées dans des conditions grégaires, où le contexte de l'accouplement a été enregistré comme très promiscuité, avec plusieurs interactions entre tous les individus [6]. Les accouplements représentaient les interactions les plus fréquentes (entre 80,6 et 89,1 des interactions totales), les mâles de R. ferrugineus effectuant des recherches frénétiques d'accouplements dans un contexte d'agrégation promiscuité [6,40].

L'aspect lié au court laps de temps écoulé enregistré dans les tests de choix avec les mâles irradiés à 80 Gy doit être mieux analysé : En comparant les résultats dans des conditions de non-choix (aucune différence significative entre les traitements, Figure 4a) avec les résultats dans des conditions de choix (seulement 5 minutes pour commencer l'accouplement, Figure 8b), la performance des mâles irradiés à 80 Gy lorsqu'un autre mâle est présent montre des tendances extrêmement compétitives ; cette réponse montre que les mâles RPW irradiés (80 Gy) sont clairement plus compétitifs sexuellement que les mâles fertiles, confirmant que le déclin signalé de la "qualité des insectes" peut être lié aux pratiques d'élevage en masse, de manipulation et de lâcher [43-45]. Malgré le fait

que dans la figure 1 (sans choix) et dans la figure 6 (choix), la fréquence d'accouplement des mâles irradiés suive une tendance physiologique négative au fil du temps, les mâles irradiés sont toujours plus performants que le contrôle (en particulier pour les mâles irradiés à 80 Gy). Ces résultats, combinés aux données relatives au temps écoulé depuis le début de l'expérience et le premier accouplement, ont clairement montré que : (i) les performances d'accouplement des mâles irradiés ne diminuent pas à l'approche de la fin de leur vie ; (ii) les mâles irradiés à 80 Gy sont les plus aptes en termes de performances d'accouplement, ce qui confirme des données antérieures sur les effets de l'irradiation sur la physiologie des mâles de cette espèce de ravageur [12,31].

Même si la plupart des programmes d'ITS ont été appliqués à des ravageurs cibles appartenant aux ordres des diptères et des lépidoptères [25,41], certaines études récentes ont montré la faisabilité d'inclure l'ITS dans des programmes de lutte à l'échelle d'une zone contre les charançons exotiques envahissants [14], avec la possibilité même d'éradiquer le ravageur cible du territoire [46].

Cette espèce de ravageur présente deux caractéristiques physiologiques et logiques particulières associées à l'accouplement qui favorisent l'utilisation de la TIS pour lutter contre le ravageur :

(i) l'absence totale de période réfractaire chez la femelle après l'accouplement, ainsi que (ii) la préséance du sperme du dernier mâle accouplé. Ces deux réponses post-accouplement augmentent la probabilité que les femelles fertiles s'accouplent avec des mâles stériles et diminuent le succès reproductif global de la population [6,31,36].

En ce qui concerne la pertinence de la mise en œuvre d'installations d'élevage de masse pour cette espèce cible grégaire, de nouvelles idées et approches sont à l'étude, basées sur le piégeage de masse, l'irradiation et la libération d'un grand nombre de mâles stériles au lieu de les multiplier en laboratoire [43,45,47]. L'approche SIT classique, basée sur l'évaluation de grandes installations d'élevage de masse, n'est pas une tâche facile pour cette espèce, en raison de son long cycle de vie (plusieurs mois), de la présence d'un comportement de cannibalisme aux stades larvaires et de la difficulté de filer un cocon comme site de nymphose : nos données préliminaires montrent que la longue durée du cycle de vie et le coût de l'alimentation artificielle sont les aspects les plus cruciaux [12]. Des études plus récentes montrent qu'un régime semi-artificiel peut être utilisé pour élever des colonies de laboratoire à petite échelle [48], mais elles ne sont probablement pas adaptées aux programmes de mise en œuvre de la TIS à grande échelle. L'alternative que nous prenons en considération pour traiter les arthropodes nuisibles présentant un comportement grégaire évident est une nouvelle approche, basée sur la combinaison du piégeage de masse et de l'ITS pour les programmes à petite échelle [43,45]. Les pièges de terrain déclenchés par la phéromone d'agrégation peuvent fournir un grand nombre d'IPR vivants des deux sexes : garder (ou éliminer) les femelles et relâcher les mâles sauvages après irradiation dans l'environnement peut être une approche appropriée et durable dans des territoires particuliers, bien isolés, tels que la petite île de Pantelleria ou une oasis de palmiers-dattiers dans le désert du Sahara. En particulier, la technique des insectes stériles peut être utilisée dans les zones de culture des palmiers dattiers où la distribution des palmiers est régulière et continue mais isolée (palmeraies dans les oasis). Ces conditions sont idéales pour une approche à l'échelle de la zone, comme l'a souligné Klassen [14]. Il est donc important de considérer un scénario multi trophique qui inclut des facteurs agronomiques, socio-économiques et biologiques, ainsi que la réaction physiologique du ravageur cible à l'irradiation.

5. Conclusions

Le succès d'un programme de lutte antiparasitaire à l'échelle d'une zone, dont la SIT constitue le noyau stratégique, dépend de la mise en place d'un système permettant de relâcher un nombre suffisant de mâles stériles capables de rivaliser avec les mâles sauvages pour les possibilités d'accouplement. C'est pourquoi ce travail s'est concentré sur l'utilisation de doses de radiations stérilisantes tout en maintenant la compétitivité d'accouplement des mâles stériles du RPW par rapport aux mâles non irradiés.

Les données présentées dans cette étude suggèrent que les adultes mâles de type sauvage irradiés de *R. ferrugineus, en* particulier ceux irradiés à 80 Gy, présentent un fort comportement de compétition pour l'accouplement lorsqu'ils sont confinés dans une cage avec des mâles fertiles. La comparaison entre la dose de 60 Gy, la dose de 80 Gy et le contrôle a montré plusieurs aspects intéressants : les doses utilisées n'ont pas affecté le mode et le moment de l'accouplement : après la première copulation, les adultes se sont accouplés à nouveau et de manière répétée, même plus que les adultes non traités.

Les tests de compétitivité en laboratoire ne sont généralement pas entièrement fiables pour prédire la performance et le succès sur le terrain ; c'est pourquoi des résultats plus précis peuvent être obtenus dans le cadre d'études menées directement sur le terrain. Des essais supplémentaires en laboratoire et en milieu confiné sont également nécessaires pour mieux comprendre les interactions dans des conditions de forte densité de charançons. Contributions des auteurs : Conceptualisation, M.C., C.F. et F.M. ; Conservation des données, M.C.,

A.C., M.L.B.J., M.M.G., R.S., E.T. et S.M. ; Analyse formelle, A.C., M.M.G. et S.M. ; Acquisition des fonds, M.C. ;

Investigation, M.C., F.M., M.G., M.L.B.J., E.T., R.C. et R.S. ; Méthodologie, M.C., C.F., F.M., M.G. et S.M. ; Administration du projet, M.G. et R.C. ; Ressources, M.C. et M.G. ; Logiciel, S.M. ; Supervision, M.C., F.M. et S.M. ; Visualisation, M.C., C.F., F.M. et R.C. ; Rédaction - version originale, M.C., F.M. et S.M. ; Rédaction - révision et édition, M.C., F.M., M.L.B.J. et S.M. Tous les auteurs ont lu et approuvé la version publiée du manuscrit.

Financement : Cette recherche a été partiellement financée par le Parco Nazionale di Pantelleria (Det. Dirig. N. 207 du 21 avril 2021), Italie.

Déclaration du comité d'examen institutionnel : Sans objet.

Déclaration de consentement éclairé : Sans objet.

Déclaration de disponibilité des données : Les données présentées dans cette étude sont disponibles sur demande auprès de l'auteur correspondant.

Remerciements : Les auteurs remercient tous les collègues et amis qui ont contribué à l'étude de diverses manières : F. Di Cristina, S. Barlattani, F. Marini (BBCA onlus, Rome, Italie) pour le soutien technique ; G. Tonne pour l'édition en langue anglaise ; R. Cappadona (Cooperativa Capperi Pantelleria, Italie), S. Anelli, A. Biddittu (Parco Nazionale di Pantelleria, Italie), G. Lasagni, et F. Maggiore (Bonomo and Giglio srl) pour avoir facilité les collectes sur le terrain dans l'île de Pantelleria, Italie, C. Gigleux-Spitz et G. Hoen (FREDON Corse, France) ; S. Arnone (ENEA C.R. Casaccia, Rome, Italie), S. Colazza, E. Peri (Université de Palerme, Italie) et S. Guarino (CNR, Palerme, Italie), pour leur soutien dans les collectes RPW dans la province de Rome et en Sicile, respectivement.

Conflits d'intérêts : Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêts.

Annexe A

Tableau A1. Moyennes et erreurs standard des variables de réponse proportion d'accouplement, durée des accouplements par couple, nombre d'accouplements par jour et temps écoulé avant le premier accouplement, en fonction des doses d'irradiation appliquées et des jours de l'expérience. Les erreurs standard des estimations sont dérivées du modèle glmer.

Dose Gy	Journée	Proportion de L'accoupleme	Durée de l'accoupleme nt	Événements de l'accouple	Temps écoulé avant le 1er accouplement	
	nt			ment ^{Jour} 1		
		(0,1)	(min)	(n.)	(min)	
		0.040	3.00	3.20	58.89	
	3	+0.0064	±0 .30	±0 .57	±26 .95	
		0.063	3.00	5.10	46.20	
	6	+0.0095	±0 .24	±0 .64	±17 .36	
		0.059	2.89	4.60	20.80	
0	9	+0 0080	±0 .25	±0 .72	±8 .40	
		0.054	2.74	4.60	20.50	
	12	±0 .0082	±0 .24	±0 .81	±8 .82	
		0.054	2.90	4.38	30.66	
	Moyenne totale	±0 .0040	±0 .13	±0 .37	±6 .56	
		0.062	2.87	5.20	21.00	
	3	+0 0091	±0 .23	±0 .73	±10 .78	
		0.069	3.61	4.60	72.80	
	6	+0.0100	±0 .27	±0 .82	±28 .14	
		0.080	3.23	6.00	47.70	
60	9	+0.0115	±0 .23	±0 .92	±21 .96	
		0.095	3.21	7.70	39.90	
	12	±0 .0133	±0 .20	±1 .03	±22 .95	
		0.077	3.22	5.87	29.57	
	Moyenne totale	±0 .005	±0 .12	±0 .54	±6 .90	

Dose Gy	Journée nt	Proportion de L'accoupleme	Durée de l'accoupleme nt	Événements de l'accouple ment ^{Jour} 1	Temps écoulé avant le 1er accouplement
		(0,1)	(min)	(n.)	(min)
		0.033	3.08	2.6	115.80
	3	±0.0052	±0.35	±0.44	±30 .17
	6	0.043	3.39 +0.35	2.9	95.30 +27.45
	0	±0 .0065 0.055	3.23	3.9	75.50
80	9	+0.0080	±0 .29	±0 .56	±28 .02
		0.055	3.14	4.2	43.60
	12	±0 .0079	±0 .27	±0 .63	±23 .22
		0.047	3.25	3.40	49.15
	Moyenne totale	±0 .005	±0 .16	±0 .43	±9 .08
		0.045	2.95	3.67	65.45
	3	+0.003	±0 .17	±0 .45	±15 .30
Moyenne des jours		0.059	3.36	4.20	71.43
	6	+0.004	±0 .17	±0 .56	±14 .32
	9	-0.065 +0.004	3.12 +0.15	4.83 +0.55	48.00 +12 473
		0.068	3.06	5 50	34 67
	12	±0.004	±0.14	±0.60	±11.04
		0.059	3.12	4.55	54.80

Tableau A1. Cont.

Totableau A2. Table 2010650isé sur la duré 20120l'accouplement en fontancion de la dos 26172 radiation appliquée (0, 60 et 80 Gy). Les pourcentages des catégories sont également indiqués.

Durée de l'accouple ment	0 Gy		60 Gy		80 Gy		Total	
Min	n	%	n	%	n	%	n	%
1	71	43.3	76	32.3	46	33.8	193	36.5
2	70	39.7	90	38.3	52	38.2	212	38.7
3	24	13.6	44	18.7	21	15.4	89	15.9
≥4	11	6.5	25	10.6	17	12.5	53	9.9
Total	176	100	235	100	136	100	547	100

Tableau A3. Effectifs par tableaux croisés effectués sur le temps écoulé avant le premier accouplement en fonction de la dose d'irradiation appliquée. La variable réponse a été arbitrairement divisée en six classes de temps. Les pourcentages des catégories sont également indiqués.

Catégories de temps	atégories de temps 0 Gy		60 Gy		80	Gy	Total	
min	n	%	n	%	n	%	n	%
<10	13	32.5	15	37.5	6	15.0	34	28.3
10-30	16	40.0	8	20.0	11	27.5	35	29.2
30-60	4	10.0	11	27.5	7	17.5	22	18.3
60-120	4	5.0	2	5.0	5	12.5	11	9.2
120-240	2	5.0	1	2.5	4	10.0	7	5.8
Pas d'accouplement	1	2.5	3	7.5	7	17.5	11	9.2
Total	40	33.3	40	33.3	40	33.3	120	100

Dose Jour (Gy) 0 60 80 Total * Type d'homme Mins % Mins % Mins % Mins % n. fertile (69.5) 28 (20.6)72 (37.7)100 (31.6)66 3 irradié 29 108 119 (30.5)(79.4)227 (69.4) (62.3)total 95 (100.0)136 (100.0)191 (100.0)327 (100.0)78 fertile 106 (43.8)(33.8)81 (30.9)159 (33.1)140 6 irradié 136 (56.2)(64.2)181 (69.1)321 (66.9)218 480 total 242 (100.0)(100.0)262 (100.0)(100.0)194 fertile 83 (55.7) 88 (46.3) 106 (41.1)(43.3) 9 irradié 66 (44.3) 102 (53.7) 152 (58.9) 254 (56.7) 149 (100.0)190 (100.0)(100.0)(100.0)total 258 413 51 fertile 30 39 90 (33.0)(29.3)(25.5)(28.5)12 123 114 237 irradié 61 (67.0)(70.7)(74.5)(72.5)174 91 (100.0)(100.0)total (100.0)(100.0)153 327 Total fertile 285 (49.4)245 (34.1)298 (34.6)543 (34.3)irradié 292 (50.6) 473 (65.9) 566 (65.4) 1039 (65.7)

Tableau A5. Tableau croisé des sommes totales des minutes passées en copulation en fonction de la dose d'irradiation appliquée (0, 60 et 80 Gy) et des heures de l'expérience. Le pourcentage de temps est également indiqué. Les valeurs totales et les moyennes avec astérisques ne sont calculées que sur les unités expérimentales avec les mâles irradiés (60 et 80 Gy).

Heures				Dose	(Gy)				
		(0 60					801	Fotal *
n.	Type masculin	Mins	(%)	Mins	%	Mins	(%)	Mins	%
	fertile	78	(41.7)	96	(37.1)	114	(32.4)	210	(34.4)
1er (0-60 min)	irradié	109	(58.3)	163	(62.9)	238	(67.6)	401	65.6
	total	187	(100.0)	259	(100.0)	352	(100.0)	611	(100.0)
	fertile	94	(63.6)	59	(30.1)	54	(30.5)	113	(31.3)
2ème (61-120 min)	irradié	75	(44.4)	137	(69.9)	123	(69.5)	260	(69.7)
	total	169	(100.0)	196	(100.0)	177	(100.0)	373	(100.0)
	fertile	55	(46.6)	53	38.4	87	(43.7)	140	(41.5)
3ème	irradié	63	(53.4)	85	61.6	112	(56.3)	197	(58.5)
	total	118	(100.0)	138	(100.0)	199	(100.0)	337	(100.0)
	fertile	58	(56.3)	37	30.6	43	(31.6)	80	(30.7)
4ème	irradié	45	(43.7)	88	70.4	93	(68.4)	181	(69.3)
	total	103	(100.0)	125	(100.0)	136	(100.0)	261	(100.0)
Total	fertile	285	(49.4)	245	34.1	298	(34.6)	543	(34.3)
(4 h)	irradié	292	(50.6)	473	65.9	566	(65.4)	1039	(65.7)

Tableau A4. Tableau croisé sur la somme totale des minutes passées en copulation en fonction de la dose d'irradiation appliquée (0, 60 et 80 Gy) et des jours d'expérience. Le pourcentage de temps est également indiqué. Le total et la moyenne avec astérisques sont calculés sur les unités expérimentales avec les mâles irradiés (60 et 80 Gy).

Références

- 1. Wattanapongsiri, A. Révision des genres *Rhynchophorus* et *Dynamis* (Coleoptera : Curculionidae). *Sci. Bull. Dep. Agric. Thail.* **1966**, *1*, 328.
- 2. Murphy, S. ; Briscoe, B. Le charançon rouge du palmier en tant qu'envahisseur étranger : Biologie et perspectives de lutte biologique dans le cadre de la lutte intégrée contre les ravageurs de palmiers. *Biocontrol News Inf.* **1999**, *20*, 35-46.
- 3. Thomas, M.C. Giant Palm Weevils of the Genus Rhynchophorus (Coleoptera : Curculionidae) and Their Threat to Florida Palms. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry. DACS-P-01682 : 1-2. 2010. Disponible en ligne : https://www.fdacs.gov/content/download/66344/file/pest_alert_giant_palm_weevils_of_the_genus_rhynchophorus. pdf (consulté le 15 janvier 2021).
- 4. Inghilesi, A. ; Mazza, G. ; Cini, A. ; Cervo, R. Comportamento Sociale E Riproduttivo Del Punteruolo Rosso Delle Palme : Appro- fondire Le Conoscenze Per Contrastare Questo Flagello. *Atti Accad. Naz. Ital. Entomol.* **2014**, *61*, 189-192.
- 5. Sacchetti, P. ; Camera, A. ; Granchietti, A. ; Rosi, M. ; Marzialetti, P. Prima Segnalazione In Italia Del Curculionide Delle Palme,

Rhynchophorus ferrugineus. Non. Del Cent. Sper. Per Il Vivaismo Di Pist. 2005, 144, 6-9.

- 6. Inghilesi, A.F.; Mazza, G.; Cervo, R.; Cini, A. Un réseau de sexe et de compétition : Le système d'accouplement promiscuous d'un charançon envahissant. *Curr. Zool.* 2015, *61*, 85-97. [CrossRef]
- 7. AlDosary, N.; AlDobai, S.; Faleiro, J. Review on The Management of Red Palm Weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier in Date Palm *Phoenix dactylifera* L. *Emir. J. Food Agric.* **2016**, *28*, 34. [CrossRef]
- 8. El-Sebay, Y. Études écologiques sur le charançon rouge du palmier *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. (Coleoptera Curculionidae) en Égypte.

Égypte. J. Agric. Res. 2003, 81, 523-529. [CrossRef].

- 9. Faleiro, J.R. Examen des problèmes et de la gestion du charançon rouge du palmier *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera : Rhyn- chophoridae) dans le cocotier et le palmier-dattier au cours des cent dernières années. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 2006, *26*, 135-154.
- 10. Ince, S. ; Porcelli, F. Ponte et comportement de ponte du charançon rouge du palmier, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) 1790 (Coleoptera : Curculionidae). *Agric. Biol. J. N. Am.* **2011**, *2*, 1368-1374. [CrossRef]
- Kaakeh, W. Longevity, Fecundity, and Fertility of The Red Palm Weevil, *Rynchophorus ferrugineus* Olivier (Coleoptera : Curculion- idae) on Natural and Artificial Diets (Longévité, fécondité et fertilité du charançon rouge du palmier, *Rynchophorus ferrugineus* Olivier (Coleoptera : Curculion- idae) sur des régimes naturels et artificiels). *Emir. J. Food Agric.* 2005, *17*, 23. [CrossRef]
- 12. Musmeci, S.; Cristofaro, M.; Arnone, S.; Sasso, R.; Baccaro, S.; Pasquali, A.; Catarci, S. Controllo Del Punteruolo Rosso Mediante La Tecnica Dell'Insetto Sterile (SIT): Utopia o Realtà. *Atti Accad. Naz. Ital. Entomol.* **2013**, *61*, 239-246.
- 13. Dembilio, O. ; Jacas, J.A. Basic Bio-Ecological Parameters of The Invasive Red Palm Weevil, *Rhynchophorus Ferrugineus* (Coleoptera : Curculionidae), In *Phoenix canariensis* Under Mediterranean Climate. *Bull. Entomol. Res.* **2011**, *101*, 153-163. [CrossRef]
- Klassen, W. Area-wide integrated pest management and the sterile insect technique. In *Sterile Insect Technique : Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*; Dyck, V.A., Hendrichs, J., Robinson, A.S., Eds; Springer : Dordrecht, Pays-Bas, 2005; pp. 39-68. ISBN 978-1-4020-4051-1.
- 15. Llácer, E. ; Santiago-Álvarez, C. ; Jacas, J.A. Les hommes stériles peuvent-ils être utilisés pour vectoriser un agent de contrôle microbiologique ? Le cas de

Rhynchophorus ferrugineus et Beauveria bassiana. Bull. Entomol. Res. 2013, 103, 241-250. [CrossRef] [PubMed]

Knipling, E.F. Possibilités de contrôle ou d'éradication des insectes par l'utilisation de mâles sexuellement stériles. J. Econ. Entomol. 1955, 48,

459-462. [CrossRef].

- 17. Knipling, E.F. The potential role of sterility for pest control. Dans *Principles of Insect Chemosterilization*; LaBrecque, G.C., Smith, C.N., Eds; Century-Crofts: Appleton, NY, USA, 1968; pp. 7-40.
- 18. Robinson, A.S. Genetic Basis of the Sterile Insect Technique. In *Sterile Insect Technique : Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*; CRC : Boca Raton, FL, USA, 2021.
- Snow, J.W. Radiation, insects and eradication in North America : An overview from screw worm to boll worm. In Modern Insect Control : Nuclear Techniques and Biotechnology, Proceedings of an International Symposium on Modern Insect Control : Techniques nucléaires et biotechnologie, Vienne, Autriche, 16-20 novembre 1987; AIEA Agence internationale de l'énergie atomique (AIEA) : Vienne, Autriche, 1988; ISBN 978-92-0-010388-9.
- Vreysen, M.J.; Saleh, K.M.; Ali, M.Y.; Abdulla, A.M.; Zhu, Z.R.; Juma, K.G.; Dyck, V.A.; Msangi, A.R.; Mkonyi, P.A.; Feldmann, H.U. *Glossina austeni* (Diptera : Glossinidae) Eradicated on The Island of Unguja, Zanzibar, using the Sterile Insect Technique. J. Econ. Entomol. 2000, 93, 123-135. [CrossRef] [PubMed]
- 21. Hendrichs, J.; Franz, G.; Rendon, P. Increased Effectiveness and Applicability of The Sterile Insect Technique Through Male-Only Releases for Control of Mediterranean Fruit Flies During Fruiting Seasons. J. Appl. Entomol. **1995**, 119, 371-377. [CrossRef].
- 22. Benedict, M.Q.; Knols, B.G.; Bossin, H.C.; Howell, P.I.; Mialhe, E.; Caceres, C.; Robinson, A.S. Colonisation et élevage de masse : Apprendre des autres. *Malar. J.* **2009**, *8*, S4. [CrossRef]
- 23. Rahalkar, G.W.; Harwalkar, M.R.; Rananavare, H.D.; Shantaram, K.; Ayengar, A.R.G. Laboratory studies on radiation sterilization of the Red Palm Weevil (*Rhynchophorus ferrugineus* Oliv.) males. J. Plant. Crops **1973**, 1, 141-145.
- 24. Ramachandran, C.P. Effects of Gamma Radiation on Various Stages of Red Palm Weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* F. J. Nucl. Agric. Biol. **1991**, 20, 218-221.
- 25. Lance, D.R. ; McInnis, D.O. Base biologique de la technique de l'insecte stérile. In Sterile Insect Technique : Principles and Practice in

Area-Wide Integrated Pest Management; Dyck, V.A., Hendrichs, J., Robinson, A.S., Eds; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2021; p. 30, ISBN 9781003035572.

- Gothi, K.K.; Hire, R.S.; Vijayalakshimi, N.; Dongre, T.K. Études sur le comportement d'accouplement des mâles radiostérilisés du charançon rouge du palmier, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv). J. Nucl. Agric. Biol. 2007, 36, 65-72.
- Al-Ayedh, H.Y.; Rasool, K.G. Sex Ratio and The Role of Mild Relative Humidity in Mating Behaviour of Red Date Palm Weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. (Coleoptera : Curculionidae) Gamma-Irradiated Adults. J. Appl. Entomol. 2010, 134, 157-162. [CrossRef]
- 28. Prabhu, S.T.; Dongre, T.K.; Patil, R.S. Effet de l'irradiation sur les activités biologiques du charançon rouge du palmier, *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier. *Karnataka J. Agric. Sci.* **2010**, *23*, 186-188.
- Krishnakumar, R.; Maheswari, P. Assessment of the Sterile Insect Technique to manage Red Palm Weevil *Rhynchophorus ferrugineus* in coconut. In *Area-Wide Control of Insect Pests*; Vreysen, M.J.B., Robinson, A.S., Hendrichs, J., Eds; Springer: Dordrecht, Pays-Bas, 2007; pp. 475-485, ISBN 978-1-4020-6058-8.
- Whitten, M.; Mahon, R. Idées fausses et contraintes. In Sterile Insect Technique : Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management ; Dyck, V.A., Hendrichs, J., Robinson, A.S., Eds ; Springer : Dordrecht, Pays-Bas, 2005 ; pp. 601-626, ISBN 978-1-4020-4051-1.
- Musmeci, S.; Belvedere, S.; Sasso, R.; Arnone, S.; Cristofaro, M.; Nobili, P.; La Marca, A.; De Biase, A. Last-male Sperm Precedence in *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) : Observations dans des expériences d'accouplement en laboratoire avec des mâles irradiés. *Bull. Entomol. Res.* 2018, 108, 93-100. [CrossRef]
- 32. Parker, G.A. Sperm Competition and Its Evolutionary Consequences in the Insects. Biol. Rev. 1970, 45, 525-567. [CrossRef]
- 33. Gwynne, D.T. Male mating effort, confidence of paternity, and insect sperm competition. In *Sperm Competition and the Evolution of Animal Mating Systems*; Smith, R.L., Ed.; Academic Press: Orlando, FL, USA, 1984; pp. 117-149. ISBN 978-0-12-652570-0.
- Calkins, C.O.; Parker, A.G. Sterile Insect Quality. In Sterile Insect Technique : Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management; Dyck, V.A., Hendrichs, J., Robinson, A.S., Eds; Springer : Dordrecht, Pays-Bas, 2005; pp. 269-296, ISBN 978-1-4020-4051-1.
- Bakri, A.; Mehta, K.; Lance, D.R. Sterilizing insects with ionizing radiation. In *Sterile Insect Technique : Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*; Dyck, V.A., Hendrichs, J., Robinson, A.S., Eds; Springer : Dordrecht, Pays-Bas, 2005; pp. 233-268. ISBN 978-1-4020-4051-1.
- Mazza, G.; Inghilesi, A.F.; Stasolla, G.; Cini, A.; Cervo, R.; Benvenuti, C.; Francardi, V.; Cristofaro, M.; Arnone, S.; Roversi, P.F. Sterile *Rhynchophorus ferrugineus* Males Efficiently Impair Reproduction While Maintaining Their Sexual Competitiveness in a Social Context. J. Pest Sci. 2016, 89, 459-468. [CrossRef]
- Baccaro, S.; Cemmi, A.; Di Sarcina, I.; Ferrara, G. Gamma Irradiation Calliope Facility at ENEA-Casaccia Research Centre (Rome, Italie); Fusion and Technology for Nuclear Safety and Security Department Casaccia Research Centre : Rome, Italie, 2019; p. 49. Disponible en ligne : https://iris.enea.it/retrieve/dd11e37c-d730-5d97-e053-d805fe0a6f04/RT-2019-04-ENEA.pdf (consulté le 6 juin 2023).
- 38. Bates, D. ; Mächler, M. ; Bolker, B. ; Walker, S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using Lme4. J. Stat. Softw. 2015, 67, 1-48. [CrossRef]
- R Core Team. Un langage et un environnement pour le calcul statistique ; R-Foundation for Computer Statistics : Vienne, Autriche, 2019. Disponible en ligne : https://www.r-project.org/ (consulté le 10 janvier 2023).
- 40. Hothorn, T. ; Bretz, F. ; Westfall, P. Inférence simultanée dans les modèles paramétriques généraux. *Biom. J. Biom. Z.* 2008, 50, 346-363. [CrossRef].
- 41. De Beer, C.J.; Moyaba, P.; Boikanyo, S.N.B.; Majatladi, D.; Venter, G.J.; Vreysen, M.J.B. Gamma Irradiation and Male *Glossina austeni* Mating Performance. *Insects* **2020**, *11*, 522. [CrossRef]
- 42. Ilboudo, K.; Camara, K.; Salou, E.W.; Gimonneau, G. Quality Control and Mating Performance of Irradiated *Glossina palpalis* gambiensis Males. *Insects* **2022**, *13*, 476. [CrossRef]
- Cristofaro, M.; Sforza, R.F.H.; Roselli, G.; Paolini, A.; Cemmi, A.; Musmeci, S.; Anfora, G.; Mazzoni, V.; Grodowitz, M. Effects of Gamma Irradiation on the Fecundity, Fertility, and Longevity of the Invasive Stink Bug Pest *Bagrada hilaris* (Burmeister) (Hemiptera : Pentatomidae). *Insects* 2022, *13*, 787. [CrossRef]
- 44. Bouyer, J. ; Vreysen, M.J.B. Oui, les moustiques mâles stériles irradiés peuvent être sexuellement compétitifs ! *Trends Parasitol.* 2020, *36*, 877-880. [CrossRef] [PubMed]
- 45. Roselli, G. ; Anfora, G. ; Suckling, D.M. ; Mazzoni, V. ; Vanoni, V. ; Menegotti, L. ; Fellin, L. ; Rossi Stacconi, M.V. ; Ioriatti, C. ; Cristofaro,

M. Effets de l'irradiation sur la biologie et le comportement d'accouplement des mâles sauvages de la punaise marbrée à l'aide d'un accélérateur linéaire médical de 6 MV. *Insects* **2023**, *14*, 460. [CrossRef] [PubMed]

46. Himuro, C. ; Kohama, T. ; Matsuyama, T. ; Sadoyama, Y. ; Kawamura, F. ; Honma, A. ; Ikegawa, Y. ; Haraguchi, D. Premier cas d'éradication réussie du charançon de la patate douce, *Cylas formicarius* (Fabricius), à l'aide de la technique de l'insecte stérile. *PLoS ONE* 2022, 17, e0267728. [CrossRef] [PubMed]

31 de 32

- Suckling, D.M.; Cristofaro, M.; Roselli, G.; Levy, M.C.; Cemmi, A.; Mazzoni, V.; Stringer, L.D.; Zeni, V.; Ioriatti, C.; Anfora, G. The Competitive Mating of Irradiated Brown Marmorated Stink Bugs, *Halyomorpha halys*, for the Sterile Insect Technique. *Insects* 2019, *10*, 411. [CrossRef]
- Aldawood, A.S.; Rasool, K.G.; Sukirno, S.; Husain, M.; Sutanto, K.D.; Alduailij, M.A. Régime semi-artificiel développé pour l'élevage réussi du charançon rouge du palmier : *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera : Dryphthoridae) en laboratoire. *J. King Saud Univ. Sci.* 2022, 34, 102272. [CrossRef]

Clause de non-responsabilité/Note de l'éditeur : Les déclarations, opinions et données contenues dans toutes les publications sont uniquement celles des auteurs et contributeurs individuels et non celles de MDPI et/ou de l'éditeur. MDPI et/ou le(s) rédacteur(s) décline(nt) toute responsabilité en cas de dommages corporels ou matériels résultant d'idées, de méthodes, d'instructions ou de produits mentionnés dans le contenu.