

RAPPORTS SCIENTIFIQUES  
ET TECHNIQUES

SCIENCES DE LA VIE

ZOOLOGIE APPLIQUÉE

N° 2

1995

Evaluation de la virulence d'une souche  
néo-calédonienne de *Beauveria bassiana*  
vis à vis du Scolyte de la graine du caféier  
*Hypothenemus hampei* Ferrari,  
Coleoptera Scolytidae

Paul COCHEREAU  
Franz KOHLER  
Gilles MARIE  
Tana POTIAROA

RAPPORTS SCIENTIFIQUES  
ET TECHNIQUES

SCIENCES DE LA VIE

ZOOLOGIE APPLIQUÉE

N° 2

1995

Evaluation de la virulence d'une souche néo-calédonienne  
de *Beauveria bassiana* vis à vis du Scolyte  
de la graine du caféier *Hypothenemus hampei*  
Ferrari, Coleoptera Scolytidae

Paul COCHEREAU  
Franz KOHLER  
Gilles MARIE  
Tana POTIAROA



22 JUL. 1996



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

CENTRE DE NOUMÉA

#2 78330  
20x for A\* 5381



010052285

F

© ORSTOM, Nouméa, 1995

/Cochereau, P.  
/Kohler, F.  
Marie, G.  
/Potiaroa, T.

Evaluation de la virulence d'une souche néo-calédonienne de *Beauveria bassiana* vis à vis du Scolyte de la graine du caféier *Hypothenemus hampei* ferrari, Coleoptera scolytidae

Nouméa : ORSTOM. juillet 1995. 28 p.  
*Rapp. Sci. Tech. : Sci. Vie ; Zool. Appli. ; 2*

Ø76RAVPLAØ1

CAFEIER ; BEAUVERIA BASSIANA ; LUTTE CHIMIQUE ; SCOLYTE DU CAFE ; ETHOLOGIE ;  
INSECTE NUISIBLE / NOUVELLE CALEDONIE

Imprimé par le Centre ORSTOM  
Juillet 1995

EVALUATION DE LA VIRULENCE D'UNE SOUCHE NEO-CALEDONIENNE  
DE *BEAUVERIA BASSIANA* VIS A VIS DU SCOLYTE DE LA GRAINE DU  
CAFEIER *HYPOTHENEMUS HAMPEI* FERRARI (COLEOPTERA, SCOLYTIDAE)

COCHEREAU P.(1), KOHLER F.(2), MARIE G.(3) et POTIAROA T.(1)

Résumé

Des lots de 50 à 100 drupes de caféier ont été plongés, avec autant de femelles infestantes du Scolyte de la graine du caféier (*Hypothenemus hampei* Ferrari), dans des solutions aqueuses de concentrations croissantes de conidiospores d'une souche néo-calédonienne de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. récoltée dans la nature (souche "Sarraméa"). La baisse de fécondité, la mortalité et le comportement du scolyte atteint par le champignon ont été observés.

Mots-clés : scolyte, caféier, *Beauveria bassiana*, fécondité, mortalité, comportement.

Summary

Fifty to 100 coffee berries have been dipped, with as many infesting adult females of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei* Ferrari), into increasing concentrations water solutions of a new caledonian strain of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. collected in the field ("Sarraméa" strain). Fecundity, mortality and behaviour of the borer affected by the fungus are reported.

Key words : coffee berry borer, coffee tree, *Beauveria bassiana*, fecundity, mortality, behaviour.

INTRODUCTION

Le scolyte de la graine du caféier (*Hypothenemus hampei* Ferrari), est originaire de l'Afrique centrale (Waterhouse et Norris, 1981) mais vraisemblablement aussi de l'Afrique de l'Ouest (Brun et al., 1994). Depuis le début du siècle, il s'est progressivement installé dans toute les grandes zones caféières du monde; seule reste indemne la partie sud-ouest du Pacifique proche de la Nouvelle-Calédonie : Papousie-Nouvelle-Guinée, Australie, îles Salomon et Vanuatu.

- 
- (1) entomologistes au Centre Orstom de Nouméa  
(2) phytopathologiste au Centre Orstom de Nouméa  
(3) stagiaire du Brevet de Technicien Supérieur (BTS)

## LE SCOLYTE DE LA GRAINE DU CAFEIER EN NOUVELLE-CALEDONIE

Ce ravageur a été observé pour la première fois dans le nord-ouest de la Nouvelle-Calédonie, dans la région de Gomen, en août 1948 (Bugnicourt, 1950; Cohic 1958), si ce n'est plus tôt (Lavabre, 1966). Ainsi, c'est depuis le tiers nord de l'île, plus chaud, que le ravageur s'est en cinq ans répandu sur l'île tout entière en descendant progressivement vers le sud le long des deux côtes est et ouest. Dès septembre 1949 le Gouverneur de la Nouvelle-Calédonie promulgait par arrêté les mesures de lutte culturale à prendre contre ce ravageur: date limite de récolte, récolte sanitaire (le ramassage de tous les fruits subsistant dans la plantation après la récolte), traitement de la récolte par voie humide (les fruits sont plongés dans l'eau avant le dé-pulpage, puis les grains), suppression des plantations abandonnées et des plantations mixtes de *Coffea canephora* var. *robusta* et *C. arabica*. Par la suite Cohic et Lavabre ont préconisé, entre autres, la lutte chimique, notamment à l'aide de l'endosulfan. Cochereau (1965) constate que les pourcentages des drupes mûres scolytées varient en 1964 sur la côte Est de la Nouvelle-Calédonie de 7% à 99% (17 prélèvements portant sur un total de 5500 fruits) et en février 1965 entre 1% et 94% (13600 fruits en 34 prélèvements); il rappelle la récolte sanitaire, préconise de parfaire l'ombrage au moyen d'*Albizzia lebeck* (L.) Benth. (le "bois-noir"); en effet il suffit de quelques caféiers non ombragés dans une plantation pour constituer des foyers à scolyte. Il conseille aussi de supprimer les caféiers *Arabica* subsistant au milieu d'une plantation de *Robusta*, parce que les fructifications de ces deux variétés étant décalées la multiplication du ravageur s'en trouve favorisée; il en est de même chez les arbres malades ou asphyxiés par l'eau, qu'il faut donc aussi supprimer. Il préconise enfin un traitement chimique par poudrage sous bâche des tas de fruits récoltés, afin de supprimer les scolytes adultes qui s'envolent en fin d'après midi des aires de séchage vers les caféières. Il note enfin en trois biotopes, sur 12% à 22% des drupes scolytées, la présence constante du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* (Bals. Vuill.): en deux vallées de montagne (Amoa et Nimbayes) et en bordure de mer (Touho).

Les dégâts du scolyte sur fruits (pourcentage des drupes mûres trouées), d'abord grossièrement évalués en général à 50 % par les services de l'Agriculture de Nouvelle-Calédonie, ont été ramenés en 1966 par Lavabre entre 10 et 25% en vallée de montagne, mais montés à 90 % sur la côte Est (Poindimié-Touho), le chiffre global moyen de 33% étant retenu. Lavabre (1966) rappelle l'incidence limitative du champignon *Beauveria* bien qu'il ne l'ait pas observée. Dans le cadre des travaux récemment menés en Nouvelle-Calédonie, nous avons souvent constaté que les populations, donc les attaques du ravageur sur les drupes, sont au même moment souvent très différentes (de 5% à 100% des fruits sont troués) d'une plantation à une autre voisine et même entre deux arbres voisins d'une même plantation. Ces situations se retrouvent d'une année sur l'autre aux mêmes endroits, avec des variations normales dues

au climat de l'année. Ceci suggère que ces diverses populations sont régies par des facteurs de mortalité autres que les facteurs de mortalité intrinsèques à l'espèce. Comme l'insecte se déplace peu, il ne faut pas, dans ces conditions, trop compter sur lui pour propager une mycose dans la nature; par contre, si la souche choisie de *Beauveria* est agressive, des épandages appropriés de spores ou de mycélium, bien situés par rapport à la gradation du ravageur, doivent s'avérer efficaces sur une plantation donnée.

#### BEAUVERIA BASSIANA SUR H. HAMPEI DANS LE MONDE ET EN NOUVELLE-CALEDONIE

Le champignon est répandu partout dans le monde sur le scolyte du grain de café. La présence de *Beauveria* sur cet insecte séminivore a fait l'objet d'observations originales dès le début du siècle à Java. Ticheler (1961) rappelle que Leefmans y a prouvé la nature entomoparasitaire du champignon. Bally le décrit et le nomme *Botrytis stephanoderis*: mycélium blanc cloisonné, conidies rondes. Sladden (1934) note que la mycose est fréquente à Java sur des scolytes adultes installés dans des fruits de branches ombragées, surtout pendant la saison des pluies. Des essais d'utilisation du champignon y furent tentés: poudrage des fruits avec les conidiospores du champignon, aspersion des fruits au moyen d'une solution aqueuse de spores, lâcher de scolytes sur une culture du champignon avant leur libération en plantation... Mais la propagation espérée de la maladie à partir d'un point d'infestation fut décevante. Selon Ticheler (1961), un ciel couvert et une humidité élevée (80%) mais non excessive (car alors la longévité des spores diminue) favorisent la mycose. Les conditions de l'environnement favorisant *B. bassiana* ont été souvent discutées (Walstad et al., 1970; Fargues, 1972). En Côte d'Ivoire, parfois jusqu'à 26% des cerises trouées présentent la mycose (Ticheler, 1961). Barrera et al. (1990) discutent la possibilité de trouver une formulation d'un insecticide fongique utilisant une souche très virulente. Moore et Prior (1988) rappellent que les techniques d'application du champignon au champ doivent être recherchées, la plus forte dose létale n'étant pas forcément la meilleure si l'on veut largement disséminer la maladie. Waterhouse et Norris (1981) rapportent que depuis 1922 *Beauveria* est observé sur le scolyte en de nombreux pays: Java, Brésil, Jamaïque, divers pays africains; il faut ajouter à cette liste plusieurs pays d'Amérique centrale (Murphy, 1990) et depuis 1965 (Cochereau) la Nouvelle-Calédonie. Klein Koch (1989) note qu'en Equateur la mycose à *Beauveria* est actuellement l'ennemi naturel le plus important du scolyte et que la mise au point d'une préparation fongique utilisant une souche virulente est envisagée. Murphy et Moore (1990) discutent des conditions de la production de *B. bassiana* en pays en voie de développement, de sa formulation et de son utilisation au champ. Un programme centré sur *Beauveria* et doté d'importants crédits débute actuellement en Colombie.

On considère en général que *Beauveria* peut exercer naturellement une action répressive sur les populations du scolyte dans des conditions très humides et chaudes. Ce n'est pas le cas en Nouvelle-Calédonie pour la souche concernée. Si nous avons parfois observé la mycose en conditions d'humidité importante : bord de cours d'eau, ombrage épais d'érythrines-"piquants" (*Erythrina fusca*), ou alors ombrage absent mais caféiers trop denses, caféiers asphyxiés par une nappe d'eau souterraine ou attaqués par le pourridié (*Phellinus lamaensis*), le facteur température, par contre, est plus aléatoire. En effet il n'est pas rare d'observer la mycose durant la saison fraîche en vallées de montagne (Névaho, Sarraméa), où les températures nocturnes descendent couramment au dessous de 10°C, les caféières étant alors enveloppées d'épais brouillards matinaux. Par ailleurs, nous avons remarqué que la mycose n'est que très rarement observée en plantations traitées à l'endosulfan. En Nouvelle-Calédonie aucun entomophage important ne limite naturellement les populations du scolyte; seul *Beauveria* peut constituer, avec la récolte et parfois un cyclone qui emporte les cerises sèches à la rivière, le facteur primordial de mortalité de ces populations.

La mycose à *Beauveria bassiana*, que nous notions déjà communément en Nouvelle-Calédonie en 1965 sur un insecte exotique tel que le scolyte du grain de café, provient très probablement d'autres coléoptères endémiques néo-calédoniens et non de l'aire d'origine africaine du scolyte. Nous recherchons actuellement de tels hôtes originels. En effet, étudiée par Bridge et al. (1990), une souche néo-calédonienne de *Beauveria* se distingue fortement de 15 autres souches provenant de 9 autres pays répartis sur 3 continents: Afrique (Togo, Kenya), Asie (Indonésie, Sri Lanka) et Amérique (Brésil, Mexique, Equateur, Guatemala, Jamaïque). Les tests d'appétitude des souches à utiliser diverses sources de carbone, à transformer l'urée en ammonium ou à hydrolyser diverses protéines sont similaires. Les enzymes choisies pour les tests d'électrophorèse sont des enzymes cytoplasmiques plutôt indépendantes permettant de déceler des différences au niveau de la souche ou de la population. Les bandes obtenues à l'électrophorèse pour les 16 souches et 4 systèmes enzymatiques sont semblables, sauf pour trois souches dont celle provenant de Nouvelle-Calédonie. Cette dernière est la seule à montrer une activité avec le révélateur de la phosphatase alcaline et produit de façon très significative toutes les enzymes importantes sauf la catalase, en particulier une chitinase associée avec la virulence du champignon vis à vis de l'insecte et une lipase corrélée avec une forte sporulation. D'autres particularités isolent des 13 autres souches, en compagnie de la souche néo-calédonienne, une souche kényane pauvre productrice de chitinase (donc peu agressive vis à vis d'*H. hampei*) et une souche cingalaise dégénérée par l'âge (63 ans en mycothèque). Les 13 autres souches sont très voisines les unes des autres et forment ainsi un groupe homogène permettant de les considérer issues d'une même population africaine essaimée de par le monde en compagnie de *H. hampei*.

## MATERIELS ET METHODES

Deux expérimentations ont été conduites: la première par immersion de 600 drupes et de 600 scolytes dans des solutions de titre connu de spores du champignon, la seconde par immersion seule de 300 drupes, avant que ces dernières soient présentées individuellement à 300 scolytes femelles; cette dernière situation est plus proche des conditions naturelles si l'on veut effectuer des traitements au champ au moyen de suspensions aqueuses ou huileuses de spores du champignon (Prior et coll., 1988). Le comportement de l'insecte malade, sa fécondité et sa mortalité ont ensuite été observées.

### Choix de la souche

Les différents isolats de *Beauveria bassiana* récoltés en Nouvelle-Calédonie et conservés à la mycothèque du Laboratoire de Phytopathologie de l'Orstom à Nouméa sont entretenus sur 10 cc de milieu gélosé PDA (Potato Dextrose Agar) incliné en tube à essai et conservées ainsi à 20°. L'agressivité et la virulence de l'isolat choisi ("Sarraméa") nous semblent grandes car ce dernier a été isolé d'une importante population de scolytes adultes récoltés morts de mycose (figures 1 et 2): le 7 octobre 1991 de nombreux cadavres de scolyte recouverts d'un mycélium blanc bouchaient les trous d'entrée sur de nombreuses fruits verts et rouges de caféiers *Robusta* de la plantation E. Chelehy (tribu d'Heuké). La même situation était observable au même endroit le 7 juin 1992 sur 55% des drupes vertes scolytées. Dans une vallée de montagne de la côte est de Nouvelle-Calédonie (Tchamba) ce phénomène est commun sur drupes vertes et rouges, mais aussi en pleine saison sèche sur des populations résiduelles de scolytes adultes qui subsistent réfugiées en drupes desséchées d'inter-campagnes (20 janvier 1994).

### Multiplication du champignon

Celle-ci est obtenue sur le même milieu gélosé PDA placé en boîtes de Pétri à la température de 25° pendant 10 jours. Un sachet de purée mousseline du commerce de 125 grammes est versé dans 1 litre d'eau distillée, avec 10 g/l de glucose et 15 g/l d'agar. Après agitation le tout est filtré. Afin d'éviter l'envahissement du milieu par des bactéries, on ajoute un antibiotique bactériostatique (pénicilline-collimycine) à raison de 1 million U/l et du rose Bengale en solution à 3%/... Ces doses permettent de confectionner 50 boîtes de multiplication recevant chacune 20 cc de milieu gélosé. Les boîtes et le milieu sont ensuite stérilisés à l'autoclave à 120° pendant 25 minutes. L'ensemencement des boîtes de Pétri est obtenu en étalant une prise de conidiospores de l'isolat choisi conservé en tube gélosé; ces dernières sont mises en suspension dans de l'eau distillée stérile, laquelle est étalée sur toute la surface de la boîte. Les boîtes sont enfin placées



dans une armoire à la température constante de 20°.

#### Solutions-mères.

Lors d'une première expérience la solution-mère destinée à l'infection des scolytes et des drupes a été obtenue en découpant tout d'abord dans trois boîtes de Pétri des petits morceaux de milieu PDA recouverts du feutrage blanc de mycélium et de conidiospores, puis en les plongeant dans 300cc d'eau stérile additionnée d'un mouillant non toxique (Tween 80). La seconde solution-mère a été obtenue en râclant avec une spatule la surface des cultures de 8 boîtes de Pétri, puis en plongeant ce prélèvement dans 500cc d'eau distillée stérile. Le bécher et son contenu sont ensuite soumis pendant une dizaine de minutes aux actions d'un vibreur et d'un agitateur magnétique, afin de détacher les conidiospores de leur substrat. Les solutions sont enfin passées sur un filtre à mailles de 50 microns afin d'éliminer les amas de mycélium et de spores et d'obtenir des solutions-mères aussi homogènes que possible. Le titrage de chaque solution-mère est déterminé par dénombrement des spores en cellule de Malassez, sur une prise effectuée à la pipette au centre du liquide bien agité. La solution-mère de la première expérience titrait  $45.10^5$  spores/ml, celle de la seconde  $52.10^5$  spores/ml. Les quatre autres solutions utilisées dans chacune des expériences ont été obtenues par dilutions successives au 1/10 ème de chaque solution-mère dans de l'eau distillée stérile. Chaque solution-témoin est constituée d'eau distillée stérile.

#### Rassemblement des scolytes.

Une difficulté importante d'une telle expérimentation - outre qu'il est impossible d'observer au cours de l'expérimentation l'action de la mycose sur les insectes restant cachés à l'intérieur de la graine - réside dans le fait qu'il faut rassembler un grand nombre de scolytes adultes au jour choisi pour l'infestation. Il faut ainsi pouvoir disposer au même moment de tous les insectes nécessaires à la constitution des lots à immerger avec les fruits dans les solutions fraîches de spores de *Beauveria*. Faute d'élevages de masse au laboratoire sur milieu artificiel, ces scolytes ne peuvent être que ceux sortis de drupes observées trouées dans la nature, puis récoltées, et dont les graines sont le plus souvent fortement colonisées par l'insecte.

Le rythme moyen des sorties journalières d'échantillons de drupes rouges trouées et récoltées dans une plantation connue de caféiers *Arabica* (Païta) a d'abord été déterminé. Il s'est avéré qu'il fallait à l'époque choisie pour l'expérimentation (fin juin), c'est à dire en période de gradation des populations du scolyte en plantation d'*Arabica*, 100 fruits rouges scolytés pour obtenir au laboratoire une moyenne de 10,2 scolytes par jour sur une période de 10 à 16 jours selon les lots. Les drupes étaient placées sur une à deux couches dans des boîtes en plastique de

28x28x9cm, au couvercle muni d'un grillage à maille de 0,2 mm et continuellement ventilées, afin d'éliminer l'eau de condensation des fruits rouges et diminuer l'envahissement des boîtes par les moisissures. Dans le même but, le fond des boîtes fut aussi recouvert d'une couche de sable fin ou de papier absorbant. Afin d'augmenter les sorties de scolytes au laboratoire, divers essais non concluants ont été menés au moyen d'éclairages à l'ultra violet ou chauffants à l'infra rouge. En règle générale, il a été réconstaté (Baker et al., 1992) que les sorties massives de scolytes se produisent dans l'après midi, entre 14 heures et 16 heures. Dans l'attente de la fin du rassemblement de 600 ou 300 scolytes nécessaires aux expérimentations, les scolytes ont pu être conservés pendant 12 heures au maximum avec une mortalité inférieure à 5 % dans des tubes aérés contenant des bandes de papier-filtre humidifiées et placés dans l'obscurité à 20°. Les fruits utilisés pour les deux expérimentations sont de grosses drupes rouges d'*Arabica* récoltées dans un biotope où le scolyte est absent (Nakutakoin). et peut-être aussi *Beauveria bassiana*. De toutes façons, afin de les débarrasser de toute spore de *Beauveria*, les drupes utilisées ont été mises à tremper pendant une heure dans une solution d'eau de Javel à 2 % (48° chl.) puis abondamment rincées. Cependant, les scolytes utilisés issus de populations sauvages récoltées dans la nature, ne peuvent, eux, être déclarés indemnes de *Beauveria* avant l'expérimentation, même si la mycose n'est pas observable sur les insectes utilisés.

#### Méthodes d'infestation.

Lors de la première expérimentation, comportant 5 solutions de spores de *Beauveria* et un bain-témoin d'eau distillée stérile, chaque lot de 100 scolytes bien vivants, placé dans un tube comportant un bouchon grillagé laissant entrer la solution et sortir l'air, a été immergé pendant 10 secondes dans une solution correspondante de spores ou dans l'eau distillée stérile pour le lot-témoin. Le volume de chaque bain était de 300 cc additionnés de deux gouttes de mouillant. De même les 100 drupes de chacun des 6 lots ont été immergées ensemble dans leur bain respectif en les plaçant dans un petit panier en grillage, stérilisé à l'eau de javel puis rincé entre chaque opération, comme le tube à scolytes. Scolytes et fruits furent ensuite séchés sur papier-filtre avant d'être placés individuellement dans un tube au bouchon aéré, à raison d'un scolyte pour une drupe. Lors de la seconde expérimentation, plus simple, seuls les 6 lots de 50 drupes ont été immergés dans leur bain respectif.

#### Observations sur les fruits et les scolytes.

Les différents lots constitués de tubes individuels contenant chacun une drupe et un scolyte sont conservés à la température ambiante du laboratoire (25°).

A partir du cinquième jour après l'infestation, chaque lot de drupes est examiné chaque jour, pendant 34 jours (première expé-

rience) ou 45 jours (seconde expérience). N'ont été considérés comme morts de mycose que les individus dont le cadavre présentait, parfois avec un certain délai, le feutrage mycélien blanc caractéristique de *Beauveria*. Est d'abord notée la mort précoce du scolyte non entré dans le fruit proposé, ou sa mort lorsque, c'est le cas le plus fréquent, il a pratiqué un trou d'entrée mais est encore visible depuis l'extérieur dans le mésocarpe de la drupe. Ces drupes sont au fur et à mesure retirées des lots mis en observation puis disséquées. Sont conservés en observation les tubes où l'insecte, bien que toujours vivant, ne tente pas d'entrer dans le fruit qui lui est proposé, puis ceux où il est entré bien vivant dans le fruit mais n'est plus observable directement. Il peut cependant revenir à l'entrée du trou pour y mourir de mycose: il est alors dénombrable et la drupe correspondante peut être aussitôt disséquée. Lorsque le scolyte n'est plus visible de l'extérieur et reste dans cette situation jusqu'à la fin de l'expérimentation, la dissection de chaque fruit sous la loupe binoculaire après le 34<sup>ème</sup> ou le 45<sup>ème</sup> jour permet d'évaluer le travail effectué par le foreur avant sa mort, s'il est alors mort, et sa fécondité éventuelle, ou jusqu'à ce jour, s'il est encore vivant. Pour rendre compte de façon précise du travail de forage effectué par le scolyte avant sa mort, de son comportement ou de sa ponte éventuelle, deux échelles de notation ont été mises au point.

Une première échelle de notations rend compte du comportement du scolyte plongé ou non dans une solution de spores de *Beauveria*, entré dans une drupe à l'épicarpe recouvert de conidiospores et ayant effectué un travail de forage pour se nourrir et éventuellement abriter sa progéniture avant de mourir, ou non, avant la fin de l'expérimentation. Ces situations, précisées parfois par la dissection de la graine en fin d'expérimentation, sont désignées par les chiffres de I à VI.

- I - le scolyte est mort très rapidement, avant son entrée complète dans le fruit; il est parfaitement visible depuis l'extérieur du fruit; la longueur de sa galerie est inférieure à 1,5 mm.
- II - le scolyte est entré complètement dans la pulpe du fruit, mais il n'a pas eu le temps de trouser la parche avant de mourir; parfois il est encore visible depuis l'extérieur du fruit; c'est le cas le plus fréquent.
- III- le scolyte a troué la parche mais il ne l'a pas traversée entièrement.
- IV - le scolyte a traversé la parche puis a creusé une galerie principale dans le grain, mais il n'a pas pondu.
- V - le scolyte a creusé une galerie principale dans le fond de laquelle il a déposé un ou plusieurs oeufs.

VI - le scolyte a creusé une galerie principale, des petites loges latérales, avec débuts de galeries secondaires, où il a déposé des oeufs qui peuvent avoir donné des larves au moment de la dissection et même parfois des adultes.

Dans le comportement du scolyte la traversée de la parche est particulièrement retenue ici car elle présente une grande importance économique: en effet l'insecte commence alors à forer le grain de café. C'est ce dégat qui sera évalué sur le lot de café vert, après le départage, lors de l'expertise de la récolte, lorsqu'il faudra payer le producteur à la qualité.

Une seconde échelle de notations rend compte de l'emplacement du cadavre dans la drupe, donc du déplacement éventuel de l'insecte avant sa mort. En effet, l'insecte malade peut effectuer un certain travail avant de mourir (échelle précédente); mais il apparaît qu'il ne meurt pas toujours sur place au cours de ce travail: il peut abandonner par exemple le fond d'une galerie où il a commencé à pondre pour remonter au trou d'entrée qu'il a creusé plusieurs jours auparavant à l'apex du fruit et y mourir. Ces situations sont désignées par les lettres A à D.

- A - le scolyte mort se trouve à l'entrée de sa galerie, au niveau de l'épicarpe du fruit; c'est le cas le plus fréquent.
- B - le scolyte mort se trouve dans sa galerie, à l'extérieur de la parche; il est en général visible sous l'éclairage de la loupe binoculaire. Lorsqu'il est difficilement visible de l'extérieur, pour s'assurer de sa mort très probable et de son emplacement, il est quelquefois besoin de découper en tranches au scalpel la pulpe de la drupe. Ce cas est commun.
- C - le scolyte mort se trouve après la parche, à son contact. C'est la dissection de la graine après le jour choisi pour la fin de l'expérimentation qui fournit cette information.
- D - le scolyte mort se trouve dans une galerie, à l'intérieur de la graine.

Les deux échelles se recoupent automatiquement, en particulier les premiers jours de notations, lorsque le scolyte meurt rapidement et reste visible depuis l'extérieur de la drupe. Les dernières informations les plus intéressantes sont données par la dissection des drupes au dernier jour de l'expérimentation. Les quelques scolytes dont la mort n'a pu être déterminée auparavant sont alors dénombrés morts ou vivants, ce qui permet de déterminer les pourcentages de mortalité à la fin de l'expérimentation.

## LES RESULTATS

Les figures 3 et 4, avec les tableaux 1 à 4, résument les observations effectuées sur les populations de scolytes soumises ou non, avec les drupes correspondantes, à des bains dans des solutions aqueuses de spores de *Beauveria bassiana*.

Les figures 3 et 4 rendent compte, pour les deux expérimentations, de la dynamique de la mortalité du scolyte au cinquième jour d'abord, puis entre des intervalles de temps variables jusqu'au dernier jour, lorsqu'est effectuée la dissection des derniers fruits. Les tableaux 1 et 2 rendent compte du comportement de forage des lots de scolytes traités ou non, de leur mortalité naturelle, de celle consécutive à la mycose, enfin de leur ponte et de leur fécondité. Tous les scolytes n'entrent pas dans les fruits proposés: une proportion plus ou moins grande meurt rapidement dans le tube individuel d'infestation sans même tenter de pénétrer dans la drupe; les divers pourcentages figurant dans les tableaux 1 et 2 sont par suite calculés par rapport aux nombres d'insectes effectivement entrés dans les drupes proposées.

Si l'on considère sur la figure 3 la mortalité dans le temps des lots de scolytes femelles adultes trempées avec les drupes dans les solutions de spores de *Beauveria*, on appelle dose 1 celle contenant  $45 \cdot 10^1$  spores/ml, dose 2 celle contenant  $45 \cdot 10^2$  spores/ml ... et dose 5 celle à  $45 \cdot 10^5$  spores/ml. L'examen des drupes a débuté le 5ème jour, au moment où des scolytes morts et mycosés sont apparus au trou d'entrée, en particulier dans les lots soumis aux doses les plus faibles. La mortalité dans ces lots semble, d'après l'allure des courbes, être apparue avant le 5ème jour. La mortalité de la moitié (50%) des scolytes entrés dans les drupes est atteinte dès le 7ème jour pour la dose 5, au 9ème jour pour la dose 4, au 10ème jour pour la dose 3 et seulement au 14ème jour pour les doses 2 et 1. Le témoin n'a pas atteint cette mortalité au 34ème jour. Au 14ème jour apparaît à toutes les concentrations, et même pour le témoin, après un palier de plus en plus marqué de la dose 5 au témoin, un brusque changement de pente consécutif à la remontée vers le trou d'entrée de nombreux scolytes qui viennent y mourir. C'est ce phénomène qui permet aux deux plus faibles doses de dépasser une mortalité de 50% au 14ème jour. Il doit être lié à la population de scolytes utilisée (origine Païta) puisqu'on l'observe aussi chez le témoin. Quelques scolytes dont on ne peut déterminer l'état avant la dissection des fruits, restent à l'intérieur des graines jusqu'au dernier jour de l'expérimentation, sans remonter mourir au trou d'entrée où ils pourraient être observés. Ces populations correspondent aux paliers, plus ou moins marqués, mais qui ne sont que virtuels, observés sur les courbes après les 14-17èmes jours. Lors de la dissection du 34ème jour on constate ainsi à toutes les concentrations un saut important du pourcentage de mortalité par rapport au palier du 33ème jour. Au 34ème jour la mortalité est totale à la dose 5 mais subsistent vivantes diverses propor-

tions des populations initiales aux doses inférieures, proportions comprises entre 11% et 28% des populations initiales de la dose 4 à la dose 1. Chez le témoin subsiste encore 54% de la population initiale 34 jours après l'immersion dans l'eau distillée stérile additionnée de mouillant.

Sur la figure 4, qui rend compte de la mortalité des scolytes après l'immersion des seuls fruits dans des solutions aqueuses de spores du champignon, la mortalité de 50% des insectes est observée au 10ème jour pour la dose 5, au 12ème pour les doses 4 et 3 et au 19ème pour les doses 2 et 1 et le témoin. Ensuite, on constate un petit palier de quelques jours (du 19ème au 25ème), puis un brusque changement de pente entre le 25ème et le 35ème jour (sauf pour la dose 4). Les mêmes paliers "virtuels" que ceux observés lors de l'expérimentation précédente apparaissent du 35ème au 44ème jour, veille des dissections marquant la fin de la seconde expérimentation. On peut cependant observer qu'à la dose 5 aucun scolyte ne vient mourir au trou d'entrée après le 17ème jour (mais la mortalité a déjà alors atteint 75%). On constate le même phénomène à partir du 19ème jour pour la dose 4 (avec seulement 55% de mortalité), alors que les autres lots soumis à des doses plus faibles évoluent comme décrit plus haut.

Dans l'expérience 1 (tableau 1), au 34ème jour, dans toutes les drupes où les scolytes ont pénétré et sont encore vivants, ils ont dans leur grande majorité pondé, fondé une colonie et ils continuent à pondre. S'il ne subsiste plus de scolyte vivant au 34ème jour à la plus forte dose, la proportion des scolytes qui ont pondé à cette dose est identique à celles des doses plus faibles, sauf pour la dose à 450 spores/ml (30% contre 52% chez le témoin). Les proportions des scolytes morts sont en gros décroissantes pour les doses plus faibles. Il existe ainsi une descendance pour un petit nombre de scolytes soumis à la plus forte dose, c'est à dire qu'ils ont le temps de pondre avant de tous mourir de mycose. Aux quatre doses inférieures il subsiste des scolytes qui continuent à pondre après le 34ème jour. En outre, leur fécondité est deux à trois fois plus forte que la fécondité des scolytes ayant pondé à la plus forte dose et identique à celle du témoin (8 oeufs et larves par scolyte vivant au 34ème jour).

Le tableau 2 montre qu'avec des bains aux concentrations en spores de *Beauveria* légèrement plus fortes, où seuls les fruits du caféiers sont plongés, les mortalités en fin d'expérimentation sont comparables aux précédentes (tableau 1), sauf pour le témoin chez lequel la mortalité est aussi très importante. Dans ces conditions, sauf à la plus forte concentration, un plus grand nombre de scolytes a pondé si leur fécondité est plus faible, mais aussi un plus grand nombre est mort de mycose après avoir pondé avant la fin de l'expérimentation.

Les tableaux 3 et 4 concernent uniquement les scolytes morts à la fin des expérimentations; ils résument les données recueillies

selon les deux échelles de notation précédemment précisées et indiquent ainsi l'emplacement où a été observé chaque cadavre et le travail effectué par le scolyte correspondant avant sa mort. Sur chacun de ces tableaux les nombres de scolytes morts observés dans les situations (I,A), (II,A), (II,B), (III,C), (IV D) ... (VI,D) sont donnés dans chaque case correspondante dans l'ordre suivant: pour le témoin au coin supérieur gauche de la case puis, dans l'ordre normal d'une lecture de gauche à droite, les nombres de scolytes observés pour les concentrations croissant de 450 ou 520 spores/ml à  $45 \cdot 10^5$  ou  $52 \cdot 10^5$  spores/ml. Les valeurs pour la plus forte concentration se trouvent ainsi au coin inférieur droit de chaque case. Si l'on considère les rangées des tableaux 3 et 4, la limite entre B et C représente la parche de la graine. En A et B le scolyte est mort avant de l'avoir dépassée, ou bien il l'a dépassée mais il est revenu mourir près de son trou d'entrée. En C et D le scolyte mort se trouve après la parche, dans le grain. Si l'on considère les colonnes des tableaux 3 et 4, les colonnes I et II représentent un travail effectué avant la parche, dans la pulpe du fruit, la colonne III un travail de percée de la parche, les colonnes IV à VI un travail de forage d'une galerie principale dans le grain lui-même, la ponte étant absente de la colonne IV mais présente en V et VI. La colonne VI rend compte d'un travail conséquent avec des galeries secondaires et d'une progéniture du scolyte en fin d'expérimentation. En outre, si par exemple on considère sur le tableau 4 la colonne VI, sur un total de 15 scolytes du lot 2 ayant creusé des galeries secondaires et pondu, un seul est resté mourir en D, deux en C, mais trois sont remontés en B et neuf en A.

## DISCUSSION

Il existe une grosse différence entre les deux expérimentations (figures 3 et 4 et tableaux 1 et 2). Dans la première expérimentation, le fait de tremper les scolytes eux-mêmes dans les solutions de spores de *Beauveria* fournit un inoculum infestant bien supérieur à la seconde expérimentation. Lors de cette dernière, le scolyte non trempé entre en contact seulement avec les spores se trouvant sur la drupe, par l'intermédiaire de ses tarses, de ses antennes, de sa face ventrale et de ses mandibules.

Lors des deux expérimentations (tableaux 1 et 2), on observe une forte mortalité des scolytes chez le témoin, surtout lors de la seconde expérimentation (80%), mortalités qui devraient être naturelles. Dans la première expérimentation la mortalité chez le témoin est toujours bien inférieure aux mortalités obtenues après l'immersion des insectes dans les solutions infestantes additionnées d'un mouillant. Dans la seconde expérimentation cette différence dans les mortalités entre témoin et solutions infestantes, lors de la dissection des dernières drupes, est bien moins marquée; pourtant, dans ce cas, les insectes ne sont plus agressés par une immersion infestante. Par contre, ces dernières populations de scolytes, dont l'état physiologique moyen reste inconnu,

ont été prélevées en milieu naturel un mois et demi plus tard, alors que leur gradation déclinait. Leur mortalité naturelle attribuable à la vieillesse à cette époque de l'année (août) - dans laquelle *Beauveria* à l'état latent doit aussi intervenir - est sans doute plus importante que sur les populations de scolyte prélevées en juin pour la première expérimentation, alors que la gradation était ascendante. Ces morts parmi les témoins représenteraient alors des femelles âgées qui, après avoir survécu durant la saison sèche en drupes desséchées, ont pondu et établi leurs colonies dans les premières drupes vertes disponibles. Elles ont alors été amenées à sortir anormalement du fruit mûr où elles se trouvaient, une fois ce dernier transporté au laboratoire afin d'obtenir les insectes nécessaires aux expérimentations. Ces mortalités naturelles dans les populations-témoins de scolytes récoltées en plantation pour les expérimentations sont donc à retrancher des mortalités observées à la suite de la mise en contact des lots de scolytes avec les diverses concentrations de spores de *Beauveria*. Si l'on exclut ainsi la mortalité chez le témoin, l'infestation effective par le champignon porte sur environ 54% des scolytes utilisés dans la première expérimentation et seulement 20% dans la seconde. Dans les deux cas la mortalité est totale à la plus forte concentration en conidiospores.

Si cette mortalité importante dans les lots-témoins n'était pas naturelle, ce sont alors les conditions retenues pour les expérimentations qui doivent intervenir. Dans les deux cas, les drupes rouges bien mûres utilisées proviennent d'une caféière où le scolyte est absent (Nakutakoin); elles ne devraient donc pas porter de conidiospores de *Beauveria*. Néanmoins, les drupes sont dans les deux cas désinfectées dans l'eau de javel, séchées, puis trempées dans l'eau distillée stérile additionnée d'un mouillant. Quant aux scolytes utilisés pour les deux expérimentations, ils proviennent d'une même plantation abandonnée de caféiers *Arabica* (Païta) où la mycose à *Beauveria* existe, mais à un faible niveau selon nos observations. Ces insectes doivent donc porter sur eux quelques conidiospores du champignon. Lorsque les scolytes du témoin sont trempés dans l'eau distillée additionnée de mouillant, ce simple fait peut favoriser la germination des conidiospores se trouvant déjà sur la population récoltée dans la nature sans pour autant faire apparaître extérieurement le feutrage mycélien de la mycose. Au plan pratique, comme on ne peut atteindre l'insecte à l'intérieur de sa drupe, même avec de l'eau, il s'agit de l'atteindre au moment où il sort du fruit. Dans une plantation déjà bien infestée par la mycose, une nébulisation aqueuse avec un mouillant, même à faible concentration de spores, devrait suffire au moment des vols de dispersion de l'insecte et lorsque l'hygrométrie est la plus faible dans la plantation pour obtenir une mortalité conséquente. Apparaît alors l'importance des brouillards matinaux dans les plantations où la mycose est souvent observable. Dans la seconde expérimentation, le stress de l'immersion dans l'eau distillée stérile n'existe plus. On doit donc retenir que le seul fait d'obliger l'insecte à forer la pulpe succulente et sucrée d'une drupe bien mûre, dans laquelle il baigne



littéralement lorsqu'il fore la première partie de sa galerie, permet aux quelques conidiospores qu'il porte de germer. Il aurait sans doute fallu utiliser des cerises vertes qui sont moins succulentes et dont le mésocarpe surtout n'est pas sucré. La cerise verte est d'ailleurs le stade phénologique du fruit qui est le plus attaqué dans la nature par le foreur.

Dans la seconde expérimentation la mortalité du témoin étant bien plus importante que lors de la première, les mortalités aux faibles concentrations de spores sont au 45<sup>ème</sup> jour peu différentes de celle du témoin. Ce qui veut dire que, même s'ils sont morts de mycose suite à l'infection des drupes par *Beauveria*, beaucoup de ces scolytes seraient morts de toutes façons. Dans chaque lot il y a donc deux populations naturelles de scolytes, autant sensibles à la mycose: ceux qui doivent mourir de toutes façons naturellement mais qui meurent de mycose et les jeunes fondatrices à l'espérance de vie plus grande et qui ne seraient pas mortes si elle n'avaient pas été mises en contact avec les spores du champignon. Par contre, la différence, surtout avec la plus forte concentration, porte sur la ponte: il n'existe plus de scolytes en train de pondre au 45<sup>ème</sup> jour à cette concentration et seulement 14% ont pondu avant de mourir, alors que la proportion est le double pour le témoin et les concentrations 1 à 3 (24% pour la concentration 4). En outre une autre différence porte sur la fécondité des scolytes survivants aux faibles concentrations. S'il n'y a pas de différence entre les fécondités des scolytes morts avant le 45<sup>ème</sup> jour pour toutes les concentrations et le témoin, elle est cependant chez le témoin et les faibles concentrations 1 et 2 plus du double (6.1 à 6.8) de celle de la concentration 3 (3.0) pour les scolytes encore vivants au 45<sup>ème</sup> jour. A la concentration 5 il y a mortalité totale sans ponte, à la concentration 4 les survivants n'ont pas pondu, tandis qu'à la concentration 3 on observe une certaine tolérance à l'infection avec perte de fécondité.

Les mortalités importantes chez les témoins montrent la difficulté d'une telle expérimentation. Outre le fruit, qui ne doit pas favoriser la germination d'une spore éventuelle, l'insecte utilisé ne doit pas porter de conidiospores de *Beauveria*. Ceci ne peut être obtenu avec assurance qu'au laboratoire avec un élevage aseptique sur milieu artificiel; de plus cet élevage doit être très important pour pouvoir fournir plusieurs centaines de scolytes adultes au jour prévu de chaque expérimentation.

Lors de la première expérimentation, si la vitesse d'infection est la plus grande à la dose 5 (figure 3) et si la mortalité est alors totale, le résultat atteint au 33<sup>ème</sup> jour, avant la dissection des dernières drupes, est comparable à ceux des doses 4 et 3. Aux doses plus faibles les évolutions de la maladie sont moins brutales, mais les situations finales sont voisines des précédentes. Dans la seconde expérimentation (figure 4) où seuls les fruits sont infestés, la mortalité à la dose 5 est brutale (68% au 12<sup>ème</sup> jour), mais, comparé aux doses plus faibles, l'effet fi-

nal de cette dose est identique au 44ème jour (avant la dissection des dernières drupes) à l'effet de toutes les autres doses; ces dernières courbes ont atteint le même état plus lentement et selon d'autres modalités (sauf la dose 4). Le seul intérêt de la plus forte dose réside en fin de compte dans les différences de mortalité observées lors de la dissection du 45ème jour. Sinon, si l'on se préoccupe avant tout de la diffusion de la maladie, vu l'état sanitaire naturel et l'âge des populations de scolytes utilisées, dans ce cas un simple épandage de spores à la plus faible dose apparaît aussi efficace qu'à la plus forte.

Dans les deux expériences (tableaux 1 et 2) on constate que l'activité de forage de l'insecte dans la drupe proposée est significativement plus faible pour les deux lots-témoins et à peu près identique dans tous les autres lots, alors que l'insecte entre en contact avec les spores du champignon, comme si l'infection exacerbait d'abord ses activités de prise de nourriture et de forage.

On observe par contre dans les lots-témoins en fin d'expérimentation, comme on pouvait l'attendre, une plus grande proportion de scolytes vivants et de scolytes ayant pondu (environ 50%). Les tableaux 1 et 2 ont montré qu'une certaine proportion de scolytes sont morts de mycose pour chaque concentration (mortalité totale aux fortes doses) avant le 34ème ou le 45ème jour; mais ces insectes ont quand même eu le temps de pondre: en particulier dix scolytes ont pondu après avoir été exposés à la dose de  $45.10^4$  spores/ml (tableau 1) et trois scolytes ont survécu à celle de  $52.10^4$  spores/ml (tableau 2), mais ces trois derniers scolytes n'ont pas pondu. De tels individus doivent présenter une bonne tolérance à la mycose. Le champignon influe aussi sur la capacité de ponte de l'insecte avant qu'il meure de mycose. Lors de la première expérimentation, cette capacité est diminuée de 60% avec la plus forte dose, par rapport aux capacités de ponte des insectes morts aux doses inférieures. Par contre, il n'y a pas de différence par rapport au témoin si les insectes sont encore vivants et continuent à pondre au 34ème jour. Dans la deuxième expérimentation, la capacité de ponte des scolytes morts avant le 45ème jour est identique à toutes les concentrations; par contre, sur les scolytes encore vivants, elle est nulle à la dose 4, diminuée de 50% à la dose 3 et comparable au témoin pour les deux plus faibles doses. Ainsi, si la mycose n'élimine pas tous les insectes, elle ne stoppe pas non plus la ponte chez les insectes survivants.

Par ailleurs, sur les deux tableaux 3 et 4, dans l'ensemble on observe les sommes les plus élevées sur les colonnes II, IV et VI. Ces trois groupes de scolytes correspondent à trois niveaux de travail, donc à trois impacts de la mycose sur les populations de scolytes observées (même chez les témoins), impacts qui correspondent à trois durées d'action du champignon. Dans les groupes (II,A) et (II,B) le scolyte est mort très rapidement sans avoir eu le temps (ou sans avoir tenté) d'atteindre la parche;

dans le groupe IV, il a pu traverser la parche et forer une galerie principale dans la graine, mais il n'a pas pondu avant de mourir sur place ou de remonter vers la surface. Enfin, dans le groupe VI, travail et ponte sont plus importants avec le même comportement. Ainsi, si l'on considère la colonne VI du tableau 3, aucun scolyte mort chez le témoin n'a été observé avoir fait un travail correspondant à cette colonne; par contre trois scolytes du lot 1 (450 spores/ml) ont creusé des loges secondaires dans le grain, ils auraient alors dû mourir en C ou D, mais on en trouve deux en B et un en A. Ce phénomène est nettement indiqué également chez les 12 scolytes de la dose 5 ( $45 \cdot 10^5$  spores/ml) dont la moitié remontent pour mourir près du trou d'entrée (en B) ou au trou d'entrée (en A). Lorsque la galerie de forage de l'insecte franchit la parche le grain est troué; c'est ce dégat que relève l'expertise. La parche étant ainsi choisie comme seuil franchi ou non par le scolyte, autant pour le travail (III) que pour le déplacement précédant la mort de l'insecte (passage de B en C), le calcul des pourcentages des scolytes sur les deux tableaux 3 et 4 donne les chiffres suivants :

	Scolytes morts au dernier jour (1)	Scolytes (2) et % (2/1) ayant foré au dessous de la parche	Scolytes (3) et % (3/1) morts au dessous de la parche	Scolytes (4) et % (4/2) remontés vers le trou d'entrée
Témoin	29	8 27%	5 17%	3 37%
45.10 <sup>1</sup>	62	6 9%	0 0%	6 100%
45.10 <sup>2</sup>	59	10 16%	6 10%	4 40%
45.10 <sup>3</sup>	79	22 27%	12 15%	10 45%
45.10 <sup>4</sup>	71	22 30%	9 12%	13 59%
45.10 <sup>5</sup>	86	44 51%	20 23%	24 54%

Le même traitement donne pour la seconde expérimentation :

	Scolytes morts au dernier jour (1)	Scolytes (2) et % (2/1) ayant foré au dessous de la parche	Scolytes (3) et % (3/1) morts au dessous de la parche	Scolytes (4) et % (4/2) remontés vers le trou d'entrée
Témoin	36	23 63%	8 22%	15 65%
52.10 <sup>1</sup>	39	24 61%	3 7%	21 87%
52.10 <sup>2</sup>	43	26 60%	5 11%	21 80%
52.10 <sup>3</sup>	41	23 56%	5 12%	18 78%

52.10 <sup>4</sup>	43	25	58%	16	37%	9	36%
52.10 <sup>5</sup>	50	19	38%	12	24%	7	36%

On retrouve le phénomène déjà noté: lorsqu'un grand nombre de spores germent sur un insecte plongé dans une solution de plus en plus concentrée en conidiospores (première expérimentation), son activité de forage est exacerbée. Ainsi, aux faibles concentrations la grande majorité (jusqu'à 90%) des scolytes meurent avant d'avoir dépassé la parche, alors qu'un scolyte sur deux dépasse la parche lorsqu'il est plongé dans un bain à  $45.10^5$  spores/ml. Ce comportement n'apparaît pas lorsque seul le fruit est infesté (seconde expérimentation), la pente générale des courbes d'infestation étant plus faible (figure 4). Dans les deux cas, les proportions des scolytes qui meurent dans le grain sont comparables. Dans le second cas, la proportion des scolytes qui forent jusqu'au grain est dans l'ensemble deux fois plus importante que dans le premier cas, l'évolution plus lente de la maladie leur laissant le temps d'effectuer ce travail; plus de scolytes ont aussi le temps de remonter vers la surface avant de mourir de mycose sauf aux plus fortes concentrations. Dans les deux cas, ce comportement est le plus marqué à la plus faible dose de conidiospores ( $45.10^1$  spores/ml et  $52.10^1$  spores/ml). Un traitement avec une concentration trop forte en spores ne semble donc pas le meilleur si l'on veut que le maximum de scolytes remontent à l'entrée du trou. Là les spores peuvent apparaître sur les cadavres et contaminer d'autres populations du ravageur. Le comportement de remontée du scolyte mourant vers l'entrée du trou est aussi notable chez les témoins; il peut indiquer à nouveau que les scolytes des témoins morts durant ces expérimentations sont aussi affectés par la mycose dans la caféière où on les a récoltés, sans pour cela exclure que la mort naturelle du scolyte s'accompagne aussi d'une remontée vers le trou d'entrée.

Une forte concentration de spores, donc un très grand nombre de spores germant toute ensemble, provoque une dessiccation rapide de l'insecte. Ce dernier éprouve alors un besoin en oxygène sous l'action du brutal envahissement de son organisme par le champignon. Ce besoin en oxygène le fait alors remonter au trou d'entrée; mais parfois l'attaque de la mycose est si foudroyante qu'il n'en a pas le temps. Néanmoins, pas moins de 98 % des scolytes observés morts à proximité de leur trou d'entrée ont présenté plus ou moins rapidement le feutrage mycélien typique de *Beauveria*. Seuls les scolytes trouvés morts à l'intérieur du grain ne présentaient pas ce feutrage, pas plus que leur progéniture. Il est possible qu'un antibiotique produit par un autre champignon du genre *Penicillium*, de teinte verdâtre, empêche le développement de la mycose à l'intérieur du grain. En outre, une tension en oxygène trop faible à l'intérieur du grain pour permettre la sporulation de *Beauveria* pourrait être due à la respiration des insectes (et du champignon) dans un espace confiné.

Le comportement des scolytes malades atteints de mycose et restant à l'intérieur des graines sans remonter au trou d'entrée peut avoir une incidence négative sur la dispersion de la maladie au champ, car c'est bien le scolyte mycosé revenu mourir et mort à l'entrée du trou, puis recouvert de conidiospores, qui est le plus infestant. Les spores peuvent alors être dispersées par le vent; des scolytes sains peuvent aussi venir à leur contact. Les scolytes non porteurs de spores morts à l'intérieur des drupes sont enlevés du champ au moment de la récolte du fruit par l'homme, d'autres restent dans le fruit sec non récolté tombé au sol. Comme la sporulation ne se produit pas à l'intérieur des drupes, la potentialité infestante que représente cette dernière population est ainsi perdue.

On peut rapporter ces conclusions aux observations faites dans la nature. Les drupes vertes (figure 1) qui présentent au champ un scolyte adulte mort couvert de spores à l'entrée de sa galerie ne contiennent pas de progéniture, l'insecte étant momifié dès le début de son forage dans la pulpe. Il en est souvent de même si la drupe est rouge; ce qui peut indiquer que l'insecte a fait son trou puis est mort lorsque cette drupe était verte. Néanmoins, il peut aussi arriver qu'un ou deux autres adultes, bien vivants ceux là, se trouvent à l'intérieur de la drupe rouge. Il est possible que ces scolytes vivants portent la mycose, mais elle n'apparaît pas. Le trou étant bouché par le feutrage mycélien du champignon avide d'oxygène, la tension en oxygène à l'intérieur de la drupe est faible et empêche peut-être la mycose d'y apparaître sur un scolyte vivant moins exigeant en oxygène que le champignon. Lorsque la drupe est desséchée (figure 2), plusieurs trous peuvent être bouchés par plusieurs scolytes tous atteints de mycose, mais les scolytes morts qui se trouvent à l'intérieur du fruit ne montrent pas de signe de la maladie, qui ne peut se développer sur les tissus morts et desséchés des cadavres.

## CONCLUSION

La présente étude a eu pour but de caractériser un isolat néo-calédonien de *Beauveria bassiana* qui nous semble particulièrement virulent; il a été extrait de la collection rassemblée dans la mycothèque de l'ORSTOM à Nouméa. Son agressivité semble importante: elle est fonction de la vitesse de croissance du mycélium, de l'activité de la chitinase du champignon et de la productivité de la sporulation, qualités indépendantes des doses utilisées. L'insecte entre moins dans les drupes des lots-témoins traitées à l'eau distillée stérile que dans celles portant des spores de *Beauveria*, comme si l'infection par le champignon exacerbait son activité de forage. Mais la mycose diminue alors la capacité de ponte et la fécondité de l'insecte resté vivant. Des scolytes ont le temps de pondre avant de mourir de mycose, d'autres survivent sans pondre, même après avoir été exposés à une forte dose de conidiospores, ce qui peut indiquer une tolérance à la maladie.

En pratique, une pulvérisation localisée sur les fruits seuls, à la dose d'environ  $5.10^6$  spores/ml, doit permettre durant une quinzaine de jours la mortalité totale des scolytes qui s'y déplacent. Cependant, une telle concentration n'est pas sans inconvénient si l'on veut maintenir la maladie dans la plantation; elle devrait être complétée un mois plus tard par une pulvérisation à concentration plus faible, de l'ordre de  $5.10^2$  spores/ml. Ces hypothèses doivent être vérifiées au champ.

Notre but est maintenant de multiplier l'isolat étudié selon des méthodes déjà éprouvées (Samsinakova, 1966; Samsinakova et al., 1981), parfois semi-artisanales (Fargues et al., 1979; Goettel, 1984; Thomas et al., 1986), puis d'étudier sa formulation (Prior et Jollands, 1988) et de l'utiliser au champ dans un programme de lutte intégrée contre le scolyte au niveau du petit planteur (Hussey et Tinsley, 1981). La production de blastospores (Catroux et al., 1970; Blachère et al., 1973) ayant été écartée, la production de mycélium en milieux liquides, ensuite déshydraté (McCoy et al., 1975; Rombach et al., 1988; Pereira et Roberts, 1991) pourrait sembler préférable à la production de sympodulocnidies de surface (Kybal et Vlcek, 1976) ou en milieu liquide (Rombach, 1989; Hegedus et al., 1990), même si les premières ont une longévité plus grande aux températures ambiantes que les secondes. Ce choix repose sur le fait que la chitinase du champignon n'est libérée qu'au moment de la lyse du mycélium (Madelin, 1966), ce dernier étant par ailleurs plus résistant que les spores aux conditions du milieu naturel.

#### BIBLIOGRAPHIE

BAKER P., LEY C., BALBUENA R. and BARRERA J., 1992. Factors affecting the emergence of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) from coffee berries. *Bull. Ent. Res.*, 82: 145-150.

BLACHERE H., CALVEZ J., FERRON P., CORRIEU G. et PERINGER P., 1973. Etude de la formulation et de la conservation d'une préparation entomopathogène à base de blastospores de *Beauveria tenella* (Delacr.) Siemaszko. *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 5(1) : 69-79.

BRIDGE P. D., ABRAHAM Y. J., CORNISH M. C., PRIOR C. and MOORE D., 1990. The chemotaxonomy of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) isolates from the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Mycopathologia* 111: 85-90.

BRUN L.-O., GAUDICHON V. et COCHEREAU P., 1994. Technique for individual rearing of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera : Scolytidae). *J. Austr. Ent. Soc.* (sous presse).

BUGNICOURT (F.), 1950. Le "Scolyte du grain de café" en Nouvelle-Calédonie. *Rev. Agric. de Nouvelle-Calédonie*, n° 1-2, janvier-février, pp.3-4.

- CATROUX G., CALVEZ J., FERRON P. et BLACHERE H., 1970. Mise au point d'une préparation entomopathogène à base de blastospores de *Beauveria tenella* (Delacr.) Siemaszko pour la lutte microbiologique contre le ver blanc (*Melolontha melolontha* L.). *Ann. Zool. Ecol. anim.* 2 (2) : 281-94.
- COCHEREAU P., 1965. Observations sur le scolyte du grain de café en Nouvelle Calédonie : prélèvements effectués en différentes caféières, début février 1965. ORSTOM, Centre de Nouméa, Laboratoire d'Entomologie agricole, 8 p., 4 tabl.
- COHIC F., 1958. Le "Scolyte du grain de café" en Nouvelle-Calédonie. *Café, Cacao, Thé*, 2(1) : 10-14.
- DECAZY B., 1988. Le scolyte du fruit du caféier, *Hypothenemus hampei* Ferr. : considérations sur la lutte intégrée contre ce ravageur. Rapport non publié, IFCC Paris, 10 p.
- FARGUES J., ROBERT P. H. et REISINGER O., 1979. Formulation des productions de masse de l'hyphomycète entomopathogène *Beauveria* en vue des applications phytosanitaires. *Ann. Zool. Ecol. anim.* 11 (2) : 247-57.
- GOETTEL M. S., 1984. A simple method for mass culturing entomopathogenic Hyphomycete fungi. *J. of Microbiol. Methods* 3 : 15-20.
- HEGEDUS D. D., BIDOCHKA M. J. and KHACHATOURIANS G. G., 1990. *Beauveria bassiana* submerged conidia production in a defined medium containing chitin, two hexosamines or glucose. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 33 : 641-47.
- HUSSEY N. W. and TINSLEY T. W., 1981. Impressions of insect pathology in the People's Republic of China, chapter 42: 786-795. in *Microbial control of pests and plant diseases, 1970-80*. H. D. Burges (Ed.), London, Academic Press.
- KLEIN KOCH C., 1989. Perspectivas en el control biotecnologico de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferr.) ASIC, 13ème Colloque, Paipa, pp. 717-25.
- KYBAL J. et VLCEK V., 1976. A simple device for stationary cultivation of microorganisms. *Biotech. and Bioengin.* 18 : 1713-18.
- LAVABRE (E.), 1966. Le problème du Scolyte du grain de café en Nouvelle-Calédonie. in: CAMBRONY (H.) et LAVABRE (E.): La caféiculture sur la côte est de Nouvelle-Calédonie, rapport de mission non publié, nov.-déc. 1966, 34 p., IFCC, Paris.
- MADÉLIN M. F., 1966. Fungal parasites of insects. *Ann. Rev. Entomol.* 11 : 423-48.

- M'BAYE N'DOYE, 1976. Influence d'une infection à *Beauveria bassiana* sur les survivants et la descendance de *Chilo suppressalis* (Lep. : Pyralidae). *Entomophaga* 21 (4) : 371-76.
- McCOY C. W., HILL A. J. and KANAVAL R. F., 1975. Large-scale production of the fungal pathogen *Hirsutella thompsonii* in submerged culture and its formulation for application in the field. *Entomophaga*, 20 (3) : 229-40.
- MOORE D. and PRIOR C., 1988. Present status of biological control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*. *Brighton Crop Protection Conference 9C-1 - Pests and Diseases* pp. 1119-24.
- MURPHY S. T. and MOORE D., 1990. Biological control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera, Scolytidae) : previous programmes and possibilities for the future. *Biocontrol News and Information* 11 (2) : 107-17.
- N'DOYE M'BAYE, 1976. Influence d'une infection à *Beauveria bassiana* sur les survivants et la descendance de *Chilo suppressalis* (Lep.: Pyralidae). *Entomophaga* 21(4) : 371-376.
- PEREIRA R. M. and ROBERTS D. W., 1991. Alginate and cornstarch mycelial formulations of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae*. *J. Econ. Ent.* 84(6) : 1657-61.
- PRIOR C., JOLLANDS P. and LE PATOUREL G., 1988. Infectivity of oil water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina : Hyphomycetes) to the cocoa weevil *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 52: 66-72.
- ROMBACH M. C., AGUDA R. M. and ROBERTS D. W., 1988. Production of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina : Hyphomycetes) in different liquid media and subsequent conidiation of dry mycelium. *Entomophaga*, 33 (3) : 315-24.
- ROMBACH M. C., 1989. Production of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina, Hyphomycetes) sympoduloconidia in submerged culture. *Entomophaga* 34 (1) : 45-52.
- SAMSINAKOVA A., 1966. Growth and sporulation of submerged cultures of the fungus *Beauveria bassiana* in various media. *J. Invert. Path.* 8 : 395-400.
- SAMSINAKOVA A., KALALOVA S., VLCEK V. and KYBAL J., 1981. Mass production of *Beauveria bassiana* for regulation of *Leptinotarsa decemlineata* populations. *J. Invert. Path.* 38: 169-174.
- SLADDEN G.-E., 1934. Le *Stephanoderes hampei* Ferr. *Bull. agr. Congo belge* 25 (1) : 26-77.



TICHELER J. H. G., 1961. Etude analytique de l'épidémiologie du scolyte des graines de café, *Stephanoderes hampei* Ferr., en Côte d'Ivoire. *Meded. Landbouwhogeschool, Wageningen* 61 (11) : 1-49. H. Veenman & Zonen N. V., Wageningen.

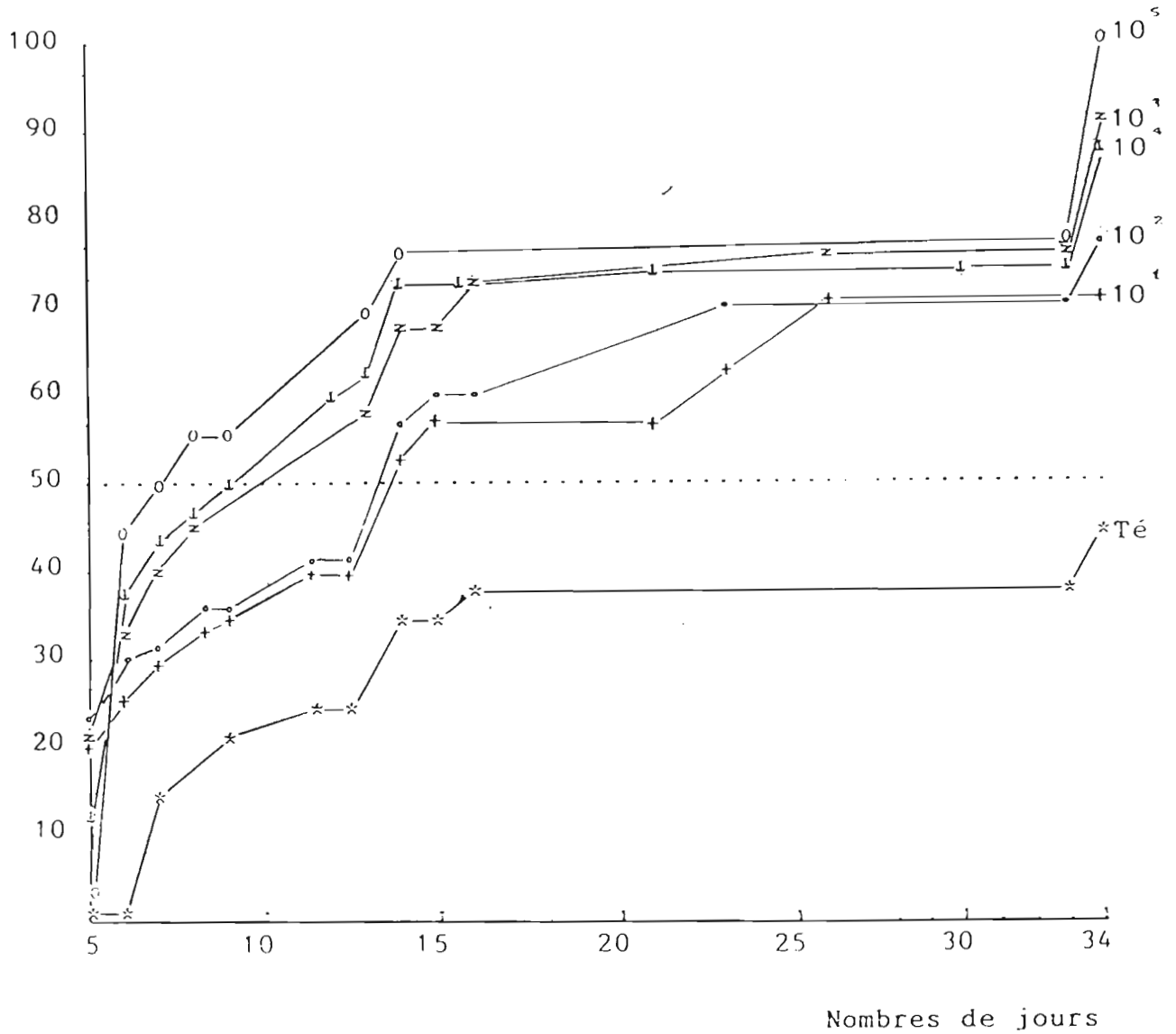
THOMAS K. C., KHACHATOURIANS G. G. and INGLEDEW W. M., 1986. Production and properties of *Beauveria bassiana* conidia cultivated in submerged culture. *Can. J. Microbiol.* 33 : 12-20.

VLCEK V. and KYBAL J., 1981. Mass production of *Beauveria bassiana* for regulation of *Leptinotarsa decemlineata* populations. *Journal of Invertebrate Pathology* 38 : 169-74.

WALSTAD J. D., ANDERSON R.F. and STAMBAUGH W. J. 1970. Effects of environmental conditions on two species of muscardine fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae*). *J. Invert. Path.* 16 : 221-26.

WATHERHOUSE D. G. and NORRIS K. R., 1991. Biological Control. Pacific Prospects. 6 - *Hypothenemus hampei* (Ferrari) Coleoptera : Scolytidae, coffee berry borer, pp 57-75. Inkata Press, Melbourne, 454 p.

% de mortalité



\* témoin                      • 45.10<sup>2</sup> spores/ml                      l 45.10<sup>4</sup> spores/ml  
 + 45.10<sup>1</sup> spores/ml                      z 45.10<sup>3</sup> spores/ml                      o 45.10<sup>5</sup> spores/ml

Figure 3 - Première expérimentation (34 jours): évolutions des mortalités du scolyte, comparées à celle du lot témoin, dans les lots soumis à des concentrations croissantes de spores de *Beauveria* (6 lots de 100 scolytes et 100 cerises; 45.10<sup>1</sup> à <sup>5</sup> spores/ml et témoin).



Concentrations	45.10 <sup>5</sup>	45.10 <sup>4</sup>	45.10 <sup>3</sup>	45.10 <sup>2</sup>	450	Té
Scol. entrés dans les 100 cerises traitées	86	81	88	76	86	63
Scol. vivants au 34ème jour et ayant pondu	0	10	7	15	23	33
Scol. vivants au 34 ème jour sans avoir pondu	0	0	2	2	1	1
Scol. morts mycosés avant le 34 ème jour et ayant pondu	18	6	8	4	3	0
Scol. morts mycosés * avant le 34 ème jour sans avoir pondu	68	65	71	55	59	29*
% des scolytes morts	100%	88%	90%	78%	72%	46%
% des scol. ayant pondu au 34 ème jour	21%	20%	17%	25%	30%	52%
% des scol. morts mycosés avant le 34 ème jour et ayant pondu	21%	7%	9%	5%	3.5%	-
Oeufs et larves par scol. mort mycosé avant le 34 ème jour	3	8	8	5	5	-
Oeufs et larves par scol. vivant au 34 ème jour	-	10	9	8	5	8

\* mortalité du témoin non dûe à la mycose

Tableau 1 - Influence de *Beauveria bassiana* sur la fécondité et la ponte d' *Hypothenemus hampei*: lots de 100 scolytes et 100 cerises plongés dans des suspensions titrées de spores, situation au 34 ème jour après l'infestation (effectuée le 24/6/92).

Concentrations	52.10 <sup>5</sup>	52.10 <sup>4</sup>	52.10 <sup>3</sup>	52.10 <sup>2</sup>	520	Té
Scol. entrés dans les 50 cerises traitées	50	46	48	49	49	45
Scol. vivants au 45 ème jour et ayant pondu	0	0	7	6	9	7
Scol. vivants au 45 ème jour sans avoir pondu	0	3	0	0	1	2
Scol. morts mycosés * avant le 45 ème jour et ayant pondu	7	11	14	15	15	15*
Scol. morts mycosés * avant le 45 ème jour sans avoir pondu	43	32	27	28	24	21*
% des scolytes morts	100%	93%	85%	88%	80%	80%
% des scol. ayant pondu au 45 ème jour	14%	24%	44%	43%	49%	49%
% des scol. morts mycosés* avant le 45 ème jour et ayant pondu	14%	24%	29%	31%	31%	33%
Oeufs, larves et adultes par scol. mort mycosé* avant le 45 ème jour	1.5	0.7	1.2	2.2	1.5	1.1*
Oeufs, larves et adultes par scol. vivant au 45ème jour	-	0	3.0	6.5	6.8	6.1 (12) <sup>o</sup>

12° : 12 scolytes adultes

\* mortalité du témoin non due à la mycose

Tableau 2 - Influence de *Beauveria bassiana* sur la fécondité et la ponte d'*Hypothenemus hampei*: lots de 50 cerises plongées dans des suspensions titrées de spores de *Beauveria*, 45 jours après l'infestation (effectuée le 5/8/92)

		TRAVAIL EFFECTUE PAR LE SCOLYTE												Totaux	
		I		II		III		IV		V		VI			
EMPLACEMENT DU CADAVRE	A	1	0	10	41	2	2	3	0	0	0	0	1	16	44
		1	1	31	39	1	1	1	7	0	0	0	2	34	50
		7	11	22	8	1	3	5	6	0	2	1	4	36	34
	B	-	-	8	13	0	0	0	3	0	0	0	2	8	18
		-	-	15	15	1	0	2	2	0	0	1	0	19	17
		-	-	17	18	2	2	5	10	0	0	2	2	26	32
	C	-	-	-	-	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
		-	-	-	-	0	1	1	4	0	0	1	5	2	10
		-	-	-	-	0	0	6	6	0	2	2	5	8	13
	D	-	-	-	-	-	-	4	0	0	0	0	0	4	0
		-	-	-	-	-	-	2	1	1	0	1	1	4	2
		-	-	-	-	-	-	0	4	0	2	1	1	1	7
Total	1	0	18	54	2	2	8	3	0	0	0	3	29	62	
	1	1	46	54	2	2	6	14	1	0	3	8	59	79	
	7	11	39	26	3	5	16	26	0	6	6	12	71	86	

Tableau 3 - Première expérimentation (34 jours): travail effectué par le scolyte jusqu'à sa mort et emplacement du cadavre. Nombres de scolytes dans les différents cas et aux diverses concentrations (6 lots de 100 scolytes;  $45 \cdot 10^1$  à  $5$  spores/ml et témoin).

		TRAVAIL EFFECTUE PAR LE SCOLYTE													
		I		II		III		IV		V		VI		Totaux	
EMPLACEMENT DU CADAVRE	A	0	1	11	11	2	3	4	6	0	1	7	8	24	30
		0	0	10	13	7	3	9	7	0	0	9	10	35	33
		4	0	9	20	1	4	4	4	2	0	3	1	23	29
B	-	-	0	0	0	0	1	1	1	1	2	4	4	6	
	-	-	0	2	0	0	0	0	0	0	3	1	3	3	
	-	-	0	2	1	5	2	1	0	0	1	1	4	9	
C	-	-	-	-	0	0	2	1	0	0	4	1	4	2	
	-	-	-	-	0	0	0	1	0	0	2	1	2	2	
	-	-	-	-	3	0	1	3	1	1	0	1	5	5	
D	-	-	-	-	-	-	1	1	0	0	1	0	4	1	
	-	-	-	-	-	-	2	1	0	0	1	2	3	3	
	-	-	-	-	-	-	7	4	3	0	1	3	11	7	
Total	0	1	11	11	2	3	8	9	1	2	14	13	36	39	
	0	0	10	15	7	3	11	9	0	0	15	14	43	41	
	4	0	9	22	5	9	14	12	6	1	5	6	43	50	

Tableau 4 - Seconde expérimentation (45 jours): travail effectué par le scolyte jusqu'à sa mort et emplacement du cadavre. Nombres de scolytes dans les différents cas et aux diverses concentrations (6 lots de 50 scolytes; 52.10<sup>1</sup> à 5 spores/ml et témoin).



Figure 1 - De nombreux cadavres de scolytes, recouverts du mycélium blanc caractéristique du champignon *Beauveria bassiana*, sont bien visibles, momifiés à l'entrée des galeries creusées par le foreur, en début de gradation, à l'apex de drupes vertes (Sarraméa, juin 1992. photo P. Cochereau).



Figure 2 - Le même phénomène peut être observé sur des drupes desséchées, en intersaison, lorsque les populations de scolytes sont au plus bas. (Névaho, janvier 1994. photo P. Cochereau).



