

CONVENTIONS
SCIENCES DE LA VIE
ZOOLOGIE APPLIQUÉE

N° 9

1996

Lutte intégrée contre le scolyte du café
en Nouvelle-Calédonie, *Hypothenemus hampei*
(Coleoptera : Scolytidae)

Luc-Olivier BRUN
Frédéric MATHIEU
Véronique GAUDICHON
Claude MARCILLAUD

Convention Province Sud/ORSTOM
Étude des ravageurs du café

CONVENTIONS
SCIENCES DE LA VIE
ZOOLOGIE APPLIQUÉE

N° 9

1996

Lutte intégrée contre le scolyte du café
en Nouvelle-Calédonie, *Hypothenemus hampei*
(Coleoptera : Scolytidae)

* Luc-Olivier BRUN
** Frédéric MATHIEU
* Véronique GAUDICHON
* Claude MARCILLAUD

* Laboratoire d'Entomologie, ORSTOM Nouméa
** Station de phytopharmacie, INRA, Versailles, France

Convention Province Sud/ORSTOM
Étude des ravageurs du café



L'INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE
POUR LE DÉVELOPPEMENT EN COOPÉRATION

CENTRE DE NOUMÉA

Ø76
RAUPLAØ7 BRU

H2 80867
Zep FA*10814

F 010053323

SOMMAIRE

AVANT-PROPOS	3
INTRODUCTION	5
I. PHÉNOLOGIE DU CAFÉIER ET DYNAMIQUE DES POPULATIONS	7
I.1. PHÉNOLOGIE DU CAFÉIER	7
I.2. DYNAMIQUE DES POPULATIONS	8
I.2.1. Phase de survie	8
I.2.2. Phase d'installation	9
I.2.3. Phase de multiplication	9
II. ÉCOLOGIE CHIMIQUE DU SCOLYTE DU CAFÉ	10
II. 1. MATÉRIEL ET MÉTHODES	10
II.1.1. Le Bio-test olfactif	10
II.1.2. Analyse chimique	11
II.1.3. Piégeage en milieu "semi-contrôlé"	12
II.1.4. Piégeage en champ, expérimentation en cours	12
II. 2. RÉSULTATS	14
II.2.1. Identification	14
II.2.2. Olfaction	15
II.2.3. Vision	17
II.2.4. Physiologie	17
II.2.5. Piégeage en tente	18
II.2.6. Piégeage en champs	19
II. 3. CONCLUSIONS	20
II.3.1 Existence de substances kairomonales	20
II.3.2 Incidence de la lumière sur la sortie des femelles	20
II.3.3 Incidence de l'olfaction	20
II.3.4 Incidence de la vision	21
II.3.5 Incidence du stade physiologique	21
II.3.6. Piégeage	22
III PERSPECTIVES	23

AVANT-PROPOS

Le scolyte des grains de café, *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae) est considéré comme le premier ravageur mondial. Au cours de ces dernières décades il a envahi la quasi-totalité des zones de production. En Nouvelle-Calédonie comme dans majorité des régions, le recours à des traitements chimiques a été la solution adoptée, malgré ses nombreux inconvénients. Cependant, le nombre de composés actifs sur cette espèce (dont le cycle se déroule à l'intérieur des cerises) demeure très limité malgré les efforts des firmes chimiques pour trouver de nouvelles molécules. Ces traitements chimiques doivent cependant être envisagés comme une solution transitoire, en attendant la mise au point des différentes composantes d'une lutte intégrée. L'élaboration d'une telle stratégie nécessite une parfaite connaissance de la biologie du ravageur, de ses parasites et pathogènes, ainsi que de la dynamique de ses populations. Les travaux récents, réalisés à partir du Centre ORSTOM de Nouméa, contribuent à accroître ces connaissances fondamentales dans une perspective d'application à un meilleur contrôle des populations de scolyte.

Ces dernières années, grâce au soutien financier et logistique de la Province Sud, des travaux ont été réalisés dans divers domaines et en particulier sur :

- 1) l'identification du premier cas de résistance à un insecticide chez cet insecte (tant au niveau phénotypique que génotypique),
- 2) le développement de diverses méthodologies de détection des individus résistants au sein de populations naturelles ,
- 3) la dynamique de cette résistance,
- 4) la compréhension de la transmission génétique de ce caractère acquis par mutation.

Ces derniers travaux ont nécessité une triple approche : moléculaire, cytologique et phénologique. Certains aspects de ces études se poursuivent actuellement, notamment en collaboration étroite avec des équipes américaines. Ils seront présentés à l'occasion du prochain rapport de convention.

Au cours des trois dernières années, le Laboratoire d'Entomologie du Centre ORSTOM de Nouméa et le Laboratoire des Médiateurs Chimiques de l'INRA ont conduit des études sur les relations allélochimiques entre *H. hampei* et sa plante-hôte, le café. Jusqu'à présent, très peu de travaux avaient abordé cet aspect. Or le caractère

monophage de ce ravageur et les particularités de sa biologie laissent à penser que l'utilisation des composés kairomonaux peut se révéler très prometteur dans le cadre d'une lutte intégrée.

Les premiers travaux ont montré que les cerises rouges émettaient des substances volatiles qui pouvaient être extraites dans un solvant. Ces substances, attractives pour *H. hampei*, semblent diminuer assez rapidement après la cueillette des cerises. Pendant cette période, une méthode d'élevage sur milieu artificiel était également mise au point, ce qui a permis de disposer, tout au long de l'année, de femelles d'un statut physiologique connu. En effet, l'homogénéité des femelles à tester était essentielle pour la réalisation de nombreuses expérimentations.

Le présent rapport est un résumé des résultats acquis à l'occasion des travaux réalisés ces dernières années sur ce thème. Les principales conclusions qui en découlent sont également présentées. Ces travaux ont fait l'objet d'une thèse "Mécanismes de la colonisation de l'hôte chez le scolyte du café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae) présentée à l'Université de Paris VII par F. Mathieu. Des perspectives de recherche sont proposées, qui doivent notamment déboucher sur la réalisation, l'expérimentation et l'utilisation de divers types de pièges.

Le développement d'un système de piégeage efficace est en effet une étape primordiale dans l'élaboration d'une lutte intégrée contre ce ravageur. Un tel piégeage permettra la mise en place d'un système d'avertissement agricole. Il devrait également permettre de réaliser des captures de masse aux moments critiques de la dynamique des populations. Enfin, il pourrait augmenter la durée de l'interface insecte/biopesticide, contribuant ainsi à une meilleure diffusion de ces substances dans les champs.

INTRODUCTION

La description des mécanismes de reconnaissance et de localisation de l'hôte par le scolyte du café constitue un champ de recherche particulièrement exaltant, tant du point de vue fondamental que du fait des perspectives appliquées qu'offre cette approche. En effet, de part la diversité des niveaux de réflexion et d'expérimentation, ce champ d'investigation, expérimental par excellence, impose une recherche pluri- et trans-disciplinaire. La capacité des insectes à reconnaître et à localiser un hôte se justifie d'un point de vue évolutionniste et doit être considérée, tant au niveau de l'espèce qu'à celui de l'individu. Les modèles théoriques existants, qui mettent en liaison le milieu de l'insecte et le comportement des individus, sont actuellement très controversés. Les méthodes expérimentales telles que l'analyse du comportement, l'analyse physico-chimique de la stimulation olfactive et l'analyse de la stimulation optique, sont utilisées en parallèle avec l'étude des caractéristiques biologiques de l'espèce et de l'individu.

C'est dans ce champ d'investigation, en pleine évolution, que s'inscrivent les travaux présentés à l'occasion de ce rapport.

Chez les coléoptères phytophages, à l'exception des scolytes des résineux, peu d'études sont consacrées à la description des mécanismes de reconnaissance de l'hôte. De plus, ces études ne s'intéressent généralement qu'aux relations sémiologiques. Les relations existant entre *Hypothenemus hampei* (Ferr.) et sa plante-hôte n'avaient, jusqu'à présent, pratiquement pas été abordées. Or, le caractère monophage de ce ravageur et les particularités de sa biologie (cycle de développement totalement cryptique, reproduction frère-soeur, vol de colonisation, dépendance totale entre le niveau des populations et la fructification ... Fig. 1 & 2) font de cet insecte un modèle d'étude fondamentale particulièrement original et intéressant. L'originalité du modèle tient surtout dans le fait qu'une phéromone d'agrégation, du type de celles rencontrées chez de nombreux curculionides, ne se justifie pas en terme d'adaptation au milieu et donc que les relations inter-spécifiques sont dominantes.

Ces travaux ont été réalisés avec un souci constant de leur développement potentiel vers l'appliqué; en effet, *Hypothenemus hampei* est considéré comme le premier ravageur mondial du café et il sévit dans la quasi totalité des zones de production. Bien que très largement utilisée, la lutte chimique contre ce ravageur demeure chère et délicate et le nombre de composés actifs sur cette espèce est très

limité. De plus, les souches de scolytes du café résistantes identifiées en Nouvelle-Calédonie depuis la fin des années 80 laissent à penser que les traitements chimiques risquent d'induire également, ailleurs dans le monde, des résistances analogues. De ce fait, le recours aux traitements chimiques ne doit être envisagé que dans la mesure où les recherches actuelles ont pour finalité l'élaboration des différentes composantes d'une lutte intégrée.

Il est donc nécessaire de considérer les travaux réalisés ou à venir, en mettant en parallèle les connaissances acquises sur la phénologie de la plante-hôte et sur la dynamique des populations de scolyte dans les champs. Cette approche globale devrait permettre de mieux identifier les voies de recherche qui toutes visent à développer de nouveaux moyens de contrôle des populations.

L'objectif de cette étude est d'aborder la reconnaissance et la localisation de l'hôte de façon globale et de considérer les résultats acquis du point de vue de la colonisation du milieu.

I. PHÉNOLOGIE DU CAFÉIER ET DYNAMIQUE DES POPULATIONS

I.1. PHÉNOLOGIE DU CAFÉIER

En Nouvelle-Calédonie comme dans toutes les régions du monde où la présence de ce ravageur aboutit à une infestation de plus de 50% des cerises au moment de la récolte, on observe une succession de floraisons plus ou moins importantes, tout au long de l'année. Sur le territoire, et en particulier sur la côte Est, on note entre 10 et 15 floraisons sur les caféiers de type Robusta. En effet, le caféier est théoriquement apte à fleurir dès qu'une pluie supérieure à 5 mm succède à une période d'une quinzaine de jours de sécheresse. Cependant, en présence de pluies pratiquement continues (ex. Ponérihouen : environ 15 jours de pluie par mois), les caféiers ont tendance à fleurir également de façon anarchique, tout au long de l'année. Ces floraisons se traduisent, au cours des mois qui suivent, par une disponibilité équivalente de cerises sur les arbres. Deux ou trois mois après la floraison, les jeunes fruits atteignent les stades "semi-laiteux" et "laiteux", qui peuvent être considérés comme les premiers stades "utiles" pour la survie des femelles colonisatrices et la dynamique ultérieure des populations de scolytes.

La phénologie des caféiers est en réalité un phénomène complexe et extrêmement variable comme l'ont montré Antony et Le Pierrès en Côte d'Ivoire sur *C. congensis*. Ces auteurs ont suivi le comportement des ovaires issus de différentes floraisons et établi que la nouaison intervenait après la floraison, à l'issue d'une période 3 mois et demi (floraison tardive) à 5 mois (floraison précoces) ; de même, la période de fructification peut s'échelonner de 9 mois à 12 mois. Les travaux de ces auteurs ont également fait ressortir très clairement que le maximum de variabilité d'un génotype à l'autre concernait essentiellement les floraisons extrêmes (précoces ou tardives).

En Nouvelle-Calédonie, les récoltes de différents clones sur la station CIRAD-CP de Ponérihouen révèlent que les deux premiers mois (Mai & Juin) représentent 2%, 3%, 20 %, 50% du total récolté, respectivement pour les clones K26, NC9, HB, H865. Par contre, la récolte effectuée au cours du dernier mois (Septembre) pour ces mêmes clones est de 27%, 37%, 2% et 0%. Si on considère d'une part que seules sont prises en compte les récoltes des mois les plus "productifs", d'autre part que ces différents clones cohabitent généralement dans un même champ ou dans une même zone, on comprend mieux l'importance de l'étalement des floraisons et des fructifications correspondantes sur l'étalement de la disponibilité des cerises pour le scolyte.

D'une façon schématique, la phénologie des caféiers peut être représentée par la production de cerises qui apparaissent sur l'arbre sous forme de "vagues successives" d'importance variable selon que les floraisons ont été limitées à quelques branches de certains arbres, ou généralisées à la majeure partie de la plantation.

Si les floraisons anarchiques (très précoces ou tardives) peuvent être "négligeables" eu égard au pourcentage de la récolte qu'elles représentent, il en est autrement si on examine le rôle des rares fruits qu'elles produisent sur la dynamique

ultérieure du ravageur. Ceci est d'autant plus vrai que l'on observe une grande variabilité, tant individuelle que d'un clone à l'autre, en ce qui concerne la répartition des floraisons dans le temps.

Cet étalement de la présence des cerises, relativement imprévisible d'une année sur l'autre, permet à son tour le développement successif d'un nombre d'autant plus important de générations de scolytes au cours d'une saison de production que les floraisons ont été échelonnées.

I.2. DYNAMIQUE DES POPULATIONS

La dynamique des populations du scolyte peut être caractérisée par différentes phases, qui s'articulent autour de la phénologie de sa plante-hôte, le caféier.

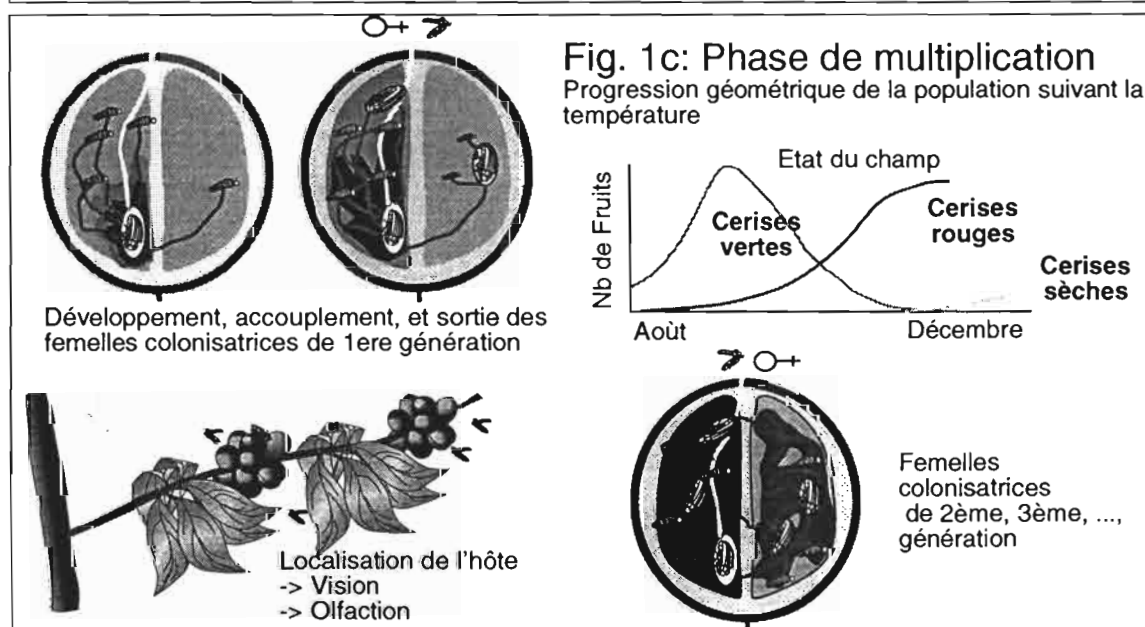
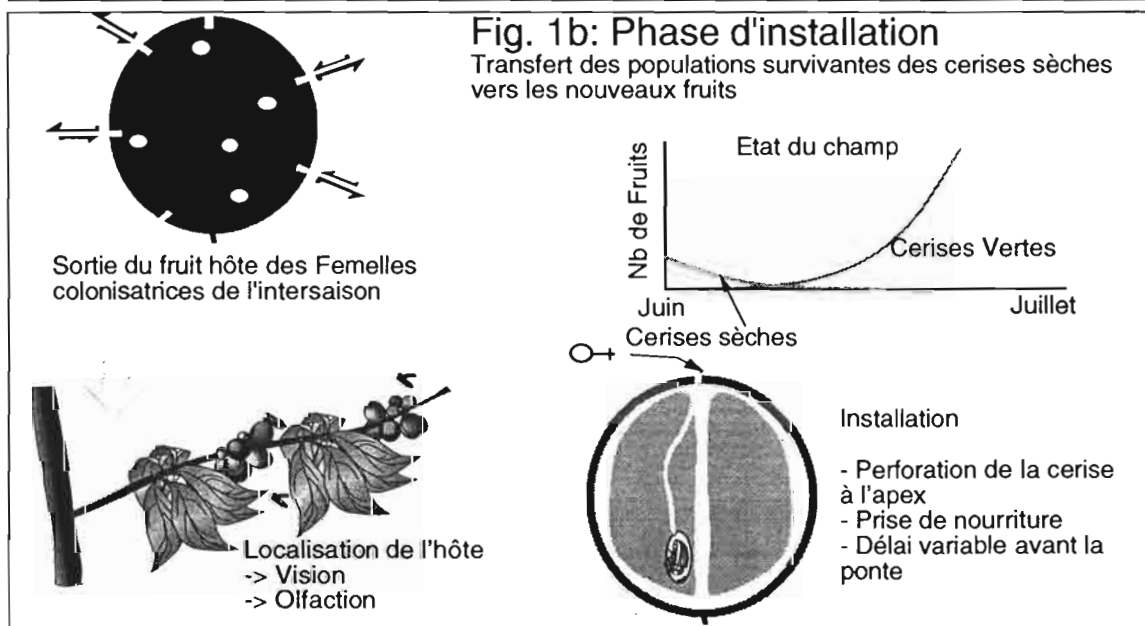
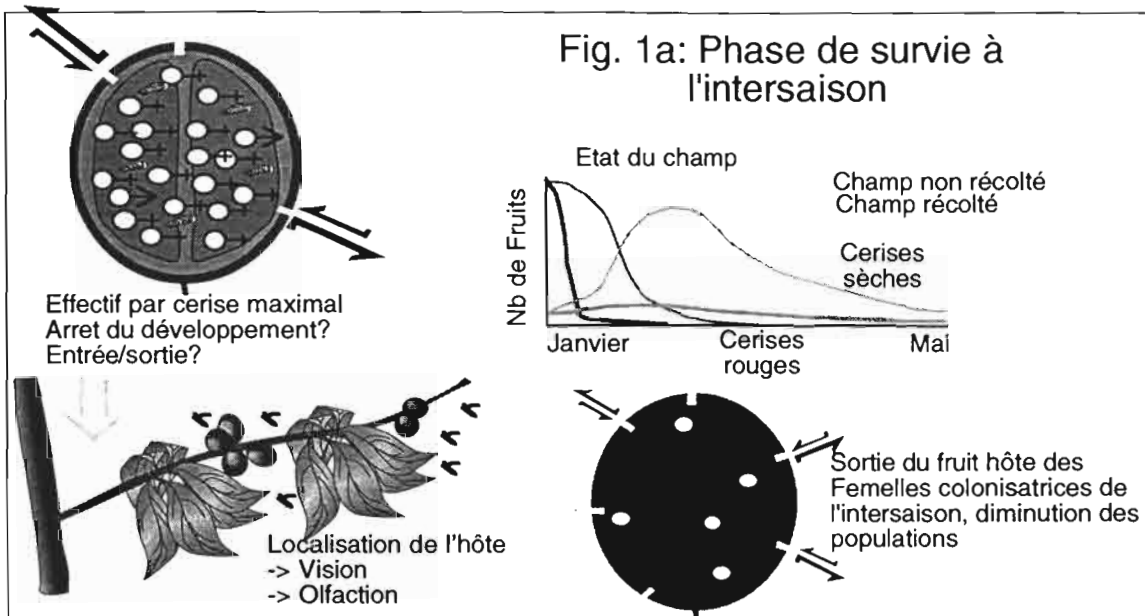
I.2.1. Phase de survie (Fig. 1a)

En Nouvelle-Calédonie, cette période qui correspond à l'intersaison se situe pour les clones de la variété "robusta" entre janvier et mars et au cours des mois d'Octobre-Novembre à Janvier pour ce qui est des Arabica. Cependant, la durée de ces périodes peut varier d'une année sur l'autre et d'une région à une autre, en fonction des fluctuations saisonnières et en particulier des précipitations.

Les femelles présentes dans les champs à l'intersaison sont celles issues de la dernière génération développée à partir de la précédente saison de production et ayant survécu. Ces femelles semblent devoir leur longévité à leur comportement cryptique, à l'intérieur des cerises sèches qui les protègent des agressions environnementales extérieures tout en limitant leur dépense énergétique. Il a été établi qu'un certain nombre de facteurs environnementaux contribuent à déclencher l'émergence des femelles des cerises sèches et à induire le comportement de recherche de nourriture et/ou d'un site de ponte. Parmi ces facteurs, l'augmentation subite de l'humidité relative qui fait suite aux fortes pluies qui sévissent entre Janvier et Mars, joue un rôle primordial. Cependant, nous avons également démontré en laboratoire que la proximité de cerises vertes et de cerises sèches (qui abritent ces femelles dites "colonisatrices"), induit une sortie plus importante, confirmant l'importance des effluves émis par les jeunes cerises dans les processus de recolonisation d'un champ.

Malgré les connaissances acquises sur cette phase de l'insecte, différents points demeurent encore obscurs, en particulier en ce qui concernant la durée réelle de survie des femelles dans les champs, après leur sortie des cerises (au laboratoire, les femelles demeurent en vie un peu plus de deux semaines, en l'absence d'alimentation). Il est probable que leur déplacement par le vol lors de la recherche d'un hôte limite de façon très importante cette durée de vie, d'autant plus que divers auteurs ont signalé que ces femelles "colonisatrices" présentaient des atrophies des muscles alaires indiquant de faibles réserves énergétiques.

A la fin de l'intersaison, le nombre d'habitats (cerises sèches) devient extrêmement réduit, une grande partie des fruits résiduels tombent au sol à la faveur des coups de vent ou des accidents climatiques tels les cyclones. Les fruits secs qui demeurent sur les



arbres à cette période sont généralement vidés de leurs graines. Celles-ci sont en effet consommées par les dernières femelles et leur progéniture, ou encore par des femelles qui se seraient regroupées à l'intérieur des rares cerises présentes à l'intersaison.

1.2.2. Phase d'installation (Fig. 1b)

La phase d'installation fait immédiatement suite à la phase de survie. Elle est très probablement, le plus souvent, imbriquée avec cette dernière. Du recouvrement de ces deux phases dépend les chances de survie des femelles d'une saison à la suivante. Les probabilités de succès dans l'installation des femelles colonisatrices sont fonction de la proportion relative des jeunes fruits verts à côté des fruits secs résiduels et de leur proximité.

La présence simultanée, dans le même champ, de cerises sèches et des cerises vertes, est fonction de divers critères qui interviennent sur ces deux types de fruits :

- Le nombre de fruits secs est en relation direct avec la façon plus ou moins exhaustive avec laquelle ont été faites les dernières récoltes (facteur humain), alors que la durée de leur maintien sur les arbres dépend essentiellement des conditions environnementales.

- Le nombre de fruits verts disponibles est essentiellement lié, pour une variété donnée, au régime pluviométrique qui peut induire d'une année sur l'autre, un nombre plus ou moins important de floraisons anarchiques et en particulier de floraisons précoces.

1.2.3. Phase de multiplication (Fig. 1c)

Au niveau de la cerise, cette phase débute dès que la drupe de café devient favorable au dépôt de la ponte et au développement larvaire. Suivant l'hétérogénéité de maturation des arbres d'une même plantation, les phases de survie et d'installation se chevauchent plus ou moins (de quelques semaines à plus d'un mois). Ensuite, la croissance de la population est directement dépendante de la température moyenne.

L'augmentation potentielle de la population sera fonction de la précocité des installations initiales et de leur importance. Quand ces deux facteurs favorables seront réunis, on aboutira à une population considérable en fin de saison, qui pourra concerner toutes les cerises du champ. Dans ces conditions (caractérisées par un nombre croissant d'infestations multiples en période de récolte), on assistera à une croissance géométrique de la population. On peut même supposer que la saturation du disponible trophique peut représenter une certaine limitation dans la croissance de la population. Au contraire, quand la combinaison de divers facteurs environnementaux et humains n'aura permis qu'à un nombre très limité de femelles de survivre à l'intersaison, ou quand la présence de jeunes fruits verts sera très limitée, on aboutira à un seuil plus bas au moment de la récolte.

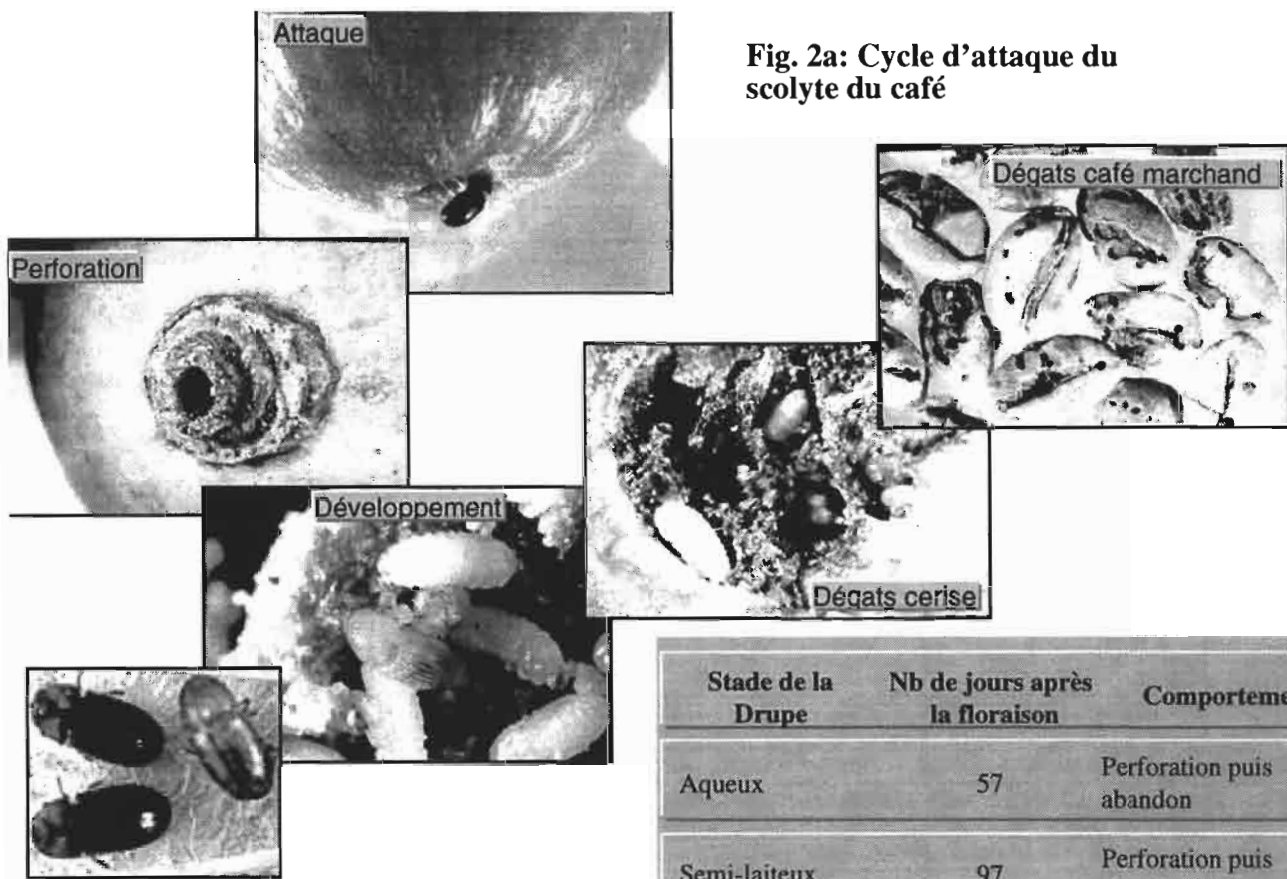


Fig. 2a: Cycle d'attaque du scolyte du café

Stade de la Drupe	Nb de jours après la floraison	Comportement
Aqueux	57	Perforation puis abandon
Semi-laiteux	97	Perforation puis abandon
Laiteux	107	Attente dans la galerie de pénétration (Prise de nourriture?)
Semi-Consistant	137	Préparation de la chambre d'oviposition puis ponte

Fig. 2b: Installation.

La femelle colonisatrice perce le pédoncule, puis progresse dans la pulpe jusqu'à la graine. Le comportement de *H. hampei* va alors dépendre de la maturité de l'endosperme.
adapté de Pénados *et al.* (1981).

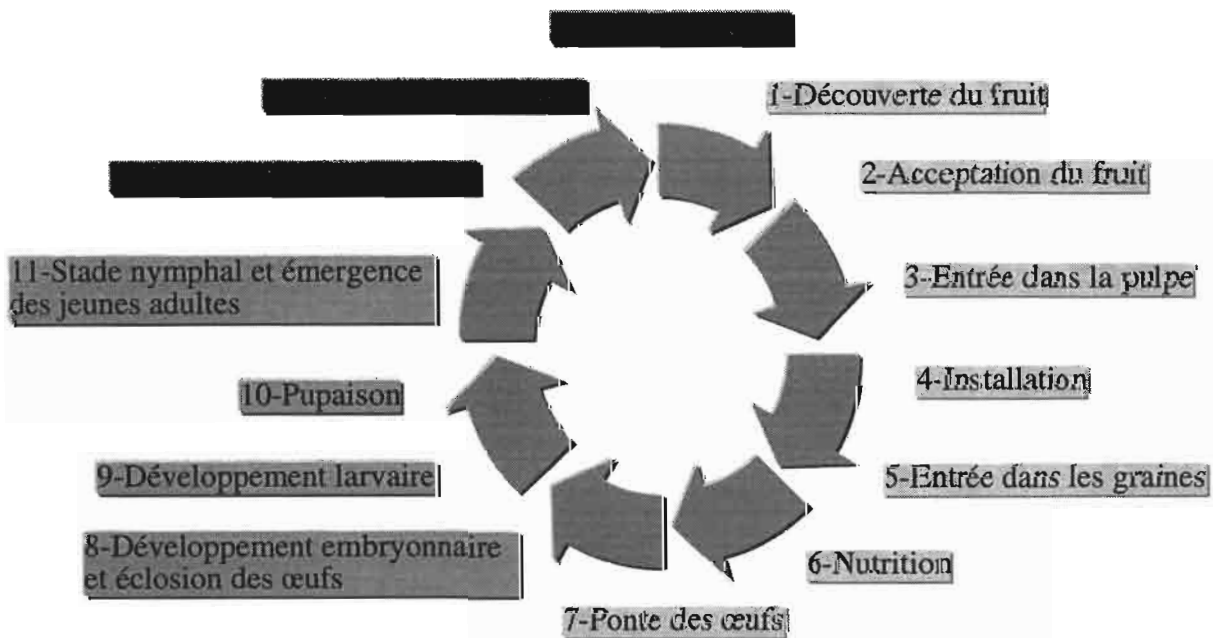


Fig. 2c: Cycle d'attaque du café de *H. hampei*.
adaptée de Koch (1973).

II. ÉCOLOGIE CHIMIQUE DU SCOLYTE DU CAFÉ

II. 1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1.1. Le Bio-test olfactif

Les objectifs poursuivis avec ce dispositif sont d'obtenir une liste de stimuli naturels ou artificiels actifs sur l'insecte et de savoir à quel stade physiologique particulier il répond. Ce plan d'expérience a été également réalisé avec une stimulation visuelle.

Le dispositif se compose de deux parties: l'arène de marche (AM) et le porte-stimuli (PS) (Fig. 3a). La structure ouverte du dispositif de marche favorise une émission isotrope des substances volatiles dans une atmosphère libre et stable. Par conséquent, aucun flux d'air n'est utilisé pour véhiculer les odeurs.

Dans un tel dispositif, l'évaluation expérimentale des concentrations perçues par les insectes au niveau du support de marche est impossible. En effet, le prélèvement d'échantillon provoquerait une trop grande perturbation de l'équilibre thermodynamique. Les grandeurs mises en jeu au niveau du support de marche sont donc évaluées à partir d'un modèle théorique, basé sur l'équation de la diffusion.

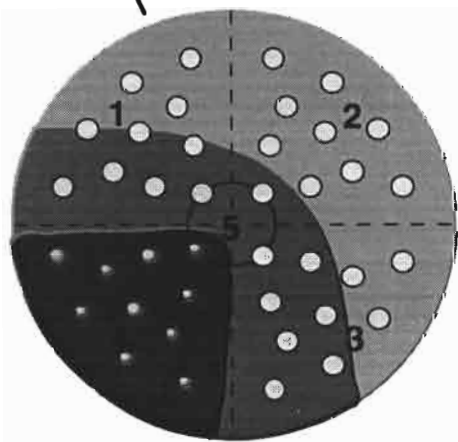
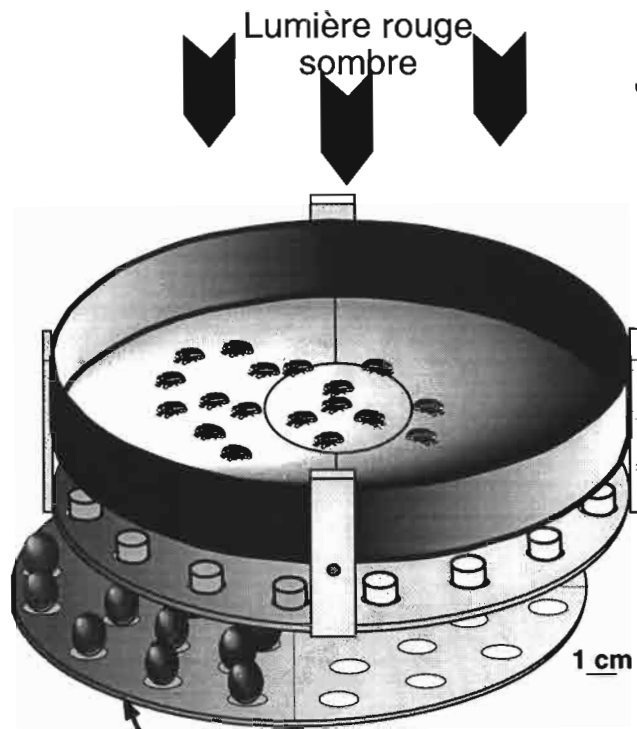
$$U(r,t) = \int_0^t \frac{Q(t)}{(4\pi Dt)^{3/2}} \cdot e^{-\frac{r^2}{4Dt}} \cdot dt \quad (3. 1) \text{ avec } U(r,t)=0 \text{ quand } t=0$$

Avec :

- U : densité de la molécule en molécules par centimètre cube,
- t : temps en seconde,
- r : distance à la source en centimètre,
- Q : vitesse d'émission en molécules par seconde,
- D : coefficient de diffusion de la molécule en centimètre carré par seconde.

La mise en évidence d'une relative stabilité des gradients de concentration dans le temps permet de subdiviser le support de marche en 3 zones distinctes (Fig. 3a, 3b, 3c 3d.). La zone 1, de faible gradient de concentration, est la plus éloignée des sources. La zone 2, qui correspond au maximum d'intensité des gradients de concentration et qui englobe la zone d'introduction des insectes, se situe aux abords immédiats des sources. La zone 3, qui présente des gradients de concentration irréguliers, se situe directement à la verticale des sources.

Du fait des particularités de chaque zone, le comportement de recherche de *Hypothenemus hampei* va dépendre de la position de celui-ci sur le support de marche. Dans les zones 1 et 2, une réponse du type chimiotactique peut permettre à l'insecte de s'orienter de la zone la moins odorisée vers la zone la plus odorisée. Dans la zone 3, la concentration atteint un maximum et le gradient de concentration devient irrégulier. Par



Zone 1
 Zone 2
 Zone 3

Fig. 3a: Olfactomètre de marche en atmosphère statique

Conditions expérimentales :

- Lumière rouge,
- 27°C, 85 %HR, 20 à 30 insectes introduits en même temps.

Variable numérique exploitée :

- moyenne des relevés à 40, 80, 120 et 180 secondes du nombre de *H. hampei* présents par secteur.

Dans ces conditions expérimentales, la vision n'intervient pas dans la réponse du scolytes.

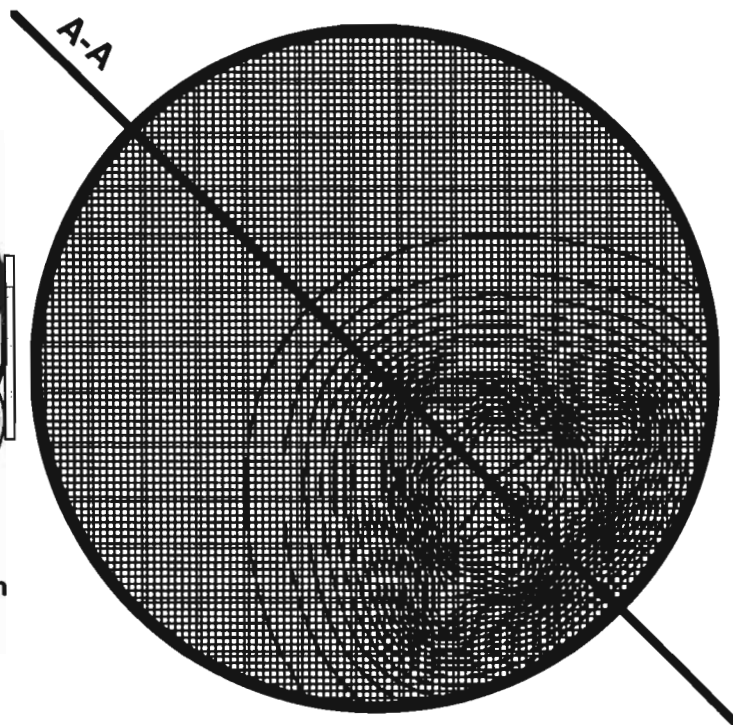


Fig. 3b: Simulation numérique de la distribution des molécules produites par 10 sources ponctuelles après 60 secondes d'émission. Une source émet 1.10^{16} molécules d'éthanol par seconde.

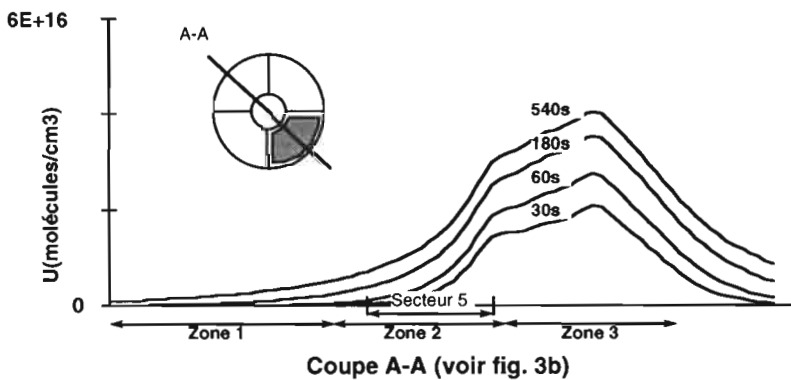


Fig. 3c: Concentration dans l'arène de marche après différentes durées d'émission pour 10 sources ponctuelles.

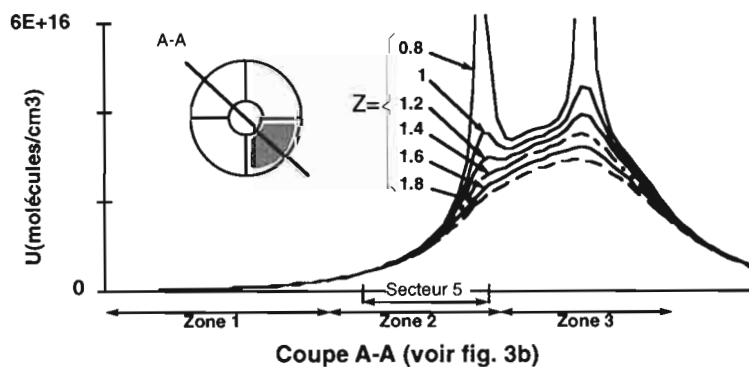


Fig. 3d: Concentration dans l'arène de marche suivant la distance (z en cm) entre celle-ci et le porte stimuli (cas de 10 sources odorantes).

conséquent, un insecte présentant une réponse chimiotactique positive serait "fixé" à proximité du maximum de concentration.

II.1.2. Analyse chimique

Pour comprendre la stratégie de colonisation développée par ce séminivore, il est nécessaire de caractériser les molécules ou les mélanges impliqués dans le processus de colonisation de l'hôte.

L'environnement olfactif du scolyte est étudié suivant des facteurs tels que la variété, la maturité du fruit, le temps entre la cueillette et l'analyse ainsi que l'infestation du fruit. Cette étude présente l'identification et l'estimation des quantités des constituants élémentaires des effluves émises par les cerises fraîches de café.

->(i) *La collecte* est une technique sensible d'échantillonnage permettant d'extraire les substances contenues dans un volume d'air donné. Cette technique présente deux avantages : d'une part elle ne rend compte que des molécules réellement émises par la source, d'autre part elle perturbe très peu les conditions d'émission thermodynamique et cinétique. Afin d'établir les paramètres de collecte, d'obtenir une bonne qualité de la représentation du bouquet odorant émis, et de calculer les limites de détection de la méthode, nous avons dû mener une mise au point rigoureuse (Fig. 4a, 4b, 4c).

Nous avons pu établir la relation suivante:

$$\text{si } V_{g^T} > \frac{D \cdot T_c}{M} : Q_{tem} = \frac{V_d}{V_i} \cdot K_c \cdot K_d \cdot L_{FID}$$

$$\text{si } V_{g^T} < \frac{D \cdot T_c}{M} : Q_{tem} = \frac{D \cdot T_c}{M \cdot V_{g^T}} \cdot \frac{V_d}{V_i} \cdot K_c \cdot K_d \cdot L_{FID}$$

Avec :

V_{g^T} : Volume de rétention du produit par gramme d'adsorbant et à la température T en °C. (ml/g),

D: Débit de collecte (ml/min),

Tc: Durée de collecte (min),

M: Masse d'adsorbant dans le piège (g).

Qtem: Quantité minimale de substance émise sur la durée de la collecte et pouvant être détectée.

Vd : Volume de désorption du piège (ml),

Vi : Volume injecté en GC (µl),

Kc: Coefficient de concentration

Kd: Coefficient de désorption, évalué à 1,25

L_{FID} : Limite de détection du détecteur FID (pg)

Ces relations ont été utilisées, d'une part pour choisir les conditions de collecte d'effluves en fonction des objectifs et des contraintes des différentes expériences, d'autre part pour estimer les limites de détection.

-> (ii) *La SPME (Solid Phase Micro Extraction)*. La technique de la collecte d'effluves sur polymère poreux ne permet pas l'étude de composés très légers, surtout

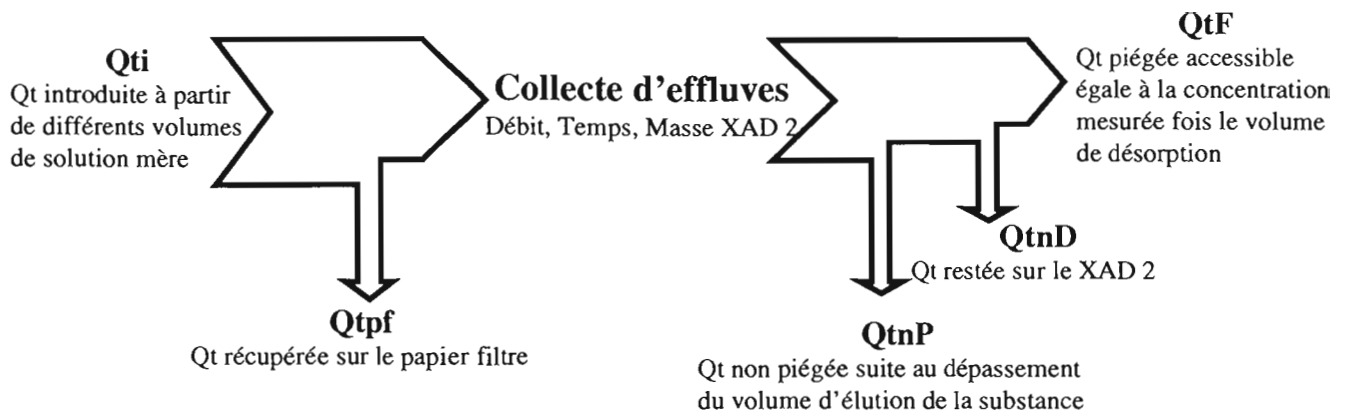


Fig. 4a: Méthode d'évaluation des différentes quantités.

Qt_i: La solution mère est diluée dans un volume équivalent à celui de la désorption. **Qt_i** est directement mesurée avec cette dilution en GC.

Q_{tpf}: Mesurée en GC.

Qt_F: Mesurée en GC.

Q_{tnP} et **Q_{tnD}** ne sont pas directement accessibles mais peuvent être estimées de la manière suivante:

1) Estimer **Q_{tnD}** pour les molécules les plus lourdes et donc où **Q_{tnP}** est égal à 0 avec

$$Q_{tnD} = Q_{ti} - Q_{tpf} - Q_{tF}$$

2) Estimer **Q_{tnP}** avec $Q_{tnP} = Q_{ti} - Q_{tpf} - Q_{tnD} - Q_{tF}$.

d'où: $Rd(\%) = \frac{Q_{tF}}{(Q_{ti} - Q_{tpf})} \times 100$.

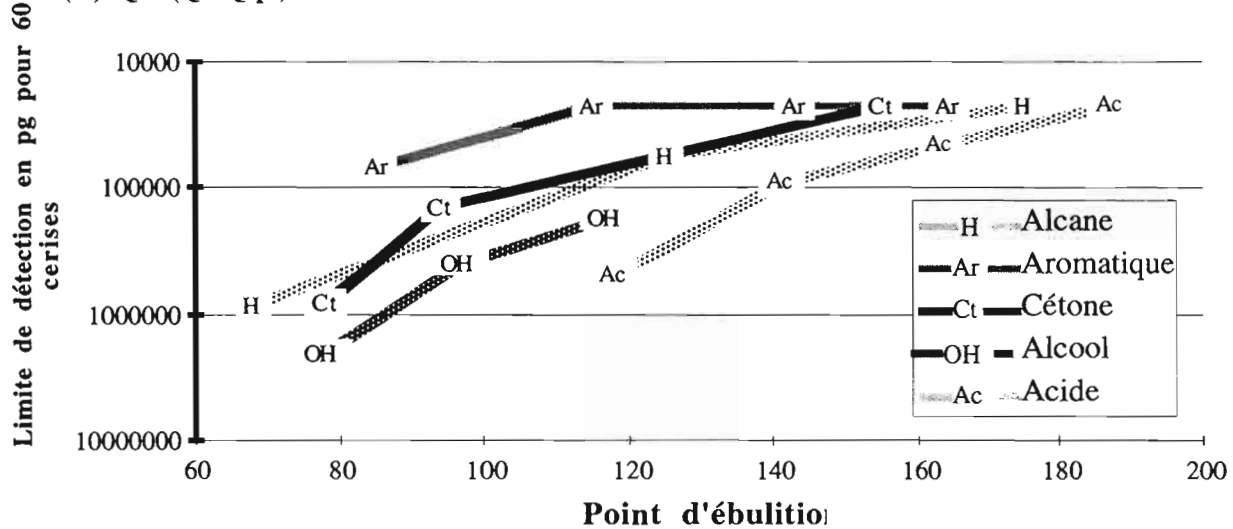


Fig. 4b: Limite de détection théorique de la méthode.

Echantillonnage: collecte d'effluves. Analyse: chromatographie gazeuse et détecteur FID.

Limite de détection en pg émis par cerise sur la durée de la collecte avec $K_s=0,1$ $K_d=4/5$, LFID=500pg, $V_i=2\mu l$.

Conditions de collecte d'effluves, $M=0,12g$, $D=40 ml/min$, $V_d=500\mu l$, $T_c=600min$, Nb de cerises=60.

Les V_{gT} des différentes molécules sont issus des travaux de Gallant et al. (1979).

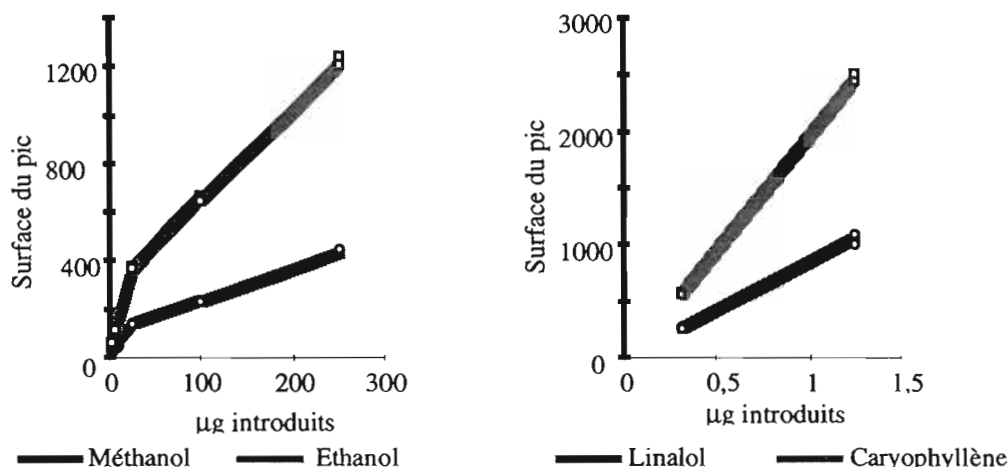


Fig. 4c: Calibration de quelques substances en SPME.

s'ils sont polaires. Afin d'étudier cette gamme de composés, F. Mathieu a introduit au laboratoire des Médiateurs chimique une technique récente, la SPME. Les quantités de substances identifiées par cette technique sont estimées à l'aide d'un étalonnage externe basé sur des courbes de calibration obtenues avec du méthanol, de l'éthanol, du linalol et du caryophyllène (Fig. 4e).

(iii) *Extraction par solvant.* Des analyses complémentaires ont été réalisées par rinçage avec un solvant organique.

(iv) *L'identification* est réalisée par CGP-SM (Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse).

II.1.3. Piégeage en milieu "semi-contrôlé"

Le dispositif expérimental est composé de deux parties: le piège et la tente.

Un prototype de piège a été mis au point; il est constitué de 5 entonnoirs dont le 2ème et le 4ème sont munis d'un diffuseur de substances attractives. Des pièges construits sur ce modèle ont été utilisés dans un dispositif clos ou "semi-contrôlé" (tente aérée). Ils font l'objet d'expérimentation "au champ", en cours d'analyse.

Quatre pièges sont placés dans une tente fermée qui tient lieu de zone de piégeage. La tente est constituée d'un tissu aéré permettant une bonne ventilation de la zone de piégeage mais empêchant les insectes de s'échapper. Chaque jour, 300 à 400 femelles colonisatrices sont introduites entre 15h et 16h au centre de la tente, soit à équidistance des pièges. Vers 8 heures le lendemain matin, les insectes piégés sont comptés.

Lors des expériences en milieu contrôlé, l'objectif du travail a été double. Tout d'abord, il s'agit de vérifier et de valider, dans un contexte "plus naturel" (le vol), les résultats obtenus au laboratoire lors de stimulations indépendantes, visuelles et olfactives, sur des insectes en phase de marche. Ensuite de développer un système de piégeage qui puisse trouver diverses applications dans le cadre d'une lutte intégrée.

II.1.4. Piégeage en champ, expérimentation en cours

La parcelle d'étude est située sur le domaine expérimental de Pocquereux près de La Fao. Elle est plantée avec la variété *C. canephora* Pierre var. *robusta*. Pendant une dizaine d'années, la parcelle a été normalement entretenue (nettoyages, traitements phytosanitaires, récolte systématique...) et n'avait qu'un très faible taux d'attaque. Cependant, au cours des deux dernières années précédant notre expérience, la parcelle a été abandonnée et la dernière récolte n'a pas été assurée. Pendant l'année qui a précédé notre expérimentation, deux foyers d'infestation sont apparus simultanément, séparés de 150m. Ces foyers étaient localisés sur 2 ou 3 arbres.

Dans un secteur, du champ contenant à une extrémité un foyer d'infestation, 25 arbres sont numérotés et répartis en 4 zones. Les 4 zones sont désignées par:

-> la zone "Foyer" qui contient les 3 arbres détectés à l'intersaison précédente comme foyers d'infestation,

-> les zones "Rang 1", "Rang 2" et "Rang 3" qui contiennent les arbres groupés selon leur éloignement par rapport au foyer d'infestation.

Douze pièges sont installés dans la parcelle en tenant compte des indications données lors des expérimentations en milieu "semi-contrôlé". Une 5ème zone de "Rang 4" est située à l'extérieur de la parcelle. Deux pièges supplémentaires, placés à une quinzaine de mètres de la bordure du champ se trouvent également dans cette zone.

Les résultats des expérimentations en milieu "semi-contrôlé" nous ont permis d'élaborer le protocole de piégeage en champ. De fait, les critères suivants ont été retenus:

- utilisation de pièges à entonnoirs multiples avec une boîte de réception des insectes contenant du milieu d'élevage broyé.
- choix de la couleur rouge pour les pièges,
- positionnement des pièges à hauteur d'homme, à proximité immédiate des arbres et à l'abri du soleil,
- choix du mélange méthanol-éthanol (1/1) comme attractif,
- utilisation de la dose d'émission minimum testée (0,5g/jour/diffuseur).

Le suivi des vols (relevé des pièges), le remplacement du mélange méthanol-éthanol et le remplacement du milieu d'élevage sont hebdomadaires. Les boîtes de réception sont rapportées au laboratoire puis les insectes sont triés sous une loupe binoculaire et comptés.

Trois variables sont utilisées: tout d'abord, la somme des effectifs capturés sur un relevé hebdomadaire de piégeage nommé "effectifs capturés". Ensuite, deux variables sont dérivées de la moyenne des effectifs capturés par jour pour un piège donné et à un relevé hebdomadaire donné que nous nommerons "effectif journalier". La première variable dérivée est la moyenne par zone des effectifs journaliers. La deuxième est la moyenne par zone du pourcentage par piège des effectifs journaliers.

Pour chacun des 25 arbres numérotés, les rameaux portant des fruits sont comptés. Sur chaque arbre, 5 rameaux pris au hasard sont numérotés. A chaque relevé et sur chacun des 5 rameaux, nous avons compté le nombre de cerises rouges, vertes et sèches ainsi que le nombre de cerises rouges infestées, vertes infestées et sèches infestées. Une cerise infestée est caractérisée par la présence d'un trou de pénétration qui, dans 99% des cas, se situe à l'apex du fruit. L'évaluation de la fructification et du taux d'infestation est réalisée par zone et à chaque date de relevé.

Chaque fois qu'un arbre a présenté un taux d'infestation suffisant, soit approximativement supérieur à 5 %, un échantillon d'une dizaine de cerises infestées est prélevé au hasard en dehors des rameaux numérotés.

Les aspects appliqués et théoriques ont tous deux été poursuivis.

La finalité de cette étude est de vérifier la possibilité d'utilisation de ces prototypes de pièges pour l'étude des vols, en relation avec les effectifs des populations

présentes sur les arbres. A plus long terme, ce cadre d'étude doit permettre d'estimer les possibilités : d'une part d'utilisation d'un système de piégeage pour le suivi et la prédiction des infestations, d'autre part pour tenter de lutter contre ce ravageur par un piégeage de masse. De même, à plus long terme, l'utilisation conjointe d'un système de piégeage et d'un biopesticide pourrait faciliter la diffusion de ce dernier.

Le but théorique est d'apporter des données sur la dynamique de vol de l'insecte en liaison avec la dynamique de l'infestation, la phénologie de la parcelle et les données climatiques. Ces données permettront de mieux comprendre les mécanismes de colonisation du milieu, comme les mécanismes de survie à l'intersaison et les mécanismes de transfert des populations des vieilles cerises sèches aux premières cerises vertes disponibles.

Ce type d'étude nécessite : un suivi des vols ainsi que de la population à l'intérieur des cerises, un relevé des ressources trophiques sur la zone d'étude. Ces diverses données seront à interpréter en fonctions des principaux paramètres climatiques.

II. 2. RÉSULTATS

II.2.1. Identification (Fig. 5)

La SPME et la collecte d'effluves se sont avérées complémentaires. La SPME a principalement permis de montrer la présence de grandes quantités de méthanol et d'éthanol (Fig. 5b) alors que la collecte d'effluve a permis d'identifier un grand nombre de molécules d'éthanol (Fig. 5a).

Sur l'ensemble des analyses réalisées, soixante-dix composés ont été séparés. Ces substances peuvent provenir de la fermentation des sucres (certaines substances des groupes alcools, acétates et cétones/aldéhydes), ou du métabolisme secondaire du végétal (terpènes et sesquiterpènes). D'autres substances oxygénées (composés de l'odeur verte ou "green odors volatiles") peuvent également être issues de la dégradation des lipides cuticulaires.

Les cerises de café infestées par le scolyte sont caractérisées par l'émission de quelques substances azotées qui leurs sont spécifiques (Fig. 5a). Il est probable que ces molécules proviennent de la dégradation des cerises attaquées, voire plus précisément de la dégradation des glucosinolates, plutôt que des populations de scolytes. Ces molécules peuvent donner l'information à un congénère ou à un parasite sur l'état "infesté" de la cerise de café, se traduisant par un effet "répulsif" ou "attractif". La maturation des fruits modifie radicalement le bouquet odorant émis par les cerises de café selon deux mécanismes:

-> les substances des groupes terpènes et sesquiterpènes sont très peu produites au stade vert puisque les quantités émises passent par un maximum au stade rouge et décroissent lorsque le fruit sèche sur l'arbre.

-> les groupes oxygénés sont également peu représentés au stade vert. Ensuite, le taux d'émission ne va pas obligatoirement augmenter dès le stade rouge puisque certains échantillons du stade rouge présentent des quantités minimales de substances oxygénées

Technique	Collecte d'effluve (a)									SPME (a)						En ng émis en 45 min		
	Rob.			Ar.1			Rob.			Ar.2	Ct	Rob	Ar.1	Ct	Nom Produit	Rob.	Arab.1	Ct
Variété	Gadgi			LMC			LaFoa			NC	Foa	Gadj	LMC	Foa				
Localité	V	R	S	V	R	Sa	R	Rs	R	R	R	R	R					
Maturité	8	19	28	1	9	15	25	31	4	5	15	8	3					
Nombre de pics	161	3553	7972	12	423	1607	5188	8176	264	180	1960	407	146					
Surface intégrée totale																		
Substance																		
Méthanol											33	14	30					
Ethanol											130	16						
Butanalméthoxyime									13									
Pentan-3-one			400															
Pentan-2-one	17		541				101	140		25	38		90					
But-3-en-2-ol								22										
Pentan-2-ol			145		45		118	85										
Hydroxy-3-butan-2-one			142	43	41				89			18						
? 2 Rob Rs								16										
3-Méthyl-2-oxazolidone								45										
Thréonine ethyl ester								36										
Méthyl-3-but-3-en-1-ol			178	3	14					5								
Isopentan-1-ol			104	22	179					20	25					26		
Méthyl-2-butan-1-ol			67	22	159													
1,1-diméthyl cyclopropane			14		20													
Acétate d'isobutyle	4		85				24	104	150		63							
Butan-2,3-diol			39		107													
Méthoxy-1-propan-2-ol	27		15		131													
Hexanal			300		19													
Méthyl-3-butan-2-one-méthoxyime								161										
Acétate de butyle		5					9	9										
Acétate de 2-pentyle		12	160				148	115	5									
Ac. isobutanioique éthyl ester		5	60				91	55										
Acétate d'isopentyle							11	12										
? RobS			46															
Hexan-1-ol			265															
Heptan-2-one			59		234		23	15										
Heptan-2-ol			74		478													
Thujène		5					14	39										
Alpha pinène	8	232	32		10		244	515			83	17						
Camphène	21	29					48	156			12							
Sabinène		12					13	39										
Béta pinène		98	12		8		93	174			31	18						
Myrcène		131			11		130	255			42	12						
Terpène							9	17										
Cymène		15	71				26	43			15							
Limonène	9	2184	334	12	198	41	2505	4537			1059	235						
Acétate de 2-heptyle			26				29	30										
Oxyde de linalol -cis-							25											
Oxyde de linalol -trans-							21											
Linalol					106	93						77						
Salicylate de méthyle			4278															
Salicylate d'éthyle			33															
Terpène oxygéné			235															
Acétate de bornyle																		
Copaène		14					30	37			5							
Bourbonène		47					69	67			5							
Longifolène																		
Caryophyllène	52	456	146				939	806		75	214							
Béta gurjunène			5				11	17										
Humulène	23	253	111				431	524		50	202							
Gamma muuroène			40															
D-germacrène			5				61	68										
Sesquiterpène			5				11	24				28						

Fig. 5a: Récapitulatif des molécules identifiées.

a Valeur en surface de pic (le facteur de réponse du détecteur FID n'est pas pris en considération)

Fig. 5b: Estimation par SPME des quantités émises par 20 cerises de café.

tandis que d'autres échantillons en présentent de grandes quantités. On note une forte variabilité quantitative de ces substances détectées sur cerises rouges. Par contre, les échantillons analysés au stade sec contiennent systématiquement de grandes quantités de substances oxygénées.

D'une manière générale et à l'exception des substances spécifiques du café infesté, les produits identifiés sont ubiquistes et se rencontrent chez un bon nombre de fruits.

L'étude des différentes variétés au stade rouge montre une surprenante diversité de bouquets odorants. Cette diversité, tant quantitative que qualitative, est dépendante de la variété. Un des *arabica* analysé ainsi qu'un des *robusta* émettent si peu de produits volatils qu'aucune molécule n'est détectée en collecte d'effluves. A l'opposé, le bouquet odorant de la variété *robusta* Linden producteur se compose d'une trentaine de composés. Ainsi, aucune molécule n'est commune à l'ensemble des variétés. En conséquence, on peut émettre l'hypothèse qu'aucun des produits identifiés en collecte d'effluves n'est obligatoire dans l'attraction de *H. hampei* vers le café frais puisque toutes les variétés sont attractives. Cependant les trois variétés analysées en SPME, produisent du méthanol. Cette molécule est donc particulièrement intéressante. De plus, il est probable que le scolyte reconnaisse ses hôtes à l'aide de plusieurs mélanges clés.

II.2.2. Olfaction (Fig. 6)

(i) *Comportement de recherche.* Les observations visuelles d'un grand nombre de tests réalisés dans l'olfactomètre de marche à atmosphère statique permettent de dégager quelques comportements du scolyte suivant les différents stimuli utilisés.

En l'absence d'odeur, les femelles colonisatrices placées sur l'olfactomètre se dirigent aléatoirement dans l'un ou l'autre des secteurs. Par rapport aux tests avec odeur, les trajectoires sont plus rectilignes et les vitesses de déplacement apparemment plus constantes.

En présence de cerises rouges fraîches, d'extraits aqueux de cerises rouges fraîches ou du mélange 3 alcools dilué 10 fois, le comportement suivant est observé : lorsqu'un groupe de femelles est introduit au centre de l'arène, un faible pourcentage marche vers les secteurs "blanc" alors que la majorité se dirige directement vers le secteur odorisé, suggérant une "attraction" et une orientation de type "direct-chemo-orientation" (chimiotaxie). Cette réponse comportementale est notée F pour forte dans le tableau récapitulatif (Fig. 6)

Dans les secteurs odorisés, le déplacement est suivi, pour une majorité de femelles, par un ralentissement de l'activité de marche. Parfois, une femelle ou des femelles groupées en agrégat s'arrêtent momentanément (de quelques secondes à une minute) à la verticale des stimuli olfactifs. Ce comportement suggère une réponse de type "cinèse". La densité des insectes augmentant, il s'ensuit une augmentation des rencontres entre individus provoquant des arrêts momentanés. Ce phénomène amplifie le nombre de femelles enregistrées dans ces secteurs.

Femelle	Stimuli	Réponse	Comportement	
Essais cerises de café				
Collonisatrice sauvage	Rob. Vert 4heures	+	f	
" "	Rob. Rouge 4heures	+	F	
" "	Arab. Rouge 4heures	+	F	
" "	Cat. Rouge 4heures	+	F	
" "	Rob. Rouge 24heures	+	F	
" "	Arab. Rouge 24heures	+	f	
" "	Cat. Rouge 24heures	0		
" "	Rob. Rouge 72heures	+	f	
" "	Arab. Rouge 72heures	0		
" "	Cat. Rouge 72heures	0		
" "	Rob. Rouge 144heures	0		
" "	Rob. Rouge 4heures infesté	+	F	
Essais extraits (Cat. Rouge 4heures)				
" "	Extrait CH ₂ Cl ₂	+	f	
" "	Extrait Hexane	+	f	
" "	Extrait Eau	+	F	
" "	Extrait Eau oxydé 3 jours	-	?	
Essais Physiologie				
Colonisatrice sauvage -?	Rob. Rouge 4heures	+	f	
Vierge élevage 5jours	" " "	0		
Vierge élevage 10jours	" " "	0		
Vierge élevage 33jours	" " "	-	?	
Fécondée élevage sans ponte 5jours	" " "	0		
Fécondée élevage sans ponte 18jours	" " "	-	?	
Fécondée élevage avec ponte 18jours	" " "	0		
Fécondée élevage avec ponte 30jours	" " "	0		
Colonisatrice élevage -?	" " "	+	f	
Fécondée élevage 10jours	" " "	0		
Fécondée élevage 30jours	" " "	-	?	
Vierge élevage 10jours	" " "	0		
Essais alcools				
Collonisatrice sauvage		10000	+	f
" "	Mélange de 3 alcools.	1000	+	f
" "	Méthanol, Ethanol et	500	+	f
" "	Isopropanol (1:1:1) dilué :	200	+	f
" "		10	+	
" "	Ethanol:Méthanol 1:1 (dilué 1000x)		+	f
" "	Méthanol (dilué 1000x)		+	f
" "	Ethanol (dilué 1000x)		0	
" "	Isopropanol (dilué 1000x)		0	
Essais acides				
Collonisatrice sauvage		10000	0	
" "	Mélange de 2 acides. Ac.	1000	-	f
" "	méthanoïque et Ac.	200	0	
" "	éthanoïque (1:1)	50	-	f
Essais terpènes				
Collonisatrice sauvage	Mélange de terpènes.	25000	0	
" "	Limonène, αPinène,	2000	0	
" "	βPinène, Myrcène,	500	0	
	Caryophyllène, Humulène			

Fig. 6: Activité olfactive de *H. hampei* en présence de différents stimuli.

Réponse: + stimulus attractif, - stimulus répulsif, 0 stimuli sans effet notable

Comportement: f: faible, F: forte, voir texte pour plus de détails.

Dans les secteurs "blanc", une partie des insectes continue la marche, plus ou moins dans la direction initiale et sort de l'arène de marche. Les insectes restants peuvent se déplacer vers les secteurs odorisés.

Les réponses du type chimiotactique ont donc été principalement observées dans la zone 2 précédemment définie (Fig. 6) alors que les réponses de type "chinoise" se produisent préférentiellement dans la zone 3.

En présence de cerises vertes et d'extraits organiques, il semble que l'augmentation du nombre des femelles dans les secteurs odorisés soit caractérisée par des différences entre les trajectoires observées dans les secteurs odorisés et dans les secteurs non odorisés. Cette réponse comportementale est notée f pour faible dans le tableau récapitulatif (Fig. 6).

Dans les secteurs odorisés, les trajectoires sans direction prépondérante présentent des figures circulaires et des mouvements de "va-et-vient". Dans les secteurs non odorisés, les trajectoires plus rectilignes permettent aux insectes de sortir plus rapidement du support de marche. Dans l'olfactomètre, la chimiotaxie n'est plus évidente.

->(ii) *Substances naturelles*. Les substances volatiles émises par les cerises de café permettent à *H. hampei* de reconnaître à courte distance les fruits hôtes (Fig. 6). Ceci montre l'existence de kairomones produites par la plante et actives sur le comportement de l'insecte colonisateur. En effet, les différentes cerises de café et les différents extraits sont attractifs pour le scolyte.

La discrimination des fruits hôtes se fait suivant leur maturité, avec une préférence pour les fruits rouges. L'insecte peut, par le biais de l'olfaction, différencier les drupes tombées depuis plus de 48h de celles restées sur les branches. Les drupes encore sur les branches se montrent plus attractives que celles au sol. Pendant la recherche de leur fruit hôte, la préférence olfactive des femelles de *H. hampei* pour les cerises rouges leur permet de s'installer dans la cerise de café décrite comme la plus adaptée au dépôt et au développement de la ponte.

->(iii) *Substances de synthèses*. Le mélange de 3 alcools (méthanol, éthanol et isopropanol) est significativement actif sur le scolyte du café.

Les tests réalisés avec la solution hydro-alcoolique diluée 10 fois montrent un comportement comparable à celui exécuté en présence de cerises rouges ou d'extraits aqueux. Nous retrouvons l'orientation vers les secteurs odorisés (chimiotaxie), les arrêts de déplacement à la verticale des stimuli et les petits agrégats.

Pour les autres dilutions, le comportement observé ressemble à celui décrit pour les cerises vertes et les extraits. La chimiotaxie n'est plus observable dans ces conditions.

Les tests réalisés avec les alcools seuls montrent, qu'aux taux de dilution considérés, l'activité du mélange 3 alcools peut être expliquée par l'activité du seul méthanol.

Couleur	Effectif	Σ init	Σ final	Avg(%final)*
Rouge	426	309	269	75,3a
Noir	442	272	234	72,9a
Gris	436	242	205	56,3b
Bleu	435	239	202	59,4b
Vert	430	202	121	40,9c
Jaune	428	180	97	28,5d
Blanc	437	98	45	16,8e

Tab. 7a: Réponse visuelle de *H. hampei* à différents stimuli visuels.

Les moyennes suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Newman-Keuls).

* n=3

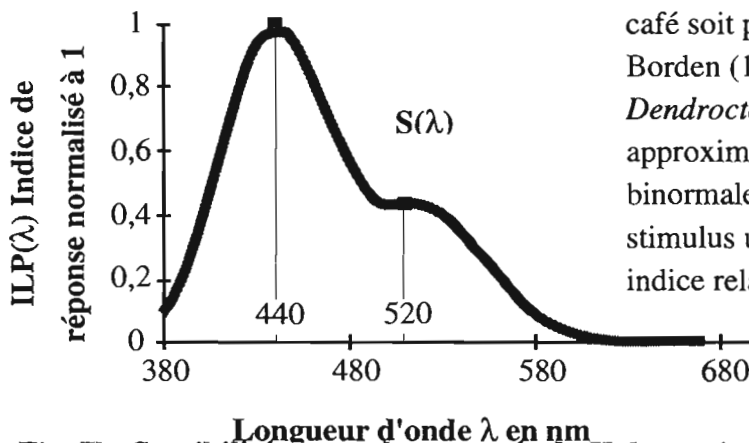


Fig. 7b: Sensibilité spectrale supposée de *H. hampei*.
D'après les données de Grauberman et Borden (1982) sur *D. pseudotsugae* et *I. paraconfusus*

Supposons que la sensibilité spectrale du scolyte du café soit proche de celle observée par Groberman et Borden (1982) chez *Ips paraconfusus* Lanier et *Dendroctonus pseudotsugae* Hopkins, nous pouvons approximer la réponse spectrale à une fonction binormale de la longueur d'onde (Fig. 6b). Chaque stimulus utilisé peut être alors caractérisé par un indice relatif à l'intensité que perçoit l'insecte:

$$ILP(\lambda) = ILE(\lambda) \times S(\lambda)$$

avec les indices suivants:

$ILP(\lambda)$: Intensité Lumineuse Perçue par l'insecte,

$ILE(\lambda)$: Intensité Lumineuse Emise par

les stimuli olfactifs,

$S(\lambda)$: Sensibilité spectrale du scolyte.

Dans ce cas, l'activité de choix de *H. hampei* en

présence de fausses cerises de café est **Bleu** significativement corrélée à l'intensité lumineuse perçue par l'insecte (Fig. 7c).

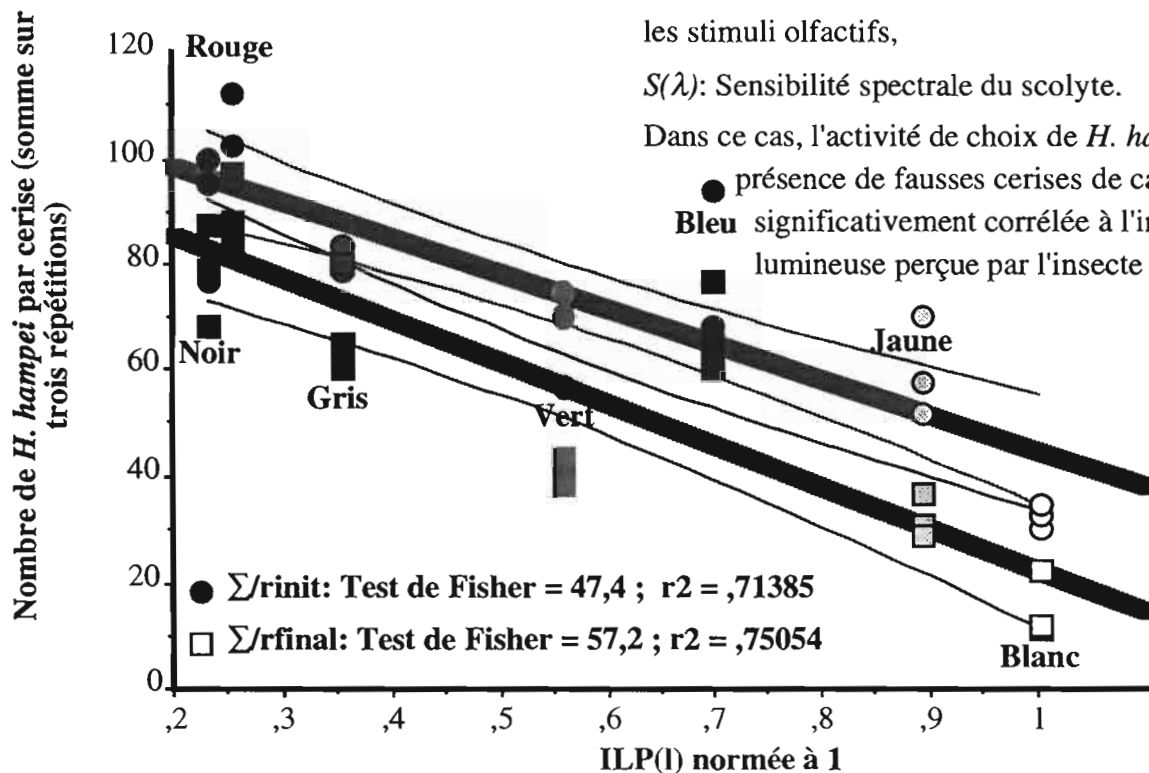


Fig. 7c: Corrélation entre l'intensité lumineuse perçue par *H. hampei* et le choix de *H. hampei*.

Le méthanol ayant été identifié dans tous les échantillons de cerises de café, cette molécule joue donc un rôle majeur dans la localisation et le choix du fruit hôte.

A certaines dilutions, le mélange de 2 acides est responsable du déplacement d'un nombre de scolytes significativement plus important dans les secteurs non odorisés. L'extrait oxydé induit la même répartition des insectes sur le support de marche. Les odeurs d'acides méthanoïque et éthanoïque sont émises par les extraits oxydés et également par certaines cerises de café fortement dégradées. Les odeurs d'acides pourraient agir comme substances de répulsion signalant une cerise de café inapte à la survie de la femelle colonisatrice et de sa descendance.

Quelle que soit la dilution testée, le mélange de terpènes n'engendre aucun déplacement significatif. La composition du mélange utilisé ici est basée sur l'identification d'une seule variété de café, le *robusta* Linden producteur.

II.2.3. Vision (Fig. 7)

En répondant préférentiellement aux fausses cerises rouges et noires (Fig. 7a), les femelles colonisatrices choisissent visuellement les drupes les plus aptes au dépôt de leur ponte. Dans des situations de recherche à courte distance, les études de la perception olfactive seule puis de la perception visuelle seule montrent une sélection de l'hôte semblable. La vision et l'odorat agissent donc dans un même sens pour sélectionner la drupe de café la plus adaptée au développement de la ponte.

La perception visuelle d'une cerise de café semble se situer à une distance de 1 à 2 cm.

A l'instar de certains scolytes tropicaux ou scolytes des résineux, *H. hampei* semble s'orienter vers les teintes sombres plutôt que les teintes claires (Fig. 7b et 7c). Les tests de comportement nous ont permis de mettre en évidence l'importance de l'intensité lumineuse réfléchie par le fruit puis perçue par l'insecte dans le processus visuel de sélection.

II.2.4. Physiologie (Fig. 6)

Nous avons pu établir que les comportements observés en olfactomètre sont dépendants de l'état physiologique des différentes femelles (Fig. 6). Les facteurs les plus significatifs sont le dépôt de la ponte, l'âge et l'existence d'un comportement particulier: l'abandon de la drupe.

La réponse positive des femelles colonisatrices issues de l'élevage sur milieu artificiel valide la capacité de cet élevage à produire des femelles colonisatrices au comportement olfactif comparable à celui des femelles issues de cerises récoltées en champ.

Dans nos conditions expérimentales, l'activité visuelle semble indépendante de l'état physiologique des femelles. Cependant, pour une gamme de longueurs d'ondes décalées dans le bleu et pour l'exécution d'une phase comportementale de dispersion par

l'envol, nous pensons que la réponse à de tels stimuli lumineux est probablement dépendante de l'état physiologique de la femelle.

Sur les deux années d'expérimentation, nous avons pu voir qu'il existe une différence entre les résultats enregistrés lors de deux séries de tests effectuées dans des conditions identiques. Pour tenter d'expliquer ces variations de réponse, nous avons identifié 2 causes, l'une est liée au stimulus, l'autre à l'insecte. La sélection des cerises au stade rouge n'est pas assez précise pour tester des cerises de café au bouquet odorant homogène. Les lots d'insectes utilisés à ces périodes ne sont pas identiques.

Nous pensons que le groupe "femelles colonisatrices" que nous avons longtemps considéré - du fait de l'existence d'un comportement caractéristique - comme constitué d'individus homogènes, est probablement formé de sous-groupes différents ayant des capacités de réponse hétérogènes vis à vis des stimuli intervenant dans la colonisation du milieu.

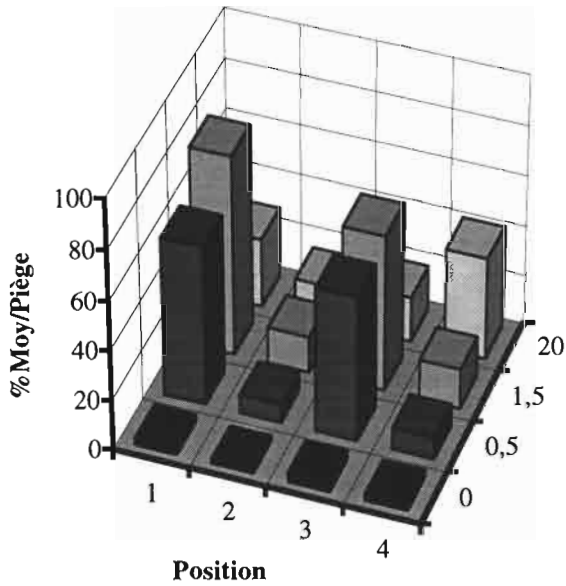
II.2.5. Piégeage en tente (Fig. 8)

Les résultats de piégeage montrent l'importance de la vision et de l'olfaction dans l'approche des pièges lors de la phase de vol. Sur 3000 insectes lâchés, 1354 insectes ont été recapturés, dont 1267 avec les pièges avec odeur et 87 avec les pièges sans odeur. Sur les 3 doses testées (0,5 g/j, 1,5 g/j et 20 g/j), plus le taux d'émission est faible et plus le nombre d'insectes capturés est grand (Fig. 8b). La couleur rouge des pièges ainsi que la présence d'une masse sombre près des places P1 et P3 sont attractives pour le scolyte du café (Fig. 8a). Une fois en vol, l'orientation de *H. hampei* est sous la dépendance de stimuli olfactifs et visuels. A ce moment, l'insecte semble s'orienter vers une masse sombre plus ou moins grande et vers une source odorante. Enfin, l'attractivité du méthanol, démontrée en laboratoire, est ici confirmée (Fig. 8c).

Les stimuli visuels mis en jeu au laboratoire (fausses cerises), et ceux mis en jeu lors de ces expérimentations en tente sont différents. Dans le premier cas, il s'agit d'objets sphériques de 1,5 cm de diamètre perçus à courte distance (marche). Dans le deuxième cas, il s'agit de silhouettes coniques alignées sur un axe vertical sur près de 1 mètre de haut. Cette silhouette est perçue de 1 mètre à quelques centimètres suivant la position de l'insecte dans la tente. Si le premier cas est assimilable à la perception d'une cerise de café à très courte distance ou lors du contact, le deuxième cas est difficile à transposer dans la nature. Nous pouvons émettre deux hypothèses : d'une part, la teinte sombre représentant la masse sombre d'un arbre serait attractive, d'autre part la silhouette verticale représentant la forme d'un arbre ou d'une branche serait également attractive. Dans les deux situations, l'insecte se dirige vers une zone ou un objet sombre. Au niveau de la vision, des résultats similaires sont observés pour les scolytes *Ips montanus* et *Dendroctonus ponderosae*.

Avec ce dispositif, les stimuli olfactifs et visuels sont testés simultanément, contrairement aux travaux antérieurs où les stimuli olfactifs et visuels étaient considérés indépendamment. Grâce à la configuration de notre dispositif, des interactions du premier ordre entre les stimuli olfactifs et visuels ont pu être mises en évidence. Les interactions entre "Dose" et "Place-piège" montrent que des taux d'émission auraient un

a: Pièges blancs



b: Pièges rouges

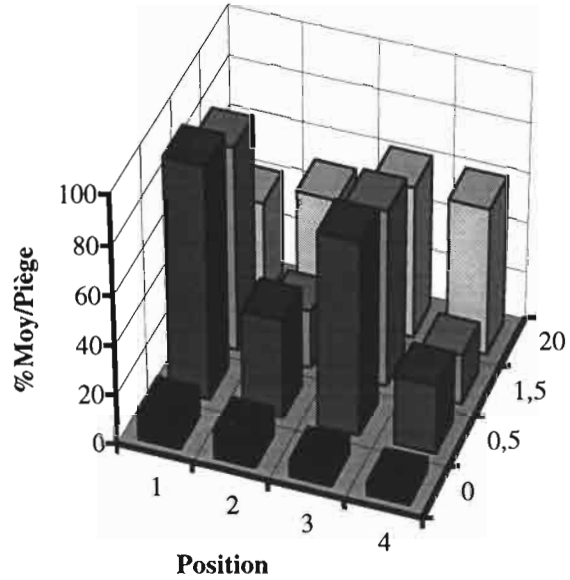


Fig. 8a: Attractivité comparée des pièges.

Etude des facteurs "taux d'émission", "position du piège dans la tente" et "couleur du piège" avec le mélange méthanol-éthanol (1-1). **a:** Piège Blanc et **b:** Piège rouge, N=2

%Moy/Piège: moyenne des pourcentages d'insectes capturés par piège.

A un jour donné, la somme des pourcentages d'insectes capturés par piège est égale à 100%.

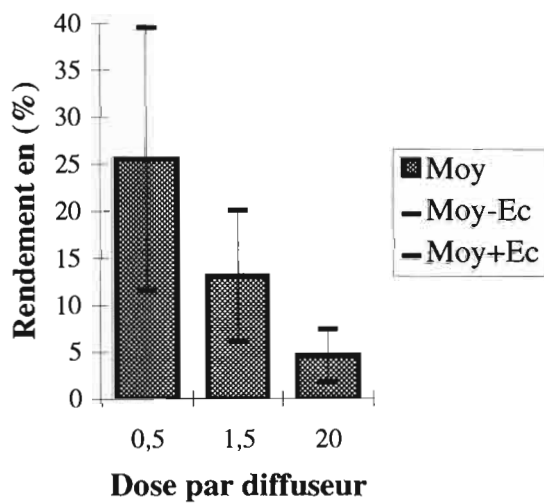


Fig. 8b: Comparaison du rendement du piègeage à différentes doses d'émission.

Rendement: $\frac{\sum \text{Capture}}{\text{Nbinsect intr}} \times 100$ avec:
 $\sum \text{Capture}$: somme des insectes capturés avec les 4 pièges à un jour donné,
 Nbinsect intr: Nombre d'insectes introduits dans la tente.

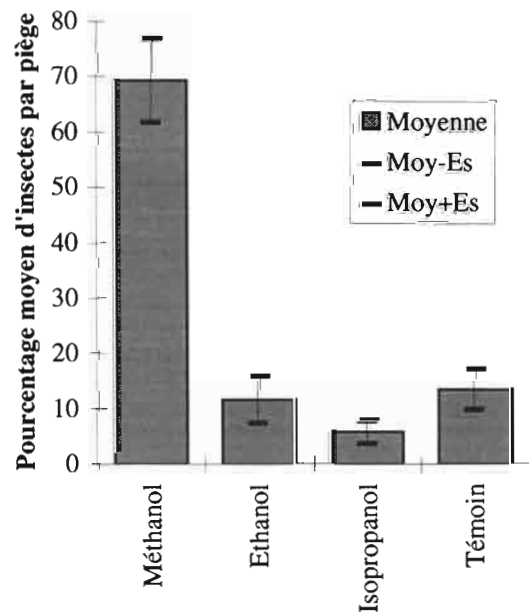


Fig. 8c: Attractivité comparée des pièges.

Etude de 3 substances.

Piège rouge, N=8.

effet limitant de l'impact du facteur "Place-piège" sur la répartition du scolyte dans les pièges. L'interaction entre "Dose" et "Couleur-piège" montre que l'attractivité des pièges rouges par rapport aux pièges blancs dépend de la "dose" émise par les pièges. Il semble donc que les réponses phototactiques et/ou phototropiques dépendent de la stimulation olfactive et notamment de la quantité de molécules perçues par l'insecte.

Le dispositif dit "semi-contrôlé" (tente) permet d'ouvrir un vaste champ d'investigations: l'orientation en vol de *H. hampei* suivant des stimuli olfactifs et visuels simultanés. Le fait de pouvoir tester simultanément la vision d'un objet (ici: le piège), la vision d'un fond lumineux (ici: l'arbre et les murs blancs) et la perception olfactive de bouquets odorants permettra de mieux comprendre les mécanismes multimodaux d'orientation vers l'hôte. Ce dispositif nous a permis également de préciser quelques paramètres d'utilisation des pièges lors des expérimentations de terrain (données en cours d'analyse). Ces conditions d'utilisation sont les suivantes: utilisation de pièges à entonnoirs multiples avec une boîte de réception des insectes contenant du milieu d'élevage broyé, utilisation de pièges rouges, positionnement des pièges à hauteur d'homme à proximité immédiate des arbres et à l'abri du soleil, utilisation de la plus petite dose d'émission (0,5g/jour/diffuseur).

II.2.6. Piégeage en champs

Les données recueillies sont en cours d'analyse et seront présentées lors du prochain rapport de convention. Cependant, il apparaît d'ores et déjà que les principaux résultats obtenus lors des expérimentations précédentes, en tente, seront confirmés et que ce type de piège revêt un intérêt sur le terrain.

Le grand nombre de femelles capturées (> 70.000) pendant cette étude permet de mettre en évidence des pics de vol ainsi que des corrélations évidentes entre les populations avoisinantes présentes sur les arbres alentours et celles capturées.

Cependant, du fait du haut niveau de l'infestation initiale noté en début d'étude au niveau du foyer ainsi que du fait de l'augmentation de la population entre Octobre et fin Décembre (date normale de récolte), il est évident que le système de piégeage est incapable d'enrayer une telle augmentation exponentielle de l'infestation. A cette période, l'utilisation de ce système pour un piégeage de masse, en vue de protéger la récolte en cours de maturation, semble insuffisante. La situation pourrait être différente dans le cas d'un piégeage de masse réalisé au tout début de l'infestation, ou à l'issue de l'intersaison, alors que la population initiale est au plus bas et que le nombre de site de ponte est très réduit.

Dans une phase de recherche ultérieure il serait souhaitable d'augmenter les capacités attractives du mélange utilisé ainsi que de tester d'autres types de pièges afin de les utiliser dans le cadre d'un programme de lutte intégrée contre le scolyte du café.

II. 3. CONCLUSIONS

La contribution financière de la Province Sud a été un élément indispensable au bon déroulement des recherches dont certains résultats ont été brièvement présentés dans le présent rapport.

Les travaux réalisés par F. Mathieu et coll. en ce qui concerne les mécanismes de la colonisation de l'hôte chez le scolyte du café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (*Coleoptera: Scolytidae*) ont permis de faire la synthèse des connaissances actuelles et de tirer une série de conclusions dont les principales sont présentées ci-après :

II.3.1 Existence de substances kairomonales

Les substances volatiles émises par les cerises de café permettent à *H. hampei* de reconnaître, à courte distance, les fruits hôtes. Ceci montre l'existence de kairomones produites par la plante et actives sur le comportement de l'insecte colonisateur.

Les femelles en phase de recherche de fruits-hôtes ont une capacité de discrimination de ces derniers en fonction de leur maturité. Il existe une nette préférence des femelles pour les fruits rouges. La variété *robusta* est également préférée aux variétés *arabica*, surtout de type catimore. L'insecte peut, par le biais de l'olfaction, différencier les drupes tombées depuis plus de 48h de celles restées sur les branches. Les drupes encore sur les branches se montrent plus attractives que celles au sol. La préférence olfactive des femelles de *H. hampei* pour les cerises rouges leur permet donc de s'installer dans les cerises les plus favorables au dépôt, puis à la survie de la ponte.

II.3.2 Incidence de la lumière sur la sortie des femelles

La phase de sortie des femelles colonisatrices des cerises et leurs déplacements ultérieurs par la marche ou le vol sont notamment déclenchés par la lumière. Le pic de sorties des femelles se situe dans l'après-midi, au moment où la luminosité et les courants de convection thermique sont les plus importants. Ces fortes convections thermiques renforcent le potentiel de dispersion de l'espèce en favorisant le déplacement de l'insecte sur de plus longues distances.

II.3.3 Incidence de l'olfaction

L'activité olfactive de la femelle colonisatrice de *H. hampei* débute dès les premières secondes qui suivent l'introduction de l'insecte dans l'olfactomètre. Elle reste constante durant la période des tests, soit de 13h30 à 18h30, qui correspond également à la période d'activité de l'insecte.

L'olfactomètre de marche à atmosphère statique se révèle donc être un dispositif sensible et rapide, qui peut être utilisé pour l'étude des relations allélochimiques chez *H. hampei*.

Dans le cas de *H. hampei*, contrairement à ce qui a été démontré pour d'autres coléoptères, il n'est pas certain qu'un vol de conditionnement préalable à la recherche le

l'hôte soit nécessaire. Cependant, il est possible qu'une période de vol renforce la réponse de l'insecte ou augmente la proportion d'insectes qui répondent aux stimuli olfactifs.

II.3.4 Incidence de la vision

Les tests d'orientation visuelle lors de la phase de marche ont montré une réponse préférentielle vers les fausses cerises rouges et noires.

Les femelles colonisatrices utilisant la seule fonction de la vision choisissent les drupes les plus mures. Dans des situations de recherche à courte distance, les études de la perception visuelle seule puis de la perception olfactive seule montrent une sélection de l'hôte semblable. La vision et l'odorat agissent donc dans un même sens pour permettre à la femelle de sélectionner la drupe de café la plus adaptée à la ponte et au développement de sa progéniture.

Cette équivalence de résultats permet de supposer que le scolyte du café pourrait posséder deux niveaux de sélection, simultanés et indépendants. A courte distance, l'une des deux modalités sensorielles serait donc suffisante pour permettre à l'insecte de s'orienter vers la source. Rappelons que nous avons vu que la vision participe peu à la perception et à la localisation de l'hôte à longue distance.

La perception de l'objet en tant que volume n'a pas été étudiée mais pourrait se révéler d'intérêt, en particulier pour le développement d'un système de piégeage performant. La perception visuelle d'une cerise de café semble, dans l'état actuel de nos connaissances, se situer à une très courte distance.

A l'instar de certains scolytes tropicaux ou scolytes des résineux, *H. hampei* semble s'orienter vers les teintes sombres plutôt que les teintes claires. Les tests de comportement ont permis de mettre en évidence l'importance de l'intensité lumineuse réfléchie par le fruit puis perçue par l'insecte dans le processus visuel de sélection. D'autres auteurs ont montré que les cerises situées à l'ombre, et donc plus sombres, étaient plus attractives que celles situées au soleil.

II.3.5 Incidence du stade physiologique :

La réponse positive des femelles colonisatrices issues de l'élevage sur milieu artificiel valide la capacité de cet élevage à produire des femelles colonisatrices au comportement olfactif comparable à celui des femelles issues de cerises récoltées en champ.

Les comportements observés en olfactomètre sont dépendants de l'état physiologique des femelles. On considère actuellement que trois aspects de l'état physiologique des femelles sont primordiaux dans les modifications comportementales des femelles : le fait que ces femelles sortent naturellement des fruits, leur âge et le dépôt préalable ou non d'une ponte.

L'activité visuelle des femelles semble indépendante de leur état physiologique. Cependant, il n'est pas exclu que l'état physiologique puisse intervenir dans une certaine

mesure pour une gamme de longueurs d'ondes décalées dans le bleu et pour le déclenchement de la phase comportementale de dispersion par l'envol.

Dans nos conditions expérimentales, une question essentielle se pose concernant l'homogénéité des groupes de femelles colonisatrices testées sur les deux années d'expérimentations.

En effet, le terme "femelles colonisatrices" désigne des femelles fécondées n'ayant pas pondu et présentant un comportement d'abandon de la drupe d'émergence. Ce comportement implique le passage d'un milieu sombre à un milieu éclairé, d'une forte stimulation tactile à une faible stimulation tactile et également d'une forte stimulation chimique à une faible stimulation chimique. Les résultats obtenus lors des divers tests de laboratoire laissent à penser qu'il existe une certaine hétérogénéité dans les lots de "femelles colonisatrices".

Il est cependant possible que l'hétérogénéité des femelles colonisatrices obtenues au laboratoire soit plus importante que celle qui existe dans la nature en raison du confinement des cerises dans des boîtes. En effet, par rapport à une situation in situ où l'insecte s'envole le plus souvent, le mouvement des femelles dans les boîtes est limité au volume des boîtes elles-mêmes, les contraignant au seul déplacement par la marche, puis à un retour à l'intérieur des cerises.

II.3.6. Piégeage

Les résultats du piégeage valident les résultats acquis précédemment en olfactomètre, au laboratoire. Les expérimentations réalisées à l'intérieur d'une enceinte dite "semi-contrôlée" (tente) ouvrent la voie à un vaste champ d'investigation : l'orientation en vol de *H. hampei* suivant des stimuli olfactifs et visuels simultanés.

Dès à présent, nous pouvons supposer que l'envol de l'insecte vers la source est principalement dû aux stimuli lumineux émis par le milieu. La durée de la phase de dispersion *au sens strict* n'est pas connue. Cependant, nous avons montré qu'un vol de dispersion préalable aux tests olfactifs n'est pas obligatoire pour obtenir une réponse olfactive positive. Une fois en vol, l'orientation de *H. hampei* est sous la dépendance de stimuli olfactifs et visuels. Cette phase correspond bien à la phase de sélection. A ce moment, l'insecte semble s'orienter vers une masse sombre plus ou moins grande et vers une source odorante. Dans le cas du scolyte du café, le méthanol semble principalement responsable de l'attraction liée à la perception olfactive.

Au niveau de la vision, divers auteurs ont démontré, pour les scolytes *Ips montanus* et *Dendroctonus ponderosae*., qu'une part de l'efficacité des pièges à tuyaux est attribuable à leur silhouette verticale.

III PERSPECTIVES

Les mécanismes qui interviennent pour déclencher les comportements successifs permettant au scolyte de passer d'une phase du cycle à la suivante sont complexes. Il a donc été indispensable de passer par l'étude de certains aspects fondamentaux de la reconnaissance de l'hôte par les femelles colonisatrices pour pouvoir orienter les recherches appliquées.

Les expérimentations au laboratoire permettent de dissocier les phases de colonisation par la marche de celles par le vol, de même que de séparer les facteurs visuel et olfactif. Cependant, des travaux complémentaires sont nécessaires notamment concernant : l'identification d'autres molécules de synthèses impliquées, la perception des formes, l'incidence du vol sur les réponses aux stimuli, l'importance relative de la marche et du vol dans le comportement de colonisation des femelles issues des cerises pendant les phases de multiplication ou de survie à l'intersaison.

Les principaux aspects qui pourront être abordés sont :

1) l'amélioration du mélange attractif. Certaines molécules, présentes dans les effluves de cerises seront testées. De même, l'attractivité de certains composés tel l'"ETHREL 48", doit être étudiée. Ce produit est un régulateur de croissance de différents fruits dont l'attractivité pour d'autres espèces de scolytes a été établie.

2) l'optimisation du prototype du piège actuel par modification des couleurs ou combinaison de couleurs. Les couleurs sombres semblent plus attractives que les couleurs claires, mais il est probable que des contrastes de forme et/ou de couleur se révèlent encore plus attractifs.

3) la recherche de composés ayant une action répulsive à courte distance. Il est en effet probable que la femelle colonisatrice prête à établir sa progéniture soit apte à détecter les cerises déjà infestées afin de les éviter, si d'autres fruits sont disponibles aux alentours.

4) la recherche de nouveaux type de piège afin d'en diminuer le coût pour pouvoir notamment envisager des piégeages de masse ou d'avertissement agricole.

A l'heure actuelle, les résultats obtenus dans le domaine de l'allélochimie sont suffisamment avancés pour envisager des expérimentations sur le terrain. Ainsi pourra débuter la phase de validation de cette approche nouvelle comme outil pouvant contribuer à la lutte intégrée contre le scolyte du café. Ce type d'études nécessitera de mener en parallèle, non seulement un suivi des vols mais également un suivi de la population et des ressources trophiques du champ de café.

On peut espérer d'un piégeage efficace qu'il permette : i) de détecter les premières attaques en début de saison, ii) de suivre l'évolution d'une infestation initiale, iii) d'effectuer une certaine prévision des infestations au moment de la récolte.

A plus long terme, un système de piégeage performant pourra être utilisé en "piégeage de masse" ou associé à un biopesticide, en facilitant sa dispersion par les insectes eux-mêmes.

Au niveau du planteur, la détection des foyers d'infestation en début de campagne pourrait limiter les traitements à ces seules zones du champ. Une meilleure évaluation des foyers d'infestation et de leur distribution dans les champs pourraient être une aide à la décision du mode d'intervention (chimique ou biologique), voire de différer ou supprimer une intervention après évaluation des attaques.

