

CONVENTIONS
SCIENCES DE LA VIE
ZOOLOGIE APPLIQUEE

N° 7

1993

42 71238
manque le collab
rajouté
VF
IM

Relations allélochimiques entre
hypothenemus hampei et sa plante-hôte : le caféier

WCC: non

• Frédéric MATHIEU

avec la collaboration de :

** Brigitte FREROT

* Luc-Olivier BRUN

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

Convention Ministère des DOM-TOM n° 90-157
Sous-traitance INRA/ORSTOM : "scolyte du café en
Nouvelle-Calédonie et plante-hôte"



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

CENTRE DE NOUMÉA

F 39063

CONVENTIONS
SCIENCES DE LA VIE
ZOOLOGIE APPLIQUEE

N° 7

1993

Relations allélochimiques entre
hypothenemus hampei et sa plante-hôte : le caféier

* Frédéric MATHIEU

avec la collaboration de :

** Brigitte FREROT

* Luc-Olivier BRUN

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

Convention Ministère des DOM-TOM n° 90-157
Sous-traitance INRA/ORSTOM : "scolyte du café en
Nouvelle-Calédonie et plante-hôte"

The logo for ORSTOM, consisting of the word "ORSTOM" in a stylized, bold, sans-serif font. The letters are filled with a fine grid pattern, giving it a textured appearance.

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

CENTRE DE NOUMÉA

© ORSTOM, Nouméa, 1993

/Mathieu, F.
Frérot, B.
/Brun, L.O.

Relations allélochimiques entre *hypothenemus hampei* et sa plante-hôte : le caféier

Nouméa : ORSTOM. Mai 1993. 60 p.

Conv. : *Sci. Vie : Zool. app.* ; 7

Ø76RAVPLAØ5

ENTOMOLOGIE APPLIQUEE ; INSECTE NUISIBLE ; CAFE ; ALLELOCHIMIE / NOUVELLE
CALEDONIE

Imprimé par le Centre ORSTOM
Mai 1993



SOMMAIRE

AVANT PROPOS	5
INTRODUCTION.....	7
PREMIERE PARTIE : APPROCHE PHYSICO-CHIMIQUE.....	9
A) TECHNIQUE D'EXTRACTION DES COMPOSES VOLATILS EMIS PAR LE CAFE : LA COLLECTE D'EFFLUVES.	9
I. Définition.....	9
II. Première étape, la concentration.	9
II.1. Le générateur de flux.	9
II.2. Le porte échantillon et les mécanismes d'émission des substances volatiles.	9
II.3. Le piège.....	11
III. Deuxième étape, la désorption.....	13
III.1. La désorption par solvant	13
III.2. La désorption thermique	15
III.3. Discussion sur les 2 méthodes de désorption.	15
IV. Conclusion :	
Choix des conditions opératoires utilisées dans l'étude physico-chimique des substances volatiles émises par le café.....	15
DEUXIEME PARTIE : APPROCHE ETHOLOGIQUE.....	19
A) MISE AU POINT D'UN TEST DE MARCHE POUR <i>Hypothenemus hampei</i> DANS LE CADRE DE L'ETUDE DES RELATIONS ENTRE LE SCOLYTE ET SA PLANTE HOTE : LE CAFE.	19
I. Introduction.....	19
II Matériel et méthode.....	19
II.1. Description du dispositif, données exploitables et conditions expérimentales	19
II.2. Elevage et tri des insectes	19
II.3. Café utilisé	21
II.4. Facteurs, plan d'expérience, déroulement des tests et organisation des données.....	21
III. Résultats	21
IV. Conclusion	23
IV.1. Le dispositif : qualité, défaut et développement souhaitable.	23
IV.2. Vision, olfaction.....	23
IV.2. La maturité, l'état sanitaire	23

B) REPOSE DE HYPOTENEMUS HAMPEI AU TEST DE MARCHE EN FONCTION DU FACTEUR POPULATION.....	24
I Introduction	24
II Matériel et méthode.....	24
III Résultats.....	25
IV Conclusion.....	25
C) CARACTERES VISUELS, PHOTOTROPIQUES & CHROMATOTROPIQUES DE LA RECONNAISSANCE DE SA PLANTE HOTE : LE CAFE.....	25
I. Introduction.....	25
II. Matériel et méthode.....	25
III. Résultats	27
IV. Conclusion	29
D) DYNAMIQUE de SORTIE de <i>Hypothenemus hampei</i> en PRESENCE de CERISES VERTES	29
I. Introduction.....	29
II. Matériel et méthode.....	29
III. Résultats	30
IV. Conclusion	30
PERSPECTIVES	31
BIBLIOGRAPHIE	33
LEGENDE GENERALE.....	35
GRAPHIQUES	37
TABLEAUX.....	53
STATISTIQUES	63

AVANT PROPOS

Les études menées ces dernières années au laboratoire d'entomologie du Centre ORSTOM de Nouméa ont permis d'identifier le premier cas de résistance à un insecticide chez le ravageur majeur des grains de café, *Hypothenemus hampei* FERR. (Coleoptera: Scolytidae). L'importance économique que représente ce coléoptère dans les régions où il sévit, nécessite de fréquents traitements chimiques. Cependant, le nombre de composés actifs sur cette espèce dont le cycle se déroule à l'intérieur des cerises, est très limité. 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. Celle-ci 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 nos connaissances sur ces données de base.

Par contre, les relations allélochimiques entre *H. hampei* et sa plante-hôte: le café, 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, passage par une phase de latence physiologique, vol de colonisation ..., font de cet insecte, un modèle d'étude particulièrement intéressant, tant sur le plan fondamental qu'appliqué. C'est la raison pour laquelle, le Laboratoire des Médiateurs Chimiques de l'INRA et le Laboratoire d'Entomologie du Centre ORSTOM de Nouméa se sont attachés à mettre en commun, dès 1989, une partie de leurs moyens.

Les premiers travaux, réalisés de façon informelle entre les deux laboratoires, 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 permet de disposer, tout au long de l'année, de femelles de statut physiologique connu, matériel précieux pour bon nombre d'expérimentations.

Les travaux présentés dans ce rapport ont été essentiellement réalisés à Nouméa, par F. Mathieu, sous la direction scientifique de B. Frérot et en étroite collaboration avec L.O. Brun et son équipe. F. Mathieu a été Volontaire à l'Aide Technique de Décembre 1991 à Mars 1993. Il est actuellement Allocataire de Recherche à l'ORSTOM.

Ce travail a bénéficié du concours financier de MEDETOM que nous tenons à remercier.

INTRODUCTION

Le café semble trouver son origine vers la fin du XVII^{ème} siècle au Yémen. Actuellement, le genre *coffea* (Rubiaceae, dicotylédone) compte plus de 50 espèces dont *coffea arabica*, *coffea canephora*, *coffea liberia*, *coffea dewerei* qui sont d'importance économique et qui contiennent de la caféine. La majorité des grands producteurs de café sont des pays en développement aux économies fragiles où la caféiculture représente un élément capital de leurs revenus.

L'arôme du café torréfié est un des sujets les plus étudiés par les sciences agro-alimentaires. En 1987, 700 composés étaient répertoriés et 100 de plus étaient attendus pour 1990 (SHIMODA, 1990). La majorité de ces produits furent identifiés dans les années 1960 avec les débuts de la Chromatographie en Phase Gazeuse (GC), notamment par STOLL *et al* (1967) qui identifient 202 produits (hydrocarbures, aldéhydes, cétones, esters, furannes ...). La quasi-totalité de ces études porte sur le café torréfié et non sur le café frais. Seules de rares publications, comme celle de SPADONE *et al.* (1990) et LIARDON *et al.* (1989) traitent, pour des raisons particulières, des composés volatils du café frais.

Dans une première partie, nous définirons la technique d'extraction que nous nous proposons d'utiliser : la collecte d'effluves. Cette technique a été choisie lors de précédents travaux (MATHIEU, 1991). A notre connaissance, aucune étude des substances volatiles du café frais par collecte d'effluves n'a été effectuée.

Le scolyte du café *Hypothenemus hampei* provoque des pertes économiques considérables chez la quasi totalité des producteurs de café. Depuis sa description en 1867 par FERRARI, ce scolyte est rapidement devenu cosmopolite et a envahi presque toutes les zones productrices de café (CAB International Institute of Entomology., 1989. Distribution of maps of pest. *Hypothenemus hampei* Serie A, Map n° 170, London.). Les attaques de *Hypothenemus hampei* diminuent substantiellement les bénéfices des caféiculteurs et cela de manière variable suivant les années et le pays considéré. En effet, les taux d'infestation varient de 40 à 80 % en Afrique et de 20 à 60 % en Amérique du Sud (CASTRO, 1985 ; BAKER, 1985). A notre connaissance seul TICHELER (1961), MENDOZA MORA (1991) & GIORDANENGO *et al.* (1992) ont abordé les relations allélochimiques entre *Hypothenemus hampei* et sa plante hôte le café. Bien que tous trois aient montré l'existence de stimuli olfactifs, les résultats de ces trois études ne concordent pas. Ticheler conclut à une prédominance des facteurs visuels dans la reconnaissance de la graine alors que Giordanengo et Mendoza Mora affirment que les facteurs olfactifs prédominent. Ticheler met en évidence une préférence olfactive pour les cerises vertes par rapport aux cerises rouges alors que Giordanengo et Mendoza Mora montrent l'inverse.

Dans une deuxième partie, nous décrirons les méthodes mises au point ainsi que les principaux résultats obtenus concernant l'éthologie de ce ravageur.

L'écologie chimique du scolyte du café est un sujet d'étude peu abordé, tant au niveau du comportement de l'insecte qu'au niveau de la chimie du café frais. Du fait de l'importance de ce domaine dans la dynamique propre de l'espèce, il paraît urgent que des travaux de recherche soient réalisés. En effet, la compréhension de ces phénomènes est nécessaire pour la mise en place de stratégies de lutte contre ce ravageur, du type protection intégrée des cultures, visant à limiter l'emploi des pesticides et à améliorer la qualité du produit.

Figure 1

AUTEUR	ADSORBANT	DESORPTION	INJECTEUR	SUJET
P. WITZGALL <i>et al.</i> 1989	Verre, débit : 40ml/min pendant 15 à 30 min, échantillon : 1 femelle	Solvant : Hexane	Ross	Emission individuelle de phéromone de femelle
TOULEMONDE <i>et al.</i> 1984	Charbon actif, débit 20ml/min pendant 3 à 90 min, échantillon de 10 à 30g	micro ondes couplées à l'injecteur		Composés volatils des fruits tropicaux
T.L. HOPKINS <i>et al.</i> 1990	Chromosorb 105, débit 20ml/min pendant 2h, échantillon 50 à 80g	Désorption thermique à 180 °C sous Azote avec piégeage dans un mélange Pentane/Hexane	Splitless	Allelochimie : attraction d'une sauterelle par sa plante hôte.
W.J. CONNICK <i>et al.</i> 1986	0,1 g de Tenax GC et verre, débit 100ml/min pendant 20 min échantillon de 20 à 80 g	Désorption thermique à 200 °C sous Hélium à 20ml/min pendant 20 min		Identification des composés volatils de <i>Amaranthus palmeri</i> S
J.G. POMONIS <i>et al.</i> 1980	Porapak Q, débit : 6300ml/min pendant 12 à 24 h, échantillon de 3 à 9 plantes	Solvant : Dichlorométhane Concentration sous Azote		Identification des composés volatils de plusieurs espèces de plantes de la famille des Malraceae et Leguminacaea
N. NARANDRA <i>et al.</i> 1990	Ténax T.A. : débit : 40ml/min d'Hélium pendant 30 min, échantillon de 2 g	Thermique à 180 °C, Recondensation en début de colonne dans un piège à froid	Splitless	Identification des composés volatils de la pêche
T.R. HAMILTON-KEMP <i>et al.</i> 1988 & 1989	1,5 g de Ténax, débit : 500ml/min d'hydrogène pendant 20h	Solvant : Hexane (15 ml) concentration par colonne de Vigreux	Splitless	Composés volatils de la fraise et résistance à <i>Tetranychus urticae</i> Koch
J.H. LOUGHRIN <i>et al.</i> 1990	0,5g de Ténax, débit : 200 à 300 ml/min pendant 8h	Solvant : Hexane (15 ml) concentration par colone de Vigreux	Splitless	Etude des composés volatils de fleurs : variation entre le jour et la nuit
R.E CHARLTON <i>et al.</i> 1981	Bille de verre, débit : 3000ml/min pendant 1 à 3 h	Solvant : Hexane Concentration sous azote		Emission de phéromone de femelle
S.H. VIEHWEG <i>et al.</i> 1989	3 mg de Porapak Q et verre capillaire débit : 15ml/min pendant 2h50min	25 ul d'Hexane pompés à travers l'adsorbant par une seringue de chromatographie	Splitless On Column	Etude des composés volatils émis par dégradation microbienne (poulet rôti)

PREMIERE PARTIE : APPROCHE PHYSICO-CHIMIQUE.

A) TECHNIQUE D'EXTRACTION DES COMPOSES VOLATILS EMIS PAR LE CAFE : LA COLLECTE D'EFFLUVES.

I. DEFINITION

La collecte d'effluves ou "headspace dynamique" est une technique sensible d'échantillonnage permettant d'extraire et de quantifier les substances contenues dans un volume d'air donné. La collecte d'effluves est maintenant très utilisée dans des domaines variés (Fig 1).

La méthode utilisée pour cette technique comporte 2 étapes : une première étape de concentration des substances sur un piège et une deuxième étape de désorption des substances dans un solvant ou directement vers la méthode d'analyse choisie.

II. PREMIERE ETAPE, LA CONCENTRATION.

Un dispositif de collecte d'effluves comporte généralement 3 parties :

- le générateur de flux de l'atmosphère à analyser ou du gaz neutre servant à balayer la source,
- le porte échantillon dans le cas d'étude d'émission de produits volatils à partir d'une source,
- le piège.

II.1. Le générateur de flux.

La caractéristique principale du générateur de flux consiste en une bonne maîtrise des débits (mesure et stabilité). La précision de la quantification dépend essentiellement de ces 2 paramètres. On a :

$$C = Q_{tp}/V = Q_{tp}/T \cdot D$$

C : Concentration du produit cherché.

Q_{tp} : Quantité de produit piégé.

V : volume d'atmosphère analysée.

T : Temps de collecte.

D : Débit.

II.2. Le porte échantillon et les mécanismes d'émission des substances volatiles.

Dans le cas fréquent où l'on utilise la collecte d'effluves pour étudier les émissions de substances volatiles, on introduit l'échantillon dans un dispositif visant à recueillir ces émissions. Il est ici très important de définir les conditions d'émission in situ afin de s'en approcher au plus près lors de la collecte d'effluves ou, si cela est impossible, de se rendre compte des limites de quantification de la méthode.

Dans notre étude nous disposons d'un échantillon, ici une cerise de café (fig 2), producteur de substances volatiles qui diffusent de l'intérieur de la cerise jusque sur la cuticule à une vitesse de production V_p (fig 2a). Une fois les produits présents sur la cuticule, leur émission dans l'atmosphère environnante obéit aux lois de la thermodynamique ou de la cinétique suivant la méthode d'échantillonnage utilisée :

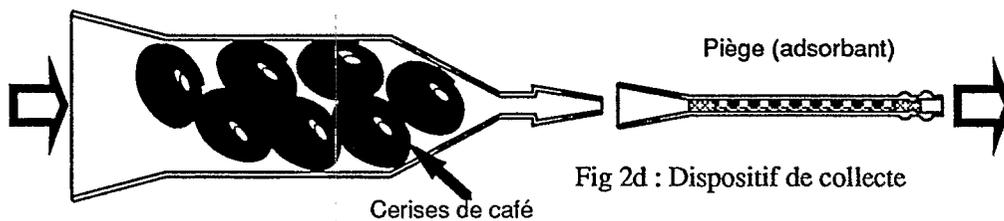
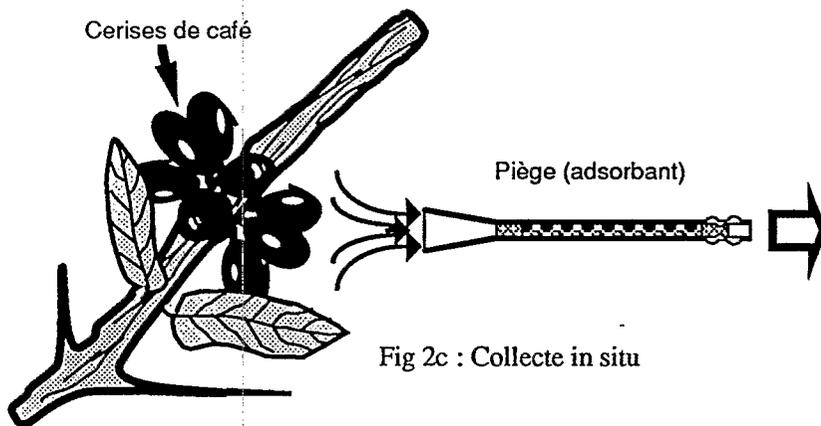
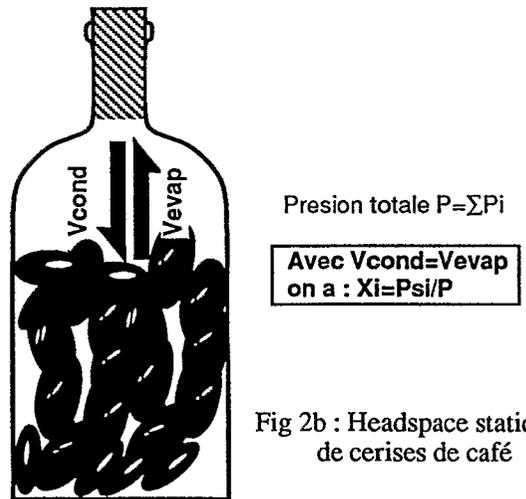
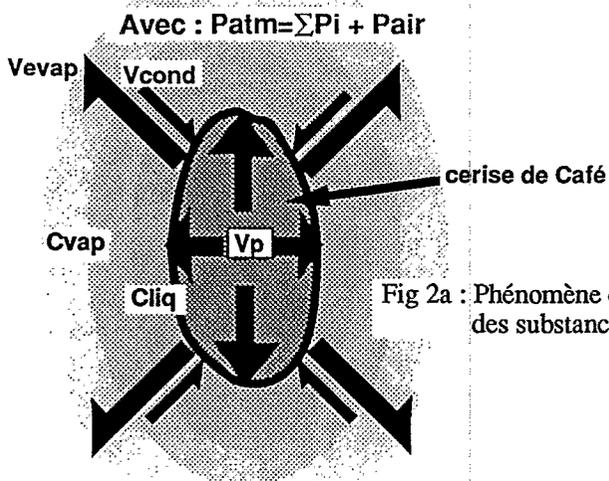
La technique du Headspace statique (fig 2b) On introduit l'échantillon dans une enceinte fermée. A l'aide d'une seringue à gaz, on prélève une portion de cette atmosphère que l'on injecte dans l'appareil d'analyse. Dans cet espace fermé, un équilibre thermodynamique s'établit et on note deux possibilités : soit il reste du produit sur la cuticule à l'état liquide ou solide, soit le produit est totalement vaporisé.

Dans le premier cas, les vitesses V_{evap} et V_{cond} deviennent équivalentes et les pressions partielles P_i des produits volatils sont égales aux pressions de vapeurs saturantes P_{si} . La fraction molaire X_i est alors donnée par $X_i = P_i/P$.

Dans le deuxième cas, la pression partielle des produits volatils P_i reste inférieure à la pression de vapeur saturante de telle sorte que $X_i = P_i/P < P_{si}/P$.

Dans le premier cas, les quantités de substances analysées sont limitées par les pressions de vapeurs saturantes alors que dans le deuxième cas les quantités de substances analysées sont limitées par la production de l'échantillon.

La technique de la collecte d'effluves in situ (fig 2c). On collecte directement l'atmosphère à analyser in situ en aspirant à travers un piège. Dans la nature,



LEGENDE	
• i : Constituant	• P : Pression
• V _{Te} : Vitesse Totale d'émission	• P _i : Pression partielle
• V _{cond} : Vitesse de condensation	• P _{si} : Pression de vapeur saturante
• V _{evap} : Vitesse d'évaporation	• Cliq : Concentration à l'état liquide
• X _i : Fraction molaire	• C _{vap} : Concentration à l'état vapeur
• V _p : Vitesse de production	

Fig 2 : Etude de l'émission des substances volatiles

l'atmosphère libre autour de la cerise de café n'est jamais stable. Un équilibre thermodynamique est donc impossible, et l'émission des substances volatiles présentes sur la cuticule s'établit en fonction d'un régime cinétique. Comme dans le headspace statique, on note deux possibilités : soit il reste sur la cuticule du produit à l'état liquide ou solide, soit le produit est totalement vaporisé.

Dans le premier cas, $V_{Te} = V_{\text{vap}} - V_{\text{cond}} < V_p$, la production de substances par la cerise est suffisante pour que les quantités mesurées dépendent de la cinétique de diffusion des substances volatiles. On a :

$V_{Te} = V_{\text{vap}} - V_{\text{cond}}$ avec $V_{\text{vap}} = k_{\text{Cliq}}$ et $V_{\text{cond}} = k'_{\text{Cvap}}$ d'où

$V_{Te} = k_{\text{Cliq}} - k'_{\text{Cvap}}$ avec, dans nos conditions (en atmosphère libre), $k_{\text{Cliq}} = \text{const}$ et k'_{Cvap} variable suivant les mouvements d'air autour de la cerise. De plus k et k' croissent de manière exponentielle avec une augmentation de la température et à température constante, k et k' sont proportionnels aux pressions de vapeurs saturantes. En conséquence, plus l'atmosphère est instable autour de la cerise (dilution des émissions) plus la V_{Te} augmente. De même, plus la température est élevée, et plus V_{Te} augmente. Pour les produits très volatils, la concentration en liquide k_{Cliq} est bien plus petite que celle des produits peu volatils d'où le terme k_{Cliq} petit pour un produit volatil et grand pour un produit peu volatil. Les variations relatives de V_{Te} d'un produit très volatil sont donc plus importantes que pour un produit peu volatil.

Dans le deuxième cas, $V_{\text{vap}} > V_d$, la vitesse de condensation V_{cond} devient nulle et les quantités émises sont alors limitées par la production de substances par la cerise de café. D'où, $V_{Te} = V_p$, et la vitesse totale d'émission V_{Te} ne dépend ni de la température ni des mouvements d'air autour de la cerise.

Si cette méthode peut paraître la plus adéquate tant elle est peu perturbatrice des conditions naturelles d'émission, elle souffre pourtant d'un manque de sensibilité dû à la faible quantité de substances piégées par rapport à la quantité totale émise. Il devient impossible de rechercher les traces, ou de procéder à une étape de désorption par solvant qui est la seule méthode fournissant un extrait liquide réutilisable. On a par ailleurs intérêt à utiliser un débit faible pour éviter de diluer inutilement les produits. Pour pallier à ce manque de sensibilité, on introduit l'échantillon dans un dispositif en verre (fig

2d) afin de recueillir la totalité des substances émises.

La technique de la collecte d'effluves avec un porte échantillon (fig 2d). Dans cette technique, la totalité des substances émises est transféré vers le piège par un balayage gazeux. Suivant la gamme de débit utilisée, la nature volatile des substances émises et les quantités produites, on peut se trouver dans l'un ou l'autre des cas décrits ci-dessus. Afin d'éviter que les quantités émises de certains produits ne soient limitées par les pressions de vapeurs saturantes P_s ou par la vitesse totale d'émission V_{Te} , il faut utiliser un débit supérieur à un minimum. Par contre, pour éviter que les quantités émises ne soient inutilement diluées dans le gaz de balayage, il faut utiliser un débit inférieur à un maximum. Si l'on veut augmenter la sensibilité des produits ayant une vitesse de diffusion V_{Te} faible et inférieure à la vitesse de production V_p , il faut diminuer le débit tout en sachant que l'on favorisera les produits peu volatils aux dépens d'autres. Il sera probablement impossible de trouver des conditions satisfaisantes pour l'ensemble des produits émis.

Il faut donc être très prudent en ce qui concerne l'interprétation des quantités relatives de chaque produit tant celles-ci dépendent du montage expérimental. Les paramètres liés : débit du gaz de balayage, volume du porte échantillon et quantité de l'échantillon modifient de manière importante les quantités relatives des différents constituants analysés.

II.3. Le piège

Il existe un grand nombre de pièges qui obéissent généralement aux lois de l'adsorption :

- les pièges à froid, provoquent la solidification de toutes les substances à piéger qui s'adsorbent alors sur des capillaires de verre. Ce système, bien qu'étant le plus polyvalent de tous, demeure difficile à mettre en place,
- les billes de verre, utilisées pour l'étude des phéromones de papillon,
- les polymères poreux tels que le Tenax GC ou TA, le Porapack Q, les résines XAD, le charbon actif, les Chromosorb ...

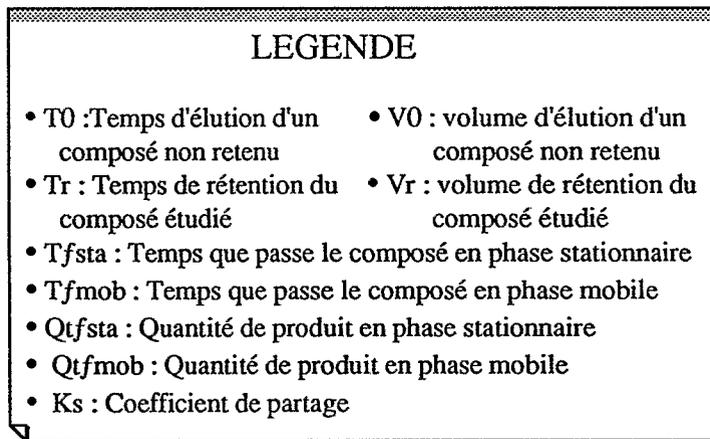
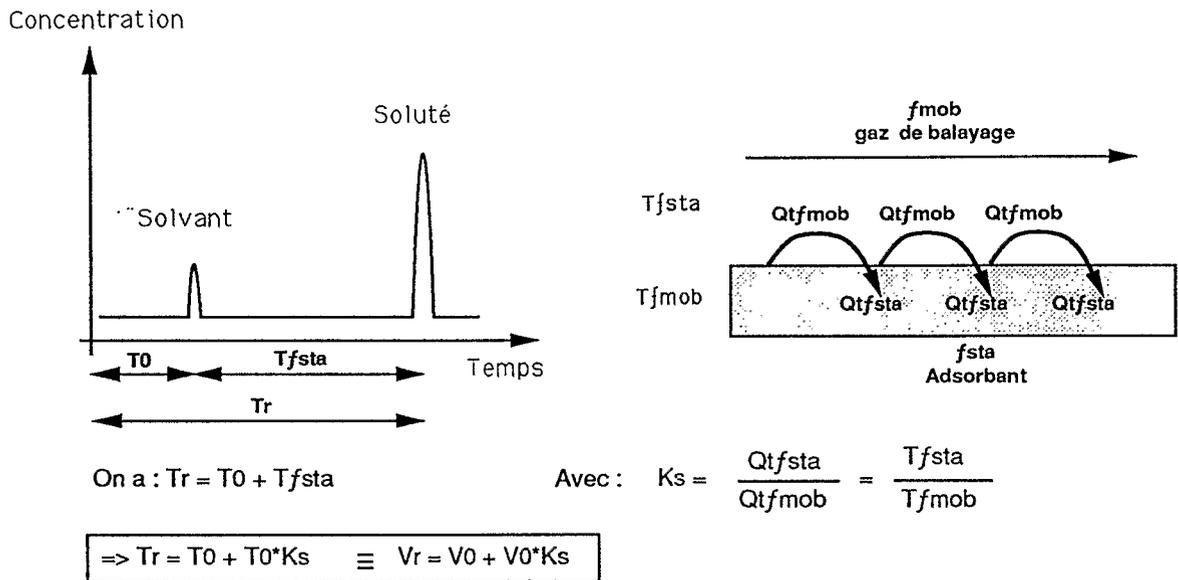


Fig 3a : Rétention des composés dans un adsorbant

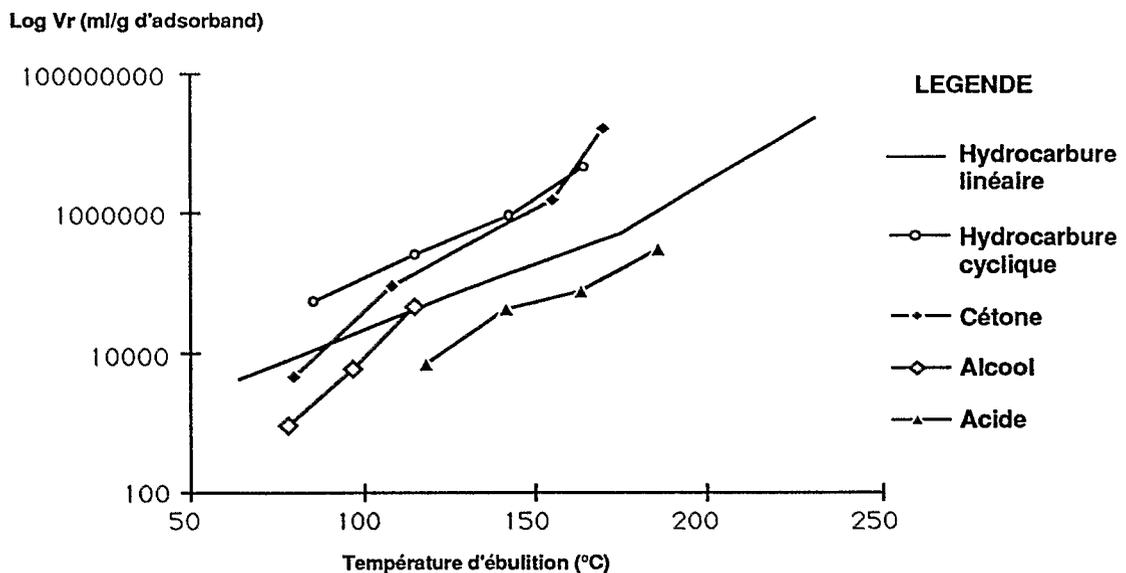


Fig 3b : Volume de rétention pour quelques substances de différentes familles en fonction de leur point d'ébullition d'après R.F. Gallant, J. King, P.L. Lewis and J.F. Pieciewicz

LEGENDE

- i : Constituant
- V_{Te} : Vitesse Totale d'émission
- V_{cond} : Vitesse de condensation
- V_{evap} : Vitesse d'évaporation
- X_i : Fraction molaire
- V_p : Vitesse de production
- V_d : vitesse de départ des molécules de l'adsorbant vers la phase gazeuse
- K_s : coefficient de partage entre la phase mobile et la phase stationnaire
- P : Pression
- P_i : Pression partielle
- P_{si} : Pression de vapeur saturante
- C_{liq} : Concentration à l'état liquide
- C_{vap} : Concentration à l'état vapeur
- V_f : Vitesse de fixation des molécules sur l'adsorbant

Ces pièges à polymère poreux sont actuellement de plus en plus utilisés car ils sont polyvalents, souvent faciles à mettre en œuvre et profitent des nouveaux types d'injecteurs de chromatographie à désorption thermique très reproductibles et automatisables.

L'adsorption physique est un phénomène de surface engendré par les forces intermoléculaires de Van der Waals. Ce phénomène peut s'expliquer par le modèle de "l'isotherme de Langmuir". Les molécules qui frappent la surface de l'adsorbant sont retenues par la portion de surface non recouverte. A cause de leur énergie cinétique incidente, une certaine proportion de molécules propres à chaque substance s'en échappe. La vitesse de fixation V_f est proportionnelle au nombre de molécules incidentes, et à la surface non recouverte de l'adsorbant. La vitesse de départ V_d est proportionnelle au nombre de molécules fixées et varie d'un composé à un autre. Dans notre cas, on considère qu'il n'y a jamais saturation de l'adsorbant et donc que V_f est uniquement proportionnelle au nombre de molécules incidentes.

En régime dynamique et en un point de l'adsorbant on a : $V_d > V_f$. Il existe donc toujours une fraction de molécule en phase mobile qui migre avec le gaz de balayage. Les vitesses de départ ou de fixation sont en fait les quantités de molécules qui passent d'une phase à une autre par unité de temps, ou inversement, les durées mises par quantité de molécules pour passer d'une phase à une autre. Le coefficient de partage K_s propre à chaque substance, est donc équivalent au rapport des durées que passe le soluté dans la phase mobile et dans la phase stationnaire. K_s caractérise le piège en étant lié au temps de rétention ou au volume de rétention spécifique à chaque soluté (Fig 3a). Ce volume de rétention dépend de facteurs propres aux pièges (géométrie du piège, quantité d'adsorbant, température, ...) et varie en fonction des différents produits, suivant

leur température d'ébullition et leur famille chimique (Fig 3b).

Le volume de rétention est le paramètre qui conditionne la quantité de substances que l'on peut concentrer sur un piège. En effet, les quantités mises en jeu dans les domaines d'étude qui nous intéressent sont suffisamment faibles pour considérer que l'on ne sature jamais un piège. D'autre part, lorsque ce volume de rétention est atteint, les substances piégées s'éluent. Comme l'indique la figure 3b, il existe de fortes variations de volume d'éluion entre les différents produits. Si l'on veut obtenir un piégeage équivalent pour toutes les substances, il est donc nécessaire de limiter le volume d'atmosphère qui passe à travers le piège et ainsi de limiter le temps de collecte en fonction du produit le plus défavorisé.

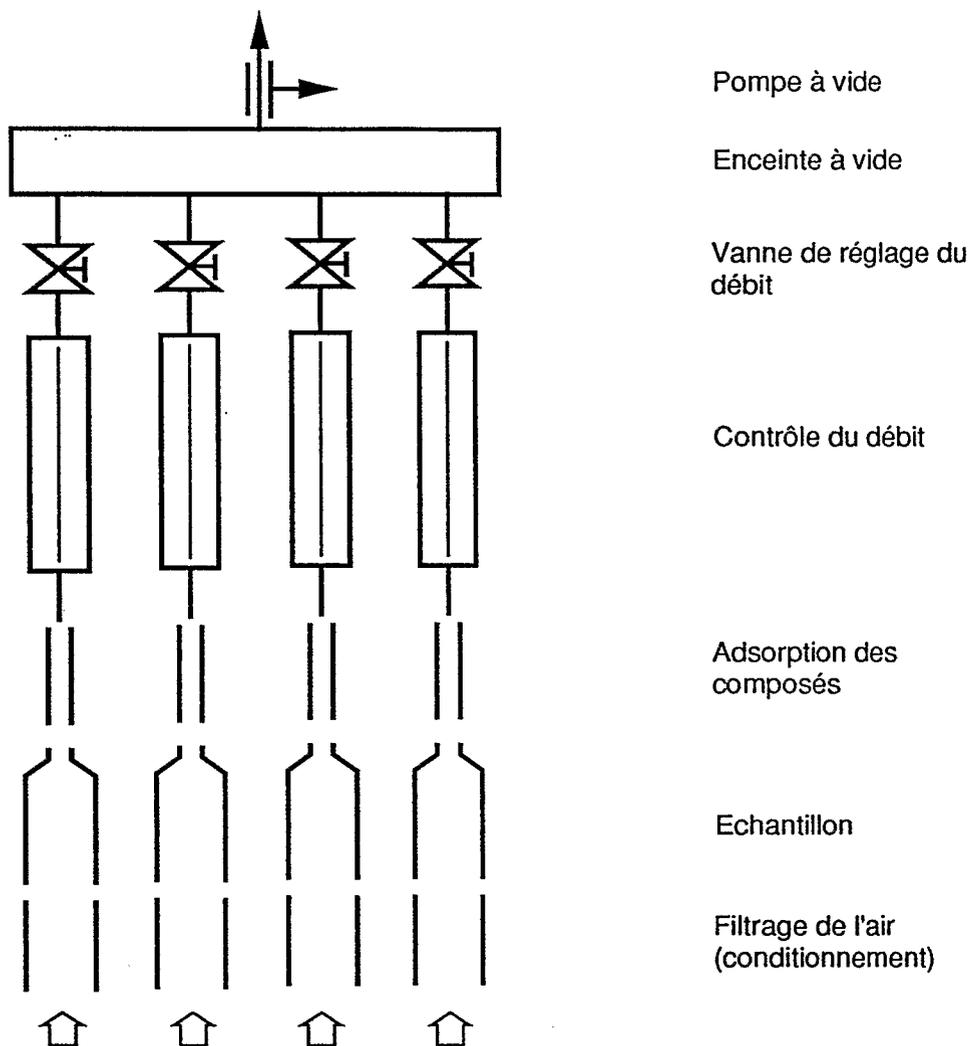
Dans le cas de l'utilisation d'adsorbant, l'étape de conditionnement du piège nécessite une attention particulière. Certains adsorbants tels que le Supelpack 2 (résine XAD II purifiée) peuvent directement s'utiliser. Mais dans la majorité des cas le conditionnement reste obligatoire. Généralement, il s'agit de rincer avec des solvants de polarités différentes et d'une grande pureté. Par exemple, on peut successivement utiliser l'eau, l'éthanol, le dichlorométhane puis le pentane. Ensuite, on introduit l'adsorbant sous un flux de gaz neutre dans un four pour un conditionnement thermique à une température supérieure à celle d'ébullition des composés que l'on souhaite piéger.

III. DEUXIEME ETAPE, LA DESORPTION

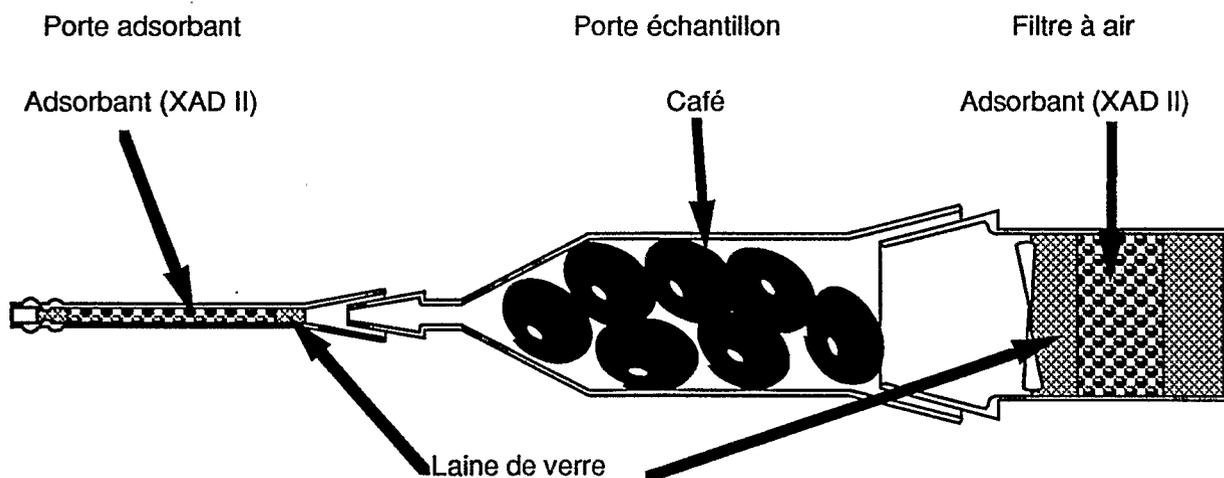
III.1. La désorption par solvant

La désorption par solvant peut s'expliquer comme étant la compétition entre les forces qui lient les molécules à analyser et l'adsorbant avec celles qui lient le solvant de désorption et l'adsorbant. Les molécules du

DISPOSITIF GÉNÉRAL DE COLLECTE D'EFFLUVES Fig 4a



DISPOSITIF D'ECHANTILLONNAGE Fig 4b



solvant vont désorber des molécules de soluté. Celles-ci, diluées dans une très grande quantité de molécules de solvant n'auront que peu de chance d'être à nouveau adsorbées. En effet, les forces de Van der Waals agissent à très courte distance autour des sites récepteurs de l'adsorbant. Le solvant de désorption va donc saturer tous les sites récepteurs de l'adsorbant et gêner le retour des molécules du soluté sur l'adsorbant. Le solvant de désorption doit donc avoir une certaine affinité avec l'adsorbant utilisé (polarité proche, pas de dégradation du polymère) et être miscible avec les produits étudiés.

L'adsorbant est introduit dans un solvant. Après un temps de macération, l'ensemble est filtré sur de la laine de verre. Afin de conserver une bonne sensibilité, il convient d'utiliser un volume minimal de solvant pour éviter une trop grande dilution ce qui a également pour effet de diminuer les volumes morts.

III.2. La désorption thermique

Avec le développement des injecteurs de GC, la désorption thermique a pris un essor considérable car elle est devenue d'un coût abordable, d'une fiabilité routinière excellente et possède des possibilités d'automatisation.

Comme nous l'avons vu pour la désorption, la vitesse de départ V_d est liée à l'énergie cinétique des molécules. Or l'énergie cinétique d'une molécule augmente avec la température si bien que V_d devient de plus en plus grand devant V_f au fur et à mesure que la température augmente. Le volume de rétention V_r va donc considérablement diminuer. Dans le cas d'un injecteur à désorption thermique, le temps de désorption est de l'ordre de la minute.

Cette technique consiste à introduire directement l'adsorbant dans un injecteur de chromatographie à désorption thermique. Ensuite, une élévation de la température la plus rapide possible (jusqu'à 200 à 400 °c suivant les polymères utilisés) permet de désorber les produits recherchés. La montée en température s'effectue en 2 à 3 min ce qui est trop long pour une injection de chromatographie notamment pour l'étude des produits légers. Durant le temps de la désorption, les substances sont transférées par une pré-colonne vers un piège cryogénique situé en tête de colonne. C'est à partir de ce piège que se fera la véritable injection de chromatographie.

III.3. Discussion sur les 2 méthodes de désorption.

Ces 2 méthodes sont complémentaires. La désorption par solvant présente une mise en œuvre plus aisée, un coût moindre, la possibilité d'étudier les substances thermolabiles et surtout permet d'obtenir un échantillon liquide réutilisable, par exemple, pour des tests biologiques.

La désorption thermique présente une meilleure reproductibilité, la possibilité d'automatisation et surtout une sensibilité bien meilleure. Si l'on utilise 100mg d'adsorbant pour une collecte d'effluves, il faudra au minimum 0,5 ml d'un solvant de désorption. En désorption par solvant, sur ces 0,5 ml, seuls 3µl sont injectés alors qu'en désorption thermique les 100mg d'adsorbant peuvent être injectés en une seule fois. La désorption thermique est donc $0,5/0,003 = 166$ fois plus sensible que la désorption par solvant. Autre avantage de la désorption thermique : l'absence de solvant. En effet, un pic solvant sur un chromatogramme peut cacher le pic d'un produit léger.

IV. CONCLUSION : Choix des conditions opératoires utilisées dans l'étude physico-chimique des substances volatiles émises par le café.

Le dispositif expérimental construit (Fig 4), comporte 4 voies indépendantes, permettant l'obtention simultanée de 4 collectes d'effluves identiques ou différentes. Le montage comporte un générateur de flux d'air. Celui-ci se compose d'une trompe à eau qui crée un vide partiel dans une enceinte à vide. Une fiole de garde interposée, protège l'ensemble du dispositif des retours d'eau. La trompe à eau maintient un vide suffisamment constant sur toute la gamme des débits avec lesquels le dispositif doit être utilisé. Ceci permet un réglage indépendant du débit d'air des 4 voies du système. Pour chacune de ces 4 voies, le réglage et le contrôle des débits est respectivement assuré par une vanne à pointeau et par un débitmètre à flotteur sphérique. Le reste du dispositif, a été réalisé en verre, et spécialement conçu pour notre étude. Il comprend un porte-adsorbant, un porte-échantillon et un filtre à air. Le porte adsorbant contient 200mg de Supelpak™ 2 (granulométrie : 16/50 mesh ; résine Amberlite XAD 2 purifiée, SUPELCO) et le filtre contient 5g de résine Amberlite XAD 16 (SUPELCO). La résine Supelpak™ 2 ne s'utilise qu'une seule fois mais ne nécessite pas une étape de conditionnement. A l'inverse,

Choix des paramètres de la collecte d'effluves Fig 5

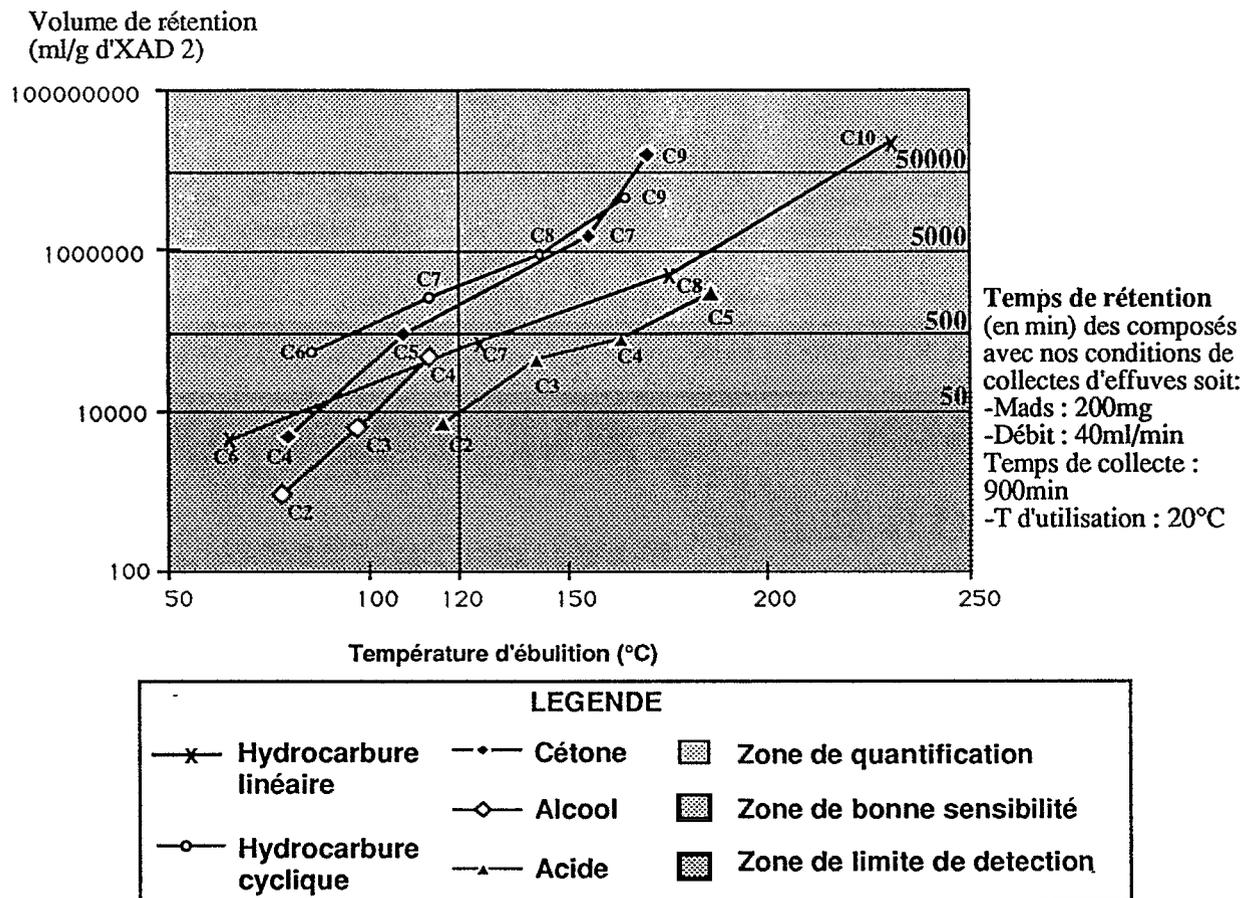


Fig 1 : Volume de rétention pour quelques substances de différentes familles en fonction de leur point d'ébullition.
 d'après R.F. Gallant, J. King, P.L. Lewis and J.F. Piecewicz

Les paramètres de collecte d'effluves, Masse d'adsorbent, Débit de collecte, Volume et Temps de rétention des composés sont liés par la relation suivante:

$$\text{ml (à 20°C pour 1g d'ads)} \quad \frac{V_G^t \times \text{Mads}^g}{\text{Débit}_{\text{ml/min}}} = \text{Tr}_{\text{min}}$$

cette relation sert à optimiser les paramètres de collecte d'effluves

le XAD 16 du filtre, réutilisé de nombreuses fois nécessite d'être régulièrement conditionné. (Rinçage successif au CH_2Cl_2 , à l'éthanol et à l'eau)

Pour ces collectes d'effluves, nous avons utilisé un débit de 40ml/min, une durée de collecte de 15h et un nombre de cerises de café rouges et vertes respectivement de 25 et 40 pour l'arabica et de 50 et 60 pour le robusta. Les 200mg de SupelpakTM 2 sont ensuite introduits dans 0,7ml de CH_2Cl_2 , agités 1 min puis filtrés sur laine de la verre. Enfin, l'extrait est passé 15s sous Azote (pour éviter les oxydations) avant d'être stocké au congélateur jusqu'à l'analyse.

La liste des kairomones publiée par METKALF en 1987 montre que 5 molécules sur 80 ont un point d'ébullition inférieur à 120°C. Les conditions expérimentales de collectes d'effluves ont donc été optimisées pour quantifier les substances ayant un point d'ébullition supérieur à 120°C (fig 5) avec une quantité de matériel végétal minimale. En effet, nous avons trouvé souhaitable d'utiliser des échantillons de l'ordre de 50 drupes pour pouvoir facilement récolter sur le même arbre les différents types de cerises à étudier

Il est important de noter ici qu'à quelques exceptions près, la technique de la collecte d'effluves sur polymère poreux comme le XAD 2 ne permet pas l'étude de composés très légers (point d'ébullition < 90°C) comme certaines kairomones de scolyte : l'éthanol, l'acétate d'éthyl et l'acétaldehyde (MOEK, 1981, MONTGOMERY & WARGO, 1983 et MEKALF, 1987).

Remerciement à Monsieur DUHET (ORSTOM) de Nouméa pour ses conseils sur la partie cinétique de ce chapitre.

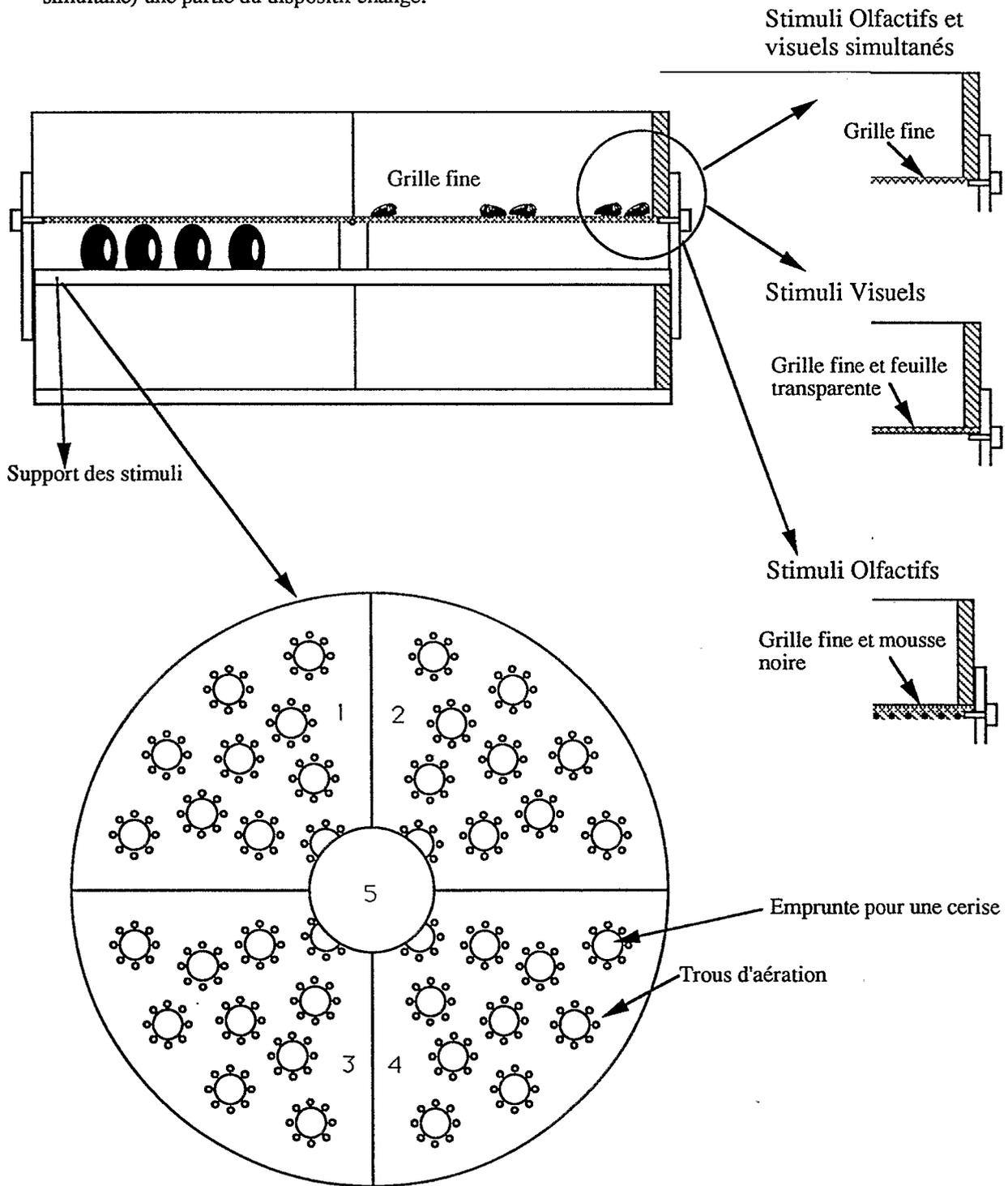
DISPOSITIF DU TEST DE MARCHE 1

Fig 6

DISPOSITIF

CONFIGURATION

Suivant le mode de fonctionnement du test (visuel, olfactif ou simultané) une partie du dispositif change.



DEUXIEME PARTIE : APPROCHE ETHOLOGIQUE.

A) MISE AU POINT D'UN TEST DE MARCHE POUR *Hypothenemus hampei* DANS LE CADRE DE L'ETUDE DES RELATIONS ENTRE LE SCOLYTE ET SA PLANTE HOTE LE CAFE.

I. INTRODUCTION

Afin d'aborder les relations allélochimiques entre le scolyte et sa plante hôte, nous avons mis au point un test de comportement rapide et fiable. Puis, nous avons confirmé l'activité olfactive du café sur *H.hampei* et nous avons étudié les facteurs responsables des contradictions rencontrées dans la bibliographie soit : la maturité du café, l'état sanitaire et la reconnaissance visuelle de la cerise de café.

II MATERIELS & METHODES

II.1. Description du dispositif, données exploitables & conditions expérimentales

Le dispositif est représenté par les figures 6 & 7. Il se compose d'un disque de 20 cm de diamètre porte stimuli et d'un support de marche constitué par un cylindre de 20cm de diamètre et de 3cm de hauteur sur lequel un grillage fin à été tendu et thermosoudé à sa circonférence. Les cerises de café sont placées sur le porte stimuli et le support de marche est maintenu à 2 ou 3 mm des cerises par 4 tiges. Le support de marche existe en 3 versions : OV (Olfactif & Visuel), V (Visuel et O (Olfactif). La version OV ne comporte que la grille de marche qui laisse passer les odeurs et qui permet au scolyte de voir les cerises. La version V comporte une feuille de rétroprojecteur fixée par thermosoudure sur toute la circonférence sous la grille de marche. Ce système empêche les odeurs de se répandre dans le dispositif de marche. La version O comporte une mousse noire de 3mm d'épaisseur fixée par thermosoudure sur toute la circonférence sous la grille de marche. Les odeurs circulent donc à travers la mousse et les cerises n'étant pas éclairées sont invisibles pour les scolytes.

Le support de marche est divisé en 5 secteurs (Fig 6 & 7). Les insectes sont introduits dans le secteur central (n°5) puis le

nombre de scolytes est noté dans chaque secteur à 1min, 2min, 3min et 4 min. Les variables exploitables sont calculées à partir du nombre de scolytes trouvés par secteur comme (par exemple) la moyenne par secteur avec stimuli et par secteur sans stimuli sur l'ensemble des 4 min du test.

Les condition expérimentales sont notées dans BD Ticheler, d'une manière générale la température est régulée entre 25 et 27°C, l'humidité est maintenue entre 75 et 90% et la lumière utilisée est donnée par un néon de 38 W muni d'un filtre rouge très dense.

Nota : Des tests préliminaires ont montré qu'il été impossible de réaliser un test de marche en lumière blanche car 95% des insectes s'envolent avant la fin du test. Ceci nous a contraint à travailler en lumière rouge peu intense et à mener une série de tests de vol pour mieux cerner le phénomène. Voir graph 9: "Envol de *H.hampei* à partir du dispositif de marche".

II.2. Elevage et tri des insectes

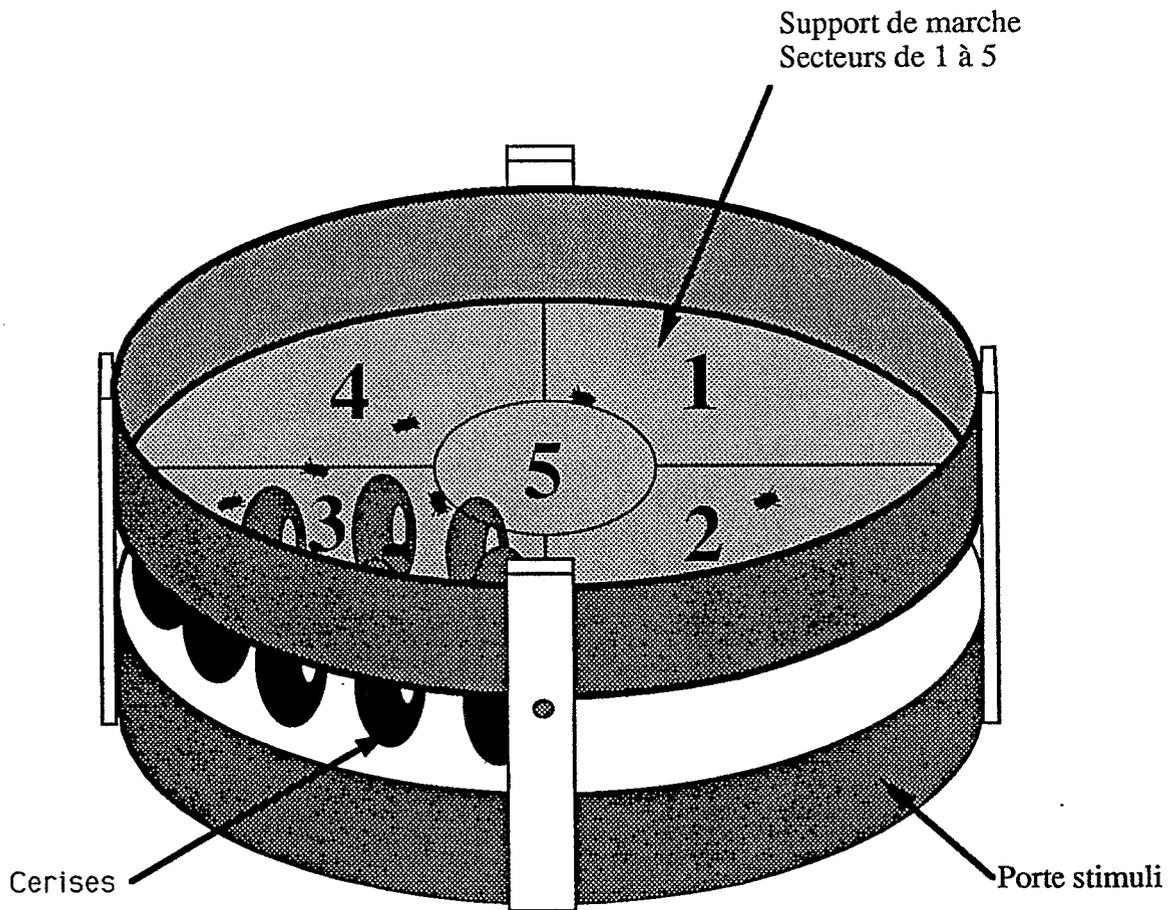
Les données acquises sur les insectes sont disponibles dans BD Insectes. Les insectes utilisés pour cette série de tests proviennent d'un élevage sur cerises ou de cerises scolytées récoltées dans les champs.

Récolte : les cerises scolytées sont récoltées rouges et mises à sécher au laboratoire 2 à 3 jours sous un ventilateur. Ensuite, ces cerises sont groupées par centaines, mises dans des boîtes cylindriques transparentes et aérées sur leurs 2 faces, puis stockées dans la salle d'élevage (T : 27 °C, HR : 85%, lumière du jour)

Elevage sur cerises : des cerises saines et rouges sont récoltées dans des champs. Dans la même journée, elles sont disposées sur une seule couche dans une grande boîte rectangulaire et 4 fois leur nombre en scolyte sont déposés sur cette couche de cerises avant de refermer la boîte avec une moustiquaire. L'ensemble est laissé 2 à 3 jours avec une température comprise entre 20 et 25 °c, une humidité comprise entre 60 et 70 % et éclairé par la lumière du jour (pas de soleil direct). La suite se déroule comme s'il s'agissait de cerises scolytées : séchage et stockage dans la salle d'élevage.

DISPOSITIF DU TEST DE MARCHÉ 2

Fig 7



Pour ces expériences de marche, nous avons uniquement utilisé des femelles colonisatrices (qui sortent volontairement des drupes). En effet, ce sont elles qui assurent la dispersion de l'insecte dans le champs en sortant des cerises pendant la période d'activité. Les insectes sont recueillis hors des cerises pendant la période d'activité (entre 13h et 18h) et utilisés le plus rapidement possible pour les tests de comportement.

II.3. Café utilisé

Les données acquises sur le café sont disponibles dans BD Café. Pour l'ensemble des tests de comportement effectués jusqu'à ce jour, nous avons utilisé un Robusta Soleil récolté sur une même parcelle, à Gadji. D'une manière générale, le café est cueilli vers 13h et disposé sur le porte stimuli du dispositif de marche dans les 3/4 d'heures qui suivent. La durée des tests sur un même lot de café n'excédant pas 2h, le temps entre la cueillette des cerises et le test reste inférieur à 4 heures.

II.4. Facteurs, plan d'expérience, déroulement des tests et organisation des données

Nous avons étudié 5 facteurs de façon à mieux connaître le test lui-même et de clarifier les modalités de l'attraction de *H. hampei* par le café à courte distance.

Le facteur heure, à 2 niveaux (H1 entre 13h30 et 15h30 & H2 entre 16h30 et 18h30) étudie d'éventuelles variations de réponse sur la durée de la phase d'activité et nous permettra de savoir sur quelle plage horaire le test de marche est utilisable.

Le facteur rang à 3 niveaux (R1, R2 & R3) qui représente le nombre de tests consécutifs subis par un même groupe d'insectes, mettra en évidence d'éventuels phénomènes d'accoutumance ou de fatigue au test de marche ou permettra de savoir si l'utilisation répétée d'un même groupe d'insectes peut être assimilée à des répétitions ou non.

Le facteur dispositif à 3 niveaux (OV Olfactif et Visuel simultané, O Olfactif et V Visuel) doit clarifier les modalités de l'attraction de *H. hampei* par le café en mettant le scolyte dans trois situations différentes et permettra de disposer dans l'avenir du support de marche le plus adéquat possible.

Les facteurs maturité et état sanitaire respectivement à 3 (R, V, et R/V) et 2 (Rs et R/Rs) niveaux montreront d'éventuelles variations d'attractivité. Les stimuli se composent de 10 cerises de café disposés dans un seul secteur pour les cas R, V et Rs. Pour les cas de comparaisons directes R/V et R/Rs 20 cerises rouges réparties sur 2 secteurs contigus sont respectivement opposées à 20 cerises vertes ou rouges scolytées réparties sur les 2 autres secteurs.

Le plan d'expérience choisi est proche "d'un plan d'expérience en randomisation totale" puisque seul le facteur heure n'est pas étudié pour la totalité des autres niveaux de facteurs. En effet, le facteur état sanitaire et le niveau R/V du facteur maturité ne sont pas étudiés en fonction du facteur heure. La figure 8 synthétise le déroulement de ce plan.

Les données sont organisées sur 3 bases de données.

- 1) BD Café qui contient les renseignements relatifs au café
- 2) BD Insecte qui contient les renseignements relatifs aux insectes
- 3) BD Ticheler qui contient les renseignements et les résultats relatifs aux tests de marche

Ces bases de données sont interactives, créées et saisies sur EXCEL et exploitées avec le langage SQL et SQL Plus du progiciel de base de donnée ORACLE.

III. RESULTATS

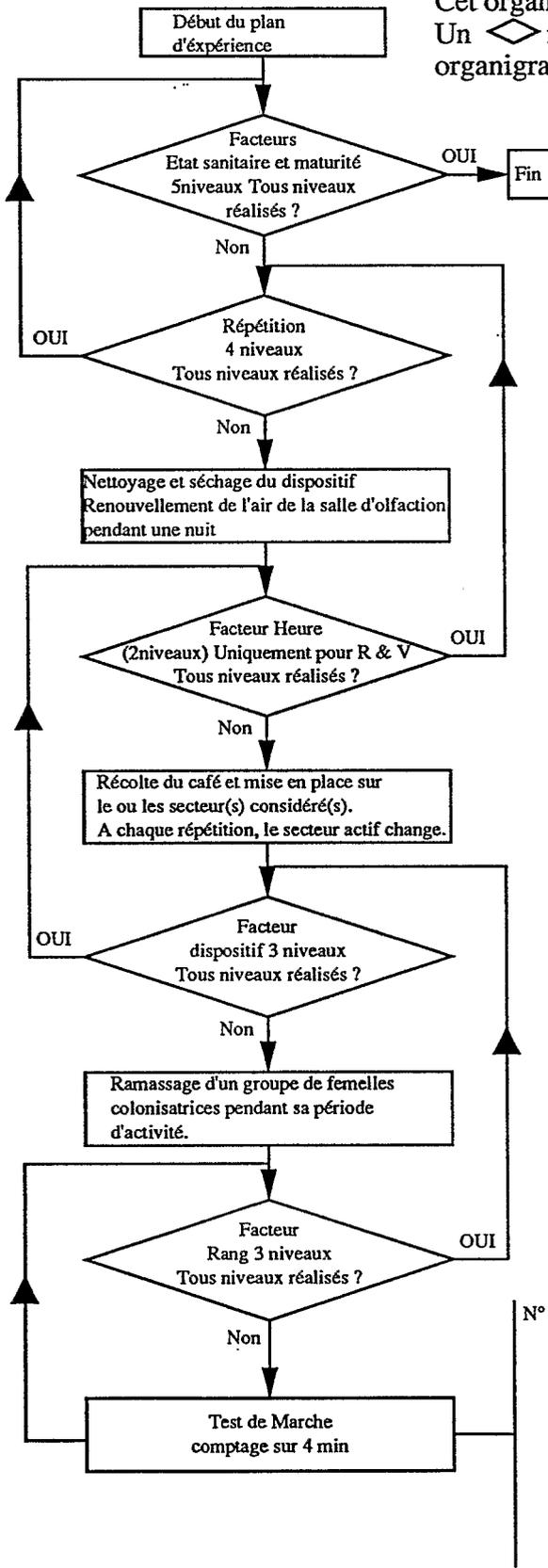
Les résultats sont présentés sur les tableaux de 1 à 7 et les graphiques de 1 à 7 explicités par le document "Légende Générale". Des analyses statistiques sont développées pour mettre en évidence les données significatives et sont présentées sur les documents "Stat 1, 2 & 3".

Les facteurs Heure & Rang (Tab 1 et 2, graph 3)

Sur les 12 tests qui comportent les 6 analyses de variance à 2 voies, seul le test sur le facteur heure de l'analyse pour le dispositif O à la maturité V est significatif. Les 11 autres tests ne sont pas significatifs (risque de 5%). Si un effet rang ou heure reste possible, notre plan d'expérience montre que cet effet doit être de faible amplitude ou en dehors des limites étudiées par nos niveaux de facteurs heure et rang. Pour la suite de cette étude, nous pouvons donc admettre que des insectes

PLAN D'EXPERIENCE Fig 8

Cet organigramme représente le déroulement des tests.
Un \diamond représente un test logique comme sur un organigramme informatique.



Dans une journée, les facteurs Rang, Heure et dispositif sont étudiés pour un seul niveau de facteur maturité ou état sanitaire et pour une seule répétition. Entre chaque répétition il s'écoule donc un jour, le stimuli change de place sur le porte stimuli de telle sorte qu'au bout de 4 répétitions, les 4 secteurs ont porté un stimuli.

Après chaque journée, le dispositif est lavé par trempage dans une eau savonneuse pendant 12h. L'air de la salle d'olfaction est renouvelé avec un air extérieur filtré sur charbon pendant 14h.

La réalisation de ce plan d'expérience à nécessité 252 tests, 2500 insectes et 20 journées de test de comportement.

Au sein d'une journée de test, les différentes opérations se déroulent de la manière suivante :

13h -> Récolte des cerises

13h40->Introduction des cerises sur le porte stimuli et collecte du premier groupe d'insectes.

13h50->3 tests dispositif OV (R1, R2, R3) sont effectués

14h10-> Collecte du deuxième groupe d'insectes et 3 tests sur dispositif O (R1, R2, R3).

14h30->Idem pour dispositif V

Les temps donnés sont indicatifs, et les données précises sont disponibles sur la BD TICHELER.

Exemple :

N° Test	Comptage à :	1min	2min	3min	4min	Moy
1	Secteur :	1				
1		2				
1		3				
1		4				
1		5				
2		1				
2		2				
2		3				
2		4				
2		5				

Voir BD
TICHELER

testés plusieurs fois sur la plage horaire de 14h à 18h forment un groupe d'insectes homogène et indépendant.

Le facteur dispositif (Tous tab et tous graph)

Les tests de Student comparant les dispositifs et réalisés sur tous les niveaux des facteurs maturité et état sanitaire montrent que les dispositifs O et OV donnent des résultats identiques alors que le dispositif V donne des résultats différents des 2 autres. Avec les tests de KHi2 du tableau III, on constate que les dispositifs O et OV donnent des différences significatives alors que le dispositif V ne met en valeur aucune différence significative.

Les facteurs maturité et état sanitaire (Tous tab et tous graph)

Les tests de KHi 2 du tableau III montrent qu'avec les dispositifs O et OV les cerises R, V et Rs sont attractives pour le scolyte et que les cerises rouges sont plus attractives que les vertes (R/V). De plus, aucune différence n'a été mise en valeur pour le niveau R/Rs quelque soit le dispositif utilisé. Les tests de Student comparant les niveaux R, V et Rs et réalisés sur tous les niveaux du facteur "dispositif" confirment l'existence de variations d'attractivité en fonction de la maturité et de l'état sanitaire de la cerise. Les cerises rouges sont plus attractives que les cerises vertes.

Le temps M1, M2, M3 et M4

Les tableaux 4, 5 & 6 et le graphique 7 montrent les réponses aux tests en fonction du temps (M1, M2, M3 et M4). Les tests de KHi 2 du tableau 4 donnent les mêmes résultats que ceux du tableau 3. Nous n'avons pas pu mettre en évidence un moment (M) plus discriminant qu'un autre. La variable la plus intéressante à prendre en compte est donc bien la moyenne des effectifs de M1 à M4 de *H.hampei* présents dans le secteur considéré.

IV. CONCLUSION

IV.1. Le dispositif : qualité, défaut, développement souhaitable.

Globalement, le test décrit ci dessus, se comporte d'une manière satisfaisante tant au niveau de son utilisation qu'au niveau de sa sensibilité. Nous pouvons donc maintenant envisager des études sur les substances naturelles ou artificielles et avec différentes populations de scolytes en ayant l'assurance de posséder un test qui mettra en évidence une éventuelle réponse olfactive. Les principales

qualités de ce test reste sa rapidité, sa simplicité, ses possibilités de diversification des mises en scène et la compatibilité des résultats obtenus avec un fichier de base de données. Son principal défaut est le type d'acquisition des données. En effet, le comptage s'effectue visuellement en faible lumière une fois par minute sur 4 minutes. Vu la mobilité du scolyte, il serait souhaitable, afin d'augmenter la sensibilité et la précision, d'effectuer un plus grand nombre de relever sur les 4 minutes du test. Pour cela, une acquisition numérique de l'image à l'aide d'une caméra vidéo et d'un logiciel approprié semble être la meilleure solution.

IV.2. Vision, olfaction

Il semble, qu'avec nos conditions (lumière Rouge), la vision de la cerise n'intervient pas dans la réponse de *H.hampei*. En effet, les dispositifs O et OV donnent des réponses identiques et démontrent une bonne activité du scolyte alors que le dispositif V ne met rien en évidence. Ticheler démontre la sélection des cerises en fonction de leur couleur en donnant des cerises artificielles à quelques scolytes. Les résultats sont relevés 12 à 18 heures plus tard. Dans le cas du test de marche, la réponse olfactive que nous obtenons est de l'ordre de la minute. Si l'on introduit des *H.hampei* à proximité de cerises de café mures, 2 à 3 heures suffisent pour avoir un comportement de "forage" sur les cerises de café (GIORDANENGO, 1992). Par contre, en présence de cerises artificielles le scolyte se positionne par petits agrégats sous la cerise après avoir vainement chercher un fruit à sa convenance. A la fin de la phase de recherche pendant laquelle *H.hampei* présente un phototropisme positif et un thymotactisme neutre le scolyte change de comportement. Un phototropisme alors négatif et un thymotactisme alors positif pourraient expliquer le choix de l'insecte lorsqu'il se place par petits agrégats sous la cerise la plus sombre.

IV.2. La maturité, l'état sanitaire

En accord avec MENDOZA MORA (1991), et GIORDANENGO *et al.* (1992) mais à l'inverse de Ticheler (1961), les tests d'olfaction montrent une préférence de *H.hampei* pour les cerises rouges par rapport aux cerises vertes. Il existe donc bien un facteur maturité important qui conditionne la réponse olfactive du scolyte. Les résultats que nous obtenons en fonction de l'état sanitaire sont plus difficiles à interpréter. Bien qu'avec le dispositif OV, les cerises saines semblent

plus attractives que les cerises scolytées, la comparaison directe R/Rs et le dispositif O ne mettent pas en évidence de différences significatives. La différence observée pour le dispositif OV peut s'expliquer par des variations dues aux populations de scolytes testées. Dans nos conditions expérimentales et avec les cerises scolytées que nous avons choisies (en bon état apparent), il semblerait que le facteur "état sanitaire" n'engendre pas de réponses olfactives différentes.

B) REPOSE DE *Hypotenemus hampei* AU TEST DE MARCHE EN FONCTION DU FACTEUR POPULATION.

I INTRODUCTION

Les premiers tests de marche nous ont permis de mettre au point un dispositif efficace et rapide avec lequel nous avons étudié les modalités de l'attraction de femelles colonisatrices par sa plante hôte, le café. L'objectif de cette série de tests est double et consiste, d'une part, à tester l'attractivité d'extraits réalisés avec la technique de la collecte d'effluves sur des femelles colonisatrices, et d'autre part, de mettre en évidence des variations d'attractivité en fonction de différentes populations de scolytes.

II MATERIEL ET METHODE

Le dispositif utilisé est le même que celui décrit dans "Mise au point d'un test de Marche pour *Hypothenemus hampei* dans le cadre de l'étude des relations entre le scolyte et sa plante hôte le café" (Fig 6 & 7). Pour cette série d'expérience, nous avons utilisé uniquement le dispositif OV. Les conditions d'utilisation du test restent inchangées. Le café utilisé, que ce soit pour les collectes d'effluves ou pour les stimuli olfactifs, reste le café Robusta au stade de maturité rouge de la plantation de Gadgi. Les collectes d'effluves réalisées avec le protocole décrit dans "CONCLUSION : Choix des conditions opératoires utilisées dans l'étude physico-chimique des substances volatiles émises par le café." sont disposées sur 3 demi-coton dentaire par injection de 3x 40µl à l'aide d'une seringue.

Description des différentes populations d'insectes :

- Fem col Gr, ce sont des femelles colonisatrices (qui sortent naturellement des cerises) issues de l'élevage sur cerises avec le dispositif de sortie décrit dans "Dynamique de sortie de *H. hampei* en présence de cerises vertes" (Fig 10).

- Fem diss Gr, ce sont des femelles issues de l'élevage sur cerises qui, par opposition aux femelles colonisatrices, ne sont pas sorties volontairement des cerises mais qui ont été obtenues grâce à leur dissection.

- Fem col mil, ce sont des femelles colonisatrices issues de l'élevage sur milieu artificiel.

- Fem diss mil, ce sont des femelles récoltées par dissection du milieu d'élevage. Ces femelles ont été introduites au stade nymphal, à 10 dans une logette avec 2 mâles. Elles sont donc fécondées à 90% et sont âgées de 15 à 20 jours pendant les tests.

- Fem vierge, ce sont des femelles obtenues de la même manière que les Fem diss mil mais en l'absence de mâle.

III RESULTATS

Les résultats sont présentés dans le graphique 8 qui comprend un graphique, un tableau de données et des statistiques montrant les différences significatives.

Les tests réalisés avec des collectes d'effluves sur des femelles colonisatrices ne mettent pas en évidence des différences significatives.

Les tests réalisés sur des populations différentes avec des cerises rouges montrent que :

- Les Fem vierges sont inactives.
- Les Fem diss mil se répartissent préférentiellement sur les secteurs sans cerises
- Les Fem col mil ou Gr et dis Gr sont actives et se répartissent préférentiellement sur les secteurs avec cerises.

IV CONCLUSION

Il existe des femelles actives et d'autres qui ne sont pas actives. Ce phénomène reste à étudier plus en détail et peut probablement être relié à l'âge (ou maturité) de la femelle. En effet les femelles actives (Fem col mil et Gr et Fem diss Gr) sont bien plus âgées que les fem vierge et diss mil.

C) CARACTERES VISUELS, PHOTOTROPIQUES & CHROMATOTROPIQUES DE LA RECONNAISSANCE DE SA PLANTE HOTE LE CAFE

I. INTRODUCTION

Les travaux que nous avons effectués jusqu'à présent montrent une activité olfactive de la cerise de café sur le scolyte. Pendant ces expérimentations, le dispositif et la lumière peu intense utilisés n'ont pas permis de mettre en évidence une activité visuelle comme la décrivent Ticheler 1961 et Mendoza Mora 1991. Ticheler conclu même à la prédominance des stimuli visuels devant les stimuli olfactifs. Ces deux auteurs utilisent un protocole décrivant "un choix final" c'est à dire à la fin de la phase d'activité de la femelle colonisatrice et non un choix initial caractéristique de la direction prise par une femelle pendant sa phase d'activité. En effet, dans leurs expériences, la mesure du choix s'effectue 12 à 18h après l'initiation du test et pendant la phase de repos de l'insecte.

Ce qui nous intéresse de connaître ici est le choix primaire de l'insecte, vers quelle cerise va t'il se diriger en premier et de différencier les stimuli phototropique et chromatotropique.

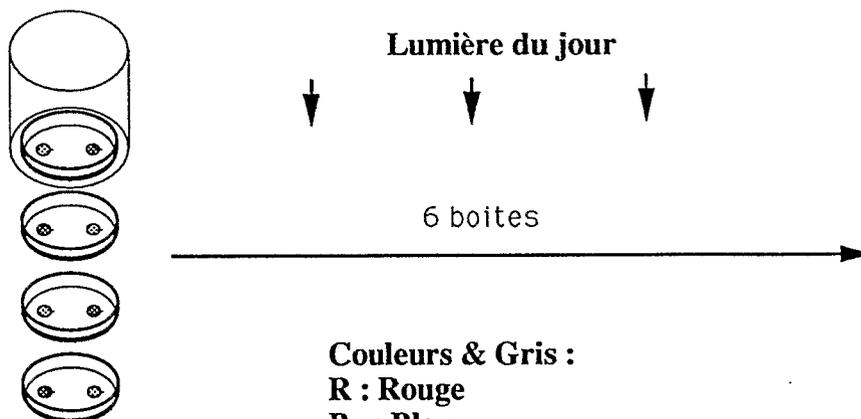
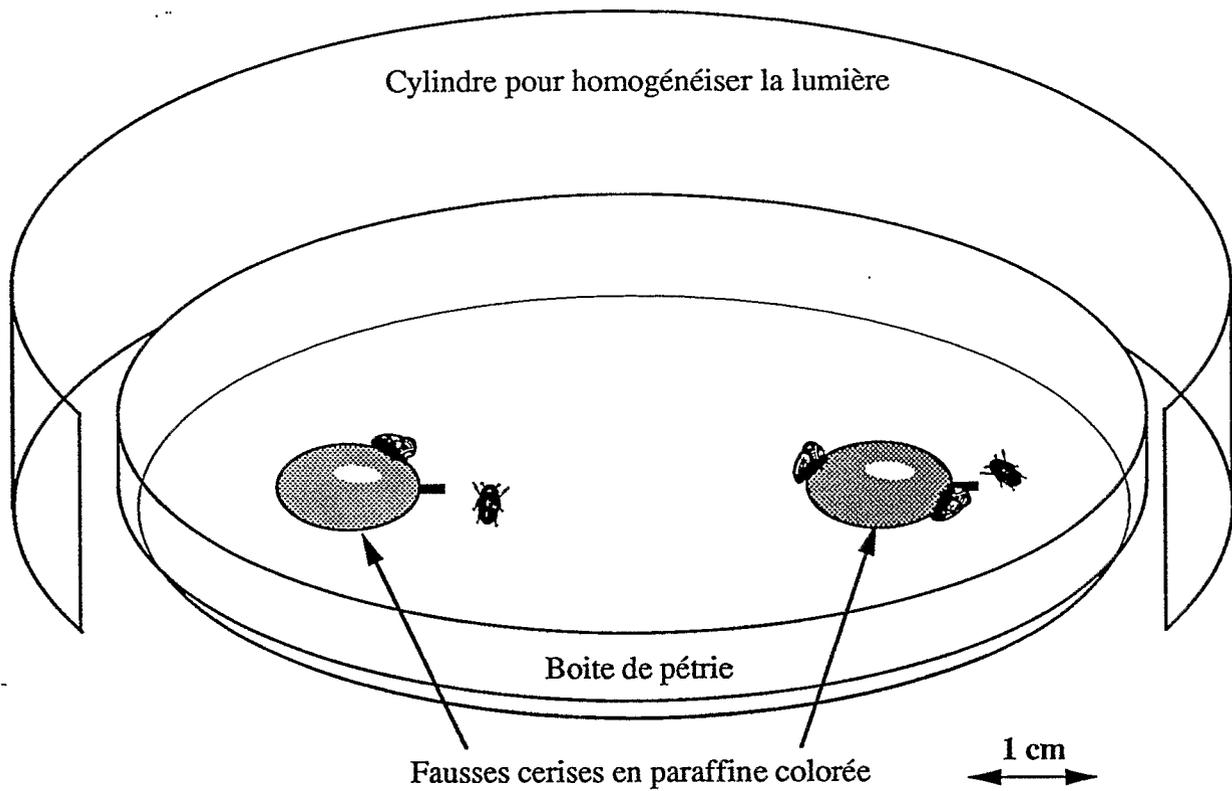
II. MATERIEL ET METHODE

Principe : nous allons présenter 2 drupes artificielles différentes dans une boîte de pétrie de 10 cm de diamètre à un groupe de 5 à 8 femelles colonisatrices (fig 9) pour évaluer le choix initial et le choix final. Le choix initial est défini comme étant le nombre de fois qu'une cerise est touchée par les femelles pendant les 2 premières minutes qui suivent l'introduction des insectes. Le choix final représente la positions des insectes à la fin de la phase d'activité. Pour cela, le nombre insectes en contact des cerises est totalisé.

Confection de graines artificielles : de la paraffine modelable colorée est pétrie jusqu'à l'obtention de la forme d'une cerise de café. L'ellipsoïde ainsi obtenue est trempée dans de la paraffine très chaude pour obtenir une fine couche transparente donnant un effet brillant et durcissant la surface de la fausse cerise. Enfin, un petit morceau de fil de fer recouvert d'un film plastique vert est enfoncé à une des extrémités de la cerise.

Dispositif de choix entre 2 cerises artificielles de couleurs ou de gris différents

Fig 9



Couleurs & Gris :

R : Rouge

Be : Bleu

V : Vert

J : Jaune

N : Noir

GC : Gris clair

Ba : Blanc

Le plan d'expérience est en randomisation totale avec 12 répétitions pour chacun des 21 niveaux soit au total 216 tests (1517 insectes testés)

Les intensités lumineuses réfléchies par ces cerises artificielles sont mesurées à l'aide d'une cellule photo-électrique placées à 15 cm de 15 graines artificielles contiguës éclairées par une lampe (100 watt et 3100 °K) distante de 70cm. De plus, la température de réflexion des graines est estimée à l'aide d'un thermocolorimètre.

Choix des couleurs et des niveaux de gris : afin d'étudier les 2 phénomènes distincts de phototropie et de chromotropie, nous avons choisis de tester 2 par 2 quatre couleurs et trois niveaux de gris.

Couleur : rouge, bleu, jaune & vert
Gris : noir, gris & blanc.

Les insectes utilisés viennent de cerises sèches infestées récoltées dans les champs et sortant des graines naturellement. Ce sont donc des femelles dites colonisatrices.

Déroulement des tests : toutes les combinaisons (21 au total) sont testées 12 fois en introduisant 5 à 8 insectes par tests. Six combinaisons avec 3 répétitions sont testées en une après-midi. Une même disposition des boîtes est donc utilisée 3 jours consécutifs pour obtenir les 12 répétitions par niveau. Les cerises sont placées dans les boîtes de pétrie vers 14h sur un papier filtre humide qui facilite le déplacement des scolytes. A 15h les insectes sont récoltés, introduits dans des boîtes transparentes par groupe de 25. Le test est initié vers 15h30 en introduisant dans la première boîtes un groupe d'insectes. Ce n'est qu'après l'évaluation du choix initial par comptage sur 2 min du nombre de fois qu'une cerise est touchée que les insectes de la boîte suivante sont introduits. La phase du test de "positionnement des insectes" s'échelonne donc de 15h30 à 16h30. Après la tombée de la nuit, soit après 18h, le choix final est évalué en dénombrant des insectes en contact avec les graines. Les scolytes ayant pu sortir de la boîte ou ne se trouvant pas en contact avec une cerise sont considérés comme n'ayant pas fait de choix.

III. RESULTATS

Données qualitatives : description du comportement.

Après l'introduction des insectes dans la boîte de pétrie, les femelles se déplacent sur le papier filtre. Un nombre important se dirige droit sur une cerise alors qu'un nombre plus restreint se dirige vers la périphérie de la boîte pour suivre le bord du papier filtre.

Généralement, un insecte qui passe à proximité d'une cerise va au contact de celle-ci.

Après un temps très variable, le scolyte s'éloigne de cette cerise pour : soit aller vers l'autre cerise, soit aller vers le bord de la boîte, soit revenir sur ces pas au contact de son choix précédant. Ainsi, les différences observées lors des tests pour le choix initial s'expliquent par l'addition de 3 comportements : le premier choix, le temps de contact avec la cerise et le nombre de retour à une même cerise sans avoir touché la seconde.

Cette activité de marche diminue avec le temps pour devenir nulle un peu avant la tombée de la nuit. Il y a donc, à un moment donné, un choix final qui s'effectue dans des conditions de lumière et d'activité différentes du choix initial. Ce choix final est donc lié à la répartition établie par le choix initial. On peut penser que pour un choix final non sélectif ou d'une sélection identique au choix initial, le choix final observé est équivalent au choix initial. Alors que si l'on suppose un choix final différent du choix initial on observera une distribution différente.

Progressivement les insectes se regroupent par petits agrégats sous les cerises ou parfois sous le papier filtre et quelques femelles réussissent à forer les fausses cerises, principalement les rouges et les noires.

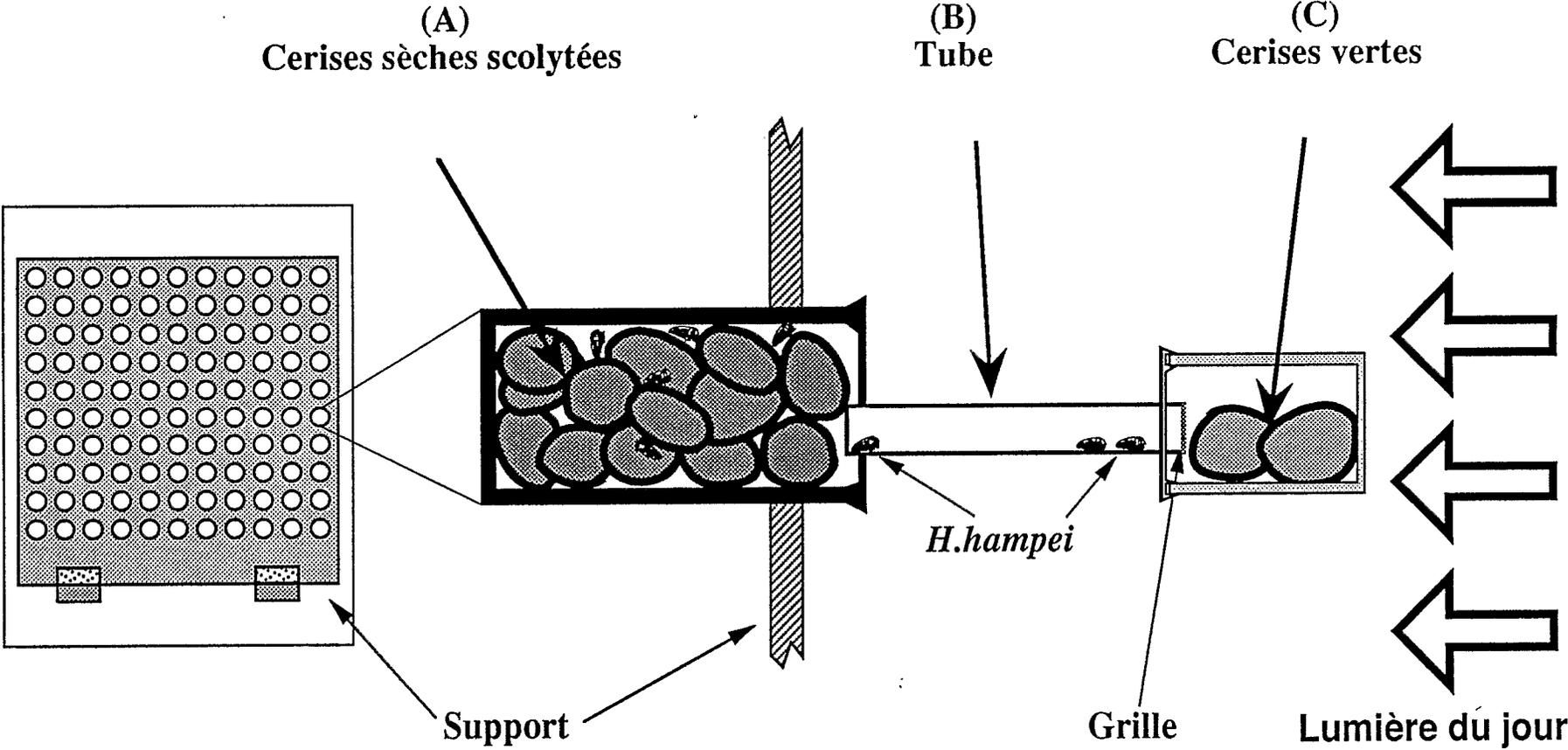
Données quantitatives : (Tableau VIII) : les résultats test par test permettent d'établir une classification de la préférence des femelles colonisatrices :

Rouge>Noir>Gris~Bleu>Vert>Jaune>Blanc.
Ce classement, très souvent statistiquement significatif et sans aberration, est confirmé par le classement de la somme des effectifs par couleurs. En effet, chaque cerise ayant été testée de manière identique et avec le même nombre d'insectes à l'ensemble des autres couleurs, les sommes des effectifs par couleur sont directement comparables.

Le choix initial et le choix final sont liés et ne présentent pas de différence statistiquement significatives (Graph 11, 12, 13 & 14).

Enfin, nous avons pu établir une corrélation entre la réponse de l'insecte et l'intensité lumineuse réfléchie à l'exception du rouge qui présente une réponse anormalement élevée au vu de son intensité lumineuse réfléchie (Réponse visuelles de *H.hampei* à de fausses cerises de café en fonction de l'intensité lumineuse réfléchie)

Dispositif expérimental
Fig 10



IV. CONCLUSION

La préférence visuelle observée ici pour le scolyte est en accord avec celle relatée par TICHELER (1961) et MENDOZA MORA (1991). De plus cette classification coïncide avec celle des préférences olfactives établie précédemment avec le test de marche où nous avons montré une préférence des cerises rouges devant les cerises vertes. Nous avons également montré que le choix visuel d'une cerise de café nécessite une durée très courte, de l'ordre de la minute, comparable à celle du choix olfactif.

Les caractéristiques du choix observé semblent avoir 2 composantes : une chromatotropique (préférence de la couleur rouge) et l'autre phototropique (préférence pour les cerises foncées).

Il semble donc très probable que l'attractivité d'une cerise de café soit une somme de stimuli olfactifs, chromatotropiques et phototropiques.

Notre dispositif, ne nous a pas permis d'étudier l'influence de la forme de l'objet sur l'attraction de l'insecte. En effet, on peut supposer que la vue d'un rameau chargé de cerises soit plus attractif qu'un rameau ne portant qu'une cerise.

D) DYNAMIQUE DE SORTIE DE *Hypothenemus hampei* EN PRESENCE DE CERISES VERTES

I. INTRODUCTION

Le scolyte du café *Hypothenemus hampei* provoque des pertes économiques considérables chez la quasi totalité des producteurs de café. Les taux d'infestation varient de 40 à 80 % en Afrique et de 20 à 60 % en Amérique du Sud (BAKER, 1985 & CASTRO, 1985).

A l'intersaison, on trouve sur les arbres des cerises de café sèches scolytées et des cerises vertes immatures. Cette période est cruciale pour la dynamique ultérieure des populations du scolyte du café car les drupes sèches constituent un réservoir de réinfestation qui peut être très important, une seule cerise peut en effet abriter plus d'une centaine de femelles.

Les facteurs physiologiques ou abiotiques qui induisent la sortie de ces femelles (dites alors colonisatrices) sont mal connus. La période d'activité de la femelle s'échelonne de 10 h à 18 h avec un maximum entre 14h et 16h (GIORDANENGO, 1992). Pendant cette phase d'activité, les cerises de café sont visuellement et olfactivement attractives pour les femelles colonisatrices (GIORDANENGO, 1992, MENDOZA MORA, 1991 & TICHELER, 1961).

Nous avons donc étudié, au laboratoire, les fréquences de sortie de ces femelles colonisatrices en fonction de la luminosité, de la pression atmosphérique ambiante et de la proximité ou non de cerises vertes.

II. MATERIEL & METHODE

Dispositif de sortie (Fig 10). Une boîte obscure à la lumière (A) est reliée, par un tube transparent (B), à une boîte translucide (C). La boîte (A) contient des cerises sèches alors que la boîte (C) peut contenir des cerises vertes. Le tube de liaison (B) est grillagé à son extrémité (C). Attirées par la lumière pendant leur phase d'activité, les femelles se déplacent de (A) vers (C), sans pouvoir pénétrer dans cette dernière boîte et entrer en contact des cerises.

Déroulement chronologique des essais 1, 2 & 3 :

- Récolte des cerises sèches sur le terrain et vérification de leurs taux d'infestation.

- Disposition des cerises sèches (n = 5 à 13) dans les boîtes (A) du dispositif expérimental, et de deux cerises vertes dans les boîtes (C).

- relevé journalier des femelles sorties et renouvellement des cerises vertes vers 17h30.

- En fin d'expérience, dissection des cerises sèches pour dénombrer la population de femelles résiduelles.

Les essais 1, 2 & 3 se sont déroulés à 27°C et à une humidité relative de 90%. Le dispositif de sortie est positionné face à une fenêtre et subit donc les variations d'intensité lumineuse naturelle. Sur l'ensemble de ces 3 essais, 12200 sorties de femelles colonisatrices ont été totalisées.

Mesure indirecte de la fécondation des femelles colonisatrices. Le pourcentage de fécondation des femelles colonisatrices (sorties en présence ou en l'absence de cerises vertes) a été mesuré indirectement, par l'observation de la viabilité des pontes. Chaque femelle testée est introduite dans une logette contenant un peu de milieu artificiel d'élevage. Les femelles n'ayant pas pondu dans un délai de deux mois (ou ayant produit des oeufs stériles) sont considérées comme "vierges". Ces observations ont été effectuées à température et luminosité ambiantes sur un total de 512 femelles testées. Le milieu d'élevage utilisé au laboratoire depuis 1989 permet à toute femelle fécondée de produire une ponte viable (BRUN et al 1993).

III. RESULTATS (Graph 15)

Les sorties présentent des variations journalières importantes liées à l'insolation et les insectes sortent de la boîte (A) plus abondamment en présence de cerises vertes qu'en l'absence de ces cerises. En moyenne 35% de sorties supplémentaires ont été observées en présence de cerises vertes. Cependant, les variations journalières, en partie induites par l'insolation, restent bien plus importantes que les variations de sorties induites par la présence ou l'absence de cerises (Graph 15).

Part contre, sur la durée de nos essais, la mesure de la pression atmosphérique n'a pas permis d'établir de corrélation avec les sorties.

Environ 95% des femelles testées ont donné une descendance. Ce pourcentage est constant, en présence ou en l'absence de cerises vertes. Après la mise sur milieu artificiel, une période de 3 à 50 jours est nécessaire pour obtenir la première ponte.

IV. CONCLUSION

Ces expérimentations confirment que les femelles colonisatrices possèdent un phototropisme positif (GIORDANENGO, 1992) et montrent que leurs sorties des cerises sèches dépendent de l'insolation ainsi que de la présence ou non de cerises vertes. Deux hypothèses indépendantes ou liées peuvent expliquer les variations de sorties observées :

1). les stimuli lumineux et olfactifs pénétrant dans la boîte (A) par l'orifice du tube (B) favorisent le changement comportemental de simple "*femelle fécondée vivant à l'intérieur d'une cerise*" à celui de "*femelle colonisatrice*".

2). une fois les insectes sorties des cerises, les stimuli lumineux et olfactifs présents dans la boîte (A) ainsi que les stimuli visuels et olfactifs présents dans le tube B optimisent le déplacement de (A) vers l'extrémité opposée de (B) et limitent le nombre de retour de (B) vers (A).

L'augmentation des sorties de femelles colonisatrices en présence de cerises vertes confirme l'importance des stimuli olfactifs ou/et visuels (GIORDANENGO, 1992, MENDOZA MORA, 1991 & TICHELER 1961) dans la dynamique de colonisation des baies de café.

Des études comportementales sont actuellement en cours, au centre ORSTOM de Nouméa, pour établir les rôles respectifs de la vision et de l'olfaction.

PERSPECTIVES

L'étude des relations allélochimiques d'un ravageur et de sa plante hôte, nécessite à la fois une approche physico-chimique et une approche éthologique que nous nous devons de poursuivre simultanément. Pour cela, la collaboration entre le laboratoire d'entomologie du centre ORSTOM de Nouméa et le laboratoire des médiateurs chimiques de l'INRA, doit être poursuivie.

Approche physico-chimique :

Le travail engagé actuellement sur la partie physico-chimie est de 2 ordres.

1) Les collectes d'effluves réalisées en Nouvelle-Calédonie sont analysées en GCMS (Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse) à l'INRA pour obtenir la structure des substances chimiques volatiles émises par le café frais.

2) Une étude approfondie de notre collecteur d'effluves va nous permettre d'effectuer des travaux quantitatifs et de connaître les limites de cette technique dans le cas de notre étude.

Par la suite, l'utilisation d'un piège cryogénique à la place du piège actuel à adsorbant (XAD 2) doit être envisagé. En effet, les techniques cryogéniques permettent l'étude des molécules ayant un point d'ébullition inférieur à 80°C ce que ne permet généralement pas un piège à adsorbant. Or, on ne peut exclure, que certaines molécules émises par le café et actives sur *H. hampei*, soient contenues dans la fraction la plus volatile.

Approche éthologique :

Après mise au point de 2 dispositifs de marche, l'un mettant en évidence une attraction olfactive (fig 6 & 7) et l'autre une attraction chromatographique (fig 9) nous envisageons maintenant 3 voies distinctes de recherche.

1) Mettre en évidence des variations d'activité olfactive en fonction de différentes variétés de café et du vieillissement de la cerise entre la cueillette et le test.

2) Mettre en évidence l'activité olfactive de différents extraits de café, de collectes et de produits de synthèse en fonction de différentes doses et selon différents protocoles d'émission des substances dans le dispositif de marche.

3) Mettre en évidence des variations d'activité olfactive et visuelle en fonction de facteurs physiologiques liés à la femelle : âge, fécondation, temps entre la sortie de la cerise et le test et enfin en fonction du nyctémère.

Pour aborder ces divers aspects, 6 olfactomètres réalisées d'après le prototype déjà expérimenté (fig 6 & 7) ont été construits pour améliorer la qualité et la fréquence des tests.

En fonction des difficultés rencontrées et des résultats obtenus, des études complémentaires pourront être mises en place

Enfin, des tests de piégeages sur le terrain prévus pour Décembre 1993 devraient être entrepris en Nouvelle Calédonie pour confirmer les résultats obtenus en laboratoire

BIBLIOGRAPHIE

- BAKER P., 1985.** Biologia e historia natural de la broca del café. Proyecto régional de control de peste del café. Rapport AID/ROCAP n° 596-0090. Guatemala, pp 105-143.
- BRUN L. O., GAUDICHON V. AND WIGLEY P., 1993.** An artificial diet for continuous rearing of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* Ferrari (*Coleoptera scolytidae*), Insect. Sci. Application (sous presse).
- CASTRO J., 1985.** La broca del fruto del café (*Hypothenemus hampei* Ferr) y su importancia en la caféicultura. Proyecto régional de control de peste del café. Rapport AID/ROCAP n° 596-0096, Guatemala, pp 92-96.
- CHARLTON R.E. et CARDE R.T., 1981.** Rate and diel periodicity of pheromone emission from female gypsy moths, (*Lymantria Dispar*) determined with a glass adsorption collection system. J Insect Physiol., Vol 28, n°5, pp 423-430.
- CONNICK W.J., J.R., BRADOW J.M., LEGENDRE M.G., VAIL S.L. et MENGES R.M., 1986.** Identification of volatile allelochemicals from *Amaroanthus palmeri* S. Wats. J. Chem. Ecol., vol 13, n°3, pp 463-472.
- GALLANT R.F., KING J.W., LEVINS P.L. et PIECEWICZ J.F., 1978.** Characterization of sorbent resins for use in environmental sampling. Rapport E.P.A. n° EPA-600/7-78-054, pp 149.
- GIORDANENGO P., 1992.** Biologie, éco-éthologie et dynamique des populations du scolyte des grains de café *Hypothenemus hampei* Ferr. (*Coleoptera scolytidae*), en Nouvelle-Calédonie, Ph D Thesis, Université de Renne 1, France, pp 110.
- HAMILTON-KEMP T.R., ANDERSEN R.A., RODRIGUEZ J.G., LOUGRIN J.H. et PATTERSON C.G., 1988.** Strawberry foliage headspace vapor components at periods of susceptibility and resistance to *Tehanychus urticae* Koch. J. Chem. Ecol., vol 14, n°3, pp 789-796.
- HAMILTON-KEMP T.R., RODRIGUEZ J.G., ARCHBOLD D.D., ANDERSEN R.A., LOUGRIN J.H., PATTERSON C.G. et LOWRY S.R., 1989.** Strawberry resistance to *Tehanychus urticae* Koch : effects of flower, fruit, and foliage-comparisons of air- VS. nitrogen-entrained volatile compounds. J. Chem. Ecol., vol 15, n°5, pp 1465-1473.
- HOPKINS T.L. et YOUNG H., 1990.** Attraction of the grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*, to host plant odors and volatile components. Entomol. Exp. Appl., n°56, pp 249-258.
- LOUGHRIN J.H., HAMILTON-KEMP T.R., ANDERSEN R.A. et HILDERBRAND D.F., 1990.** Volatiles from flowers of *Nicotiana glauca*, *N. otophora* and *Malus x domestica* : headspace components and day/night changes in their relative concentrations. Phytochemistry, vol 29, n°8, pp 2473-2477.
- MATHIEU F., 1991,** Etude des composés chimiques émis par le café et ayant une activité biologique sur le scolyte *Hypothenemus hampei* (ferr), Diplôme d'étude approfondie, Université de Paris VII, France, pp 21.
- MENDOZA MORA J. R., 1991.** Resposta da broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, a estímulos visuais e semioquímicos, Magister Scientiae, Universidade Federal de Viçosa, Brazil, pp 44.
- METCALF R. L. 1987.** Plant volatiles as insect attractant. CRC Crit. Rev. Plant Sci. 5 : 251-301

- MOEK, H. A.** 1981. Ethanol induces attack on trees by spruce beetles, *Dendroctonus rufipennis* (Coleoptera : Scolytidae). *Can. Entomol.*, 113(10) : 939-942,
- MONTGOMERY, M. E. & WORG, P. M.** 1983. Ethanol and other host-derived volatiles as attractants to beetles that bore into hard woods. *J. Chem. Ecol.*, 9(2) : 181-190.
- NARANDRA N., HSIEH T.C.Y. et JOHNSON C.E.**, 1990. Dynamic headspace concentration and gas chromatography of volatile flavor component in peach. *J. Food Sci.*, vol 55, n°5, pp 1303-1304.
- POMONIS J.G., FLINT H.M. et SMITH R.L.**, 1980. Analyse of volatile flavor components in peach. *J. Econ. Entomol.*, n°73, pp 783-786.
- TICHELER J.**, 1961. Etude analytique de l'épidémiologie du scolyte des grains de café, *Stephanoderes hampei* Ferr en Côte d'Ivoire. *Meded. Landbouwhogeschool, Wageningen* 6, pp 1-49.
- TOULEMONDE B. et BEAUVED D.**, 1984. Headspace analysis : Traps desorption by microwave energy, application to the volatile components of some tropical fruits. *Proceeding of the 4 th WEURMAN Flavour research Symposium, Dourdan, France, Ed Elsevier Science*, pp 533-548.
- VIEHWEG S.H., SCHMID P.P., SCHMITT R.E. et SMIDT-LORENZ W.**, 1989. Microbial spoilage of refrigerated fresh broilers. Part V. Evaluation of suitable methods for the detection of the volatile aroma compounds. *Lebensm.-Wiss. u- Technol*, vol 22, pp 334-345.
- WITZGALL P. et FREROT B.**, 1989. Pheromone emission by individual females of carnation tortrix, *Cacoetomorpha pronubana*. *J. Chem. Ecol.*, Vol 15, n°2, pp 707-717.

LEGENDE GENERALE DES TABLEAUX DE 1 A 7 & DES GRAPHIQUES DE 1 A 7.

5 : Secteur central où sont introduits les insectes. Aucun stimuli n'est introduit dans ce secteur et les effectifs comptabilisés ne participent pas aux tests statistiques.

Type de test

R : 10 cerises rouges introduites dans 1 secteur

V : 10 cerises vertes introduites dans 1 secteur

Rs : 10 cerises rouges scolytées introduites dans 1 secteur

R/V : 20 cerises rouges introduites sur 2 secteurs (10 cerises par secteur) et 20 cerises vertes introduites sur les 2 autres secteurs. Cette disposition permet de comparer directement l'attraction des cerises rouges par rapport aux cerises vertes.

R/Rs : 20 cerises rouges introduites sur 2 secteurs sauf le 5 (10 cerises par secteur) et 20 cerises rouges scolytées introduites sur les 2 autres secteurs sauf le 5. Cette disposition permet de comparer directement l'attraction des cerises rouges par rapport aux cerises rouges scolytées.

Facteurs & type de résultats

H1 & H2 : Pour les tests ayant mis en jeu R & V, les tests H1 ont été effectués entre 13h30 et 15h30 et les tests H2 ont été effectués entre 16h30 et 18h30. Pour les autres tests, nous avons groupé les tests effectués sur toute l'après-midi, soit entre 14h et 18h.

R1, R2 & R3: Le protocole du test de marche implique qu'un même groupe d'insectes soit testé 3 fois successivement : R1 est le premier test du groupe, R2 le deuxième et R3 le troisième.

M1, M2, M3 & M4 : le test de marche se déroule sur 4 minutes pendant lesquelles les effectifs présents sur les secteurs sont comptés 4 fois. M1 entre 50s et 1min, M2 entre 1min 50 et 2 min, M3 entre 2 min 50 et 3 min et M4 entre 3 min 50 et 4 min.

Statistiques

Proba : le test utilisé est un test de KHi2 de comparaison de 2 distributions, une théorique et l'autre observée sur les secteurs 1, 2, 3 & 4. Les tests des blancs ont montré une répartition théorique de 25% par secteur soit :

25% pour S et 75% pour B dans les cas des tests R, V & Rs et

50% pour S et 50% pour B dans les cas des tests R/V & R/Rs.

KHi2 : est la variable KHi2 donnée par le test statistique précédemment décrit.

Graphiques

Dans les graphiques 3, 4 & 7, les données viennent respectivement des tableaux pourcent II, VII & VI.

Pour les graphiques 2 & 3 les données viennent du tableau pourcent III.

Théo : Représente, sur les graphiques, les distributions théoriques

Seuil : Représente, sur les graphiques, le seuil de signification de la variable KHi2 avec un risque $\alpha = 5\%$.

$$\Sigma : H1+H2+R1+R2+R3$$

Pour tableaux MOYENNE

B : Dans les cas R, Rs & V, B est la somme de la moyenne des effectifs à M1, M2, M3 & M4 présents dans les 3 secteurs sans stimuli. Dans les cas R/V et R/Rs, B est la somme des moyennes des effectifs à M1, M2, M3 & M4 présents dans les 2 secteurs contenant les cerises rouges.

S : Dans les cas R, Rs & V, S est la moyenne des effectifs à M1, M2, M3 & M4 présents dans le secteur avec stimuli (Cerises rouges, vertes ou rouges scolytées). Dans les cas R/V et R/Rs, S est la somme des moyennes des effectifs à M1, M2, M3 & M4 présents dans les 2 secteurs contenant les cerises vertes ou rouges scolytées.

5 : Moyenne des effectifs à M1, M2, M3 & M4 présents dans le secteur 5

Pour les tableaux POURCENTAGE par niveau de facteur

B : B est donné par la formule $B(\text{Tab } \%) = (B/(B+S)) * 100$ (B & S) à partir des tableaux MOYENNE

S : S est donné par la formule $S(\text{Tab } \%) = (S/(B+S)) * 100$ (B & S) à partir des tableaux MOYENNE

5 : 5 est donné par la formule $5(\text{Tab } \%) = (5/(B+S+5)) * 100$ (B & S) à partir des tableaux MOYENNE

Pour le tableau POURCENTAGE par test ("Variation en fonction du temps...")

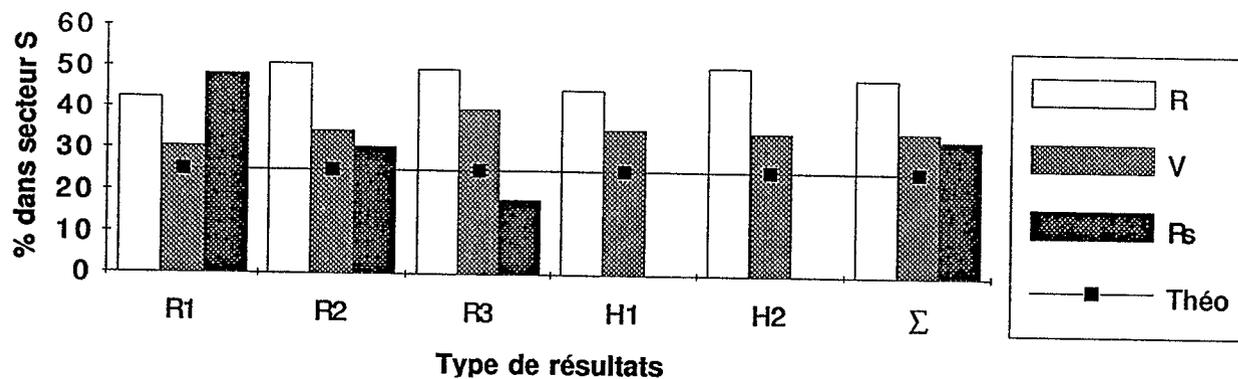
B : l'effectif présent dans le secteur considéré à un moment donnée divisé par la somme (B+S+5) sur les 4 min du test. Même calcul pour S et 5.

GRAPHIQUES

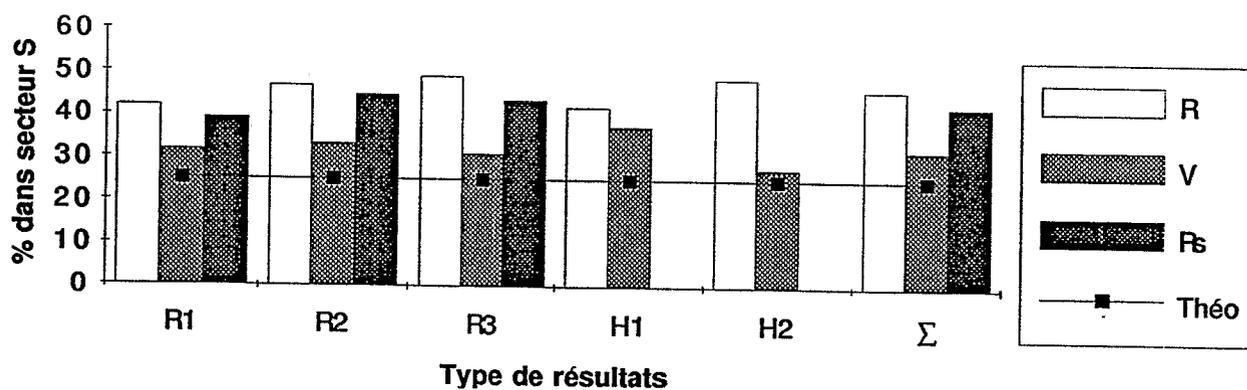
Réponse de *H. hampei* au test de marche en fonction des facteurs : Cerise, Heure, Rang, type de test & dispositif

Graphique 1

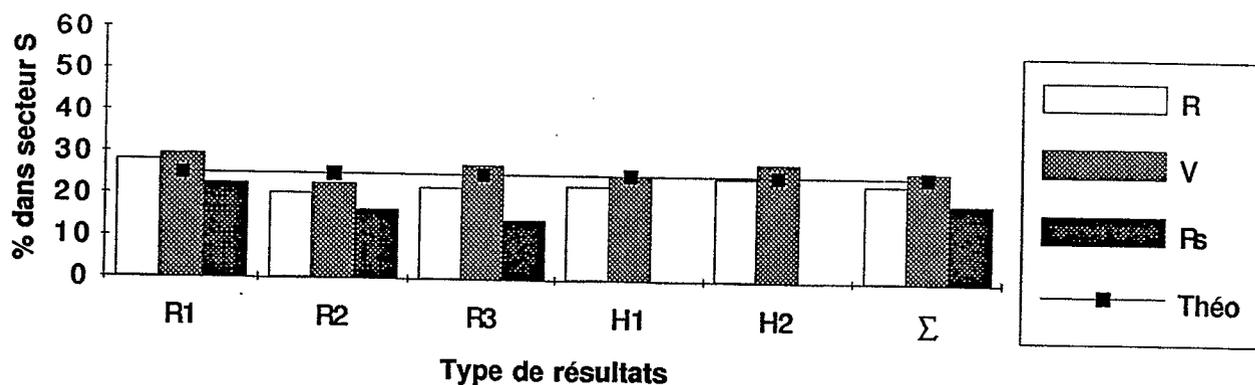
Dispositif OV



Dispositif O



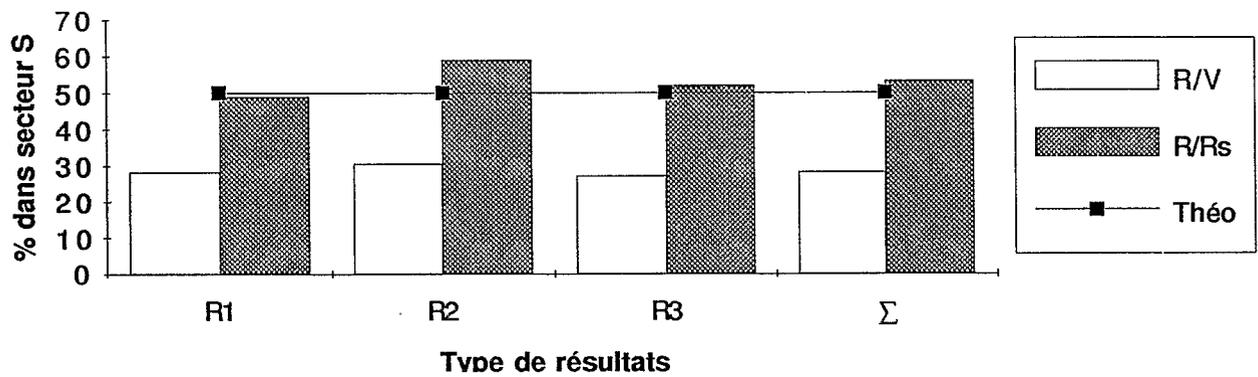
Dispositif V



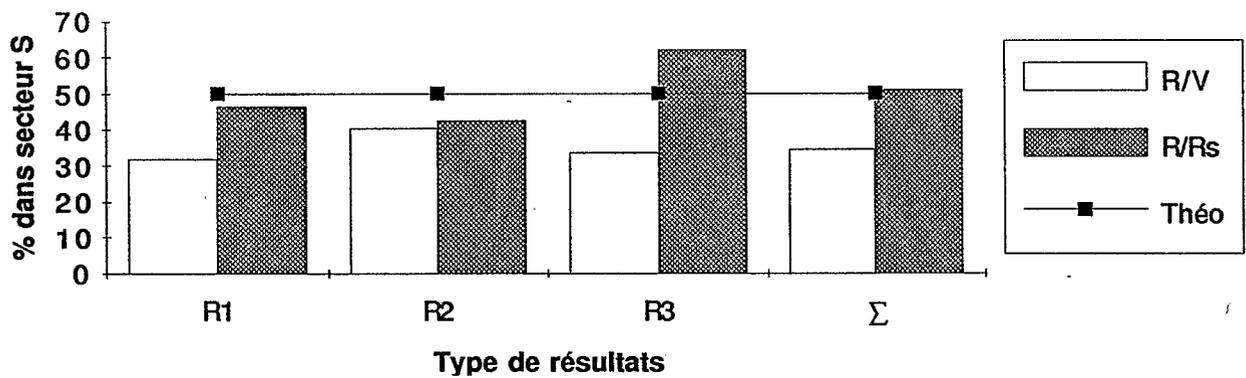
Réponse de *H. hampei* au test de marche en fonction des facteurs : Cerise, Heure, Rang, type de test & dispositif

Graphique 2

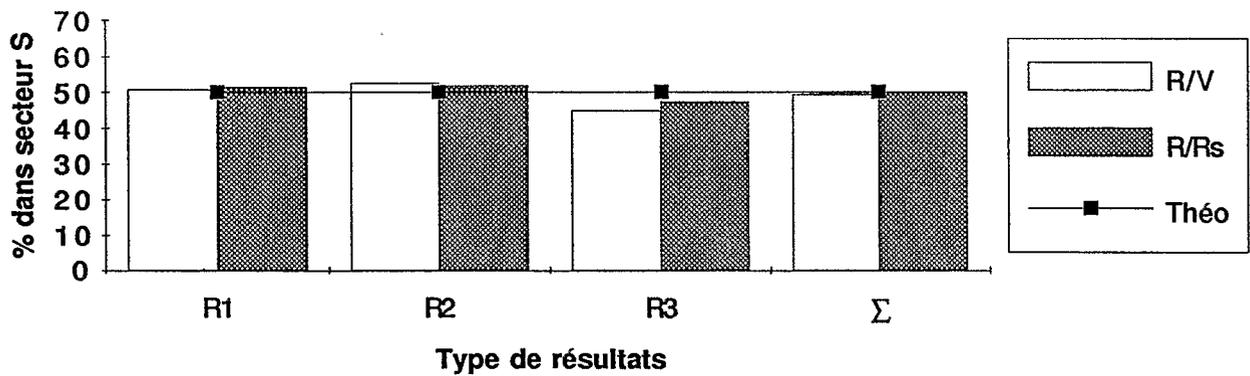
Dispositif OV



Dispositif O



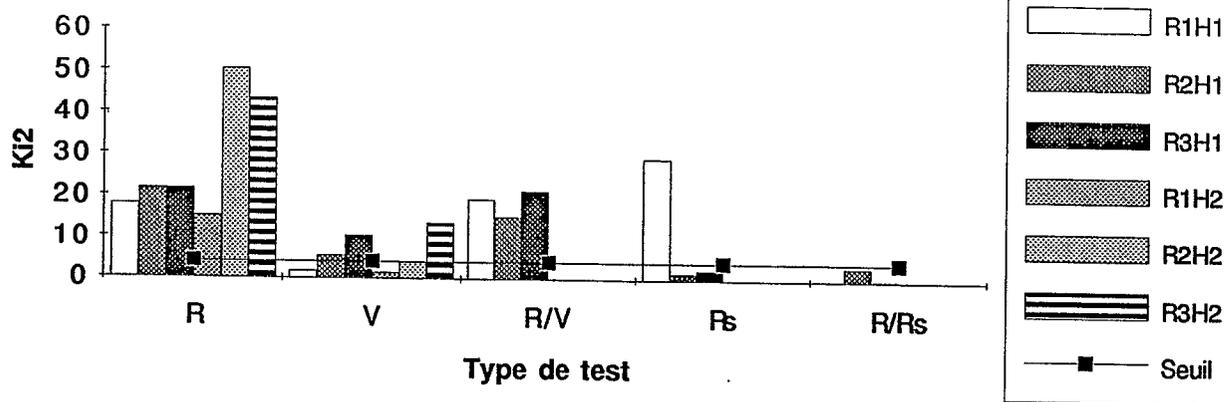
Dispositif V



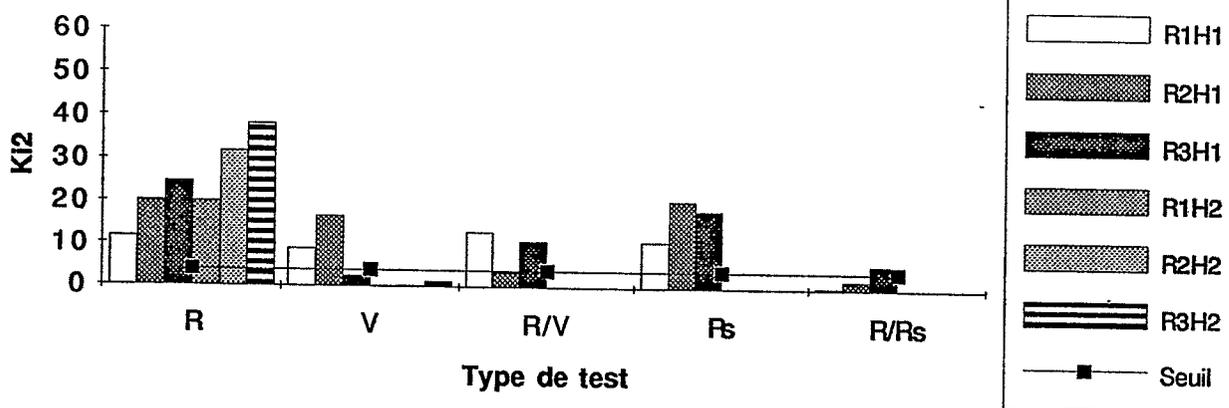
Réponse de *H. hampei* au test de marche en fonction des facteurs : Cerise, Heure, Rang, type de test & dispositif

Graphique 3

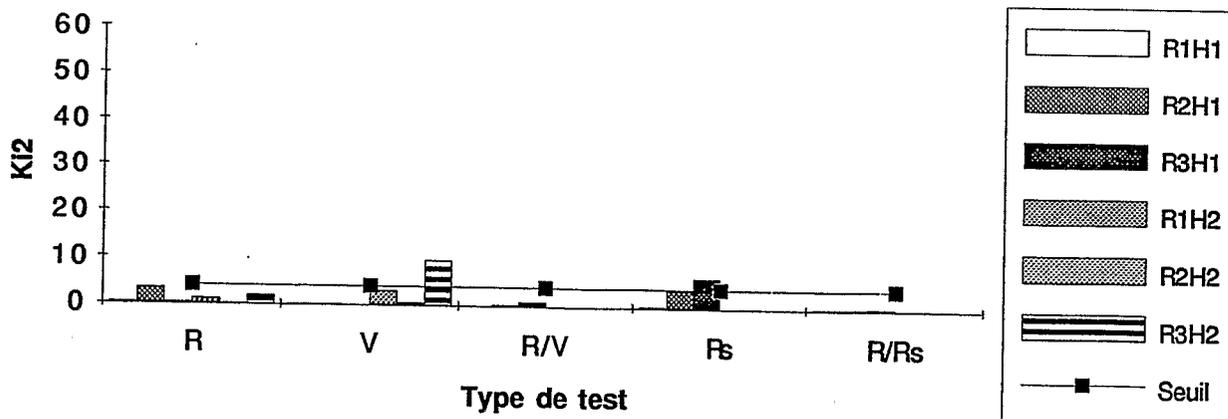
Dispositif OV



Dispositif O



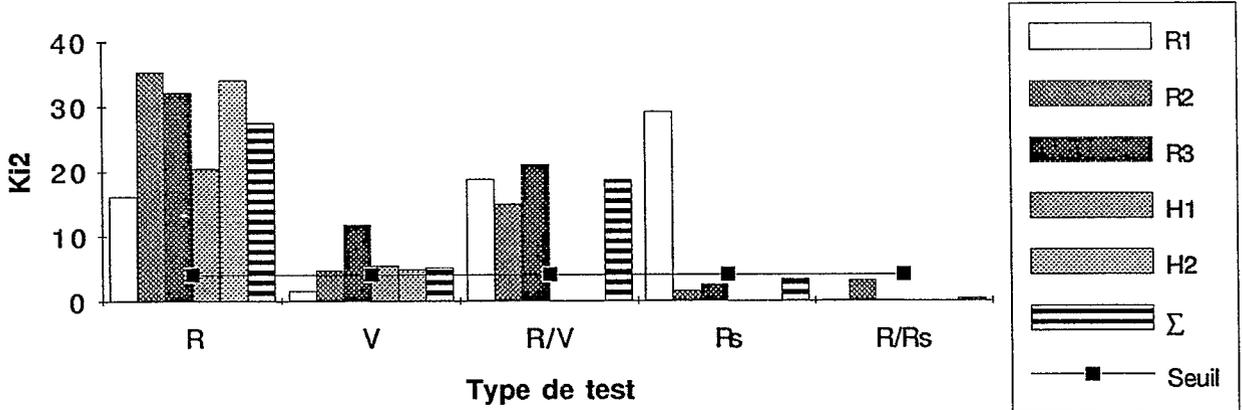
Dispositif V



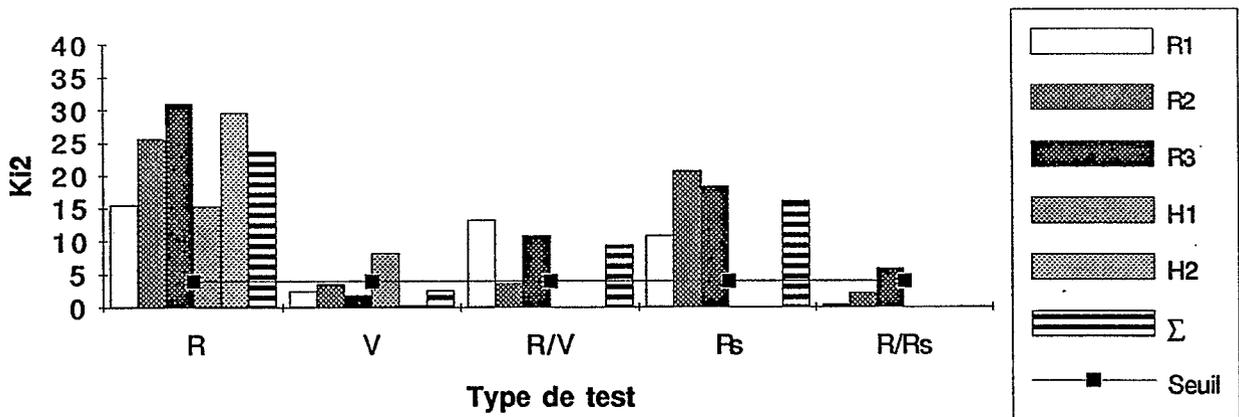
Réponse de *H. hampei* au test de marche en fonction des facteurs : Cerise, Heure, Rang, type de test & dispositif

Graphique 4

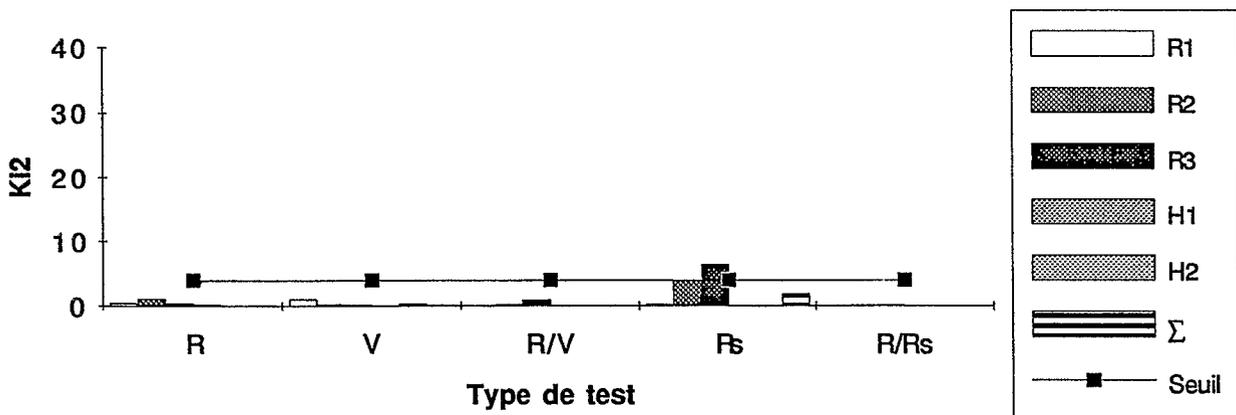
Dispositif OV



Dispositif O



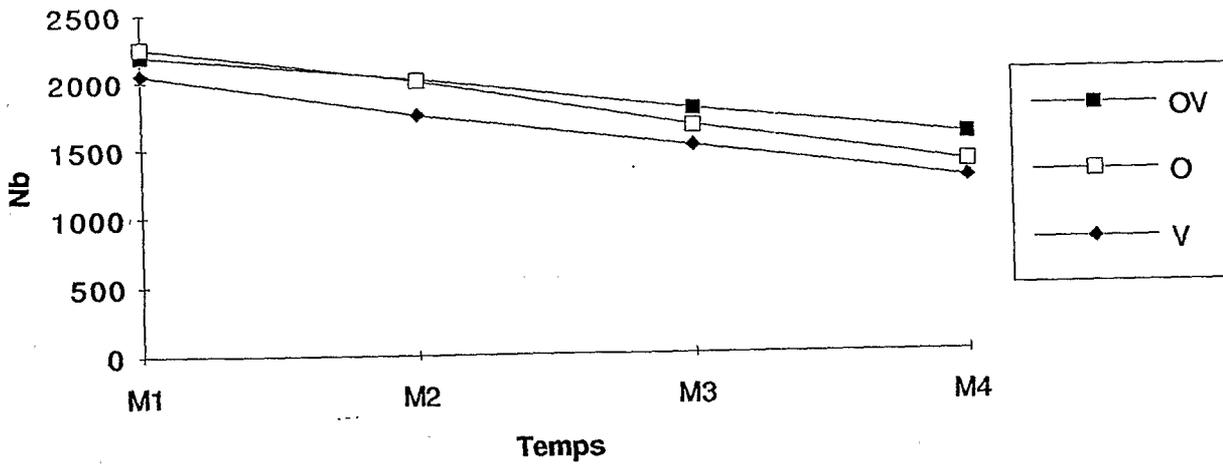
Dispositif V



**Nombre d'insectes utilisés pour l'ensemble des tests de comportement
de Juillet 92 à septembre 92**

Graphique 5

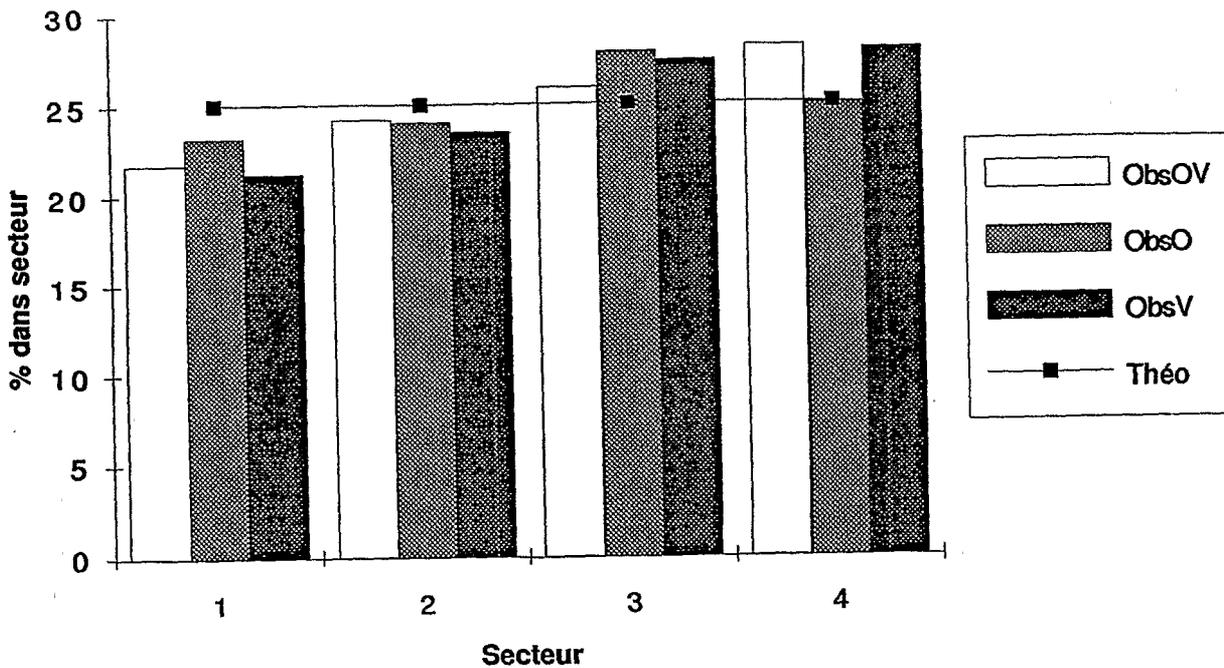
Nb d'insecte testés



**Répartition des scolytes sur le dispositif de marche sans stimuli
suivant les 3 dispositifs utilisés**

Graphique 6

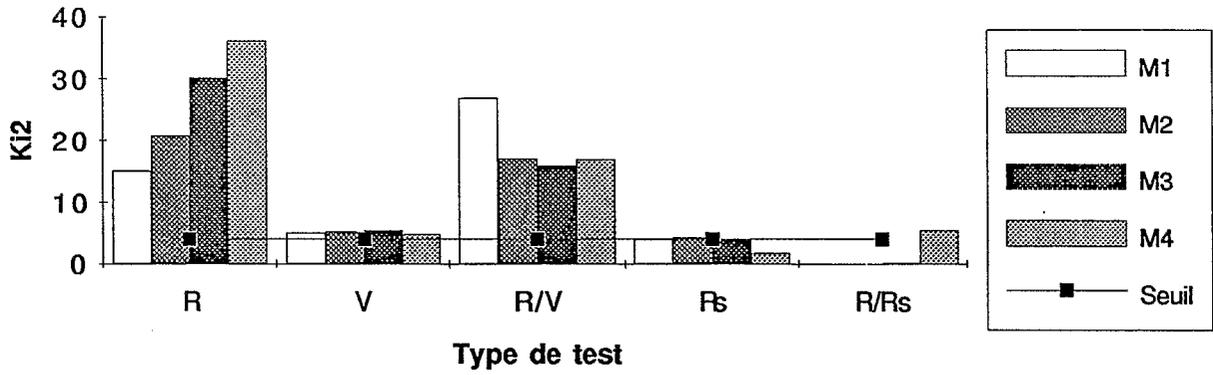
Etude du dispositif de marche à blanc



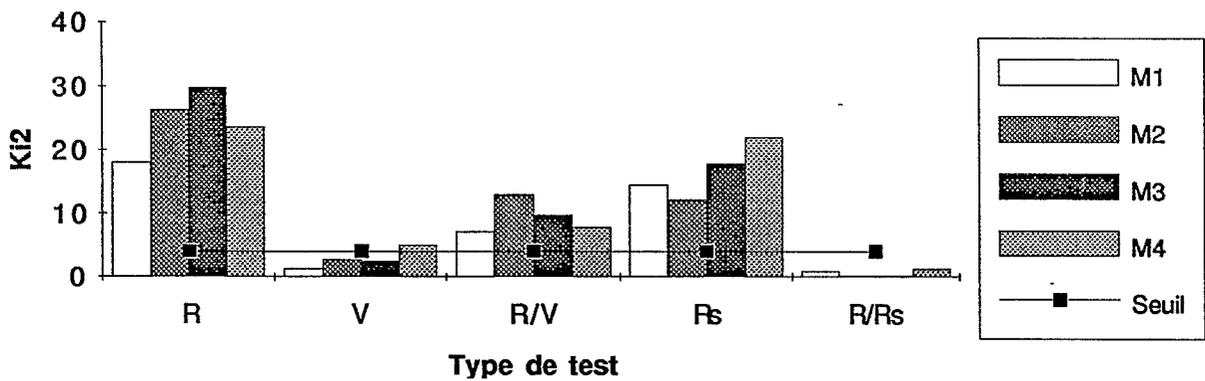
Réponse de *H. hampei* au test de marche en fonction des facteurs : Cerise, Heure, Rang, type de test & dispositif

Graphique 7

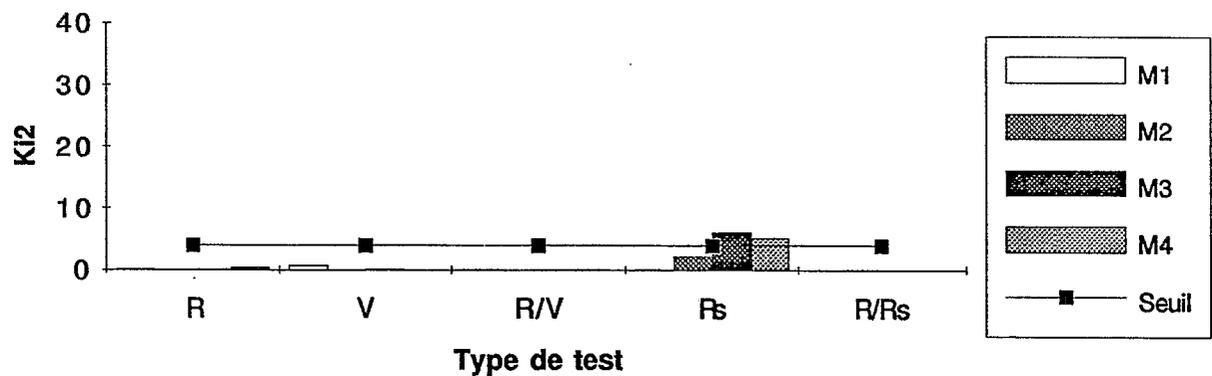
Dispositif OV



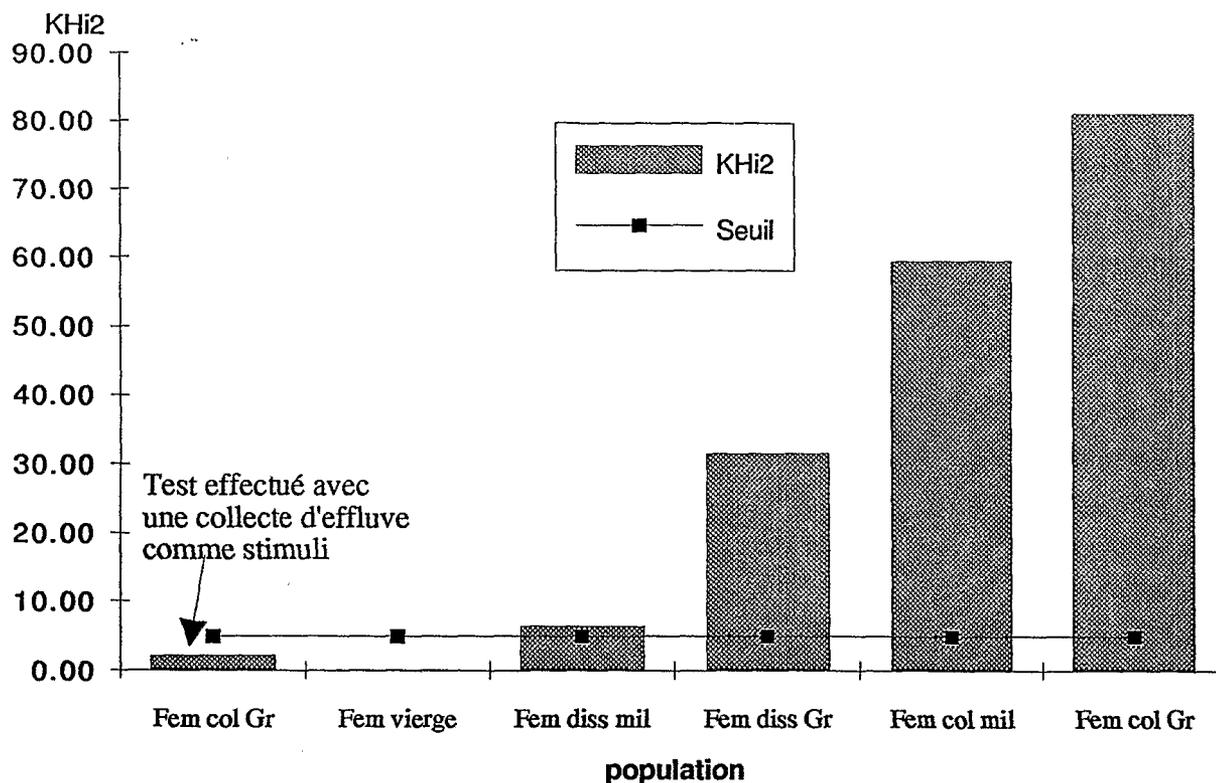
Dispositif O



Dispositif V



Réponse de *hypotheremus Hampei* au test de marche en fonction du facteur population
Graphique 8



Stimuli ds secteur S	Isectes	Nb de test	B	S	Proba	B%	S%	KHi2
3x40µl de collecte gr R	Fem col Gr	12	94.5	40.8	0,1<p<0,2	68.6	31.4	2.15
10 gr Rouges	Fem vierge	12	120	40.5	0,9<p<0,95	76.3	23.7	0.09
10 gr Rouges	Fem diss mil	12	119	19.5	,001<p<,01	86	14	6.47
10 gr Rouges	Fem diss Gr	12	115	111	p<,001	50.7	49.3	31.55
10 gr Rouges	Fem col mil	12	75.3	105	p<,001	41.6	58.4	59.49
10 gr Rouges	Fem col Gr	12	65.3	125	p<,001	36	64	81.00

Etude des différentes populations

Test de student (échantillons indépendants)

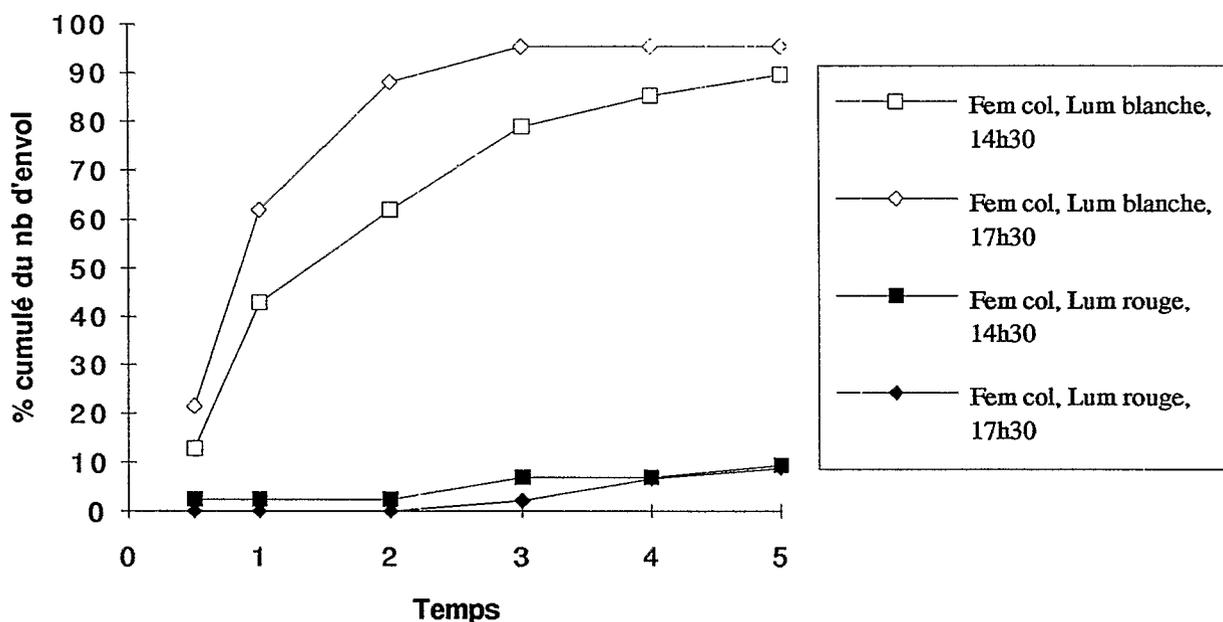
Probabilité d'égalité des 2 séries testées.

	Fem Col Gr	Fem col mil	Fem dis Gr	Fem Col Gr	Fem col mil	Fem dis Gr
Moy	63,95	58,40	49,32	63,95	58,40	49,32
Test	0,309		0,02		0,114	

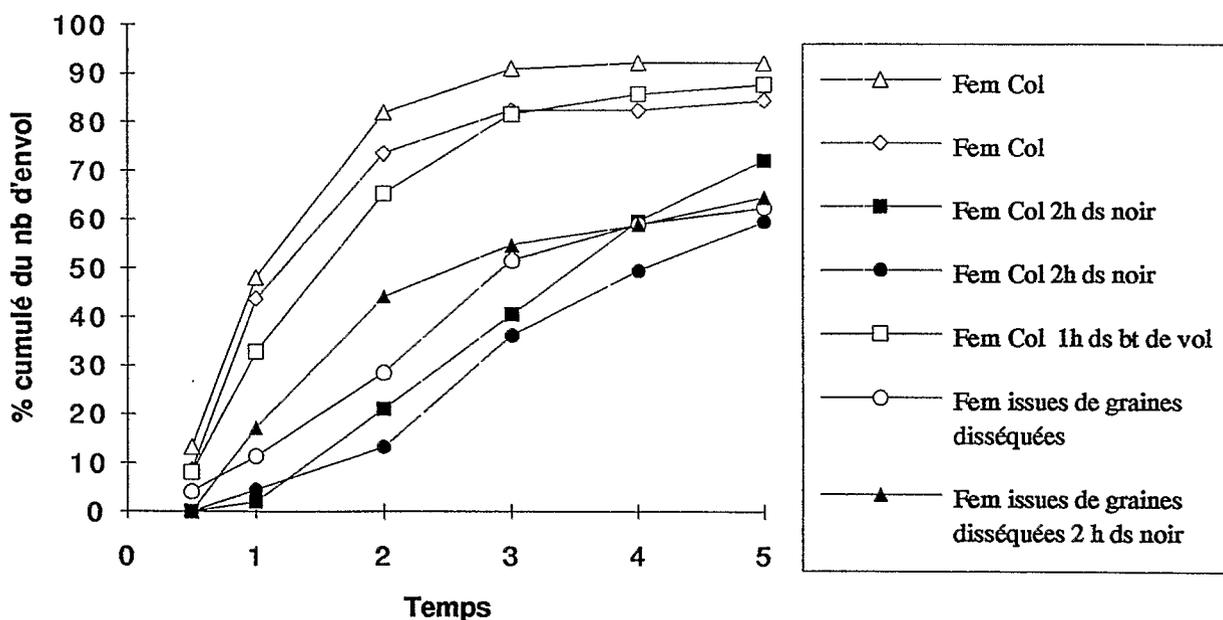
Variable : % d'insectes présents dans le secteur actif

**Envol de *H. hampei* à partir du support de marche En fonction des facteurs
heure, lumière & type de population
Graphique 9**

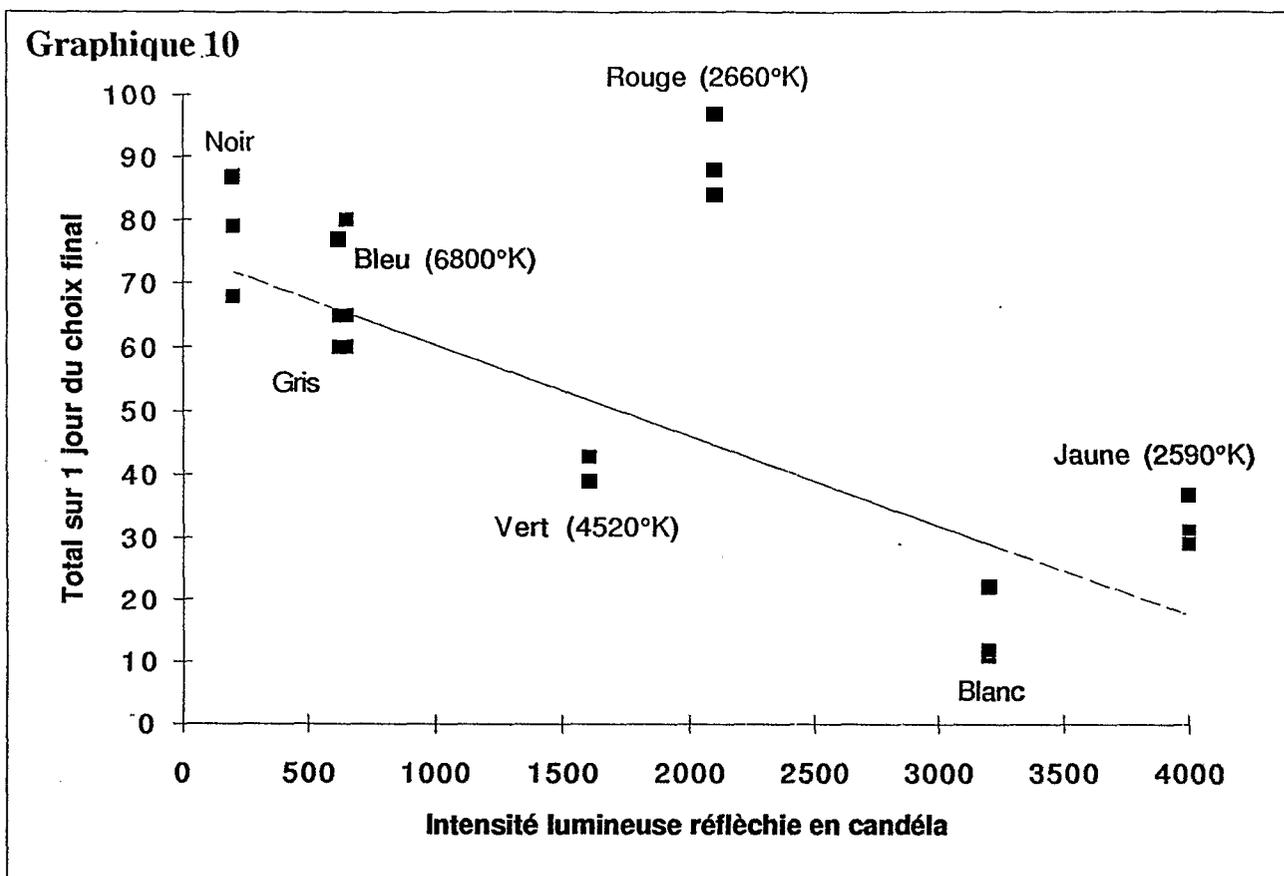
Etude des facteurs Heure & Lumière



Etude du facteur population



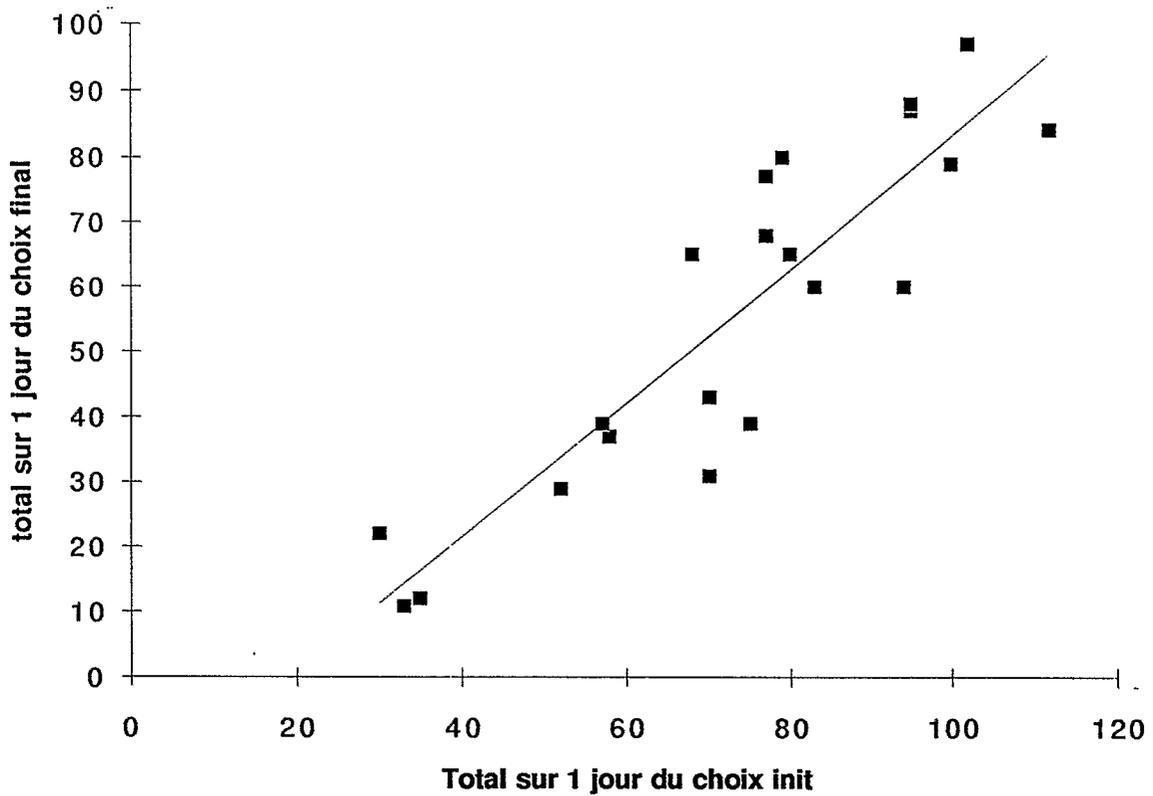
Réponse de *H.hampei* à de fausses cerises de café en fonction de l'intensité lumineuse réfléchie



Fichier: RegrInit/final		Variable dépendante: Choix final			
Variable Nom	Coefficient	Std. Err. Evaluer	t Statistique	Prob > t	
Constante	74,6393	4,5769	16,3078	0,000	
Intensité	-0,0143	0,0021	-6,9281	0,000	
Fichier: RegrInit/final					
Source	Som. des Carrés	Degré de Liberté	Moy. des Carrés	F-Ratio	Prob>F
Modèle	7367,2977	1	7367,2977	47,9991	0,000
Erreur	2455,8134	16	153,4883		
Total	9823,1111	17			
Coefficient de détermination (R ²)		0,7500			
Coefficient Ajusté (R ²)		0,7344			
Coefficient de corrélation (R)		0,8660			
Erreur standart estimée		12,3890			
Stat. de Durbin-Watson		2,7888			

Corrélation entre le choix initial & le choix final 1

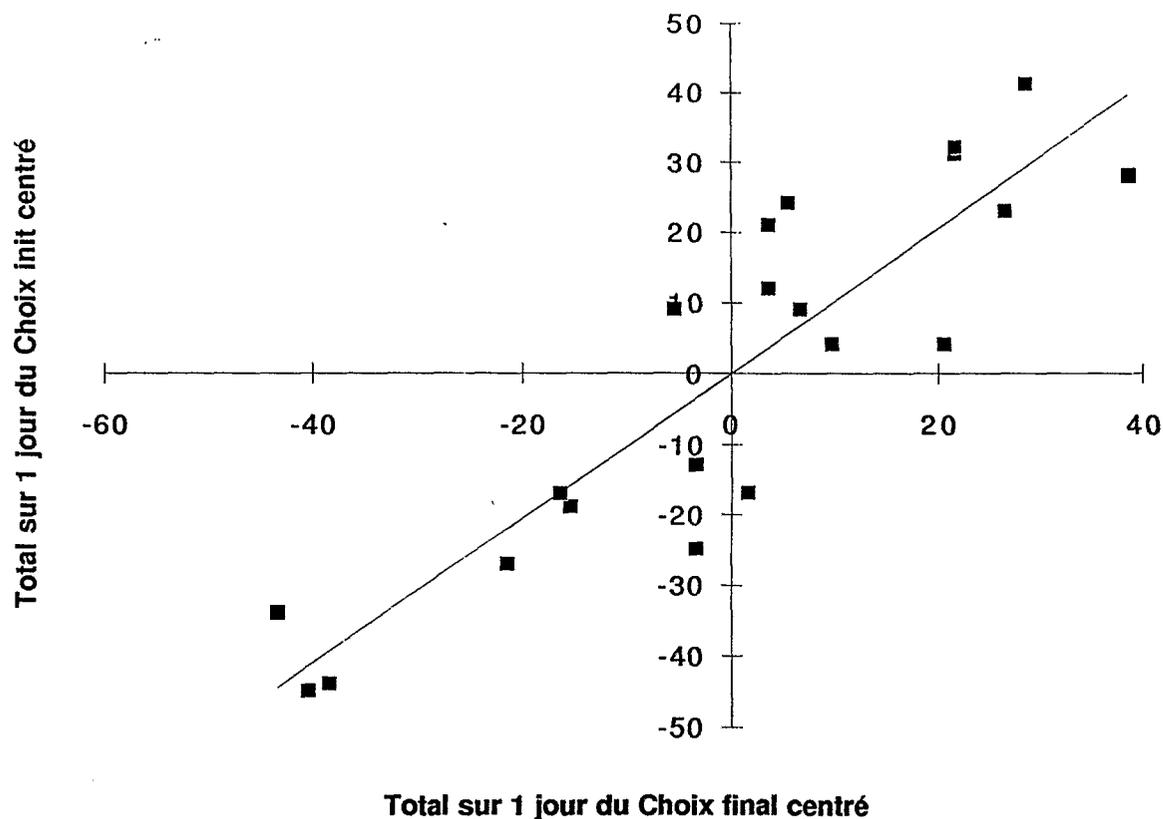
Graphique 11



Fichier: RegrInit/final		Variable dépendante: Choix final			
Variable Nom	Coefficient	Std. Err. Evaluer	t Statistique	Prob > t	
Constante	-19,4472	9,0481	-2,1493	0,045	
choix init	1,0255	0,1178	8,7027	0,000	
Fichier: RegrInit/final					
Source	Som. des Carrés	Degré de Liberté	Moy. des Carrés	F-Ratio	Prob>F
Modèle	11122,3294	1	11122,3294	75,7369	0,000
Erreur	2790,2420	19	146,8548		
Total	13912,5714	20			
Coefficient de détermination (R ²)			0,7994		
Coefficient Ajusté (R ²)			0,7889		
Coefficient de corrélation (R)			0,8941		
Erreur standart estimée			12,1184		
Stat. de Durbin-Watson			1,3255		

Corrélation entre le choix initial & le choix final 2

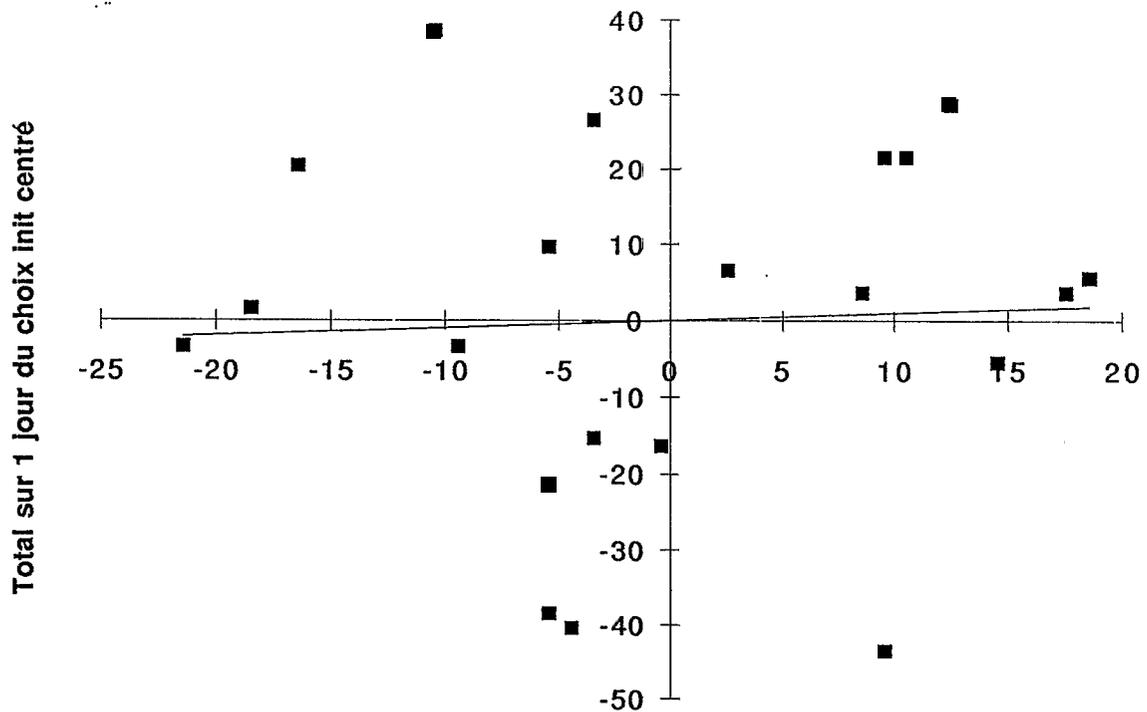
Graphique 12



Fichier: Regrlnit/final		Variable dépendante: CentrageFinal			
Variable Nom	Coefficient	Std. Err. Evaluer	t Statistique	Prob > t	
Constante	0,0086	2,6444	0,0033	0,997	
CentrageInit	1,0255	0,1178	8,7027	0,000	
Fichier: Regrlnit/final					
Source	Som. des Carrés	Degré de Liberté	Moy. des Carrés	F-Ratio	Prob>F
Modèle	11122,3294	1	11122,3294	75,7369	0,000
Erreur	2790,2420	19	146,8548		
Total					
	13912,5714	20			
Coefficient de détermination (R ²)		0,7994			
Coefficient Ajusté (R ²)		0,7889			
Coefficient de corrélation (R)		0,8941			
Erreur standart estimée		12,1184			
Stat. de Durbin-Watson		1,3255			

Corrélation entre le choix initial & le choix final 3

Graphique 13



Choix int centré - choix final entré (total sur 1 jour)

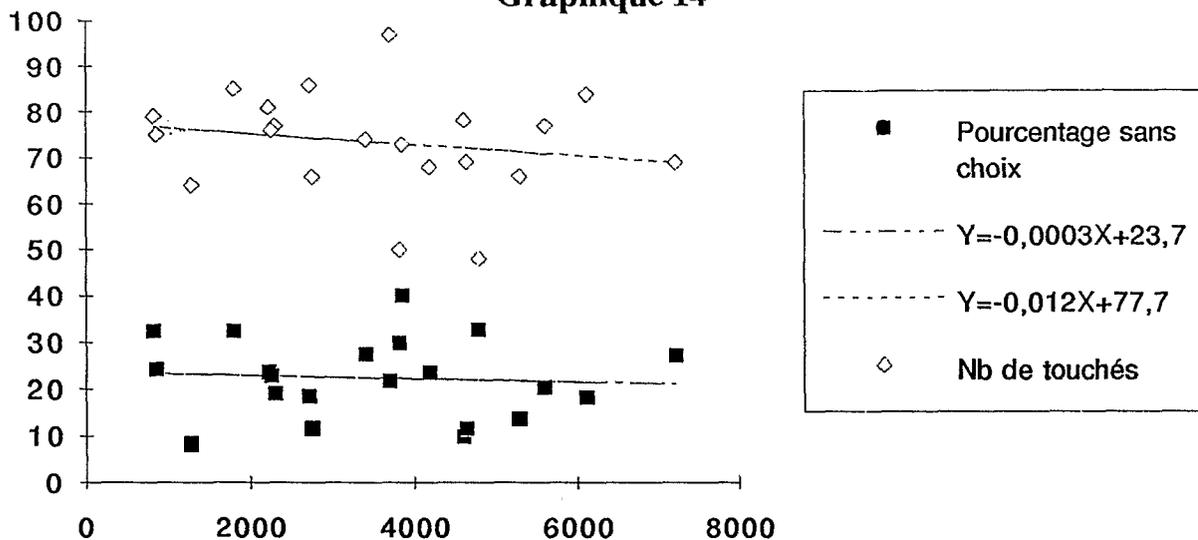
Fichier: RegrInit/final		Variable dépendante: Centragelnit		
Variable Nom	Coefficient	Std. Err. Evaluer	t Statistique	Prob > t
Constante	-0,0023	5,1419	-0,0004	1,000
cf-ci	0,0966	0,4455	0,2168	0,831

Fichier: RegrInit/final					
Source	Som. des Carrés	Degré de Liberté	Moy. des Carrés	F-Ratio	Prob>F
Modèle	26,0899	1	26,0899	0,0470	0,831
Erreur	10549,0530	19	555,2133		
Total	10575,1429	20			

Coefficient de détermination (R ²)	0,0025
Coefficient Ajusté (R ²)	-0,0500
Coefficient de corrélation (R)	0,0497
Erreur standart estimée	23,5630
Stat. de Durbin-Watson	1,7830

**Corrélation entre la somme de l'intensité réfléchiée par les 2 cerises d'un même test
avec le % sans choix final et le nombre de contact pour les 2 cerises choix initial**

Graphique 14



Σ de l'intensité lumineuse réfléchiée des 2 cerises d'un même test

Fichier: Regression%SO		Variable dépendante: %SO		
Variable Nom	Coefficient	Std. Err. Evaluer	t Statistique	Prob > t
Constante	23,6959	4,3509	5,4462	0,000
Σ intensité	-0,0003	0,0011	-0,3126	0,758

Fichier: Regression%SO					
Source	Som. des Carrés	Degré de Liberté	Moy. des Carrés	F-Ratio	Prob>F
Modèle	7,3276	1	7,3276	0,0977	0,758
Erreur	1424,8415	19	74,9917		
Total	1432,1691	20			
Coefficient de détermination (R ²)		0,0051			
Coefficient Ajusté (R ²)		-0,0472			
Coefficient de corrélation (R)		0,0715			
Erreur standart estimée		8,6598			
Stat. de Durbin-Watson		1,7590			

Fichier: Regression%SO		Variable dépendante: Σ du choix init		
Variable Nom	Coefficient	Std. Err. Evaluer	t Statistique	Prob > t
Constante	77,7030	5,7378	13,5423	0,000
Σ intensité	-0,0012	0,0015	-0,8270	0,418

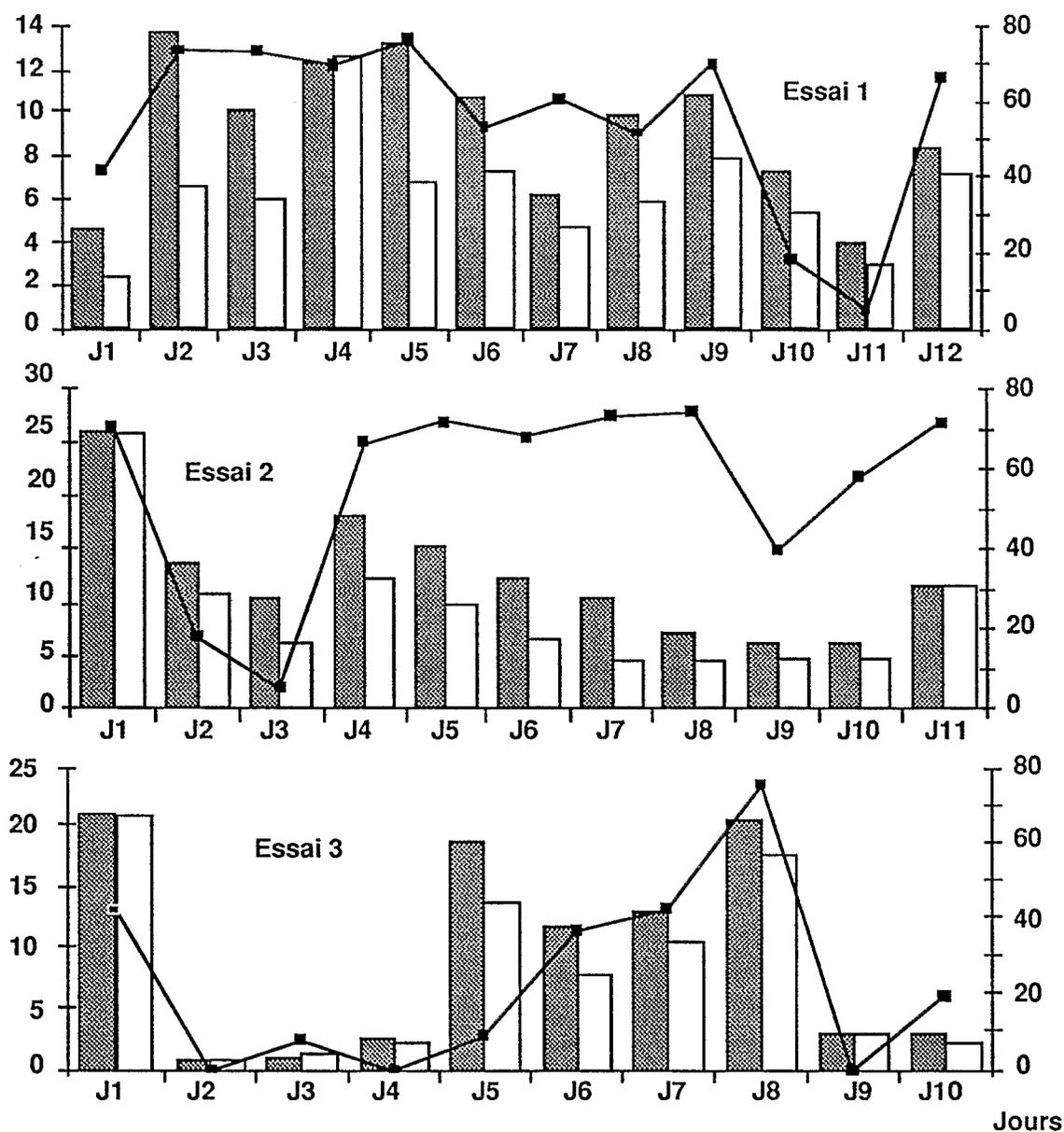
Fichier: Regression%SO					
Source	Som. des Carrés	Degré de Liberté	Moy. des Carrés	F-Ratio	Prob>F
Modèle	89,2051	1	89,2051	0,6840	0,418
Erreur	2477,9377	19	130,4178		
Total	2567,1429	20			
Coefficient de détermination (R ²)		0,0347			
Coefficient Ajusté (R ²)		-0,0161			
Coefficient de corrélation (R)		0,1864			
Erreur standart estimée		11,4201			
Stat. de Durbin-Watson		0,8469			

Dynamique de sortie (en %) et insolation

Graphique 15

% de *H. hampei* sortis par rapport à la population restant dans la cerise (1)

Ensoleillement en % de 7h à 17h



Insolation : —■— Avec Cerises : ■ Sans Cerise : □

(1) Calcul du % de sortie :

$$\% \text{ sortie au jour } n = \frac{\text{EffJn}}{\sum_{n \text{ à } N} \text{EffJn} + \text{Fcd}} \times 100$$

Avec :

EffJn : Effectif des sorties au jour n

N : durée de l'essai en jour

Fcd : Femelles adultes vivantes trouvées lors de la dissection des graines à la fin des essais

TABLEAUX

**TABLEAU I DES RESULTATS DES TESTS DE MARCHE
EN FONCTION DES FACTEURS HEURE
ET NOMBRE DE TEST EFFECTUES SUR UN MEME GROUPE D'INSECTES**

MOYENNE		H1												H2											
		R1				R2				R3				R1				R2				R3			
		B	S	5	Proba																				
OV Proba blancs 0,5<p<0,7	R	21.3	16.3	8.5		25.5	21	12.5		25.5	21	10.8		31	22.3	16.5		23.3	29.3	11.8		24.8	28.5	11.3	
	V	40.5	18	24.3		36.8	20	17.3		36.8	23.5	16		45.3	19.8	14.5		34.5	17.5	13.3		29.3	20.3	14.3	
	R/V	59.5	23.3	21.5		44.3	19.5	20.3		72.8	26.8	22.5													
	Rs	37.3	35	25.8		47.8	21	34.5		51.3	11.3	32													
	R/Rs	15.5	15	14.3		12	17.3	18.3		12.3	13.3	20.5													
O Proba blancs 0,7<p<0,8	R	25	16.5	12.3		24.8	19.8	13.5		23	20	12.5		23.3	18.5	8.25		22.5	22	11.5		21	22.5	14	
	V	40.5	24.8	12		26.3	19.5	16.3		34	16	18.3		59	21.8	17.8		51.3	19	15.8		39	16.8	16.5	
	R/V	65.8	30.8	21.8		37.3	25.3	21.5		52	26.3	29.5													
	Rs	45.3	29.3	27.8		35.3	28.5	18.3		37.3	28.8	20.5													
	R/Rs	15.5	13.5	9.25		15.8	11.8	11.3		12.5	20.5	11.5													
V Proba blancs 0,5<p<0,7	R	34.5	12.8	10		38.8	8	5.25		41.8	12.5	10.5		25.5	10.8	12		35.8	11	9.5		19.3	4.5	17.3	
	V	34.5	12.3	13.3		41	12.8	15.8		40.5	13.5	16.5		33.8	16.3	10.8		39	10.8	13.5		23.3	14.5	14.5	
	R/V	36.8	38	13		31.5	35	21.3		37.5	30.8	21													
	Rs	49.5	14.5	23.8		56	11	25.5		50.5	8.25	25.8													
	R/Rs	11.3	12	15.3		12.8	13.8	16.3		15.8	14.3	20													

Voir Légende Générale page 3 5

**TABLEAU II DES RESULTATS DES TESTS DE MARCHE
EN FONCTION DES FACTEURS HEURE
ET NOMBRE DE TEST EFFECTUES SUR UN MEME GROUPE D'INSECTES**

POURCENTAGE par niveau		H1												H2											
		R1				R2				R3				R1				R2				R3			
		B	S	5	KHi2																				
OV Proba blancs 0,5<p<0,7	R	56.7	43.3	18.5	17.93	54.8	45.2	21.2	21.68	54.8	45.2	18.8	21.68	58.2	41.8	23.7	15.02	44.3	55.7	18.3	50.31	46.5	53.5	17.4	43.38
	V	69.2	30.8	29.3	1.78	64.8	35.2	23.3	5.59	61	39	21	10.46	69.6	30.4	18.2	1.55	66.3	33.7	20.3	3.99	59.1	40.9	22.4	13.50
	R/V	71.9	28.1	20.6	19.19	69.4	30.6	24.1	15.07	73.1	26.9	18.4	21.37												
	Rs	51.6	48.4	26.3	29.31	69.5	30.5	33.4	1.64	82	18	33.9	2.61												
	R/Rs	50.8	49.2	31.8	0.03	41	59	38.4	3.22	48	52	44.6	0.15												
O Proba blancs 0,7<p<0,8	R	60.2	39.8	22.8	11.62	55.6	44.4	23.3	20.04	53.5	46.5	22.5	24.68	55.7	44.3	16.5	19.89	50.6	49.4	20.5	31.85	48.3	51.7	24.3	38.09
	V	62.1	37.9	15.5	8.92	57.4	42.6	26.2	16.56	68	32	26.7	2.61	73.1	26.9	18	0.20	73	27	18.3	0.22	70	30	22.8	1.36
	R/V	68.1	31.9	18.4	13.15	59.6	40.4	25.6	3.69	66.5	33.5	27.4	10.83												
	Rs	60.7	39.3	27.1	10.85	55.3	44.7	22.3	20.71	56.4	43.6	23.7	18.37												
	R/Rs	53.4	46.6	24.2	0.48	57.3	42.7	29	2.12	37.9	62.1	25.8	5.88												
V Proba blancs 0,5<p<0,7	R	73	27	17.5	0.21	82.9	17.1	10.1	3.32	77	23	16.2	0.20	70.3	29.7	24.9	1.16	76.5	23.5	16.9	0.12	81.1	18.9	42.1	1.95
	V	73.8	26.2	22.1	0.08	76.3	23.7	22.7	0.09	75	25	23.4	0.00	67.5	32.5	17.7	3.00	78.4	21.6	21.3	0.61	61.6	38.4	27.8	9.59
	R/V	49.2	50.8	14.8	0.03	47.4	52.6	24.2	0.28	54.9	45.1	23.5	0.98												
	Rs	77.3	22.7	27.1	0.29	83.6	16.4	27.6	3.93	86	14	30.5	6.40												
	R/Rs	48.4	51.6	39.6	0.10	48.1	51.9	38	0.14	52.5	47.5	40	0.25												

56

TABLEAU III RECAPITULATIF DES RESULTATS DES TESTS DE MARCHE

MOYENNE		H1+H2												H1				H2				H1+H2					
		R1				R2				R3				R1+R2+R3				R1+R2+R3				R1+R2+R3					
		B	S	5	Proba	B	S	5	Proba	B	S	5	Proba	B	S	5	Proba	B	S	5	Proba	B	S	5	Proba	B	S
OV Proba blancs 0,5<p<0,7	R	52.3	38.5	25	p<,001	48.8	50.3	24.3	p<,001	50.3	49.5	22	p<,001	72.3	58.3	31.8	p<,001	79	80	39.5	p<,001	151	138	71.3	p<,001		
	V	85.8	37.8	38.8	,1<p<,2	71.3	37.5	30.5	,02<p<,05	66	43.8	30.3	p<,001	114	61.5	57.5	p<,01	109	57.5	42	p<,01	223	119	99.5	p<,001		
	R/V	59.5	23.5	21.5	p<,001	44.3	19.5	29.5	p<,001	72.3	26.8	22.5	p<,001									176	69.8	64.3	p<,001		
	Rs	37.3	35	25.8	p<,001	47.8	21	34.5	,2<p<,3	51.3	11.3	32	,2<p<,3									136	67.3	92.3	p<,01		
	R/Rs	15.5	15	14.3	,9<p<,95	12	17.3	18.3	,1<p<,2	12.3	13.3	20.5	,8<p<,9									39.8	45.5	53	,3<p<,5		
O Proba blancs 0,7<p<0,8	R	48.3	35	20.5	p<,001	47.3	41.8	25	p<,001	44	42.5	26.5	p<,001	77.8	56.3	38.3	p<,001	66.8	63	33.8	p<,001	140	119	72	p<,001		
	V	99.5	46.5	29.8	,05<p<,1	77.5	38.5	32	,02<p<,05	73	32.8	34.8	,1<p<,2	101	60.3	46.5	p<,001	149	57.5	50	,3<p<,5	250	118	96.5	p<,01		
	R/V	65.8	30.8	21.8	p<,001	37.3	25.3	21.5	,1<p<,2	52	26.3	29.5	p<,01									155	82.3	72.8	p<,001		
	Rs	45.3	29.3	27.8	p<,01	35.3	28.5	18.3	p<,01	37.3	28.8	20.5	p<,001									118	86.5	66.5	p<,001		
	R/Rs	15.5	13.5	9.25	,7<p<,8	15.8	11.8	11.8	,3<p<,5	12.5	20.5	11.5	,1<p<,2									43.8	45.8	32.5	,7<p<,8		
V Proba blancs 0,5<p<0,7	R	60	23.5	22	,5<p<,7	74.5	19	14.8	,2<p<,3	61	17	27.8	,5<p<,7	115	33.3	25.8	,3<p<,5	80.5	26.3	38.8	,9<p<,95	196	59.5	64.5	,5<p<,7		
	V	68.3	28.5	26	,3<p<,5	80	23.5	27.3	,5<p<,7	74.8	28	31	,5<p<,7	116	38.5	45.5	,9<p<,95	107	41.5	38.8	,3<p<,5	223	80	84.3	,5<p<,7		
	R/V	36.8	38	13	,8<p<,9	31.5	35	21.3	,5<p<,7	37.5	30.8	21	,3<p<,5									106	104	55.3	,8<p<,9		
	Rs	49.5	14.5	23.8	,5<p<,7	56	11	25.5	,1<p<,2	50.5	8.25	25.8	,05<p<,1									146	33.8	75	,05<p<,1		
	R/Rs	11.3	12	15.3	,8<p<,9	12.8	13.8	16.8	,8<p<,9	15.8	14.3	20	,8<p<,9									39.8	40	52	p>,95		

57

TABLEAU IV DES RESULTATS DES TESTS DE MARCHE
VARIATION EN FONCTION DU TEMPS ET DES STIMULI DU NOMBRE D'INSECTES PRESENTS

MOYENNE		M1					M2					M3					M4				
		B	S	5	KHi2	Proba	B	S	5	KHi2	Proba	B	S	5	KHi2	Proba	B	S	5	KHi2	Proba
OV Proba blancs 0,5<p<0,7	R	188	135	316	48.6	p<,001	174	141	241	65.6	p<,001	145	138	193	85	p<,001	116	121	158	86	p<,001
	V	234	124	392	17.7	p<,001	237	127	344	19	p<,001	218	118	291	24.1	p<,001	203	107	263	15	p<,001
	R/V	183	58	117	64.8	p<,001	195	81	69	47	p<,001	172	74	40	39	p<,001	156	65	39	37.5	p<,001
	Rs	116	59	258	7	,001<p<,01	134	69	235	8.75	,001<p<,01	149	76	218	9.25	,001<p<,01	146	65	203	3.8	,05<p<,1
	R/Rs	42	41	72	0.01	,9<p<,95	45	46	55	0.01	,9<p<,95	41	45	46	0.19	,5<p<,7	31	50	31	4.46	,02<p<,05
O Proba blancs 0,7<p<0,8	R	189	145	235	60.4	p<,001	153	137	234	76.5	p<,001	114	108	176	66.2	p<,001	102	87	141	44.6	p<,001
	V	279	119	422	5.1	,02<p<,05	276	131	372	11.2	p<,001	242	113	326	8.83	,001<p<,01	203	108	266	15	p<,001
	R/V	182	105	111	20.6	p<,001	179	84	75	34.3	p<,001	138	72	63	20.7	p<,001	121	68	42	14.7	p<,001
	Rs	128	91	240	32	p<,001	140	94	210	28.7	p<,001	115	88	163	36.5	p<,001	88	73	124	35.5	p<,001
	R/Rs	47	39	49	0.74	,3<p<,5	51	55	31	0.25	,5<p<,7	42	45	27	0.33	,5<p<,7	35	44	23	1.03	,3<p<,5
V Proba blancs 0,5<p<0,7	R	273	81	392	0.85	,3<p<,5	212	69	274	0.03	,8<p<,9	161	51	205	0.1	,7<p<,8	135	38	168	0.85	,3<p<,5
	V	229	93	372	2.6	,1<p<,2	237	81	326	0.04	,8<p<,9	228	81	291	0.24	,5<p<,7	198	65	240	0.01	,9<p<,95
	R/V	127	116	97	0.5	,3<p<,5	114	111	60	0.04	,8<p<,9	103	404	37	0.01	,9<p<,95	79	84	27	0.15	,5<p<,7
	Rs	142	43	257	0.31	,5<p<,7	168	38	245	4.71	,02<p<,05	162	27	226	11.5	p<,001	152	27	196	9.4	,001<p<,01
	R/Rs	36	37	70	0.01	,9<p<,95	42	40	58	0.49	,8<p<,9	42	43	46	0.01	,9<p<,95	39	40	34	0.01	,9<p<,95

Voir Légende Générale page 3 5

TABLEAU V DES RESULTATS DES TESTS DE MARCHE
VARIATION EN FONCTION DU TEMPS ET DES STIMULI DU NOMBRE D'INSECTES PRESENTS

POURCENTAGE sur test		M1					M2					M3					M4				
		B	S	5	KHi2	Proba	B	S	5	KHi2	Proba	B	S	5	KHi2	Proba	B	S	5	KHi2	Proba
OV Proba blancs 0,5<p<0,7	R	9.1	6.5	15			8.4	6.8	12			7	6.7	9.3			5.6	5.9	7.6		
	V	8.8	4.7	15			8.9	4.8	13			8.2	4.4	11			7.6	4	9.9		
	R/V	15	4.6	9.4			16	6.5	5.5			14	5.9	3.2			12	5.2	3.1		
	Rs	6.7	3.4	15			7.8	4	14			8.6	4.4	13			8.4	3.8	12		
	R/Rs	7.7	7.5	13			8.3	8.4	10			7.5	8.3	8.4			5.7	9.2	5.7		
O Proba blancs 0,7<p<0,8	R	10	8	13			8.4	7.5	13			6.3	5.9	9.7			5.6	4.8	7.7		
	V	9.8	4.2	15			9.7	4.6	13			8.5	4	11			7.1	3.8	9.3		
	R/V	15	8.5	9			14	6.8	6			11	5.8	5.1			9.8	5.5	3.4		
	Rs	8.2	5.9	15			9	6	14			7.4	5.7	10			5.7	4.7	8		
	R/Rs	9.6	8	10			10	11	6.4			8.6	9.2	5.5			7.2	9	4.7		
V Proba blancs 0,5<p<0,7	R	13	3.9	19			10	3.4	13			7.8	2.5	10			6.6	1.8	8.2		
	V	9.4	3.8	15			9.7	3.3	13			9.3	3.3	12			8.1	2.7	9.8		
	R/V	9.3	8.5	7.1			8.4	8.2	4.4			7.6	30	2.7			5.8	6.2	2		
	Rs	8.4	2.6	15			10	2.3	15			9.6	1.6	13			9	1.6	12		
	R/Rs	6.8	7	13			8	7.6	11			8	8.2	8.7			7.4	7.6	6.5		

59

Voir Légende Générale page 3 5

TABLEAU VI DES RESULTATS DES TESTS DE MARCHE
VARIATION EN FONCTION DU TEMPS ET DES STIMULI DU NOMBRE D'INSECTES PRESENTS

POURCENTAGE par Niveau		M1					M2					M3					M4				
		B	S	5	KHi2	Proba	B	S	5	KHi2	Proba	B	S	5	KHi2	Proba	B	S	5	KHi2	Proba
OV Proba blancs 0,5<p<0,7	R	58	42	49	15		55	45	43	20.8		51	49	41	30.1		49	51	40	36.2	
	V	65	35	52	4.95		65	35	49	5.22		65	35	46	5.46		65	35	46	4.83	
	R/V	76	24	33	26.9		71	29	20	17.1		70	30	14	15.9		71	29	15	17	
	Rs	66	34	60	4.05		66	34	54	4.31		66	34	49	4.11		69	31	49	1.8	
	R/Rs	51	49	46	0.01		49	51	38	0.01		48	52	35	0.22		38	62	28	5.5	
O Proba blancs 0,7<p<0,8	R	57	43	41	18.1		53	47	45	26.4		51	49	44	29.8		54	46	43	23.6	
	V	70	30	51	1.28		68	32	48	2.75		68	32	48	2.49		65	35	46	5.05	
	R/V	63	37	28	7.2		68	32	22	13		66	34	23	9.88		64	36	18	7.86	
	Rs	58	42	52	14.6		60	40	47	12.3		57	43	45	18		55	45	44	22.1	
	R/Rs	55	45	36	0.87		48	52	23	0.14		48	52	24	0.12		44	56	23	1.3	
V Proba blancs 0,5<p<0,7	R	77	23	53	0.24		75	25	49	0.01		76	24	49	0.05		78	22	49	0.49	
	V	71	29	54	0.8		75	25	51	0.01		74	26	49	0.08		75	25	48	0	
	R/V	52	48	29	0.2		51	49	21	0.02		20	80	6.8	35.2		48	52	14	0.09	
	Rs	77	23	58	0.16		82	18	54	2.29		86	14	54	6.12		85	15	52	5.24	
	R/Rs	49	51	49	0.02		51	49	41	0.06		49	51	35	0.01		49	51	30	0.02	

TABLEAU VII RECAPITULATIF DES RESULTATS DES TESTS DE MARCHE

POUCENTAGE Par niveau		H1+H2												H1				H2				H1+H2			
		R1				R2				R3				R1+R2+R3				R1+R2+R3				R1+R2+R3			
		B	S	5	Khi2	B	S	5	Khi2	B	S	5	Khi2	B	S	5	Khi2	B	S	5	Khi2	B	S	5	Khi2
OV Proba blancs 0,5<p<0,7	R	57.6	42.4	21.6	16.19	49.2	50.8	19.7	35.38	50.4	49.6	18.1	32.34	55.4	44.6	19.6	20.56	49.7	50.3	19.9	34.18	52.2	47.8	19.8	27.61
	V	69.4	30.6	23.9	1.65	65.5	34.5	21.9	4.80	60.1	39.9	21.6	11.78	65	35	24.7	5.38	65.5	34.5	20.1	4.85	65.2	34.8	22.5	5.12
	R/V	71.7	28.3	20.6	18.81	69.4	30.6	31.6	15.07	73	27	18.5	21.12									71.6	28.4	20.7	18.74
	Rs	51.6	48.4	26.3	29.31	69.5	30.5	33.4	1.64	82	18	33.9	2.61									67	33	31.2	3.45
	R/Rs	50.8	49.2	31.8	0.03	41	59	38.4	3.22	48	52	44.6	0.15									46.6	53.4	38.3	0.45
O Proba blancs 0,7<p<0,8	R	58	42	19.8	15.49	53.1	46.9	21.9	25.60	50.9	49.1	23.5	31.06	58	42	22.2	15.37	51.4	48.6	20.6	29.59	53.9	46.1	21.8	23.72
	V	68.2	31.8	16.9	2.50	66.8	33.2	21.6	3.58	69	31	24.7	1.90	62.6	37.4	22.4	8.23	72.2	27.8	19.5	0.42	68	32	20.8	2.63
	R/V	68.1	31.9	18.4	13.15	59.6	40.4	25.6	3.69	66.5	33.5	27.4	10.83									65.3	34.7	23.5	9.40
	Rs	60.7	39.3	27.1	10.85	55.3	44.7	22.3	20.71	56.4	43.6	23.7	18.37									57.6	42.4	24.6	16.05
	R/Rs	53.4	46.6	24.2	0.48	57.3	42.7	29.9	2.12	37.9	62.1	25.8	5.88									48.9	51.1	26.6	0.05
V Proba blancs 0,5<p<0,7	R	71.9	28.1	20.9	0.53	79.7	20.3	13.6	1.17	78.2	21.8	26.2	0.55	77.6	22.4	14.8	0.35	75.4	24.6	26.6	0.01	76.7	23.3	20.2	0.15
	V	70.5	29.5	21.2	1.06	77.3	22.7	20.8	0.28	72.7	27.3	23.2	0.27	75.1	24.9	22.8	0.00	72.1	27.9	20.7	0.46	73.6	26.4	21.8	0.10
	R/V	49.2	50.8	14.8	0.03	47.4	52.6	24.2	0.28	54.9	45.1	23.5	0.98									50.5	49.5	20.9	0.01
	Rs	77.3	22.7	27.1	0.29	83.6	16.4	27.6	3.93	86	14	30.5	6.40									81.2	18.8	29.4	2.07
	R/Rs	48.4	51.6	39.6	0.10	48.1	51.9	38.7	0.14	52.5	47.5	40	0.25									49.8	50.2	39.5	0.00

61

Voir Légende Générale page 3 5

**Tableau VIII de résultats des tests visuels
à courte distance**

Résultats par tests

Test 1/2	Effectif	1 Choix init 2		Proba	1 Choix final 2		Proba	%SO
R/N	68	40	37	0,7<p<0,8	28	27	0,9<p<0,95	19.12
V/N	71	30	55	0,001<p<0,01	5	43	p<0,001	32.39
Be/N	77	39	40	0,9<p<0,95	17	35	0,01<p<0,02	32.47
R/V	73	63	34	0,001<p<0,01	54	3	p<0,001	21.92
Be/R	75	35	51	0,05<p<0,1	18	43	0,001<p<0,01	18.67
Be/V	76	50	31	0,02<p<0,05	43	15	p<0,001	23.68
N/GC	78	38	37	0,9<p<0,95	36	23	0,05<p<0,1	24.36
N/Ba	76	58	16	p<0,001	54	1	p<0,001	27.63
GC/Ba	82	52	21	p<0,001	39	10	p<0,001	40.24
J/N	72	24	44	0,01<p<0,02	16	39	0,001<p<0,01	23.61
J/R	71	27	57	0,001<p<0,01	7	51	p<0,001	18.31
J/Be	70	29	49	0,02<p<0,05	17	46	p<0,001	10.00
J/V	73	34	43	0,3<p<0,5	16	42	p<0,001	20.55
J/GC	69	22	47	0,001<p<0,01	8	53	p<0,001	11.59
J/Ba	73	44	25	0,001<p<0,01	33	20	0,01<p<0,02	27.40
Ba/R	72	10	56	p<0,001	3	59	p<0,001	13.89
Ba/Be	67	13	37	p<0,001	1	46	p<0,001	29.85
Ba/V	67	13	35	p<0,001	10	35	p<0,001	32.84
GC/R	67	24	42	0,001<p<0,01	25	34	0,2<p<0,3	11.94
GC/Be	70	35	29	0,02<p<0,05	32	32	p>0,95	8.57
GC/V	70	47	29	0,001<p<0,01	33	21	0,1<p<0,2	22.86

Proba : test de KHI2 avec une répartition théorique de 1/2, 1/2.

Résultats par couleur

Couleur	Intensité	Température °K	Effecteif	Choix init	choix final
Noir	200	/	442	272	234
Rouge	2100	2660	426	309	269
Bleu	620	6800	435	239	202
Jaune	4000	2590	428	180	97
Vert	1600	4520	430	202	121
Gris	650	/	436	242	205
Blanc	3200	/	437	98	45

STATISTIQUES

ETUDE DES FACTEURS HEURE & RANG
ANALYSE DE VARIANCE A 2 VOIES 1
Stat 1

Dispositif O Maturité R

Source	Som. des Carrés	Degré de Liberté	Moy. des Carrés	F-Ratio	Prob>F
Entre Rg	270,3539	2	135,1770	0,7573	0,483
Entre Heure	49,8990	1	49,8990	0,2795	0,603
Interaction	0,8930	2	0,4465	0,0025	0,998
Erreur	3213,1078	18	178,5060		
Total	3534,2537	23			

Dispositif OV Maturité R

Source	Som. des Carrés	Degré de Liberté	Moy. des Carrés	F-Ratio	Prob>F
Entre Rg	217,7114	2	108,8557	1,2529	0,309
Entre Heure	283,3119	1	283,3119	3,2609	0,080
Interaction	85,4584	2	42,7292	0,4918	0,619
Erreur	1563,8660	18	86,8814		
Total	2150,3477	23			

Dispositif V Maturité R

Source	Som. des Carrés	Degré de Liberté	Moy. des Carrés	F-Ratio	Prob>F
Entre Rg	317,1194	2	158,5597	2,1599	0,144
Entre Heure	18,7772	1	18,7772	0,2558	0,619
Interaction	211,7369	2	105,8684	1,4422	0,262
Erreur	1321,3710	18	73,4095		
Total	1869,0044	23			

ETUDE DES FACTEURS HEURE & RANG
ANALYSE DE VARIANCE A 2 VOIES 2
Stat 2

Dispositif O Maturité V

Source	Som. des Carrés	Degré de Liberté	Moy. des Carrés	F-Ratio	Prob>F
Entre Rg	21,0482	2	10,5241	0,1141	0,893
Entre Heure	470,6433	1	470,6433	5,1024	0,037
Interaction	222,9242	2	111,4621	1,2084	0,322
Erreur	1660,3269	18	92,2404		
Total	2374,9426	23			

Dispositif OV Maturité V

Source	Som. des Carrés	Degré de Liberté	Moy. des Carrés	F-Ratio	Prob>F
Entre Rg	271,6346	2	135,8173	2,4504	0,114
Entre Heure	2,9575	1	2,9575	0,0534	0,820
Interaction	14,7068	2	7,3534	0,1327	0,877
Erreur	997,6599	18	55,4256		
Total	1286,9588	23			

Dispositif V Maturité V

Source	Som. des Carrés	Degré de Liberté	Moy. des Carrés	F-Ratio	Prob>F
Entre Rg	268,2044	2	134,1022	1,6567	0,219
Entre Heure	46,4566	1	46,4566	0,5739	0,459
Interaction	51,9654	2	25,9827	0,3210	0,729
Erreur	1456,9950	18	80,9442		
Total	1823,6214	23			

Etude des facteurs Maturité, Etat sanitaire & Dispositif Test de student (échantillons indépendants)

Stat 3

Probabilité d'égalité des 2 séries testées.

Les différences significatives (avec un risque alpha de 5%) sont en caractères gras

Tableau 1 : étude du facteur dispositif

	OV	O	O	V	OV	V
Moy R	48,21	46,67	46,67	23,63	48,21	23,63
Test T	0,63		0,000		0,000	
Moy V	34,82	32,39	32,39	27,21	34,82	27,21
Test T	0,35		0,066		0,002	
Moy Rs	32,14	41,34	41,34	17,86	32,14	17,86
Test T	0,095		0,000		0,008	
Moy R/V	35,72	32,93	32,93	24,90	35,72	24,90
Test T	0,275		0,006		0,000	
Moy R/Rs	23,14	25,03	25,03	24,43	23,14	24,43
Test T	0,525		0,817		0,67	

Tableau 2 : étude des facteurs maturité & état sanitaire

	R	V	R	Rs	V	Rs
Moy O	46,67	32,39	46,67	41,34	32,39	41,34
Test T	0,000		0,199		0,03	
Moy OV	48,21	34,82	48,21	32,14	34,82	32,14
Test T	0,000		0,001		0,490	
Moy V	23,63	27,21	23,63	17,86	27,21	17,86
Test T	0,174		0,056		0,003	

Variable : % d'insectes présents dans le secteur actif (pour les niveaux de facteurs R V & Rs) ou dans les secteurs contenant les cerises rouges (pour les niveaux de facteurs R/V & R/Rs) sur les 4 min du test de marche.