

SOMMAIRE

Abréviations et sigles.....	1
Figures et tableaux	3
INTRODUCTION GENERALE.....	7
CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	13
1. <u>L'écologie chimique chez les insectes ravageurs et applications au biocontrôle.</u>	15
1.1. La communication chimique chez les insectes.....	15
1.2. Particularités des Crambidae.....	21
1.3. Application au biocontrôle.....	32
2. <u>Présentation du modèle d'étude, la Pyrale du café <i>Prophantis smaragdina</i></u>	37
2.1. Contexte historique et taxonomie.....	37
2.2. Répartition géographique.....	38
2.3. Plantes – hôtes.....	38
2.4. Morphologie des stades de développement.....	38
2.5. Cycle de développement.....	44
2.6. Ennemis naturels.....	46
2.7. Impact économique de <i>P. smaragdina</i> sur café.....	46
2.8. Moyen de lutte contre <i>P. smaragdina</i>	46
3. <u>Objectifs de la thèse.</u>	49
CHAPITRE II – ETUDE DE LA BIOLOGIE DE <i>P. smaragdina</i> A LA REUNION.....	51
<u>Article 1:</u> <i>Biology and life tables of P. smaragdina, a major pest of Coffee in Réunion Island.</i>	55
CHAPITRE III – ETUDE DU COMPORTEMENT D'ACCOUPLEMENT.....	75
<u>Article 2:</u> <i>Mating behaviour of the coffee berry moth P. smaragdina and identification of putative female sex pheromone components.</i>	79
<u>Article 3:</u> <i>Volatile compounds produced by hair pencils in male P. smaragdina and first evidence of perillyl alcohol as an insect product.</i>	93
DISCUSSION.....	105

SOMMAIRE

ANNEXE 1: Planche de <i>P. smaragdina</i>	145
ANNEXE 2: Molécules phéromonales identifiées chez des femelles Spilomelinae.....	147
ANNEXE 3: Screening électroantennographique de molécules phéromonales sur mâles <i>P. smaragdina</i>	149
ANNEXE 4: Tableau des extractions des glandes à phéromone de femelle <i>P. smaragdina</i>	151
ANNEXE 5 : Tableau des essais d'attractifs au champ.....	153
ANNEXE 6 : Données de récolte sur la collection internationale de café.....	155

Abréviations et sigles

3P	Pôle de Protection des Plantes
ANRT	Association Nationale de la Recherche et de la Technologie
ANT	<i>Coffea anthonyi</i>
CIFRE	Conventions Industrielles de Formation par la Recherche
CIRAD	Centre de coopération International en Recherche Agronomique pour le Développement
COV	Composé Organique Volatil
CSP	<i>ChemoSensory Protein</i>
EAG	Electroantennographie
EUG	<i>Coffea eugenoides</i>
GC-MS	Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à un Spectromètre de Masse
GPS	<i>Global positioning system</i>
HIPV	<i>Herbivore – Induced Plant Volatile</i>
HP	<i>Hair pencil</i>
IEES	Institut d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement
INRA	Institut National de la Recherche en Agronomie
OBP	<i>Odorant Binding Protein</i>
ORN	<i>Olfactory Receptor Neuron</i>
PBAN	<i>Pheromone biosynthesis Activating Neuropeptide</i>
POCS	<i>Coffea pocsii</i>
PSE	<i>Coffea pseudozanguebariae</i>
PSI	<i>Psilanthus</i>
RI	<i>Retention index</i>
RT	<i>Retention time</i>
SCA BP	Société Coopérative Agricole Bourbon Pointu
SES	<i>Coffea sessiflora</i>
SPME	<i>Solid Phase MicroExtraction</i>
UMR PVBMT	Unité Mixte de Recherche Peuplement Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical
VSC	Volontaire au Service Civique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Figure I. 1 Les différents composés sémiochimiques. D'après Brossut (1996).....	16
Figure I. 2 Représentation schématique des sensilles d'insecte.....	17
Figure I. 3 Modèles biochimiques de la réception d'une molécule ou complexe de molécules odorantes à la périphérie des neurones sensoriels d'une sensille olfactive.....	20
Figure I. 4 Molécules phéromonales identifiées chez huit sous-familles appartenant à la famille des Crambidae.....	25
Figure I. 5 Histogramme du nombre de molécules identifiées chez les différentes espèces de Spilomelinae.....	26
Figure I. 6 Voies de biosynthèse de composés de type I à partir de l'acide palmitique.	27
Figure I. 7 Voies de biosynthèse de composés de type II à partir de l'acide linoléique... ..	28
Figure I. 8 Réseau de facteurs contrôlant l'émission des COVs par les plantes... ..	30
Figure I. 9 Schéma représentant les différentes interactions Crambidae – plantes à distance par l'émission de composés organiques volatils par la plante.....	31
Figure I. 10 Pourcentage de fruits endommagés par <i>Leucinodes orbonalis</i>	35
Figure I. 11 (A) Larve de premier stade sur une ooplaque. (B) Larve de dernier stade venant de creuser un trou dans une cerise de caféier.....	39
Figure I. 12 Chrysalides de <i>Prophantis smaragdina</i> femelle (à gauche) et mâle (à droite).	39
Figure I. 13 (A) Schéma de la tête de <i>Prophantis smaragdina</i> en vue latérale (B) Tête de la femelle de <i>P. smaragdina</i> . (C) Tête du mâle de <i>P. smaragdina</i>	40
Figure I. 14 (A) Schéma de la nervation des ailes antérieure et postérieure de <i>P. smaragdina</i> . (B) Imago femelle de <i>P. smaragdina</i>	41
Figure I. 15 Extrémité abdominale du mâle de <i>Prophantis smaragdina</i> et schéma de la sclérification du 8ème urite.....	42
Figure I. 16 Genitalia mâle de <i>Prophnatis smaragdina</i>	43
Figure I. 17 Genitalia femelle de <i>Prophantis smaragdina</i>	44
Figure I. 18 Photos de cerises de café attaquées par les larves de <i>Prophantis smaragdina</i>	45

Tableau I. 1 Classification des sous familles de Crambidae et Pyralidae selon différentes études phylogénétiques.....	21
Tableau I. 2 Utilisation de système de piégeage à base de phéromone de synthèse pour différentes espèces appartenant à la famille des Crambidae.	34
Tableau I. 3 Tableau résumé de la durée des stades de <i>Prophantis smaragdina</i> selon trois études de laboratoire.....	45

Chapitre II : Biologie de *Prophantis smaragdina* à La Réunion

Figure II. 1 Phenology of the Coffee Berry Moth <i>Prophantis smaragdina</i> expressed as population density..	63
Figure II. 2 Parasitoids of the Coffee Berry Moth <i>Prophantis smaragdina</i> in Reunion Island..	64
Figure II. 3 Relationship between the population density of the Coffee Berry Moth <i>Prophantis smaragdina</i> (number of larvae/100 fruits) and the abundance of the parasitoid <i>Pristomerus rivier</i> parasitoid	64
Figure II. 4 Mortality causes of the Coffee Berry Moth <i>Prophantis smaragdina</i> represented as k-values obtained from life tables separated among study sites.....	65
Figure II. 5 Unknown mortality at the larval and pupal stages of Coffee Berry Moth <i>Prophantis smaragdina</i> by months represented as k-values obtained from the life tables.....	66
Figure II. 6 Plot showing partial residuals from the model on the effect of temperature on Coffee Berry Moth <i>Prophantis smaragdina</i> pupal mortality at low and high relative humidity.....	67
Table II. 1 Fields sampled in this study	59
Table II. 2 Life tables of the Coffee Berry Moth <i>Prophantis smaragdina</i> by month pooling together data from the seven sites studied in 2015 and 2016.....	71
Table II. 3 Life table of the Coffee Berry Moth <i>Prophantis smaragdina</i> by site pooling together data from the different sampling events in 2015 and/or 2016.....	70

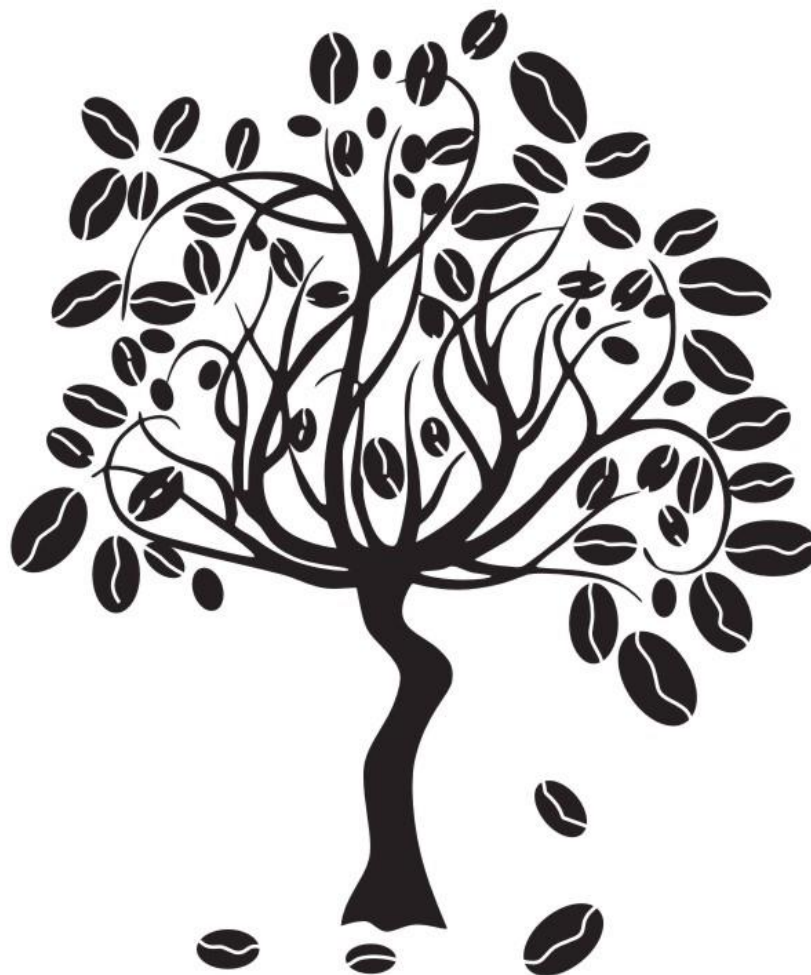
Chapitre III : Comportement d'accouplement de *Prophantis smaragdina*

Figure III. 1 Pheromone emitting structures and mating position of Coffee Berry Moth <i>Prophantis smaragdina</i>	85
Figure III. 2 Period of mating during the scotophase and mating duration according to the observations of pairs in container and to temperature and RH conditions.....	86
Figure III. 3 Mean of male antennal responses (mV) $\pm$ SE to synthetic compounds.....	88
Figure III. 4 Lateral view of Male genitalia of coffee berry moth.....	96
Figure III. 5 Total ion current chromatogram of a hair pencil SPME fibre extract.....	99
Figure III. 6 Mean of female and male antennal response (mV) $\pm$ SEM to hair pencil extracts and four aromatic compounds identified in male hair pencils of the Coffee berry moth.....	101
Table III. 1 Blends tested in the field.....	84
Table III. 2 Mean of ratio, RT and RI of the compounds detected in the headspace of the female pheromone gland collected by SPME (N=4 pheromone gland for a SPME collection) and of synthetic compounds.....	87
Table III. 3 Number of <i>Prophantis smaragdina</i> males captured in control trap.....	89
Table III. 4 Mean ratio, retention times (RT) and retention indexes (RI) of the five aromatic compounds found in male hair pencil SPME fibre extracts.....	99

Discussion

Figure D. 1 Schéma d'un tunnel de vol pour l'observation du comportement de <i>Prophantis smaragdina</i> face à un ou plusieurs composé(s).....	113
Figure D. 2 Schéma de l'olfactomètre à piège rotatif inspiré du système mis au point par Jang et al. (1997) pour tester les composés de glandes à phéromone sur des mâles de <i>Prophantis smaragdina</i>	114
Figure D. 3 Complexité des facteurs influençant les différents niveaux trophiques.....	115
Figure D. 4 Schéma d'un système push-pull contre un insecte ravageur au sein d'une parcelle aménagée par l'ajout de plantes attractives pour l'ennemi naturel de l'insecte ravageur.....	118
Figure D. 5 Système d'extraction de COVs pour la mise en évidence de HIPVs.....	120

Introduction générale



L'histoire coloniale du café à La Réunion : De l'apogée au déclin

La culture du café a joué un rôle majeur dans l'histoire coloniale de l'île de la Réunion, île de l'océan Indien colonisée par la France au milieu du XVII^{ème} siècle. L'histoire du café sur l'île commence plus précisément en 1711, lors de la découverte par Louis Boyvin d'Hardancourt d'un caféier indigène sur l'île appelée à l'époque « île Bourbon » (1)¹. Il s'agit du café marron, caféier sauvage de l'espèce *Coffea mauritiana* (Rubiaceae) décrit par Lamarck en 1783. Bien que ce café ne soit pas apprécié des consommateurs européens, cette découverte donne l'idée à la compagnie de Saint Malo de cultiver le caféier sur l'île. En 1715, 60 plants de *Coffea arabica* sont embarqués par la compagnie des Indes orientales à bord du navire «Le Chasseur» depuis le Yémen à destination de l'île (1). Vingt plants survivent au voyage de trois mois. Sur les vingt plants, un seul arrive à fructifier et est à l'origine de l'espèce *Coffea arabica borbonica* (Haarer 1956) (2). En 1722, la compagnie Malouine mène une propagande en France pour le développement de la culture de café sur l'île (3). Malgré des débuts difficiles, le café devient la principale culture de l'île et participe à son essor démographique (notamment du fait de l'arrivée massive d'esclaves pour travailler dans les plantations de café) et économique. Entre 1724 et 1742, la culture du caféier connaît un véritable essor dû à un cours économique favorable (4). Au début du XIX^e siècle, l'érosion, l'appauvrissement des sols, le vieillissement des caféières et les cyclones (5) entraînent un déclin de la culture de caféier. De plus, en 1804, la perte par la France d'Haïti, colonie productrice de sucre, entraîne à partir de 1822 un développement de la culture sucrière à la Réunion, reléguant la culture de café au second plan « [...] *caféiers et bois noirs étaient arrachés frénétiquement et remplacés par les rubans verts de cannes, si flexibles aux cyclone.* » (6). La caféiculture subsiste cependant et connaît un nouvel essor entre 1865 et 1880. En 1878, l'expansion en 1878 du champignon *Hemileia vastatrix* sur l'île, plus communément appelé « la rouille », entraîne à nouveau des pertes de rendements considérables si bien qu'en six années l'ensemble des caféières de basses altitudes sont anéanties. Après 1890, la caféiculture à la Réunion se réduit peu à peu jusqu'aux dernières exportations dans les années 1950 (Lecolier 2006).

¹ cf. la partie « références bibliographiques »

Une réintroduction récente de la culture du café sur l'île

Conscient du lien culturel fort entre la culture de café et l'île de La Réunion, le CIRAD, avec l'appui de l'association CAFE-Réunion, lance un programme expérimental de réintroduction de la culture du café sur l'île entre 2002 et 2007. Ce programme expérimental s'est focalisé plus précisément sur le développement de la culture du café 'Bourbon Pointu', *Coffea arabica laurina*, sous-espèce issue d'une mutation spontanée de *C. arabica borbonica* apparue sur l'île de la Réunion à la fin du XVIII^{ème}. Ce mutant est caractérisé principalement par son port pyramidal, son semi-nanisme et sa résistance à la sécheresse. Il est surtout reconnu pour ses grandes qualités organoleptiques et son faible taux en caféine. Le programme expérimental a démontré l'intérêt de développer une filière caféicole à la Réunion. Néanmoins, pour être rentable, celle-ci doit mettre en œuvre une démarche qualité - produit, car seule la commercialisation de café de type Premium sur des marchés de niche peut assurer une valorisation en rapport avec les coûts de production. La coopérative Bourbon Pointu, qui a vu le jour en novembre 2007, est passée en un an de 9 membres fondateurs à 54 associés coopérateurs, respectant un cahier des charges précis dans le but de produire un café de « haute qualité ». Dès le début de la production, le café 'Bourbon Pointu' Réunionnais reçoit la distinction rare de « café premium » par la *Specialty Coffee Association* au Japon. Bien que le café 'Bourbon Pointu' ne soit pas labellisé « agriculture biologique » le cahier des charges de la production ne permet l'usage de pesticides de synthèse qu'en cas d'extrême nécessité.

L'élément perturbateur : la Pyrale du café

La Pyrale du Café, *Prophantis smaragdina* Butler (Lepidoptera : Crambidae : Spilomelinae), est un ravageur des cultures de café présent en Afrique subsaharienne. Les larves se nourrissent des cerises de café, causant des pertes de rendement non négligeables. Depuis la description de *P. smaragdina* par Butler en 1875, sa biologie a fait l'objet de plusieurs études menées notamment au Kenya au CRF (*Coffee Research Foundation*) dans les années 1990 (Anonyme 1992, Ndungi 1994, Ndugo *et al.* 1999) et plus récemment en Ethiopie à l'EIAR (*Ethiopian Institute of Agricultural Research*) (Mendesil *et al.* 2009). *P. smaragdina* est mentionné également dans des ouvrages et revues plus généraux sur les insectes ravageurs de café dans les années 2000 sans faire l'objet à notre connaissance d'études précises. L'ensemble de ces études et mentions seront plus amplement détaillées dans la partie « Présentation de l'insecte » de la synthèse

bibliographique. Le faible nombre d'études au sujet de *P. smaragdina* peut s'expliquer par la priorité donnée à des ravageurs causant des dégâts économiques plus importants sur les cultures de café en Afrique. C'est le cas notamment du scolyte du café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera : Scolytidae) présent dans la quasi-totalité de l'aire de culture du caféier dans le monde et qui entraîne des pertes de rendement considérables.

A La Réunion, *P. smaragdina* est le principal insecte ravageur de la culture du caféier 'Bourbon Pointu', entraînant des pertes dans les parcelles de caféier pouvant atteindre 90% (Descroix, com. personnelle). A notre connaissance, *P. smaragdina* est le seul insecte ravageur des baies de caféier présent sur les parcelles à La Réunion. La présence de ce nuisible contraint les agriculteurs à traiter les parcelles pour lutter contre *P. smaragdina*. Une méthode alternative à la lutte chimique, à base de formulations de la bactérie *Bacillus thuringiensis*, est utilisée actuellement par les producteurs de café. Cependant ces traitements foliaires s'avèrent facilement lessivables et nécessitent l'absence de pluie pendant au moins quatre jours après l'application du produit au champ. La lutte chimique reste par conséquent une méthode utilisée en routine par les producteurs.

Naissance du projet de thèse

Trouver une méthode de lutte alternative à la lutte chimique, efficace pour maintenir les populations de *P. smaragdina* en-dessous du seuil de nuisibilité économique est primordial pour la production caféicole réunionnaise. Avec cet objectif, un projet de recherche a été initié en 2012 par le CIRAD de La Réunion (UMR PVBMT), en collaboration avec la coopérative Bourbon Pointu de la Réunion et l'INRA de Versailles (IEES Paris, UMR 1392 *Institute of environment and ecology sciences*). Les études préliminaires de la biologie et du comportement de l'insecte ont encouragé les différents partenaires à continuer les recherches dans le cadre de cette thèse CIFRE intitulée « Biologie et écologie chimique de la Pyrale du café *P. smaragdina* pour la mise au point d'une méthode biocontrôle ».

L'**écologie chimique** est une science qui étudie selon une approche pluridisciplinaire (chimie, biologie, éthologie, etc.) les interactions entre les organismes et leur environnement. L'étude de l'écologie chimique d'un insecte, appliquée à la mise au point de méthodes de lutte, implique une connaissance approfondie de la biologie et du comportement de l'insecte afin de développer et d'optimiser une méthode de biocontrôle.

Le chapitre I, la synthèse bibliographique s'intéresse à l'application de l'écologie chimique dans la lutte contre les lépidoptères ravageurs des cultures. Nous nous intéresserons plus particulièrement à la famille des Crambidae, famille à laquelle appartient *P. smaragdina*. La seconde partie fait état des connaissances sur la biologie et le comportement de *P. smaragdina* et sur les méthodes de lutte utilisées actuellement contre ce ravageur.

En découleront de cet état de l'art les objectifs de la thèse visant à améliorer nos connaissances sur la biologie, le comportement et les interactions intra et interspécifiques de *P. smaragdina* pour la mise au point d'une méthode de biocontrôle.

Chapitre I



Synthèse Bibliographique

1. ECOLOGIE CHIMIQUE ET COMPORTEMENTALE DES INSECTES RAVAGEURS DE CULTURES ET APPLICATION AU BIOCONTROLE

1.1. La communication chimique chez les insectes

La communication des insectes entre eux et avec leur environnement est essentielle à l'insecte pour se déplacer, se reproduire, se nourrir ou survivre. Les insectes possèdent différentes facultés sensorielles qui leur permettent d'échanger des informations intra et interspécifiques via différents modes de communication. Parmi ces différents modes de communication (visuelle, tactile, sonore etc.), la **communication chimique** ou **médiation chimique** est principalement utilisée chez les insectes (Lenoir 2011). Elle implique la transmission d'informations par le biais de composés chimiques émis par un individu émetteur et modifiant le comportement et/ou la physiologie d'un ou plusieurs individus récepteurs (Brossut 1996).

1.1.1. Les composés sémiochimiques

Les composés chimiques communiqués d'un individu à l'autre sont appelés **composés sémiochimiques**, ils peuvent être émis par des plantes ou des animaux, dans le cadre d'interactions interspécifiques (composés allélochimiques) et intraspécifiques (phéromones) (Brossut 1996). (Figure I. 1).

L'écosystème dans lequel évolue l'insecte contient de nombreux composés sémiochimiques et autres molécules volatiles formant un « **paysage chimique** ». Au sein de ce paysage chimique, l'insecte doit sélectionner les molécules ou complexes de molécules émis par la plante hôte ou par ses congénères, appelé **signature chimique**, pour s'orienter, se nourrir et/ou se reproduire (Byers 2007, Deisig et al. 2014). La détection des molécules ou complexes de molécules intéressantes pour l'insecte s'effectue au niveau du système olfactif propre à chaque espèce d'insecte et à leur sexe.

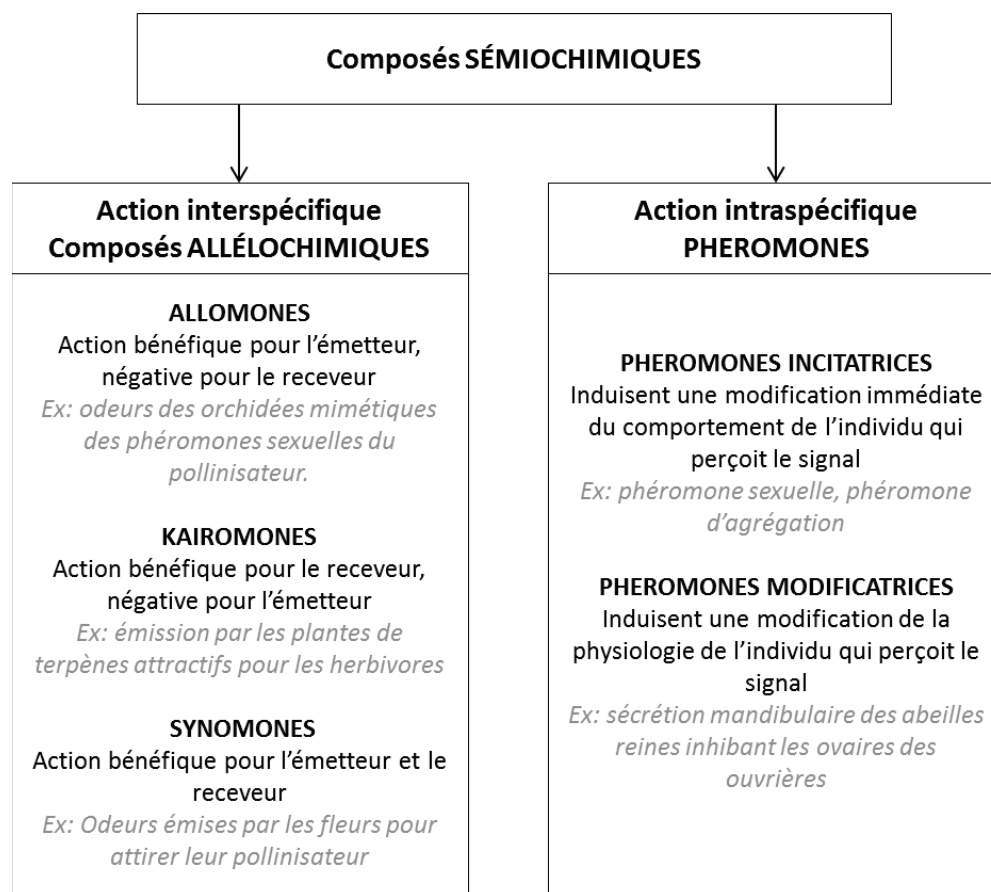


Figure I. 1 Les différents composés sémiochimiques. D'après Brossut (1996)

1.1.2. Physiologie du système olfactif et sensoriel de l'insecte

Les insectes sont recouverts de milliers de micro-organes sensoriels : **les sensilles**. Les sensilles peuvent être localisées sur l'ensemble des parties du corps de l'insecte, ils sont localisés principalement au niveau des antennes. Il existe différents type de sensilles : les sensilles mécanoréceptrices (sensibles aux distorsions mécaniques de l'environnement telles que la pression de l'air, la gravité etc.), les sensilles gustatives, les sensilles thermo/hygro sensibles et enfin les **sensilles olfactives**. L'ensemble de ces sensilles présentent une architecture commune associée à des structures réceptrices spécifiques au type de sensilles (Steinbrecht 2007) (Figure I. 2)

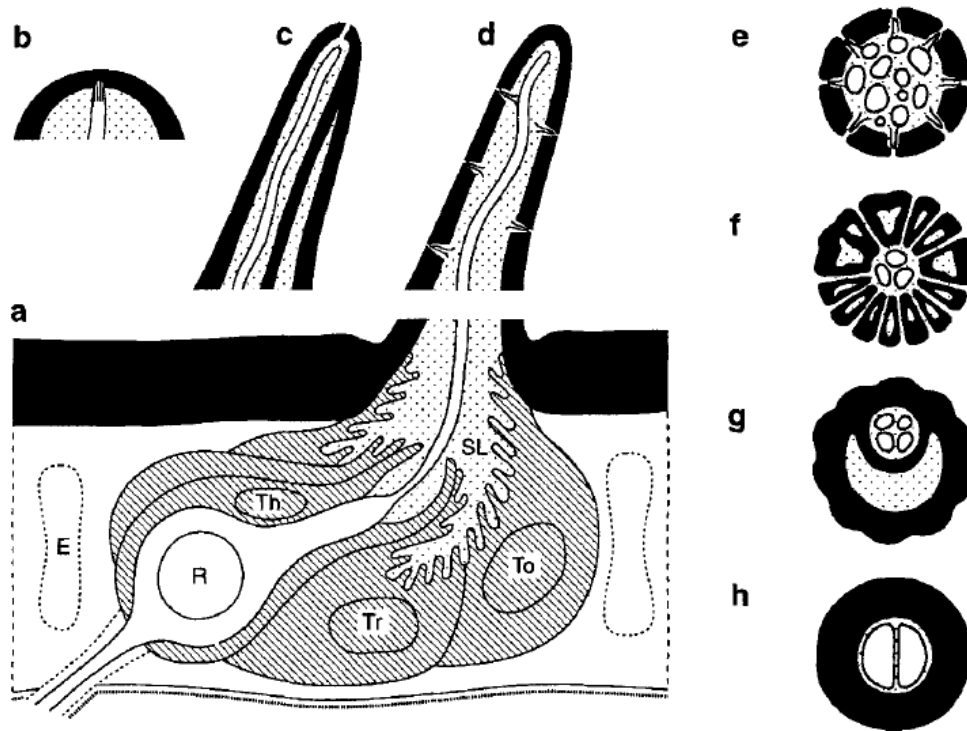


Figure I. 2 Représentation schématique des sensilles d'insecte. (a) Organisation cellulaire commune au différents types de sensilles. Un ou plusieurs neurone(s) récepteur(s) bipolaire(s) (R) envoie chacun un axone au cerveau et une dendrite dans la région périphérique d'absorption du stimulus qui présente un système récepteur cuticulaire spécifique. Trois cellules épithéliales accessoires tricogène (Tr), thécogène (Th) et tormogène (To) entourent le ou les neurone(s) récepteur(s) et bordent la lymphe sensillaire (SL). La cuticule est représentée en noir et les cellules épithéliales indifférenciées sont représentées en blanc. Les spécificités du système récepteur cuticulaire propre à chaque type de sensilles sont représentées de (b) à (d) en coupe longitudinale et de (e) à (h) en coupe transversale. (b) Sensille campaniforme mécanorécepteur. La dendrite présente un corps tubulaire comprimée par la cuticule. (c, g) Sensilles gustatives. Les dendrites des neurones récepteurs gustatifs sont exposées au stimulus gustatif via un pore terminal. (d, e) Sensilles olfactives (à paroi simple). Les molécules olfactives parviennent au niveau des dendrites via des pores cuticulaires tubulaires. (f) Sensille olfactive à double paroi avec une structure différente des pores cuticulaires. (h) Sensilles thermo/hygro sensibles sans pores avec 2 dendrites hygroreceptives. (Steinbrecht 2007)

La sélection des molécules intéressantes pour l'insecte s'effectue au niveau de sensilles olfactives. Sur la base de leur spécificité chimiosensorielle, on reconnaît au moins cinq types de sensilles olfactives (Keil and Steinbrecht 1984, Picimbon 2002) :

(1) Les **sensilles trichodéiques**, larges, épaisses et allongées (25-30 μm). Les sensilles trichodéiques ont longtemps été considérées comme récepteurs des molécules de phéromones sexuelles, or de récentes études (Rouyar et al. 2015, Cattaneo et al. 2017) ont montrés que ces sensilles étaient également sensibles aux composés volatiles de plantes. (2) Les **sensilles basiconiques** plus petites (15-25 μm), sont présentes chez les deux sexes pour une grande variété d'insectes, elles sont impliquées dans la reconnaissance de molécules odorantes généralistes (les molécules volatiles des plantes, des œufs ou des larves). (3) Les **sensilles placodéiques** ou plaques olfactives présentes chez les abeilles ou scarabées. (4) Les **sensilles coeloconiques** en « pince à linge ». (5) Les **sensilles chaétiques**

Les trois derniers types, répartis dans différentes parties du corps de l'insecte sont sensibles aux molécules odorantes ou gustatives, au gaz carbonique, à la température, à l'humidité ou à une combinaison de ces modalités.

L'entrée de la molécule ou du complexe de molécules odorantes au niveau d'une sensille entraine un enchainement d'interactions biochimiques au sein de la sensille, appelé **évènements péri-récepteurs chimiosensoriels** (Getchell et al. 1984), conduisant à une modification ou non de la physiologie ou du comportement de l'insecte.

1.1.3. Evènements péri-récepteurs chimiosensoriels

Le déclenchement d'une réponse comportementale ou physiologique de l'insecte par le biais d'une molécule ou d'un complexe de molécules odorantes s'effectue par l'activation du neurone récepteur olfactif (*olfactory receptor neurons* ou **ORNs**). Il existe une grande diversité d'ORNs. De même que pour les sensilles, les ORNs étaient catégorisés selon le type de molécules auxquelles ils répondaient (phéromones, composés organiques volatils (COVs) etc.) (Vogt et al. 1991). Or Cattaneo et al. (2017) et Rouyar et al. (2015), ont montrés que des ORNs « spécifiques aux phéromones » pouvaient répondre à des COVs. Chaque ORN possède à sa surface dendritique de nombreux récepteurs olfactifs ayant une affinité avec une molécule odorante particulière. Pour atteindre la surface dendritique de l'ORN, les molécules odorantes hydrophobes doivent traverser la lymphe sensillaire aqueuse. Les *Odorant binding proteins* (**OBPs**) sont des protéines présentes dans la lymphe sensillaire qui se lient aux molécules odorantes et jouent un rôle essentiel pour transmettre leur message à l'ORN (Pelosi 1994). Les

OBPs sont des chaînes polypeptidiques simples (environ 150 acides aminés) caractérisées par six cystéines reliées par trois ponts disulfures (Breer et al. 1992, Sandler et al. 2000). On distingue différents groupes d'OBPs en fonction du type de molécule auxquelles elles se lient.

Au sein de ces différents groupes d'OBPs, tel que pour les ORNs, il existe une grande diversité d'OBP, chaque OBP ayant une structure propre à la molécule odorante à laquelle elle se lie.

Les OBPs possèdent de multiples fonctions décrites selon deux modèles (Picimbon 2002) (**Figure I. 3**)

Modèle de contact : Lorsque les tubules cuticulaires sont au contact direct des neurones sensoriels à l'intérieur du sensille, les molécules odorantes débouchant du tubule activent les récepteurs moléculaires olfactifs et les OBPs jouent un rôle d'**inhibiteur précoce**, libérant le récepteur des molécules odorantes et présentant les molécules aux enzymes de dégradation (Vogt and Riddiford 1981).

Modèle de l'équilibre cinétique : Lorsque les molécules odorantes sont délivrées dans la lymphe sensillaire, les OBP jouent un rôle de **solubilisation** des molécules odorantes dans la lymphe sensillaire et **transporteur** jusqu'aux récepteurs olfactifs. Une fois que les molécules odorantes ont pénétré à l'intérieur de la sensille, plusieurs interactions sont possibles conduisant soit à l'activation du récepteur, soit à l'inactivation et à l'élimination de la molécule odorante par une enzyme de dégradation, l'estérase sensillaire. Dans ce modèle, l'OBP peut se lier plusieurs fois à une molécule odorante avant ou après l'interaction de celle-ci avec le récepteur et une molécule odorante peut interagir avec plusieurs récepteurs avant d'être inactivée. (Vogt and Riddiford 1986)

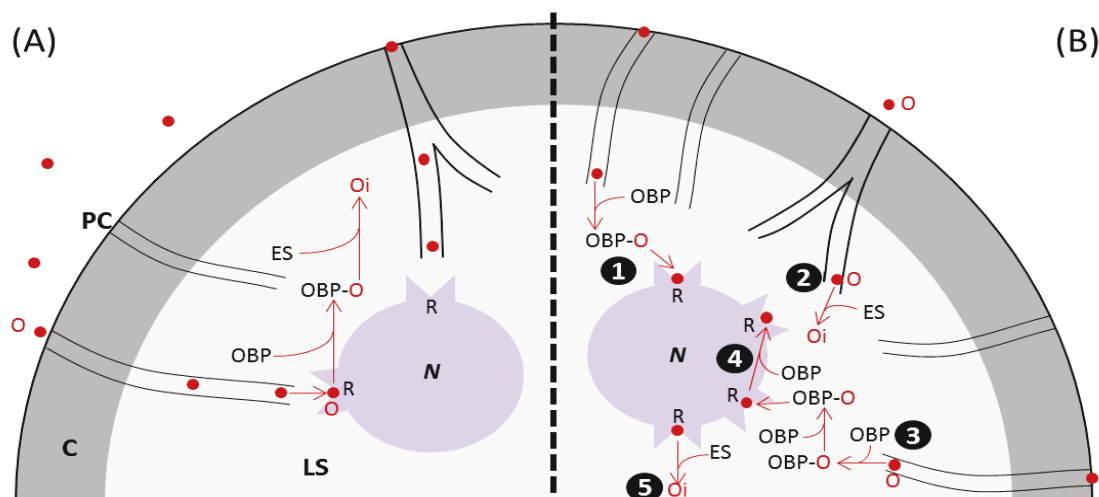


Figure I. 3 Modèles biochimiques de la réception d'une molécule ou complexe de molécules odorantes à la périphérie des neurones sensoriels d'une sensille olfactive (représentée schématiquement en coupe transversale) N : Neurones olfactifs spécialisés ; LS : Lymphe sensillaire ; C : Cuticule. (A) Modèle de contact : la molécule odorante (O) atteint le récepteur membranaire dendritique (R) par diffusion à travers les pores cuticulaires (PC). La désactivation du récepteur est réalisée par fixation de la molécule odorante à la l'odorant binding protein (OBP) qui la présente à l'enzyme de dégradation de la molécule odorante l'estérase sensillaire (ES), la molécule odorante devient alors inactive (Oi). (B) Modèle de l'équilibre cinétique, la molécule odorante peut se lier soit à une OBP qui la transporte jusqu'au site récepteur (1), soit à une enzyme de dégradation qui l'inactive (2), soit interagir avec de multiples OBPs avant d'atteindre le récepteur membranaire (3). Après activation du récepteur, la molécule odorante est déplacée par une OBP et peut aller activer un autre récepteur (4) ou est dégradée par l'estérase sensillaire (5). D'après Picimbon (2002)

En parallèle des OBP, d'autres protéines sont impliquées dans le système chimiosensoriel de l'insecte: les protéines chimiosensorielles ou CSPs (*chemosensory protein*) (Picimbon and Leal 1999, Picimbon et al. 2000, Pelosi et al. 2005, Pelosi et al. 2006). Ces protéines ont été identifiées chez la plupart des insectes et sont présentes sur tout le corps de l'insecte (Angeli et al. 1999 , Marchese et al. 2000, Mosbah et al. 2003). Leur structure est différente de celle des OBPs : ce sont des chaînes polypeptidiques d'environ 110 acides aminés dont quatre cystéines reliées par deux ponts disulfures (Cys 29-38, Cys 55-59). Au contraire des OBPs, la structure primaire des CSP est très conservée chez les différentes espèces d'insectes et leur structure secondaire forme des structures en boucles semblables à celles des thiorédoxines (enzymes à activités antioxydantes). Il existe plusieurs types de CSPs au sein d'un même insecte et ils peuvent se lier à une grande variété de ligands liés au goût (sucre, sel) et à l'odeur (phéromones) (Angeli et al. 1999). Les CSPs pourraient donc avoir de multiples fonctions qui ne sont cependant pas clairement définies (Pelosi et al. 2006).

1.2. Particularités des Crambidae (Lepidoptera : Pyraloidea : Crambidae)

1.2.1. Généralités sur les Crambidae, et plus particulièrement sur les Spilomelinae

Avant les années 1980, la classification des Pyraloidea, basée sur des critères morphologiques, a subi de nombreuses modifications. Malgré quelques modifications apportées à la classification au sein des Pyraloidea (regroupement ou dissociation de sous familles), les plus récentes études basées sur la phylogénie restent en concordance sur la subdivision des Pyraloidea en deux familles (les Pyralidae et les Crambidae) et sur la place des sous familles au sein de ces deux familles). (Tableau I. 1).

Tableau I. 1 Classification des sous familles de Crambidae et Pyralidae selon différentes études phylogénétiques. ‘*’: Sous famille non incluse dans l’étude de la colonne associée. Les mêmes lettres attribuées aux sous familles indiquent leur appartenance commune à un même groupe monophylétique. Les sous familles en italiques sont synonymes des sous-familles (non italiques) indiquées sur la ligne supérieure. D’après Solis (2007) et Regier et al. (2012)

Classification des sous familles de Crambidae			
Minet (1981)	Munroe and solis (1999)	Solis and Maes (2002)	Regier et al. (2012)
Cathariinae	Cathariinae	Cathariinae	
Crambinae	Crambinae	Crambinae	Crambinae ^A
Cybalomiinae	Cybalomiinae	Cybalomiinae	Cybalomiinae*
Glaphyriinae	Glaphyriinae	Glaphyriinae	Glaphyriinae ^B
Dichogaminae	<i>Alatuncusiinae</i> <i>Dicogaminae</i>	<i>Alatuncusiinae</i>	
Evergestinae	Evergestinae	Dichogaminae	<i>Dicogaminae</i>
Noordinae	Noordinae	Evergestinae	<i>Evergestinae</i>
Linostinae	Noordinae	Noordinae	<i>Noordinae</i>
Midilinae	Linostinae	Linostinae	Linostinae*
Musotiminae	Midilinae	Midilinae	Midilinae ^A
Nymphulinae	Musotiminae	Musotiminae	Musotiminae ^A
	Nymphulinae	Acentropinae	Acentropinae ^A
		<i>Nymphulinae</i>	
Odontiinae	Odontiinae	Odontiinae	Odontiinae ^B
Pyraustinae	Pyraustinae	Pyraustinae	Pyraustinae ^C
Spilomelinae	<i>Spilomelinae</i> Wurthiinae	Spilomelinae	Spilomelinae ^C
	Schoenobiinae	Wurthiinae	<i>Wurthiinae</i>
Schoenobiinae	Schoenobiinae	Schoenobiinae	Schoenobiinae ^A
Scopariinae	Scopariinae	Scopariinae	Scopariinae ^A
Heliothelinae	<i>Heliothelinae</i>	<i>Heliothelinae</i>	<i>Heliothelinae</i> *

Classification des sous familles de Pyralidae

Minet (1981)	Solis and Mitter (1992)	Munroe and Solis (1999)	Regier <i>et al.</i> (2012)
Galleriinae	Galleriinae	Galleriinae	Galleriinae ^D
<i>Macrothecinae</i>	<i>Macrothecinae</i>	<i>Cacotherapinae</i>	
Chrysauginae	Chrysauginae	Chrysauginae	Chrysauginae ^D
Pyalinae	Pyalinae	Pyalinae	Pyalinae ^E
Hypotiinae	<i>Hypotiinae</i>	<i>Hypotiinae</i>	
Endotrichinae	<i>Endotrichinae</i>	<i>Endotrichinae</i>	
Epipaschiinae	Epipaschiinae	Epipaschiinae	Epipaschiinae ^E
Phycitinae	Phycitinae	Phycitinae	Phycitinae ^E
<i>Anerastiinae</i>		<i>Anerastiinae</i>	
<i>Peoriinae</i>	<i>Peoriinae</i>	<i>Peoriinae</i>	

Les Spilomelinae, sous famille à laquelle appartient *P. smaragdina* appartiennent à la famille des Crambidae. Comme l'ensemble des Pyraloides, les Spilomelinae sont des lépidoptères hétérocères (nocturnes) avec un développement, comme l'ensemble des lépidoptères, holométabole en quatre stades distincts : embryonnaire, larvaire (composé en général de cinq stades), nymphal et adulte (Delvare and Aberlenc 1989). La répartition géographique des espèces de Spilomelinae est mondiale et leur gamme d'hôte est très diversifiée. C'est aux stades larvaires que les Spilomelinae se nourrissent de leur plante hôte. Au sein d'un même genre, nous allons retrouver des polyphages tels que les genres *Herpetogramma*, *Hymenia* et *Spoladea* dont chaque espèce possède une large gamme d'hôtes ou des oligophages tels que *Neoleucinodes* *Leucinodes* et *Lineodes*, dont les espèces s'attaquent aux Solanacées, *Omiodes* et *Maruca* regroupant des espèces ravageurs sur Fabacées. De même, les larves selon les genres et les espèces vont se nourrir de différents organes, par exemple, les espèces des genres *Palpita* et *Conogethes* s'attaquent aux racines des pêchers et conifères ou encore *Azochis* aux racines des caféiers. Des espèces se nourrissent des feuilles tel que *Udea* comprenant une espèce *Udea rubigalis* dont les larves se nourrissent des feuilles de céleri ou encore *Desmia* avec l'espèce *Desmia funeralis* appelée plus communément plieuse de la vigne. Certaines espèces causent des dommages directement sur les fruits tels que l'espèce *Diaphania nitidalis* dont les larves se nourrissent sur Cucurbitaceae. D'autres espèces se nourrissent de plusieurs organes de leur hôte telles que plusieurs espèces des genres *Agathodes* et *Terastia* qui se nourrissent des racines et fleurs des Erythrines (Solis 2007).

1.2.2. Communication intraspécifiques : le comportement d'accouplement

1.2.2.1. Description des comportements de la femelle et du mâle

Chez la plupart des lépidoptères hétérocères, ce sont les femelles qui attirent les mâles pour l'accouplement par l'émission d'une phéromone sexuelle (Wyatt 2003). Il existe cependant quelques exceptions telles que les espèces appartenant à la sous famille des Gallerinae (Pyraustinae) ou c'est le mâle qui attire la femelle pour l'accouplement (Zagatti 1981, Flint and Merkle 1983, Phelan et al. 1986). L'ensemble des espèces appartenant à la famille des Crambidae dont le comportement d'accouplement a été décrit présente un comportement « classique », à savoir femelle attractive et mâle attiré (Eiras 2000, Meagher et al. 2007, Ambrogi et al. 2009). Bien que les comportements pré-copulatoire et copulatoire soient spécifiques, les étapes suivantes sont communes à toutes les espèces de Crambidae, l'ensemble de ces étapes se déroule la nuit :

(1) La femelle adopte un **comportement d'appel** en diffusant la **phéromone sexuelle** par le biais de la glande à phéromone située entre les 8^{ème} et 9^{ème} segments abdominaux. La biosynthèse des phéromones des lépidoptères hétérocères dépend d'une variété de facteurs exogènes et endogènes tels que la température, la photopériode, la plante hôte, l'âge de l'insecte ainsi que par des facteurs endocriniens et neuroendocriniens (Altstein 2004). (2) Le mâle, après avoir détecté par le biais de son système olfactif la phéromone émise par la femelle à distance, effectue un **vol orienté** dit en « **zigzag** » pour atteindre la femelle (Cardé and Mafra-Neto 1997). (3) Afin que la femelle accepte le mâle, celui-ci effectue une **parade nuptiale** ou **comportement de cour** spécifique (Eberhard 1994). Nakano et al. (2009) et Orci and Szöcs (2009) ont montré sur des espèces du genre *Ostrinia* que le mâle émettait des ultrasons durant le comportement de cour. (4) Le mâle se positionne à proximité de la femelle, il laisse apparaître leurs **androconies** par lesquelles une **phéromone** est émise (Birch et al. 1990, Royer and McNeil 1992, Hillier and Vickers 2011). (5) L'**accouplement** a lieu en position « queue à queue »

Si le **rôle d'attraction de la phéromone femelle** est bien défini, le **rôle de la phéromone mâle** varie selon les espèces et selon différentes études. En effet, de nombreuses études ont montrés que la phéromone émise par les androconies du mâle induisait un changement de comportement

chez les mâles et/ou chez les femelles intraspécifiques, attractif ou répulsif (cf. chapitre III, article 3 pour plus de détails).

1.2.2.2. Les molécules composant les phéromones sexuelles chez les Crambidae

Chez les Crambidae, les molécules composant la phéromone sexuelle femelle se divisent en deux groupes : les composés de **type I**, retrouvés majoritairement, sont des alcools primaires et leurs dérivés (principalement acétates et aldéhydes) avec une longue chaîne linéaire ($C_{10} - C_{18}$) et les composés de **type II**, sont des hydrocarbures polyinsaturés et les dérivés époxy avec une plus longue chaîne linéaire ($C_{17} - C_{23}$) (Ando et al. 2004).

Certaines molécules sont retrouvées spécifiquement chez des espèces appartenant à la même sous famille. Par exemple, la molécule E10E12-16ALD a été retrouvée uniquement chez des espèces appartenant à la sous famille des Spilomelinae et la molécule E11-14AC et son isomère Z11-14AC sont retrouvées uniquement chez des espèces appartenant à la sous famille des Pyraustinae. Au contraire, certaines molécules ont été retrouvées chez plusieurs espèces appartenant à différentes sous familles. C'est le cas par exemple des molécules Z11-16OH, Z11-16ALD et Z11-16AC retrouvées chez des espèces appartenant à six ou sept sous-familles différentes (El-Sayed 2016) (**Figure I. 4**).

Une à 10 molécules composant la phéromone femelle ont été identifiées pour chaque espèce de Spilomelinae recensée sur Pherobase (El-Sayed 2016). Les molécules identifiées sont principalement des chaînes en C_{16} , excepté pour les espèces du genre *Omphisia* où deux monoènes acétate en C_{12} et C_{14} ont été détectés. Ces aldéhydes, acétates et alcools en C_{16} recensés sont monoène, diène ou saturé. Des hydrocarbures ont été recensés comme composant la phéromone femelle d'espèces appartenant au genre *Conogethes* (**Figure I. 5** et **Annexe 2**).

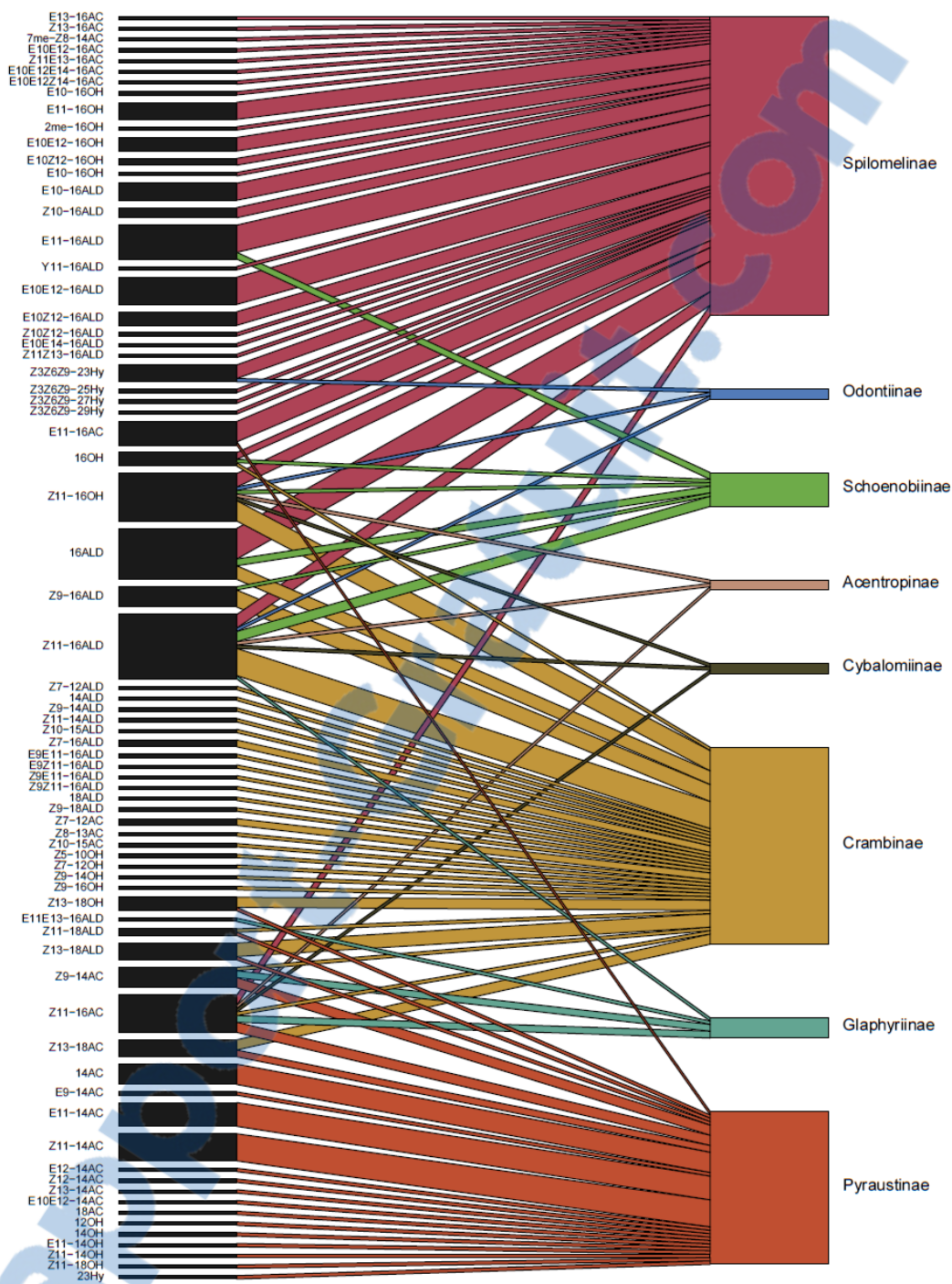


Figure I. 4 Molécules phéromonales identifiées chez huit sous-familles appartenant à la famille des Crambidae. La largeur des traits reliant les molécules aux sous-familles varie en fonction du nombre d'espèces où la molécule a été identifiée, le trait le plus fin représentant une espèce. Au total 60 espèces sont représentées : Spilomelinae, 24 espèces ; Odontiinae, 1 espèce ; Schoenobiinae, 3 espèces ; Acentropinae, 1 espèce ; Cybalomiinae, 1 espèce ; Crambinae, 15 espèces, Glaphyriinae, 3 espèces ; Pyraustinae, 12 espèces. D'après Pherobase (El-Sayed 2016)

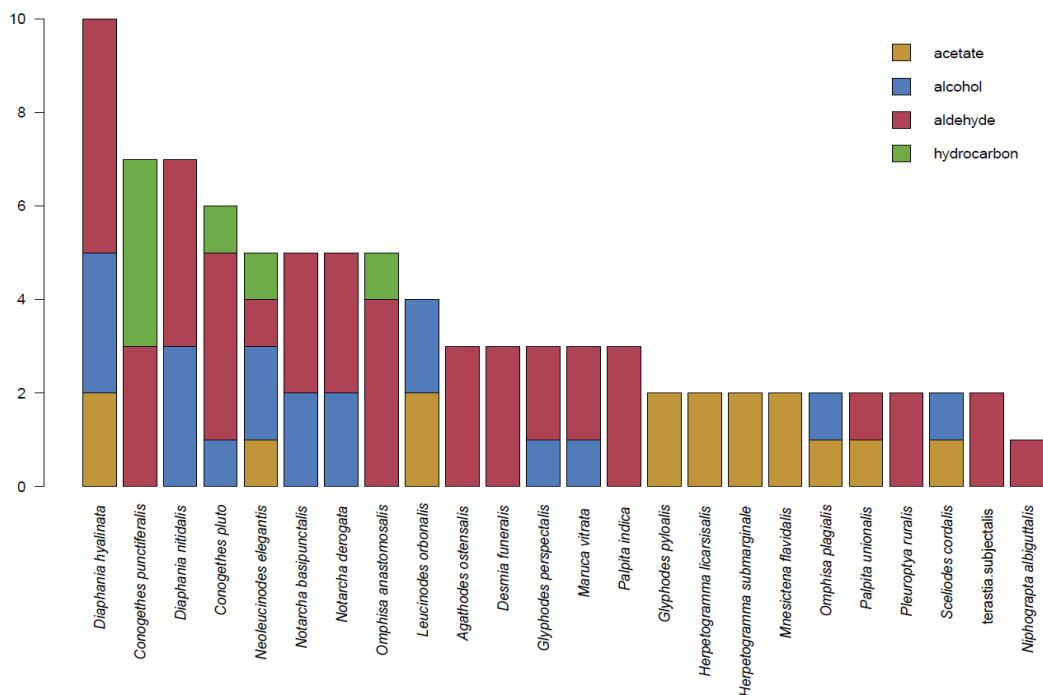


Figure I. 5 Histogramme du nombre de molécules identifiées chez les différentes espèces de Spilomelinae. D'après Pherobase (El-Sayed 2016)

Les phéromones des lépidoptères hétérocères mâles sont bien moins étudiées que les phéromones femelles. Elles sont composées pour la plupart d'une ou plusieurs molécules aromatiques dont l'odeur est perceptible par l'homme tel le benzaldéhyde ou encore le 2-phényl éthanol (Ando et al. 2004, Michereff et al. 2007) (cf. chapitre III, article 3 pour plus de détails).

1.2.2.3. Biosynthèse et régulation endocrinienne de la phéromone sexuelle femelle

Les molécules composant les phéromones femelles des Crambidae sont produites par voie de biosynthèse des acides gras modifiés. Les composés phéromonaux de **type I** sont produits à partir des acides palmitique (16 carbones) et stéarique (18 carbones). Ces acides gras saturés sont produits au niveau de la glande à phéromones par les enzymes de synthèse acetyl – coA et acide gras synthétase. Les chaînes carbonées de ces acides gras sont ensuite modifiées par l'introduction de doubles liaisons grâce aux enzymes désaturase et/ou par réduction du nombre d'atome de carbone grâce à des enzymes de β -oxydation spécifiques. Le groupe fonctionnel carboxyle est modifié par des réductases, des oxydases et des acétyl-transférases pour donner

respectivement des alcools, des aldéhydes et des acétates qui forment un complexe phéromonal propre à chaque espèce (Jurenka 2004)(Figure I. 6).

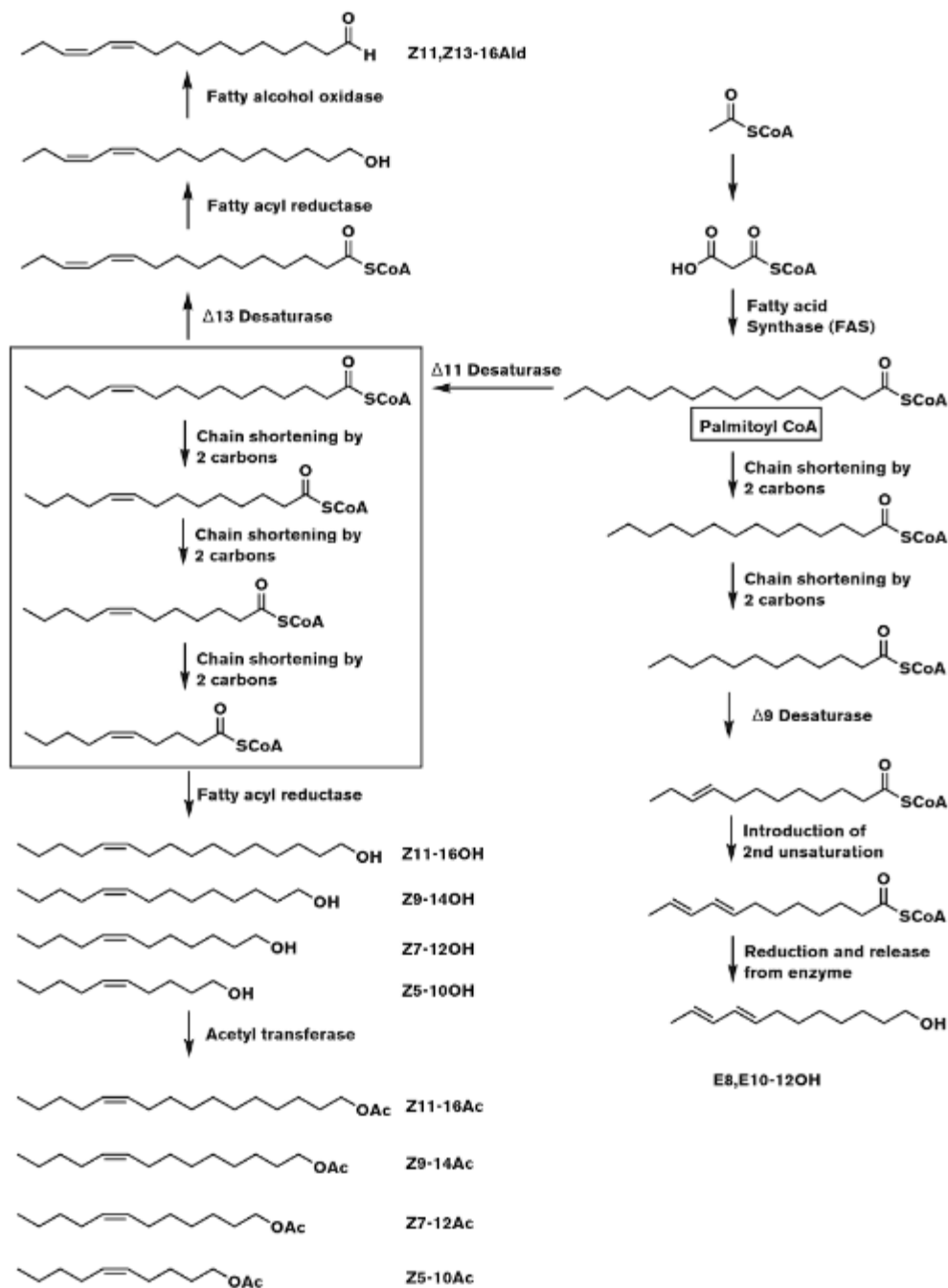


Figure I. 6 Voies de biosynthèse de composés de type I à partir de l'acide palmitique. La chaîne carbonée est modifiée par des étapes d'élongation ou de réduction du nombre de carbones et par désaturation pour l'ajout de doubles liaisons. Les dernières étapes consistent à modifier le groupe fonctionnel carboxyle pour obtenir des alcools, aldéhydes et acétates. (Allison and Cardé 2016).

Les composés phéromonaux de **type II** sont synthétisés à partir des acides linoléique et linoléique. Ces acides gras polyinsaturés ne peuvent pas être biosynthétisés par les lépidoptères hétérocères. Ils sont **obtenus à partir du régime alimentaire** des larves et stockés dans les œnocytes (cellules situées sous la cuticule) où a lieu la biosynthèse des composés de type II. Les composés de type II sont ensuite transportés dans la glande à phéromone femelle pour être libérés (Jurenka 2004) (**Figure I. 7**).

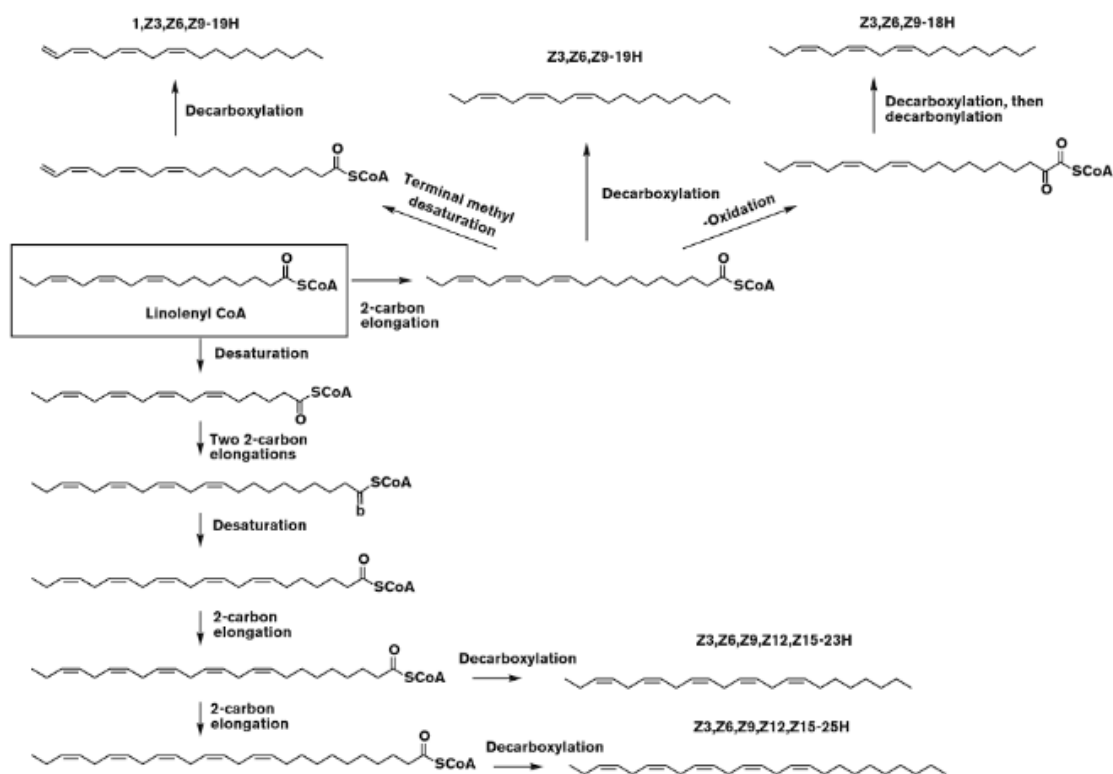


Figure I. 7 Voies de biosynthèse de composés de type II à partir de l'acide linoléique. La chaîne carbonée est modifiée par des étapes d'élargissement ou de réduction du nombre de carbone et par désaturation pour l'ajout de doubles liaisons. La molécule modifiée subit une décarboxylation pour obtenir un hydrocarbure au nombre de carbones impairs, ou une α – oxydation suivi par une décarboxylation pour obtenir un hydrocarbure au nombre de carbones pairs. Les hydrocarbures polyinsaturés sont ensuite transportés vers la glande à phéromone, avant ou après époxydation. (Allison and Cardé 2016).

La biosynthèse de la phéromone sexuelle est contrôlée par des neuropeptides cérébraux, appelés PBANs (pheromone biosynthesis activating neuropeptides). Les PBANs, mis en évidence pour la première fois par Raina and Klun (1984), sont produits par les cellules endocrines du ganglion

suboesophagien et relarguées dans l'hémolymph où ils viennent se fixer sur les récepteurs membranaires de PBANs des cellules de la glande à phéromone (Altstein 2004). Les PBANs contrôlent directement la biosynthèse des composés de type I, par le déclenchement d'une cascade d'évènements dans la cellule entraînant la biosynthèse des composés phéromonaux (Matsumoto et al. 2007). Les PBANs des insectes produisant des composés phéromonaux de type II, quant à eux, contrôlent le transport des précurseurs de la phéromone de l'hémolymph à la glande à phéromone (Allison and Cardé 2016).

1.2.3. Communication interspécifique : interactions insectes – plantes hôtes

La communication insecte-plante hôte s'effectue via l'émission de composés organiques volatils (COVs) par les organes de la plante. Les COVs émis par les plantes incluent des isoprénoides (isoprène et monoterpènes), des alcanes, des alcènes, des carbonyles, des alcools, des esters et des acides gras (Kesselmeier and Staudt 1999). La synthèse et l'émission de COVs par la plante au sein d'une même espèce varient qualitativement et quantitativement en fonction de nombreux facteurs exogènes et endogènes (Peñuelas and Llusà 2001, Mutyambai et al. 2015) (**Figure I. 8**).

L'émission des COVs par la plante, seuls ou en mélange, peut induire des changements comportementaux et/ou physiologiques aux différents stades de l'insecte, bénéfiques ou non pour celui-ci. Chez les Crambidae, la communication insecte – plante hôte à distance s'effectue principalement au stade adulte de l'insecte.

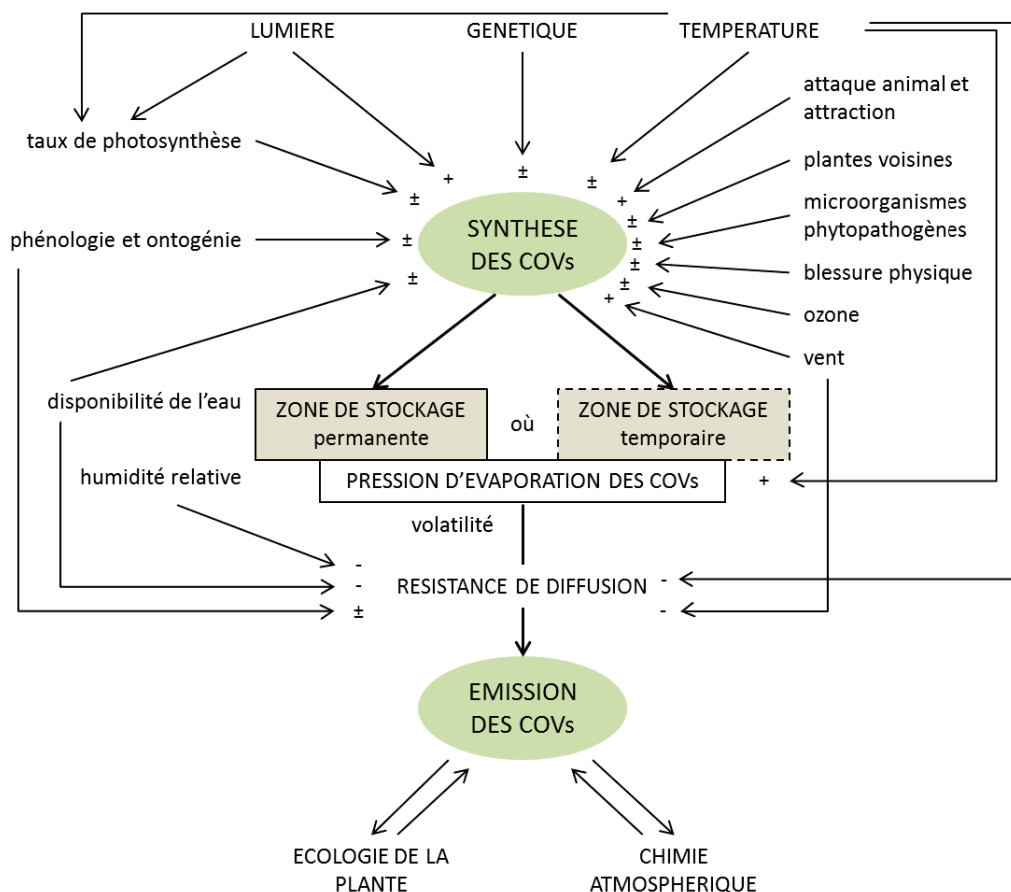


Figure I. 8 Réseau de facteurs contrôlant l'émission des COVs par les plantes. '+', effet positif ; '-', effet négatif. D'après Peñuelas and Llusà (2001).

Les COVs émis par la plante peuvent jouer un **rôle attractif sur la femelle** pour l'oviposition. Par exemple, Yin et al. (2005) ont montrés que les femelles *Loxostege sticticalis* (Crambidae : Pyraustinae) étaient attirées pour pondre par les plantes diffusant en plus grande quantité les molécules E-2-hexenal et Z-3-hexen-1-ol. Les COVs peuvent également, **en synergie avec la phéromone** sexuelle femelle, **attirer le mâle** pour la reproduction. Si la détection et l'assimilation des phéromones et des COVs étaient longtemps considérés comme étant séparés en deux voies olfactives distinctes, Rouyar et al. (2015), Cattaneo et al. (2017) ont montré que des COVs pouvaient activer les récepteurs olfactifs « spécifiques aux phéromones ». Les COVs auraient un rôle d'activation de la voie d'assimilation des phéromones et non un rôle d'amplification du message phéromonal. En réaction de défense suite à l'oviposition ou aux dégâts larvaires, la plante peut émettre des **COVs de défense** appelés volatils de plante induit par les herbivores (*herbivore – induced plant volatiles* (HIPVs)). Les HIPVs peuvent jouer un **rôle**

répulsif sur l'insecte et/ou attirer les ennemis naturels de l'insecte diminuant les populations larvaires sur la plante (Turlings et al. 1995, Kessler and Baldwin 2002, Mutyambai et al. 2015). Les plantes voisines de celles émettant les HIPVs, peuvent, en réponse à ces molécules émises, ajuster leur métabolisme afin d'augmenter leur résistance au ravageur en devenant également répulsive pour le ravageur ou plus attractive pour les ennemis naturels (Birkett et al. 2000) (Figure I. 9).

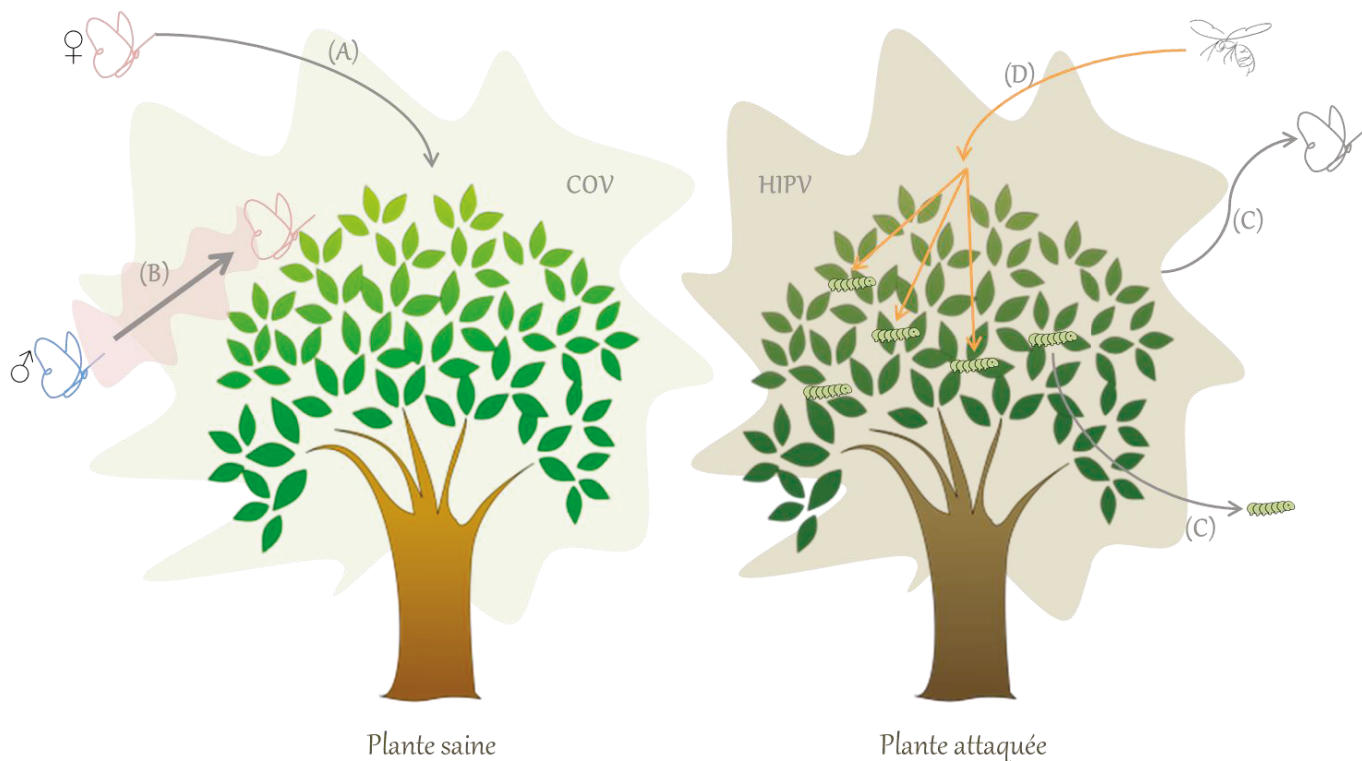


Figure I. 9 Schéma représentant les différentes interactions insectes phytophages – plantes à distance par l'émission de composés organiques volatils par la plante. COV : Composés organiques volatils ; HIPV : *Herbivore – induced plant volatiles* ; Phéromone sexuelle femelle. Attraction à distance de la femelle par la plante pour l'oviposition (A). Effet synergique COVs et phéromone femelle pour attirer le mâle (B). Réaction de défense de la plante suite aux dégâts larvaires ou à l'oviposition par l'émission de HIPVs répulsif pour l'insecte (C) et par l'émission de HIPVs attractifs pour les ennemis naturels de l'insecte (D).

1.3. Application au biocontrôle

1.3.1. Méthodes de biocontrôle par l'utilisation de composés sémiochimiques

L'utilisation des médiateurs chimiques agissant sur le comportement des insectes ravageurs des cultures et de denrées stockées permet de manipuler leur comportement pour maintenir leurs populations sous le seuil de nuisibilité économique (McNeil and Delisle 1993). Cette méthode de contrôle, alternative à la lutte chimique, est appliquée selon trois approches principales: le **piégeage de masse** (*mass trapping*), le ***lure and kill*** et la **confusion sexuelle** (*mating disruption*) (El-Sayed et al. 2006). Le piégeage de masse consiste à placer les composés sémiochimiques attractifs de synthèse dans un piège afin de capturer et tuer les insectes ravageurs attirés. Le *lure and kill* (appelé également *attract and kill*, *attracticide* ou *attraction annihilation*) consiste à attirer l'insecte avec les composés sémiochimiques de synthèse (le leurre) puis à lui transmettre un agent néfaste pour le développement de l'insecte et de sa population. L'agent néfaste peut être un insecticide conventionnel, un régulateur de croissance, des agents de stérilisation ou des organismes pathogènes tel que les bactéries, les virus ou les champignons (Howse et al. 1998). La confusion sexuelle consiste à diffuser et saturer la parcelle (ou le local de stockage pour les denrées stockées) avec la phéromone sexuelle de synthèse afin de désorienter les insectes et les empêcher de trouver leur partenaire sexuel. Les composés sémiochimiques de synthèse attractifs intégrés dans les systèmes de piégeage de masse et de *lure and kill* peuvent être des kairomones, des phéromones ou les deux mélangés, la confusion sexuelle utilise uniquement des phéromones. Les composés sémiochimiques de synthèse sont diffusés le plus souvent via des polymères imprégnés de la substance attractive. La quantité de substance attractive diffusée dans les pièges, la forme et la disposition des pièges, leur densité dans la parcelle ainsi que le type de piégeage doivent être adaptés à l'insecte piégé, à la culture, au paysage et aux conditions climatiques pour optimiser le système de piégeage afin qu'il soit à la fois efficace et économiquement viable (Cantelo et al. 1982, Dent and Pawar 1988, Herman et al. 2005, Bacca et al. 2006, Reardon et al. 2006).

1.3.2. Exemples

1.3.2.1. Utilisation des odeurs de plantes

A notre connaissance, **aucun leurre à base de kairomones n'est commercialisé** pour lutter contre des espèces de ravageurs de cultures et de denrées stockées appartenant à la famille des Crambidae. Les études concernant les interactions Crambidae – kairomones sont appliqués au champ par le biais de la **plante entière**. En effet, les plantes émettant les molécules attractives ou répulsives, directement ou indirectement sont placées dans les inter-rangs ou à proximité des cultures attaquées par le ravageur dont on souhaite diminuer la population. Cette méthode fait appel à d'autres techniques que celles évoquées dans la partie précédente telle que la technologie **push-pull**. La technologie **push-pull** consiste à placer dans les inter-rangs des plantes répulsives du ravageur (*push*) et des plantes attractives à l'extérieur de la parcelle (*pull*). Cette technologie est utilisée notamment dans plusieurs pays d'Afrique pour lutter contre le foreur du maïs *Chilo partellus* (Crambidae : Crambinae) (Hassanali et al. 2008). En plus d'être efficace, le système **push-pull** présente de nombreux avantages tels qu'un faible coût, une augmentation de la fertilité du sol et un approvisionnement des élevages en fourrage (Khan et al. 2016). Khan et al. (2016) suggèrent une nouvelle approche du système **push-pull** par l'utilisation des HIPVs dans le système, par l'attraction des ennemis naturels et/ou par l'induction des défenses de la plante attaquée contre le ravageur.

1.3.2.2. Utilisation de phéromones sexuelles

Des leurres à base de phéromones de synthèse sont commercialisés pour lutter contre les espèces appartenant à la famille des Crambidae et plus généralement des Pyraloides. Les méthodes utilisées sont le piégeage de masse et la confusion sexuelle. (Tableau I. 2).

Tableau I. 2 Utilisation de système de biocontrôle à base de phéromone de synthèse pour différentes espèces appartenant à la famille des Crambidae. MT, *mass trapping*; MD, *mating disruption*. D'après Witzgall et al. (2010) et El-Sayed (2016)

Espèce	Famille: Sous-famille	Méthode
HORTICULTURE		
<i>Leucinodes orbonalis</i> , foreur de l'aubergine	Crambidae : Spilomelinae	MD, MT
GRANDE CULTURE		
<i>Scirpophaga intercalas</i> , foreur jaune du riz	Crambidae : Schoenobiinae	MD, MT
<i>Diatraea grandiosella</i> , grande chenille mineuse du maïs	Crambidae : Crambinae	MD
<i>Chilo suppressalis</i> , pyrale du riz	Crambidae : Crambinae	MD, MT
<i>Ostrinia furnacalis</i> , foreur du maïs asiatique	Crambidae : Pyraustinae	MD
<i>Ostrinia nubilalis</i> , foreur du maïs européen	Crambidae : Pyraustinae	MD, MT
<i>Eoreuma loftini</i> , foreur du riz mexicain	Crambidae : Crambinae	MD
<i>Cnaphalocrocis medinalis</i> , tordeuse du riz	Crambidae : Pyraustinae	MT
FLORICULTURE		
<i>Palpita unionalis</i> , pyrale du jasmin	Crambidae : Spilomelinae	MD

Par exemple, une étude de piégeage de masse menée au Bangladesh contre *Leucinodes orbonalis* (Crambidae : Spilomelinae) par Cork et al. (2005) a permis d'optimiser le système de piégeage à base de la phéromone femelle de synthèse afin de diminuer significativement le nombre d'aubergines endommagées au bout de 10 récoltes (avec une récolte par semaine) (**Figure I. 10**). Ces essais ont également démontré que l'utilisation des pièges à phéromones seuls, sans utilisation d'insecticide en parallèle était plus efficace contre *L. orbonalis*, notamment grâce à l'augmentation de la population d'un parasitoïde larvaire dans les parcelles *Trathala flavoorbitalis* Cameron (Hymenoptera : Ichneumonidae).

Seize ans après sa commercialisation en 1993 (Casagrande) l'efficacité du système de confusion sexuelle contre la pyrale du riz *Chilo suppressalis* Walker (Crambidae : Crambinae) a été démontré à nouveau comme plus efficace que les traitements insecticides conventionnels par Alfaro et al. (2009). Cette étude montre l'efficacité de la confusion sexuelle sur *C. suppressalis* à court terme sur une même saison mais également à plus long terme sur trois saisons successives, avec un coût de traitement moins élevé que le traitement insecticide lorsque la densité de polymères imbibés de phéromones au champ est optimisée.

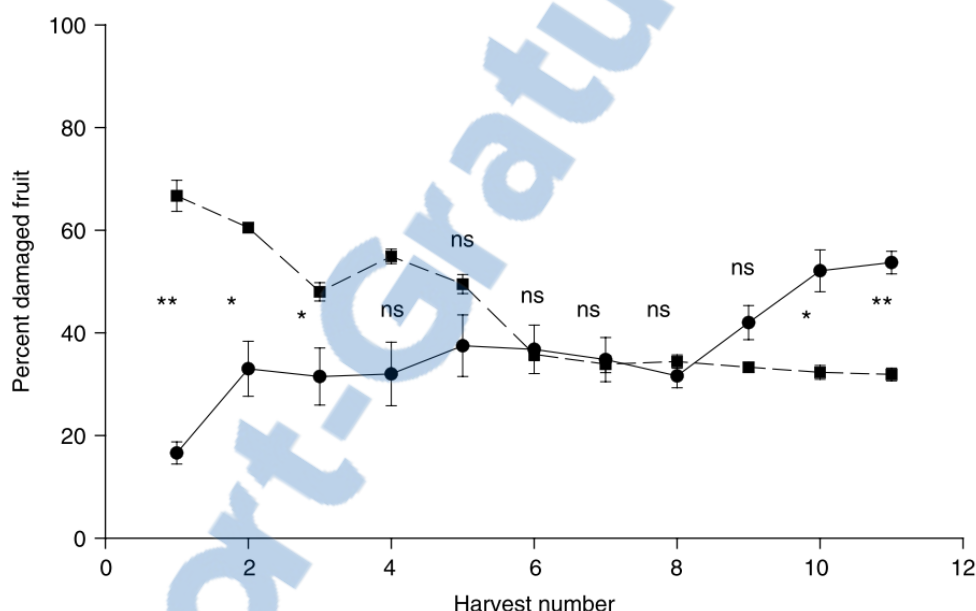


Figure I. 10 Pourcentage de fruits endommagés par *L. orbonalis* (moyenne $\pm$ erreur standard).●, utilisation d'insecticide ; ■, Utilisation de pièges à phéromone. ns, non significatif ; *, p-value < 0.05 ; **, p-value < 0.01. (Cork et al. 2005)

Les deux exemples ci-dessus révèlent de nombreux avantages à utiliser les phéromones sexuelles pour contrôler les populations des insectes ravageurs de cultures : 1) Le système de piégeage/confusion est ciblé pour l'espèce d'insecte que l'on souhaite contrôler, le mélange phéromonal étant **spécifique** à chaque espèce d'insecte, les autres espèces d'insecte, et notamment les auxiliaires, ne sont donc pas affectés par ce système ; 2) le mélange phéromonal est **actif avec**

des petites quantités, 3) la grande majorité des molécules composant la phéromone ne sont **pas reconnue comme toxique** sur les animaux (Witzgall et al. 2010); 4) contrairement aux insecticides le mélange phéromonal n'est pas pulvérisé directement sur les cultures consommées par les humains et autres animaux, **réduisant les risque de toxicité** du produit dans l'alimentation; 5) à notre connaissance, les insectes **ne développent pas de résistance** aux leurres à base de phéromone malgré leur utilisation depuis de nombreuses années au champ, alors que de nombreux cas de résistance aux insecticides biologiques et conventionnels sont recensés et décrits depuis de nombreuses années (Brattsten et al. 1986, Van Rie et al. 1990, Hemingway et al. 2002, Kranthi et al. 2002, Dong 2007). 6) contrairement aux insecticides conventionnels ou biologiques, le mélange phéromonal **ne peut être lessivé en cas de pluie** après application, rendant le système de piégeage/confusion **plus efficace et moins polluant** pour l'environnement.

Cependant utiliser des phéromones sexuelles pour contrôler la population d'un insecte ravageur présente également des inconvénients. Pour l'agriculteur, cela représente un coût parfois plus élevés que les insecticides conventionnels. De plus développer un système de piégeage à base de phéromone **nécessite en amont une étude approfondie de la biologie de l'insecte et de ses comportements intra et interspécifiques** afin d'identifier la phéromone et d'optimiser le système de piégeage.

2. LA PYRALE DU CAFE *Prophantis smaragdina* (LEPIDOPTERA : CRAMBIDAE : SPILOMELINAE)

2.1. Contexte historique et taxonomie

La pyrale du café, *Prophantis smaragdina* Butler (1875) est également retrouvée dans la littérature sous les noms vernaculaires de botyde du café et pyrale des baies du caféier (« *coffee berry moth* » en anglais).

Au début des années 2000, Dr. S. Quilici (CIRAD Réunion) envoie des échantillons de l'insecte au Museum d'histoire naturel de Londres. L'insecte fut identifié comme appartenant à l'espèce *Prophantis smaragdina* Butler par Mr. M Shaffer en 2001 et Dr. G.S. Robinson en 2004. D'après Dr. G.S Robinson les précédents écrits citant les noms de *Botys coffealis* (Viette 1998), *Thliptoceras octoguttalis* Felder (Frappa 1934, Luziau 1953, Plénet 1965) et *Prophantis octoguttalis* Felder & Rogenhofer (De Saeger 1943) furent probablement des erreurs d'identifications de la même espèce.

P. smaragdina appartient à la sous famille des Spilomelinae dont la plus récente classification est basée sur la dernière étude phylogénétique de Regier et al. (2012) :

Classe : Insecta

Ordre : Lepidoptera

Sous-ordre : Glossata

Infra-ordre : Heteroneura

Super-famille : Pyraloidea

Famille : Crambidae

Sous-famille : Spilomelinae



2.2. Répartition géographique

P. smaragdina est une espèce vivant en zones afrotropicales, au Yémen et sur certaines îles de l'océan Indien. Plus précisément, elle a été recensée dans les pays suivants : Afrique du Sud, Cameroun, Côte d'Ivoire, Erythrée, Ethiopie, Gambie, Ghana, Guinée équatoriale, Kenya, Malawi, Mozambique, Nigéria, Sierra Leone, Tanzanie, Ouganda, République Démocratique du Congo, Yémen et Zimbabwe, ainsi que sur les îles de Sao Tomé et Principe dans l'océan Atlantique et sur les îles des Comores, de Madagascar, de Maurice et de La Réunion dans l'océan Indien (Guillermet 2005, Waller and Hillocks 2007).

2.3. Plantes-hôtes

P. smaragdina a été signalée sur des plantes hôtes appartenant à trois familles : les Verbenaceae, une espèce : *Duranta plumieri* (Paulian and Viette 1956), les Menispermaceae, une espèce: *Triclisia* sp. (Guillermet (2005), Le Pelley (1959) cité par Waller and Hillocks (2007)), les Rubiaceae, quatre espèces : *Bertiera zaluzania* endémique de Maurice (Kaiser et al. 2008), *Coffea* sp. (<http://www.afromoths.net/species/show/13576>), *Gardenia* sp. (Hinckley 1964), *Ixora coccinea* (Guillermet 2005). Le genre *Coffea* est le seul contenant des espèces d'intérêt économique attaquées par la Pyrale du café.

2.4. Morphologie des stades de développement

2.4.1. Stade embryonnaire

Les œufs sont blanc-nacré, circulaires et aplatis, ils mesurent 1mm à 2 mm de diamètre (Figure I. 11).

2.4.2. Stades larvaires

Après l'éclosion de l'œuf, cinq stades larvaires se succèdent. Les larves de premier stade sont de couleur blanc-translucide avec de petites taches noir-marron présentes en face dorsale. La face dorsale se colore en rose foncé dans les derniers stades larvaires avec des taches noir-marron plus marquées (Figure I. 11). La larve de dernier stade mesure environ 1,3 cm .



Figure I. 11 (A) Larve de premier stade sur une ooplaque. (B) Larve de dernier stade venant de creuser un trou dans une cerise de caféier. Photos : A. Franck.

2.4.3. Stade nymphal

La chrysalide est jaune-ocre dans les premiers jours après la mue nymphale puis devient de couleur brune avant émergence de l'adulte. Elle mesure 6 à 7mm de long (Chartier et al. 2013). Les chrysalides mâles et femelles se distinguent à la loupe binoculaire en comparant la distance entre l'orifice anal et l'orifice génital : ils sont rapprochés chez le mâle et plus distinctement séparés chez la femelle. L'orifice anal est en relief chez le mâle (Figure I. 12).

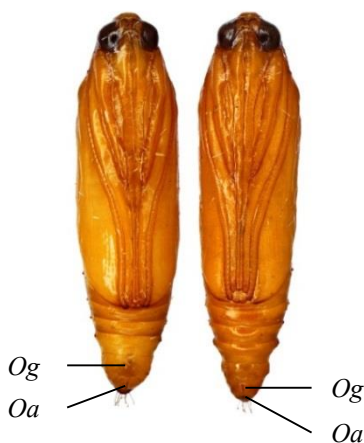


Figure I. 12 Chrysalides de *P. smaragdina* femelle (à gauche) et mâle (à droite). Og, orifice génital ; Oa, orifice anal. Photos : A. Franck.

2.4.4. Stade adulte

La description de l'adulte a été réalisée par Guillermet (2005). L'envergure des ailes antérieures est de 19 à 22mm. Le corps et les ailes sont globalement de couleur brune avec présence d'ocelles.

2.4.4.1. La tête

Le front montre des écailles plaquées, irisées et de couleur jaune brunâtre. Le vertex présente des poils bruns redressés. Les antennes du mâle sont de couleur brun jaunâtre, très finement ciliées.

Les palpes labiaux sont bicolores : la partie distale est brune tandis que la partie proximale est blanche, allongée et légèrement redressée. Le deuxième article est allongé et ascendant tandis que l'article terminal est bien visible et légèrement descendant. Les palpes maxillaires sont grêles, bruns et redressés (**Figure I. 13**).

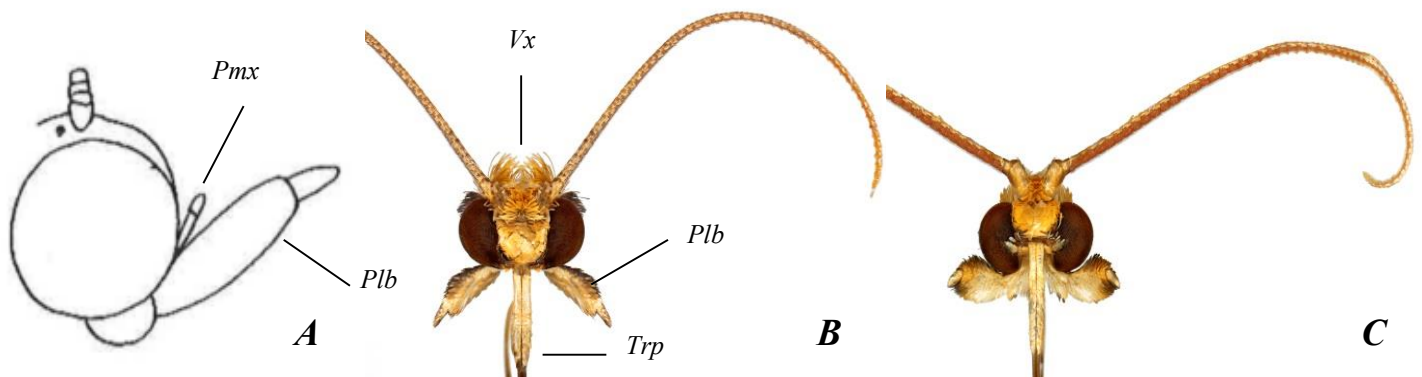


Figure I. 13 (A) Schéma de la tête de *P. smaragdina* en vue latérale d'après Guillermet (2005). (B) Tête de la femelle de *P. smaragdina*. (C) Tête du mâle de *P. smaragdina*. Pmx, palpes maxillaires ; Plb, palpes labiaux ; Vx, vertex ; Trp, trompe. Photo : A. Franck.

2.4.4.2. Les ailes

Les ailes antérieures sont brunes, bordées d'orangeâtre, allongées, à apex pointu et à bord externe incliné vers l'intérieur. A la côte, une bande orangeâtre non issue de la base de l'aile, est interrompue avant l'apex par du brun, puis avec une tache apicale orangeâtre. Une bande orangeâtre est présente le long du bord externe, elle est issue de l'apex et va jusqu'au tornus. Deux taches blanches sous costales sont présentes dans la cellule. L'ocelle plus interne, petit et quadrangulaire est associé à un autre ocelle externe à la cellule de même couleur et de même taille. L'ocelle le plus externe est plus grand et plus allongé. La ligne antémédiane de couleur brun foncé est à peine visible. La frange est orange. Au niveau de la nervation, R2 est proche et parallèle à la tige R3+4. R5 est proche de la tige précédente puis éloignée. M2 et M3 sont proches basalement puis écartées. CuA1 est proche de l'angle inférieur de la cellule. 1A + 2A forment une fourche basale (**Figure I. 14**).

Les ailes postérieures sont brunes, avec une bordure marginale orangeâtre au niveau apical qui devient moins large au niveau du tornus. Il y a une évocation de médiane. La frange est orangeâtre. Au niveau de la nervation, Sc + R1 et Rs sont anastomosées sur un tiers. Une petite barre d'anastomose est présente entre le début de M1 et Sc+R1. M2 est proche basalement de M3 puis divergente. CuA1 est proche de l'angle inférieur de la cellule. CuA2 est écartée (**Figure I. 14**).

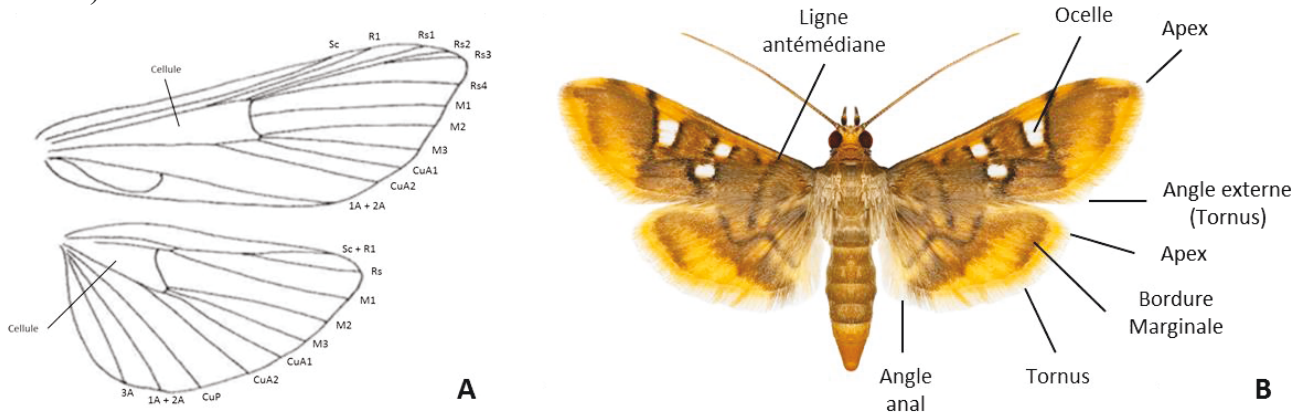


Figure I. 14 (A) Schéma de la nervation des ailes antérieure et postérieure de *P. smaragdina*. D'après Guillermet (2005). (B) Imago femelle de *P. smaragdina*. A, anal ; CuA, Cubitale antérieure ; CuP, cubitale postérieure ; M, médiane ; R, radiale ; Rs, secteur radial ; Sc, sous costale. Photo : A. Franck.

2.4.4.3. Le thorax et l'abdomen

Au niveau du thorax, le tegula¹ est de couleur brun jaunâtre à écailles spatulées. La face ventrale est blanc nacré ainsi que les pattes. L'abdomen allongé dépasse les ailes, il est brun foncé avec une touffe apicale jaunâtre. La forme de l'abdomen mâle est plus allongée et plus fine que celle de la femelle. Le 8^{ème} urite du mâle possède une sclérification particulière (**Figure I. 15**).

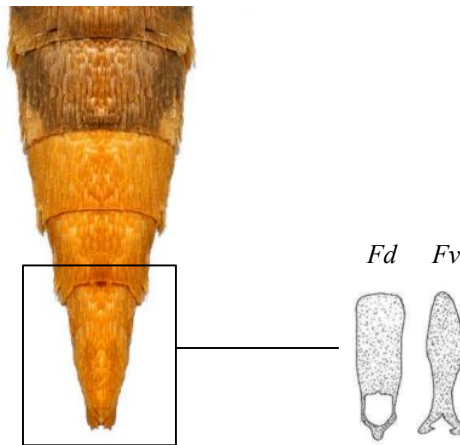


Figure I. 15 Extrémité abdominale du mâle de *P. smaragdina* et schéma de la sclérification du 8ème urite. D'après Guillermet (2005). Fd, face dorsale ; Fv, face ventrale. Photo : A. Franck.

2.4.4.4. Genitalia du mâle

L'Uncus est peu développé, large, à base évasée et à apex arrondi bordé de plusieurs séries de petites écailles sclérifiées. La transilla est formée de 2 lobes membraneux réunis. La tegumen possède des bras latéraux peu développés et est dorsalement échancrée en forme de « V ». Les valves sont très membraneuses, larges et à apex pointu. Il y a une vague évocation d'une sous-costale réduite à des plis très peu sclérifiés qui divisent la valve en 2 parties. Un pli basal incliné traverse partiellement la valve. Le sacculus est peu développé et peu sclérifié. Le vinculum est large et le saccus est en forme de « V ». De larges sacs androconiaux sont présents sur les bords du vinculum et prennent appui sur les bras du tegumen comprenant de longues touffes de poils libres ou associés en volutes (pinces androconiaux). L'edeage rectiligne contient six cornuti sclérifiés et regroupés (**Figure I. 16**).

¹ Le tegula est la zone à la base de l'aile

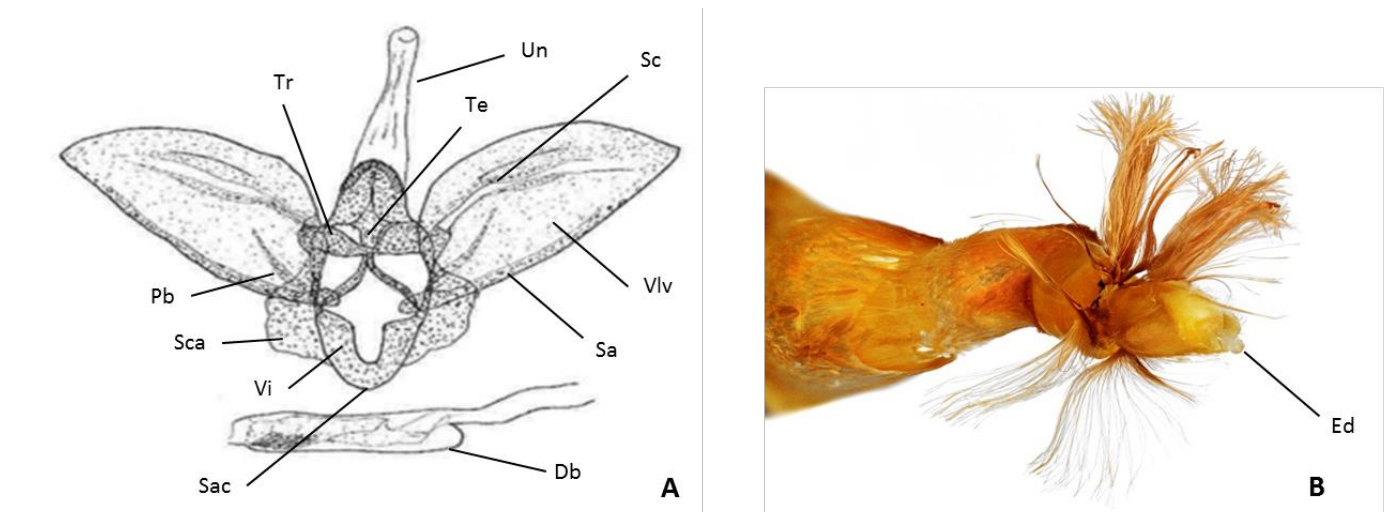


Figure I. 16 Genitalia mâle de *P. smaragdina* (A) Schéma légendé d'après Guillermet (2005). (B) Photo de la partie externe. Tr, transilla ; Un, uncus ; Te, Tegumen ; Sc, sous-costale ; Vlv, valve ; Sa, Sacculus ; Sac, saccus ; Vi, Vinculum ; Sca, Sac androconiaux ; Pb, pli basal ; Ed, edeage. Photo : A. Franck.

2.4.4.5. Genitalia de la femelle

Les lobes de l'oviporus sont bien ciliés, en forme de deux fines bandelettes. Les apophyses postérieures sont un peu épaisses et assez longues, avec une zone basale très effilée. Les apophyses antérieures sont bien développées. L'ostium bursae est évasé. Le ductus bursae membraneux devient progressivement plus épais et sclérifié et développe des lèvres latérales sur la bourse copulatrice. La bourse copulatrice granuleuse est divisée en deux parties : la partie postérieure sur laquelle s'insère le ductus seminalis et qui reçoit le ductus bursae sous la forme d'une large boucle, la partie antérieure plus large est sans sclérifications particulières (**Figure I. 17**).

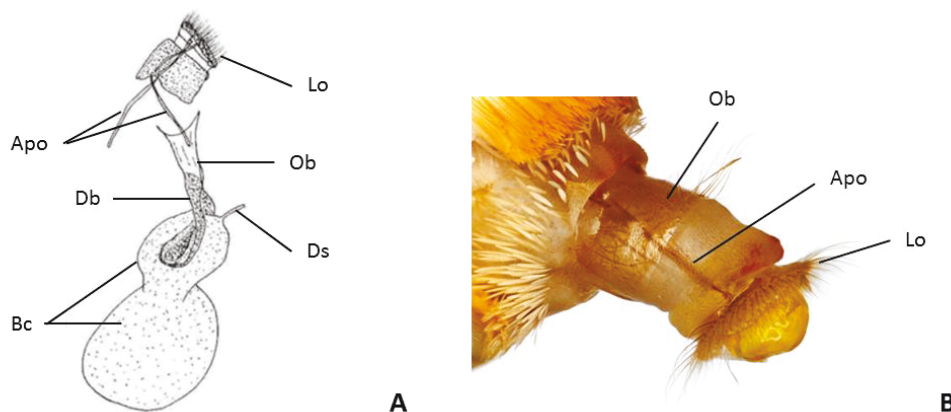


Figure I. 17 Genitalia femelle de *P. smaragdina*. (A) Schéma légendé d'après Guillermet (2005). (B) Photo de la partie externe. Lo, lobes de l'oviporus ; Ob, ostium bursae ; Ds, ductus seminalis ; Bc, bourse copulatrice ; Db, ductus bursae ; Apo, apophyses. Photo : A. Franck.

2.5. Cycle de développement sur le café

Différentes études sur le cycle de vie de *P. smaragdina* ont été menées au Kenya et en Ethiopie. Les femelles de la pyrale du café pondent sur des fruits verts ou à proximité (tige, feuille) de manière isolée ou plus rarement par groupe de 2 ou 6. Durant les cinq stades larvaires, les chenilles se nourrissent de l'albumen de plusieurs cerises de café vertes d'une même grappe (Anonymous 1992). Ces cerises sont reliées de manière caractéristique à un réseau de fils de soie formé par les larves (**Figure I. 18**). Lorsque l'endocarpe des cerises de café durcit, les chenilles se nourrissent du mésocarpe. Hors période de fructification, les larves se nourrissent des jeunes tiges et des boutons floraux. La larve prête à se nymphoser se dirige vers le sol et file un cocon de soie entre 2 feuilles au sol (Crowe 2008).



Figure I. 18 Photos de cerises de café attaquées par les larves de *P. smaragdina*.

La durée des stades ainsi que la durée totale du cycle varie en fonction des différentes études (Tableau I. 3). En effet la durée du cycle de reproduction varie de 30 à 66 jours avec les stades embryonnaire, larvaires, pré-nymphal et nymphal de durées moyennes respectives allant de 4 à 6 jours, de 14 à 24 jours, de 4 à 8 jours, de 6 à 16 jours et de 14 à 30 jours selon les observations.

Tableau I. 3 Tableau résumé de la durée des stades de *P. smaragdina* selon trois études de laboratoire.*, somme des moyennes des 5 stades larvaires. F1, F2 et F3 signifient respectivement 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} génération. Références 1. Anonymous (1992), 2. Ndugo and Ndoiru (1999), 3. Chartier et al. (2013).

Lieu	température (°C)	humidité (%)	Durée des stades (jours)					Total	supplément d'informations	références
			Embryonnaire	Larvaires	Pré-nymphal	Nymphal	Adulte			
Kenya	NA	NA	6	14	4	6 à 42	14	30 à 66	-	1
Kenya	21 à 27	63 à 81	4,30 ±0,13	21,12*	8,46 ±1,34	11,48 ±1,75	NA	45,36 ±1,69	F1	2
	20 à 30	58 à 75	4,55 ±0,18	24,25*	3,83 ±0,37	15,47 ±2,16	NA	48,10 ±2,16	F2	
	21 à 30	61 à 78	4,38 ±0,11	24,03*	3,68 ±3,68	16,71 ±1,38	NA	48,80 ±1,40	F3	
La Réunion	25	50 à 60	6	14	4	12	30	36	-	3

Peu d'études se sont intéressées aux conditions optimales de développement de *P. smaragdina*. *P. smaragdina* semble s'adapter à une large amplitude altitudinale. D'après Le Pelley (1968) et Guillermet (2005), *P. smaragdina* serait plus abondant en moyenne altitude à La Réunion (de 350 à 500m). Il fut cependant signalé jusqu'à 1700m d'altitude à La Réunion (Guillermet 2005) et

jusqu'à 1800m d'altitude au Kenya (Mugo et al. 2011). La présence de *P. smaragdina* semble également fluctuer en fonction de l'humidité. Mendesil and Tesfaye (2009) ont montré en Ethiopie que les attaques de *P. smaragdina* étaient corrélées à l'humidité relative, avec des attaques plus importantes lorsque l'humidité relative était élevée.

2.6. Ennemis naturels

Au Kenya, il a été identifié cinq espèces de parasitoïdes larvaires de *P. smaragdina* appartenant à deux familles : les Braconidae, quatre espèces : *Apanteles coffea*, *Cractocnema* sp., *Macrocentrus* sp. et *Phanerotoma* sp., les Ichneumonidae, une espèce : *Pristomerus* sp. (Le Pelley 1968, Ndungi 1994, Mugo et al. 1997).

A Sao Tomé et Principe, il a été observé huit espèces de parasitoïdes (non identifiés) appartenant à quatre familles : les Trichogrammatidae, une espèce s'attaquant aux œufs (Derron 1977) ; les Braconidae, quatre parasitoïdes larvaires ; les Ichneumonidae, un parasitoïde larvaire ; les Tachinidae, deux parasitoïdes larvaires (Waller and Hillocks 2007) .

Au Congo, une espèce de parasitoïde larvaire, *Microbracon* sp. (Hymenoptera : Ichneumonidae) a été identifiée (De Saeger 1943).

A La Réunion, les premières observations en 2012 ont révélé la présence de deux parasitoïdes de *P. smaragdina* : *Pristomerus rivier* (Hymenoptera : Ichneumonidae) (parasitoïde ovo-larvaire) et une espèce de Tachinidae (parasitoïde nymphal) non identifiée (Chartier et al. 2013).

2.7. Impact économique de *P. smaragdina* sur le café

P. smaragdina cause des dommages directs sur café, par la consommation du grain de café vert, de jeunes tiges et de boutons floraux de la plante, ce qui entraîne une perte significative de rendement pour le caféiculteur. *P. smaragdina* cause également des dommages indirects : les plaies sur les cerises causées par les larves facilitent la pénétration des maladies fongiques qui se développent (Crowe 2008).

Bien que présent dans de nombreux pays d'Afrique subsaharienne, peu d'écrits recensent l'impact économique engendré par *P. smaragdina* sur le café. *P. smaragdina* a longtemps été

considéré comme un ravageur mineur du café en Afrique de l'Est (de l'Ethiopie à l'Afrique du Sud). Cependant les dommages causés par la Pyrale du café se sont amplifiés sur les cultures de café devenues intensives, avec mulch et recevant une grande quantité d'engrais (Crowe 2008).

En 1985, *P. smaragdina* est noté comme responsable de 40% des pertes de rendement de café en Côte d'Ivoire (Decazy et al. 1985).

Au Kenya, *P. smaragdina* représentait 25 à 50% des pertes de rendement en café en 1999 (Ndugo and Ndoiru 1999) et selon une étude menée en 2011, *P. smaragdina* était le 8^{ème} ravageur le plus présent sur 20 recensés dans les exploitations de café avec une présence dans 22% des fermes échantillonnées, juste derrière le Scolyte du café *Hypothenemus hampei* présent dans 25% des fermes échantillonnées (Mugo et al. 2011)

En 2009, jusqu'à 60% des cerises récoltées étaient attaquées par *P. smaragdina* en Ethiopie (Mendesil and Tesfaye 2009)

A La Réunion, *P. smaragdina* est le principal ravageur du café. Bien que non chiffré précisément, *P. smaragdina* entrainerait selon les estimations une perte de rendement allant jusqu'à 90% pour les parcelles les plus attaquées (Descroix, com. personnelle)

2.8. Moyens de lutte contre *P. smaragdina*

2.8.1. Lutte chimique

La lutte chimique est actuellement la méthode la plus utilisée contre *P. smaragdina* par l'utilisation d'insecticides à large spectre tels que le chlorpyrifos, la deltaméthrine, le fenitrothion, le trichlorofon et l'endosulfan (Decazy et al. 1985, Crowe 2008, Mugo et al. 2011). L'application de ces insecticides est conseillée en prophylaxie car moins efficace lorsque la larve est déjà présente à l'intérieur de la cerise.

2.8.2. Lutte mécanique

La méthode de lutte mécanique suggérée par Crowe (2008) consiste à limiter la croissance de la population de *P. smaragdina* tout en incitant le développement des populations de ses parasitoïdes naturels. Pour cela, il suffit de prélever les cerises attaquées et de les enfouir dans le



sol. Le trou creusé pour enfouir les cerises est recouvert d'une dalle en béton avec une fenêtre en filet dont les mailles sont d'environ 2mm. Les imagos de *P. smaragdina* émergeant des cerises enfouies sont piégés tandis que les parasitoïdes piégés peuvent s'échapper du trou en passant à travers les mailles du filet pour retourner au champ. Cette méthode efficace, est cependant coûteuse en main d'œuvre et difficile à appliquer.

2.8.3. Lutte biologique

Une méthode de lutte par bio-insecticide est actuellement conseillée à La Réunion. Celle-ci consiste à pulvériser du *Bacillus thuringiensis* sur les cerises de caféier, dont l'efficacité a été testée à petite échelle contre *P. smaragdina* en Tanzanie (Tapley and Materu 1961) cité par Waller and Hillocks (2007). Cette méthode est largement utilisée dans la lutte contre de nombreuses espèces de lépidoptères (Bernhard et al. 1997). Cette méthode est efficace mais nécessite une absence de pluie durant au moins 4 jours après le traitement qui est facilement lessivable.

Une étude de lutte contre *P. smaragdina* avec un extrait de *Ficus salicifolia* a été menée au Yémen (Ba-Angood and Al-Sunaidi (2004) cité par (Waller and Hillocks 2007)). Les résultats montrent une efficacité de l'extrait contre *P. smaragdina*, cependant cette étude n'a jusqu'à aujourd'hui pas fait l'objet d'autres études et n'a pas été appliquée au champ à notre connaissance.

La lutte par l'utilisation de parasitoïdes de *P. smaragdina* a été effectuée dans les années 90 au Kenya par la *Coffee Research Foundation* avec l'élevage de masse de *Phanerotoma* sp. dont les adultes étaient relâchés au champ (Mugo et al. 1997). A notre connaissance, il n'y a pas de références bibliographiques concernant le suivi des taux de parasitisme au champ et sur l'efficacité de la lutte.

3. OBJECTIFS ET QUESTIONS DE RECHERCHE DE LA THESE

Cette étude bibliographique sur *P. smaragdina* souligne l'importance de préciser nos connaissances sur la biologie et le comportement de *P. smaragdina* à La Réunion afin d'envisager et de développer des méthodes de biocontrôle alternatives à la lutte chimique efficace et économiquement viables. Les objectifs de la thèse sont donc les suivants :

1- Développer nos connaissances sur la biologie *P. smaragdina* à La Réunion. Pour cela l'étude de la bio-écologie de *P. smaragdina* au sein des agrosystèmes caféicoles, développée dans le **chapitre II**, permettra (1) de définir les conditions biotiques et abiotiques favorables ou non au développement de l'insecte (2) d'identifier les ennemis naturels de *P. smaragdina* à La Réunion et de déterminer leur potentiel d'utilisation en lutte biologique.

2- Développer nos connaissances sur le comportement d'accouplement de *P. smaragdina* et sur les interactions chimiques intraspécifiques. Dans le **chapitre III**, on s'intéressera dans un premier temps au comportement d'accouplement de *P. smaragdina* et de l'identification des composés phéromonaux émis par la femelle, constituant la première étape pour la mise au point d'une méthode de lutte par l'utilisation de phéromone sexuelle. La deuxième partie du chapitre III, aura pour objectif de développer nos connaissances sur les interactions chimiques intraspécifiques, par l'identification des composés émis par les pinceaux androconiaux des mâles. Ces composés pourraient en effet jouer un rôle majeur sur le comportement des femelles et/ou des autres mâles lors de la phase précopulatoire.

Chapitre II



Biologie de *Prophantis smaragdina* à
La Réunion

Chapitre II - Article 1 Biology and life tables of *Prophantis smaragdina* (Lepidoptera: Crambidae: Spilomelinae), a major pest of coffee in Reunion Island.
In prep for Biocontrol

Contexte et objectif de l'étude

La synthèse bibliographique a mis en évidence le manque d'études sur la bio-écologie de *P. smaragdina* à La Réunion. Or, la première étape pour la mise en place d'une méthode biotechnique de gestion des populations est la connaissance de la biologie et de l'écologie de l'insecte. L'objectif de cette étude était d'apporter des connaissances sur la dynamique des populations de *P. smaragdina* dans les parcelles de café 'Bourbon Pointu', fortement impactées par ce ravageur. L'étude de la dynamique des populations d'un insecte ravageur de culture apporte différentes informations, à savoir (1) la période où la densité de population du ravageur est la plus importante dans les parcelles, cette information est primordiale pour raisonner les traitements ; (2) la détermination des différentes causes de mortalités aux différents stades de l'insecte ; (3) l'identification des ennemis naturels de l'insecte ravageur et de la quantification de leur effet de régulation (4) la connaissance des facteurs influençant l'abondance et les différentes causes de mortalité de l'insecte.

En Résumé

Des récoltes de café sur des parcelles de Bourbon Pointu pendant la période de fructification (i.e de janvier à juillet) ont été effectuées toutes les deux semaines, sur 7 sites, deux en 2015, quatre en 2016 et un en 2015 et 2016. La population de *P. smaragdina* au champ est la plus importante au début de la période de fructification avec une moyenne d'environ 20 larves pour 100 fruits en janvier. Le suivi des larves issues des récoltes au laboratoire jusqu'au stade adulte a permis de déterminer les différentes causes de mortalité. L'ensemble de ces données ont été regroupées dans des tables de mortalité (*life tables*) par mois et par site de récolte. Des mortalités pour causes inconnues ont été observées aux stades larvaire et nymphal. La mortalité des nymphes est corrélée à l'interaction de la température et de l'humidité relative, avec une hausse de mortalité quand la température est haute et l'humidité faible. Quatre parasitoïdes de *P. smaragdina* ont été

identifiés à La Réunion: trois larvaires *Chelonus curvimaculatus* (Hymenoptera : Braconidae), *Pristomerus rivier*, et *Eriborus pallipes* (Hymenoptera : Ichneumonidae) ; un nymphal, un Tachinidae non identifié. L'abondance de *P. rivier* est positivement corrélée à la densité de population de *P. smaragdina*, ce qui lui confère le rôle de parasitoïde candidat pour une éventuelle lutte biologique.

Biology and life tables of *Prophantis smaragdina* (Lepidoptera: Crambidae: Spilomelinae), a major pest of coffee in Reunion Island.

O.Lavogez^{1, 2, 4}, S. Nibouche¹ B.Frérôt³ & E. Frago¹

¹ CIRAD, UMR PVBMT, F-97410 St Pierre, La Réunion, France

² Université de La Réunion, UMR PVBMT, F-97410 St Pierre, La Réunion, France

³ INRA, UMR 1392, Institut d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement de Paris, Route de St Cyr, F-78026 Versailles, France.

⁴SCA Bourbon Pointu, F-97430 Le Tampon, La Réunion, France

Abstract

The dynamics of the populations of herbivorous insects is known to be governed by several factors including interactions with their host plants, with higher trophic levels, and with abiotic conditions. Life table studies are an important tool to explore the factors imposing mortality to pest species, but they are methodologically biased to assess the mortality associated to natural enemies. This implies that in most life tables an important part of the mortality is associated to unknown causes (i.e. residual mortality). Here, we study the phenology and build life tables for the coffee berry moth, *Prophantis smaragdina* Butler (Lepidoptera: Crambidae: Spilomelinae), a major pest of coffee. This study was developed in Reunion Island, where *P. smaragdina* is the main cause of yield losses in one of the highest quality coffee varieties in the World: *Coffea arabica* cv. 'Bourbon Pointu'. We found that *P. smaragdina* populations peak during the warmest and wettest months of the Austral summer, although moth population density only correlated with mean monthly temperatures. Several parasitoids that attack this moth were identified. The ichneumonid *Pristomerus rivier* was found to be a good candidate to be used in integrated pest management programs against this moth as it was widely distributed, and had a positive density-dependent response to its host abundance. We have also found that the amount of *P. smaragdina* pupae that died due to unknown reasons was larger at high temperatures, but only when relative humidity was low. This result highlights that important information can be extracted from residual mortality in life tables, and evidences the importance of taking integrative approaches when studying the ecology of pest insects.

Key words: *Prophantis smaragdina*, population density, life table, parasitoid *Pristomerus rivier*

Introduction

Knowledge on the factors influencing the distribution and abundance of herbivorous insects is fundamental to understand the ecology of plant-based ecosystems. The dynamics of the populations of herbivorous insects is known to be governed by several factors including interactions with their host plants and with higher trophic levels like predators and parasitoids. Parasitoids are insects whose larvae develop at expenses of their hosts eventually killing them. Given their specialization at the host level, parasitoids are considered as important in driving the changes in the density of herbivore populations. Insect population dynamics is also modulated by abiotic conditions. Insect herbivores exposed to abiotic conditions outside their optimal range, often suffer increased mortality. These abiotic factors can also play a role in the interaction between insect herbivores and their natural enemies. Non-optimal temperatures, for instance, can extend insect development time and increase exposure to natural enemies (Thomson et al. 2010, Furlong and Zalucki 2017); whereas increased moisture can increase susceptibility to fungal pathogens (Hajek et al. 1990, Hajek and St. Leger 1994). Many herbivorous species feed on plants of economic importance and can thus cause economic losses when they reach large population densities. Determining mortality and variation in population size in these species is the first step to understand their ecology and to ultimately develop sustainable control methods.

Despite decades of research, insect ecologists are still far from understanding the relative role of plant factors vs natural enemies (i.e. bottom-up vs top-down control) in governing herbivore population dynamics. Long-term multigenerational studies are one way these impacts can be explored, although single generational studies are often used to infer the main mortality factors a species is exposed to. Finding out these factors is the key to implement any program to control pests, and the life table approach one of the most useful tools to achieve this. In a life table, the different developmental stages of a given insect population are studied and the causes inflicting mortality are assessed. Nevertheless, life tables are mostly designed to reveal the impact of top-down effects in herbivorous populations over bottom-up effects. For example, when no experimental approach is performed, sampling insects in the field and obtaining the parasitoids that develop inside them, is simpler than assessing how many individuals were lost in that same

population due to plant defenses or environmental insults. This important limitation is revealed by the large amount of mortality that has an unknown cause in life tables. This mortality (often known as "residual mortality"), however, may correlate with abiotic conditions, and can thus be used to infer the impact of these conditions on insect mortality (Cornell and Hawkins 1995, Cornell et al. 1998, Frago et al. 2011). As Royama (1996) pointed out, evaluating the strength of the different factors governing insect population dynamics is not a simple easy-to-use method, and we advocate here for a more complex approach where residual mortality is used to provide insights into the causes underlying insect population dynamics.

To do this, we used as a model system the Coffee berry moth, *Prophantis smaragdina* Butler (Lepidoptera: Crambidae: Spilomelinae) in Reunion Island, a French overseas territory located in the Indian Ocean. This moth is a major pest of coffee, which is mainly present in tropical and subtropical African countries, and in some islands of the south-western Indian Ocean. In Reunion Island a variety of coffee is cultivated, *Coffea arabica* cv. 'Bourbon Pointu'. This variety is one of the highest quality coffees in the World, with a remarkable price that can reach up to 400€ per kilogram. *P. smaragdina* is the only insect pest identified on this crop and is the main cause of yield losses. Larvae of this moth typically feed on the albumen of the seed in the green berry, and it can cause important yield losses because a single larva successively feeds on up to six berries. When the berries ripe and their endocarp hardens, the larvae can also feed on the pulp of the berry, or on the tips of the green branches. Although *P. smaragdina* larvae develop entirely on the plant, last instars move to the ground and spin a cocoon within a folded dry leave in which the pre-pupa and the pupa stages occur. Adult emergence occurs at night and adults copulate within the two days after emerging. In the tropics, this moth may have several generations every year because development time from egg hatching to reproductive adults takes from 30 to 66 days (Anonymous 1992, Ndugo and Ndoiru 1999, Chartier et al. 2013). The most common method to control this pest in Africa is the use of insecticides, which have well know negative impacts on the environment, consumers and farmers (Michereff et al. 2007). In addition, this method cannot be used in high quality coffee varieties like the 'Bourbon pointu' in Réunion Island because they are often produced within quality programs that are based on the use of Integrated Pest Management methods. A potential alternative to chemical insecticides is the use of the biological pesticide, *Bacillus thuringiensis*. Nevertheless, efficient treatments require four days without rain, thus leading to a low efficiency during the rainy season (Descroix, personal communication),



which is the season when coffee fructifies. The use of natural enemies, is therefore one of the few alternatives in high yield varieties like 'Bourbon pointu' in Reunion island. Natural enemies are also a good strategy to develop sustainable methods in developing countries in Africa and in the south-western Indian Ocean. Although few species of *P. smaragdina* natural enemies have already been described in Africa (Le Pelley 1968, Ndungi 1994, Mugo et al. 1997, Waller and Hillocks 2007), mortality dynamics in this pest as well as the complex of parasitoids associated to it are so far little understood.

This study had the following objectives: [i] to identify when control methods against *P. smaragdina* in Bourbon Pointu fields may be more efficient, the population density and phenology of the moth were determined throughout the year. [ii] To acquire novel knowledge on the factors governing the population dynamics of this moth, life tables were built and the different mortality factors assessed. [iii] To assess the potential of the different parasitoids obtained as biocontrol agents, whether their density correlated positively with the density of the moth was assessed (i.e. whether they have a significant density-dependence with the host). (iv) To explore the potential role of temperature and relative humidity on moth population dynamics and mortality, moth density and unknown (or residual mortality) in the life tables was correlated with these abiotic variables.

Materials and methods

Insect sampling

To assess the factors influencing de population dynamics of *P. smaragdina*, green coffee berries were harvested on coffee plants (*Coffea arabica*) of the 'Bourbon Pointu' cultivar. The whole larval development of *P. smaragdina* occurs within the coffee berry so that sampling berries at different times of the year is an appropriate method to estimate egg-to-adult mortality. To study the seasonal abundances of this pest, and its associated natural enemies, berries were collected every two weeks in seven sites belonging to different farmers in Réunion Island during 2015 and 2016 (

Table II. 1). Berry collection was performed during the fructification period of the plant, which takes place from January to July. Each berry sample contained from 200 to 600g of berries (depending on fruit availability), which were randomly collected in each site. Collected berries were then weighted at the nearest milligram, and to estimate the total number of berries in each sample, sample weight was divided by the mean weight of an individual berry. This latter variable was obtained by individually weighting ten fruits, which originated from the same sample so that size differences associated with the different study sites and periods of the year were taken into consideration.

Table II. 1 Fields sampled in this study

Fields ID	GPS coordinates	Altitude	year of harvest
tamp_c	21°14'S,55°30'E	800	2015
col_ci	21°07'S, 55°18'E	800	2015
tamp_g	21°15'S,55°30'E	700	2016
tamp_m	21°17'S,55°31'E	500	2016
chal_h	21°12'S,55°20'E	800	2016
chal_m	21°04'S,55°18'E	800	2016
tamp_p	21°15'S,55°30'E	700	2015; 2016

To obtain *P. smaragdina* larvae and their associated natural enemies, and to estimate the proportion of berries attacked, berries belonging to a given sample were spread on a plastic tray of 25 x 15cm. These trays were in turn individually placed inside a 30cm fine-mesh nylon net cubic cage to allow larvae to pupate and the capturing of any emerging parasitoid. In the field, last instar *P. smaragdina* larvae move to the ground and spin a cocoon within a folded dry leave in which they metamorphose. To reproduce this condition in the laboratory, double layers of filter paper were placed below the plastic tray containing the berries. Every week, rotten or dry berries were removed and replaced by berries from the same site, and dead *P. smaragdina* larvae, pre-pupae and pupae, as well as parasitoid pupae were collected. Since larval development takes more than one week, but less than two (Chartier et al. 2013), we assumed that with this method insects belonging to a given harvesting event were individually obtained from the cages. Cages were kept at $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $60 \pm 10\%$ relative humidity and a 12 L: 12 D photoperiod. Once collected

from the cages, *P. smaragdina* pupae were sexed and placed into a different 30cm fine-mesh nylon net cubic cages with 2% sucrose solution under the same temperature and relative humidity conditions until emergence. Parasitoid pupae were individually placed in petri dishes until emergence. *P. smaragdina* and parasitoid pupae were checked weekly to assess emergence. Once parasitoids emerged, they were kept in 70% alcohol for identification. To estimate absolute *P. smaragdina* density at each sampling event and site, the total number of larvae, pupae or adult obtained was divided by the estimated total number of berries collected, and the obtained values standardised so that density was expressed as the number of larvae per 100 fruits.

Construction of life tables

To assess the temporal dynamics of *P. smaragdina* mortality, data from all sites during a given month were pooled together so that a life table per month during the fructification period (January from July) was obtained leading to a total of seven life tables. To explore mortality differences between the seven study sites, data from all sampling events in the same site were also pooled together leading to a total of seven life tables. In each life table, the *P. smaragdina* life cycle was divided into three stages: larval, pupal and adult. Given our sampling design, in our study egg and early larval mortality were not assessed. Within a given life table, the decrease in density between two successive stages was considered as a measure of total mortality. This total mortality was then partitioned into mortality caused by the different mortality agents (mostly parasitoids) found in the collected material. A mortality agent called ‘unknown’ was associated with those individuals collected in the field that died in the laboratory for unknown causes. Life table columns were defined according to Bellows Jr et al. (1992), Southwood and Henderson (2009) and Frago et al. (2011). [i] l_x , individuals entering stage: estimated from absolute density. [ii] Stage dx , individuals dying in a stage; agent dx , individuals dying from a given factor. [iii] Stage q_x , or apparent mortality: proportion of individuals dying in a stage; agent q_x , proportion of individuals dying due to a given factor. [iv] m_x , marginal attack rates: they were calculated when more than one parasitoid species attacked the same *P. smaragdina* stage; this value is a correction of q_x in order to estimate the level of mortality associated with a single factor as if that was acting alone; it was calculated as follows :

$$m_i = 1 - (1 - q)^{q_i/q}$$

were m_i is a marginal attack rate from the i th agent, q_i is apparent mortality from the i th agent and q is a combined mortality rate from all mortality agents attacking the same *P. smaragdina* stage. [vi] k -values or ‘killing powers’: the logarithmic transformation of marginal attack rates.

Statistical analysis

All analyses were performed with the open source software R (R Core Team 2016). Seasonal differences in population density of *P. smaragdina* and mortality due to the different mortality agents were compared amongst months with a linear mixed effects model that included month as a categorical fixed effect. To account for the non-independence of data obtained in the same year or site, year nested within site was added as random effect. To improve model fit, a square root transformation was conducted on the response variable (i.e. population density). Comparison of *P. smaragdina* mortality causes between sites was also carried out with a linear mixed effects model. In this model, site was considered as a categorical fixed effect, and month nested within year was added as random effect. The first model exploring differences in moth density was built with a gaussian error distribution (general linear mixed model), whereas the models related to moth mortality were analysed with a binomial error distribution with the logit link function (generalized linear model). In these models the response variable was the bivariate variable containing ‘the total number of *P. smaragdina* individuals obtained’ and ‘the total number of *P. smaragdina* individuals obtained – individuals dead by the different mortality causes’. When the fixed effect in the models above was significant, post-hoc differences between categories were tested with a Tukey test, using the ‘multcomp’ package in R (Hothorn et al. 2008).

To explore whether any parasitoid species responded to its host density in a density-dependent manner, linear mixed effects models were carried out on *P. smaragdina* population density as predictor variable and the density of the different parasitoids (expressed as the number of parasitoid pupae found in our field samples, or agent q_x) as a response. An independent linear mixed model was built for each parasitoid and the response variable was square root transformed to improve model fit. The month was considered as fixed effect, and year nested within site was added as random effect.

Monthly mean temperature and relative humidity were retrieved from the nearest sampling point in the global database NCEP (National Centre for Environmental Prediction) with the package

RNCEP in R (Kemp et al. 2012). These values were used to estimate their effect on *P. smaragdina* population density and on unknown mortality at the larval and pupal stage. To do this, three different models were built, one to test the effect of these variables on moth density, and two to explore their effect on unknown mortality during either the larval or the pupal stages. In the first model a general linear model with a Gaussian error distribution was used, and the response was log transformed to increase model fit. The other two models were built with a binomial error distribution using the quasibinomial family, which corrects for any potential overdispersion in the model. In these latter models the response variable was the bivariate variable containing ‘the total number of *P. smaragdina* individuals obtained’ and ‘the total number of *P. smaragdina* individuals obtained – individuals dead by unknown causes’. In these three models mean monthly temperature, relative humidity and their interaction were included as fixed factors. Insects were sampled in the field and subsequently reared in controlled temperatures and relative humidity conditions. This implies that our model on the role of abiotic conditions on unknown mortality may not express direct effects of abiotic conditions on mortality, but carryover effects from early to late larval stages, pre-pupae and pupae. Significance of fixed effects in all mixed effects models were tested with the chi square test, and in both mixed effect models and generalised linear models, model fit was assessed by visually inspecting the residuals. All mixed effects models with a binomial error distribution showed no sign of overdispersion with dispersion factors lower than 1. Mixed effects models were built with the lme4 package (Bates et al. 2015).

Results

Population density

Population density of *P. smaragdina* was larger at the beginning of the fructification period i.e. in January with 18.36 ± 7.51 (mean $\pm$ SE) larvae per 100 fruits. As expected, population density of *P. smaragdina* then decreased along with the fructification period from 8.60 ± 3.91 larvae per 100 fruits in February to 0.36 ± 0.16 larvae per 100 fruits in July.

Monthly mean temperature decreased along with the fructification period from $25.81 \pm 0.15^\circ\text{C}$ (mean $\pm$ SE) in January to $19.81 \pm 0.26^\circ\text{C}$ in July (**Figure II. 1**). Thus, temperature and population

density were positively correlated ($\Delta_{1, 42} = 31.88$, $P < 0.01$). Relative humidity, however, did not correlate with moth density ($\Delta_{1, 41} = 3.39$, $P = 0.06$). As revealed by a non-significant interaction between temperature and relative humidity, the temperature effect on moth density was not dependent on humidity ($\Delta_{1, 40} = 1.16$, $P = 0.28$).

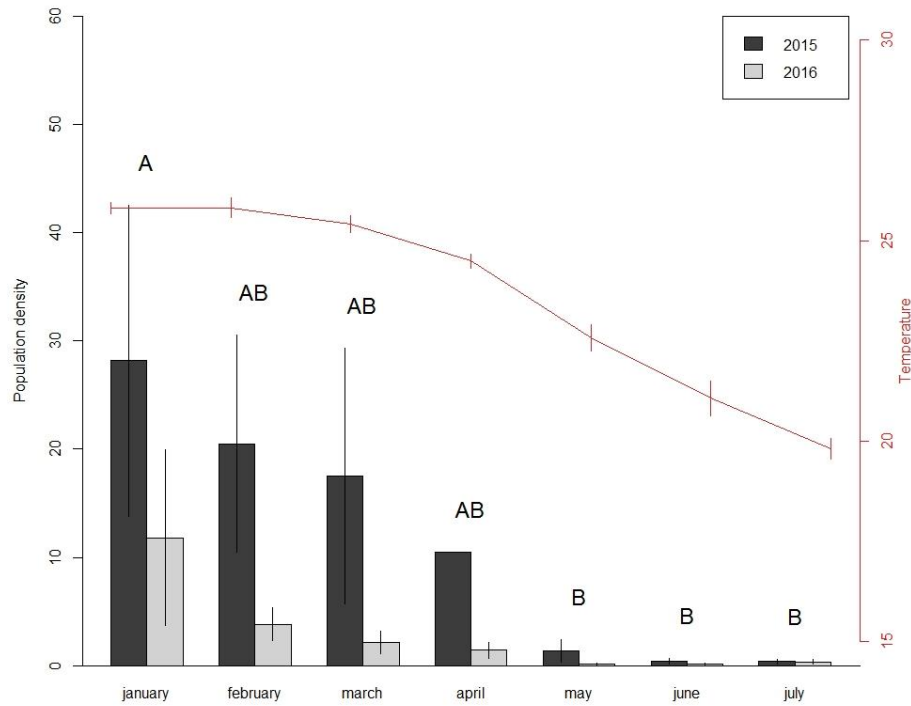


Figure II. 1 Phenology of the Coffee Berry Moth *Prophantis smaragdina* expressed as population density $\pm$ se every month in 2015 (dark gray) and 2016 (light gray). The red line represents mean monthly.

Parasitoids

Four *P. smaragdina* parasitoids were obtained on Bourbon Pointu berries in La Reunion. Three were larval parasitoids including *Chelonus* cf. *curvimaculatus* (Hymenoptera: Braconidae) *Pristomerus rivier*, and *Eriborus* cf. *Pallipes* (Hymenoptera: Ichneumonidae), and one yet unidentified Tachinidae fly was obtained from pupae. *P. rivier* was present in the seven sampled sites and its abundance was not significantly different between sites ($\chi^2_6 = 3.72$, $P = 0.71$). One individual of *E. cf. pallipes* was found in one site (chal_m), one individual of *C. cf. curvimaculatus* was found in one site (tamp_p). The unidentified Tachinidae species was found in four sites (tamp_c, tamp_p, chal_h, chal_m) (Table II. 3 and Figure II. 4).

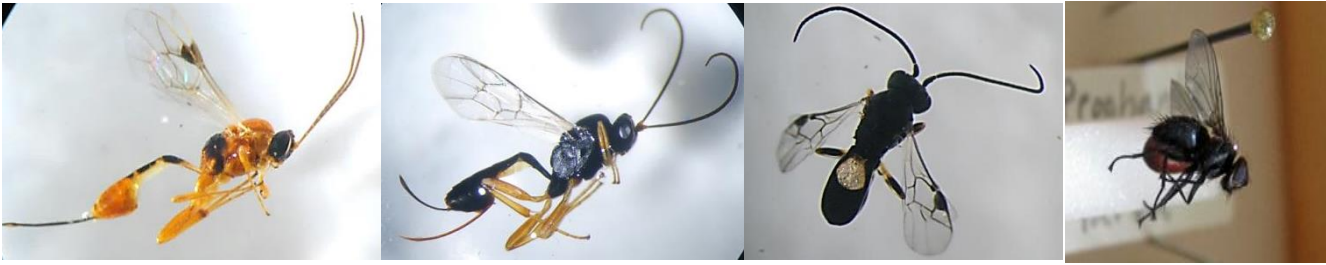


Figure II. 2 Parasitoids of the Coffee Berry Moth *Prophantis smaragdina* in Reunion Island. From left to right: *Pristomerus rivier*, *Eriborus cf. pallipes*, *Chelonus cf. curvimaculatus* and unidentified Tachinidae.

P. rivier was thus the only parasitoids that was widely distributed and its abundance was significantly and positively related with *P. smaragdina* population density ($\chi^2_1 = 120.43$, $P < 0.01$) (Figure II. 3).

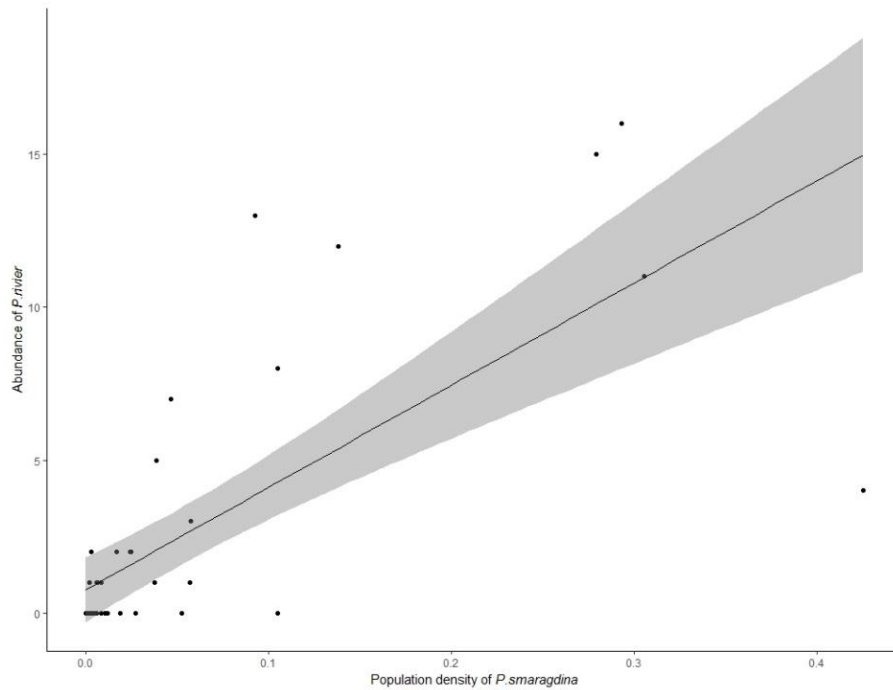


Figure II. 3 Relationship between the population density of the Coffee Berry Moth *Prophantis smaragdina* (number of larvae/100 fruits) and the abundance of the parasitoid *Pristomerus rivier* parasitoid (number of pupae/100 fruit). The shade line represents the 95% confidence interval for the linear model.

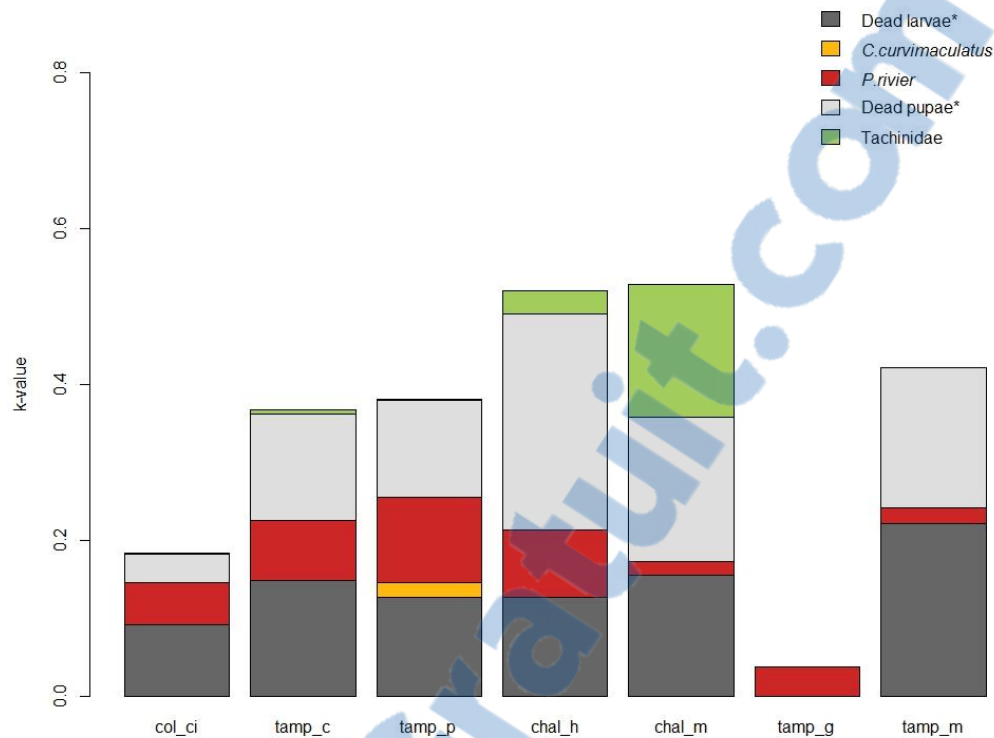


Figure II. 4 Mortality causes of the Coffee Berry Moth *Prophantis smaragdina* represented as k-values obtained from life tables separated among study sites. . * Dead for unknown reason.

Unknown mortality causes

Mortality for unknown reasons was observed at the larval and pupal stages, with a mean $\pm$ SE of 24.72 ± 4.37 and 41.08 ± 5.52 of all mortality measured, respectively. Unknown mortality was significantly different between months during both the larval ($\chi^2_6 = 38.52$, $P < 0.01$) and the pupal stage ($\chi^2_6 = 51.13$, $P < 0.01$) (Figure II. 5). Unknown mortality was significantly different between sites during both the larval ($\chi^2_6 = 29.01$, $P < 0.01$) and the pupal stage ($\chi^2_6 = 35.80$, $P < 0.01$). As revealed by the post-hoc test, unknown mortality during the larval stage was significantly higher in tamp_m site than in tamp_p site (Tukey test: $P < 0.001$) and in chal_m (Tukey test: $P < 0.001$); in chal_m than in chal_h (Tukey test: $P = 0.03$). Unknown mortality during the pupal stage did not vary among sites except between tamp_c than in chal_h (Tukey test: $P < 0.01$) and chal_m (Tukey test: $P < 0.01$). (Table II. 3).

Unknown mortality during the larval stage was not significantly related with temperature ($\Delta_{1, 16} = 1.69$, $P = 0.6$) or humidity ($\Delta_{1, 17} = 18.92$, $P = 0.08$), and the interaction between these two variables was also non-significant ($\Delta_{1, 15} = 17.32$, $P = 0.09$).

Unknown mortality during the pupal stage was not significantly related with temperature ($\Delta_{1, 17} = 0.56$, $P = 0.82$) or humidity ($\Delta_{1, 16} = 10.46$, $P = 0.32$). As revealed by a significant interaction between temperature and relative humidity, however, the effect of temperature on pupal mortality depended on relative humidity ($\Delta_{1, 15} = 56.32$, $P = 0.02$). Mortality was positively correlated with temperature, but only when relative humidity was low. (Figure II. 6)

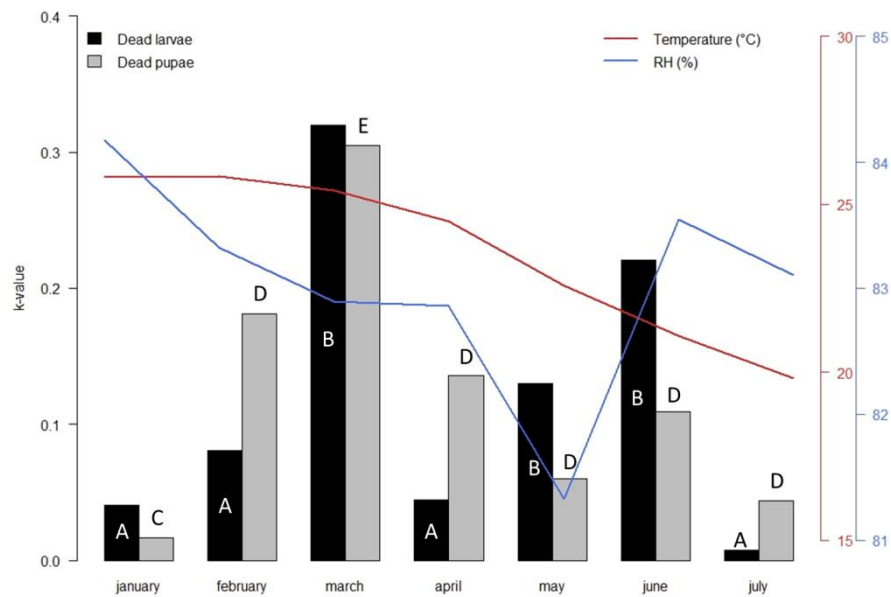


Figure II. 5 Unknown mortality at the larval (dark gray) and pupal stages (light gray) of Coffee Berry Moth *Prophantis smaragdina* by months represented as k-values obtained from the life tables. The red and blue lines represent, respectively, mean monthly temperature and relative humidity in 2015 and 2016. Different letters represent significant differences within the same moth stage.

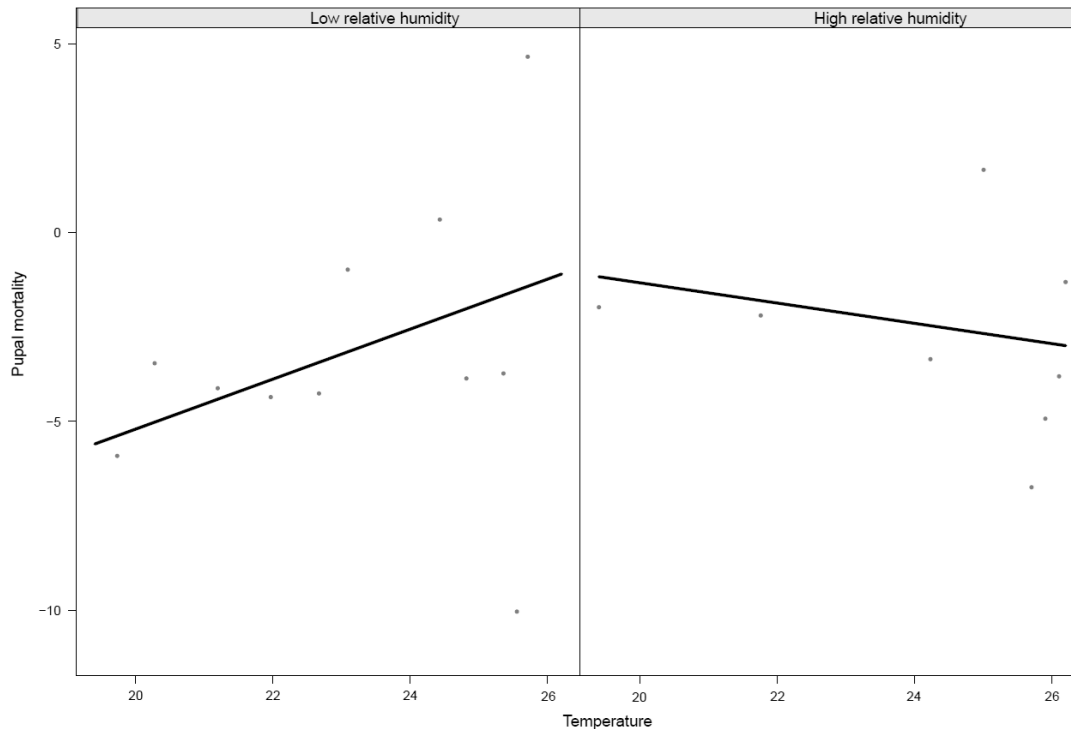


Figure II. 6 Plot showing partial residuals from the model on the effect of temperature on Coffee Berry Moth *Prophantis smaragdina* pupal mortality at low and high relative humidity. The fitted lines are estimated from the interaction term in the generalized mixed effects model, and the points represent model partial residuals. This plot was done with the visreg package in R (Breheny and Burchett 2012).

Discussion

In this study we have explored the phenology of the moth *P. smaragdina*, and the different natural enemies imposing mortality to this important pest of coffee berries. Population density was significantly higher in January with an average of 20 larvae per 100 fruits, which subsequently decreases until it reached very low densities in June and July. This possibly reflects the entrance of the moth into diapause as pre-pupae or pupae, which is sometimes induced by low temperatures in several tropical moths (Tippawan et al. 1999, Dhillon et al. 2016). The peak density period corresponds to the beginning of the fructification of the coffee variety we have studied, which also coincides with the warmest and wettest months of the austral summer. This led to a significant and positive correlation between temperature and population density of *P. smaragdina*. Relative humidity, however, did not correlate with population density, which contrasts with the results found by Mendesil and Tesfaye (2009) who found a positive correlation



between population density and relative humidity in Ethiopia. The peak in population density of *P. smaragdina* in January is likely to be explained by an optimal phenologic stage of the coffee berries, together with an optimal temperature for *P. smaragdina* to develop. This may imply that in summer, if the moth is not naturally suppressed by natural enemies, populations may easily outbreak and cause extensive damage in coffee orchards. Efficient control strategies against this pest are therefore likely to be more efficient if they target the larvae at the beginning of the fructification period of the plant, at least in the variety studied here: the Bourbon Pointu of Reunion Island.

In our study, egg to adult mortality in *P. smaragdina* populations feeding on Bourbon Pointu fields in La Réunion was assessed, and four parasitoids were obtained. Three of them were larval parasitoids including *P. rivier*, *C. cf. curvimaculatus* and *E. cf. Pallipes*, and one was an unidentified Tachinidae fly that attacks larvae, but emerges at the pupal stage of its host. Knowledge on the natural enemies of *P. smaragdina* are so far very limited, but in a previous study in Reunion island *P. rivier* and the Tachinidae were already mentioned by Chartier et al. (2013). Our study thus represents the first mentions of *C. cf. curvimaculatus* and *E. cf. pallipes* as natural enemies of *P. smaragdina* in La Réunion. Few Ichneumonidae, Braconidae and Tachinidae species were also mentioned in other countries where *P. smaragdina* is present. These references include some unidentified Braconidae, Ichneumonidae and Tachinidae parasitoids in Sao Tomé et Principe; an Ichneumonidae belonging to the genus *Microbracon* sp. in Congo; an unidentified Ichneumonidae belonging to the genus *Pristomerus* and four Braconidae: *Apanteles coffea*, *Cractocnema* sp., *Macrocentrus* sp. et *Phanerotoma* sp. in Kenya (Le Pelley 1968, Ndungi 1994, Mugo et al. 1997, Waller and Hillocks 2007). In our study, we have also studied the biology of the obtained parasitoids, and explored their potential as biocontrol agents. Among the four parasitoids found, *P. rivier* was widespread as was the only one present in all sites studied. In addition, the abundance of this parasitoid was positively correlated with the density of its host. This result suggests that this parasitoid is likely to respond to its host dynamics in a density-dependent manner, which makes it a good candidate in a future integrated pest management programs.

Life table studies are a useful tool to explore the factors imposing mortality to insects. This technique has long been used as a first step to understand the population dynamics of pests species. An important limitation of life table analyses is that they are particularly designed to

assess survival throughout the life cycle of the insect, and not to identify each specific mortality agent. This implies that in life tables an important amount of mortality is relegated to unknown factors. Here, we have used this "unknown" (or residual) mortality to explore whether it correlated with temperature and percent humidity. We have shown that pupal mortality was positively correlated with temperature, but only when relative humidity was low. This effect could be due to an additive effect of two stressful conditions on either the host plant, or the moth. Since *P. smaragdina* is a moth that lives within the plant tissue, it is likely that high temperature and low relative humidity may have an indirect impact on the moth through a lack of water in the fruit (Scriber 1977, Martin and Van't Hof 1988). This pupal mortality when relative humidity decreased could be a factor leading to a decrease in *P. smaragdina* populations at the end of the cyclonic season. Based on our sampling design, *P. smaragdina* were collected at the larval stage and insects developed into pupae in the laboratory under controlled conditions. Our significant effect of temperature and humidity may thus represent a carryover effect from the larval to the pupal stage, an effect that has been found in many insect species (Carisey and Bauce 2007, Blackiston et al. 2008)

Future experiments are needed to explore this question, for example to unveil the role of temperature and humidity on the survival of different *P. smaragdina* stages. Indeed numerous studies showed that development, survival and abundance of herbivorous insects depend directly or indirectly on climate conditions, especially temperature and humidity (Atkinson 1994, Bale et al. 2002, Han et al. 2008, Jaworski and Hilszczański 2013, Colinet et al. 2015). Given the large distribution of the moth studied here (Guillermet 2005, Waller and Hillocks 2007), these impacts may depend on the origin of the moth, on its genetic background and on its capability to develop plastically on different environments (Kerslake et al. 1996, Amarasekare and Savage 2011).

Herbivorous insects live embedded in complex ecosystems and are exposed to a plethora of mortality agents (Dicke 2000, Jamieson et al. 2012). These agents often regulate insect populations preventing them to reach large densities that may cause extensive damage in plant tissues. Agricultural landscapes, however, are simplified versions of natural systems, and insects often become uncontrolled and become pests. Integrative approaches that explore mortality due to biotic and abiotic factors may help designing novel techniques that integrate not only pest control measures, but also a deeper knowledge on insect ecology. Using unknown mortality in life tables to correlate it with abiotic conditions is one way this can be achieved, but experimental

approaches are needed to further confirm the patterns observed. Deep knowledge on pest biology is also important. In the model system studied here, for example, we know that although larvae feed on the first maturation stage of coffee berries, they can also have alternative host plants including other Rubiaceae species that do not belong to the *Coffea* genus, but also on Verbenaceae and Menispermaceae (Paulian and Viette 1956, Le Pelley 1959, Hinckley 1964, Guillermet 2005, Waller and Hillocks 2007, Kaiser et al. 2008). In an integrated pest control program, these plants need to be considered as they may maintain *P. smaragdina* populations when coffee berries are at a phenological stage that is not optimal for larval feeding.

The coffee variety studied here, the Bourbon Pointu, is of important economic value in Reunion island, but the methods and evidences presented here may be useful to understand and ultimately better control other pest species of coffee, and tropical pest insects in general. Deeper knowledge on parasitoid ecology is also important, and in our study knowing how *P. rivier* is distributed at the landscape scale will be important to confirm its biological performance and its potential as a biocontrol agent against *P. smaragdina* (Maalouly et al. 2013). This information may help setting up an integrated control method against the studied pest, which will limit the use of pesticides and take the tritrophic context plant – insect – natural enemy into account while considering its interaction with the environment (climate, landscape and human activity).

Acknowledgements

We dedicate this article in to the memory of Serge Quilici who initiated the project. We would like to thank Cedric Lallemand for technical help in the field, the farmers Patrick Bernard, Stephane Benard, Maximin Techer, Henri Yu-Sin and Isabelle Law-Yat for giving us access of their coffee field. The authors thank the Plant Protection Platform (3P, IBISA) where EAG and extraction experiments were carried out.

This work was funded by the European Union: European regional development fund (ERDF), by the Conseil Régional de La Réunion, by the Centre de Coopération internationale en Recherche agronomique pour le Développement (CIRAD), by the Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) and by the Agence Nationale de la Recherche et de la Technologie (ANRT) through the CIFRE PhD Grant No. 2013/1406 for O. Lavogez.

Table II. 2 Life tables of the Coffee Berry Moth *Prophantis smaragdina* by month pooling together data from the seven sites studied in 2015 and 2016.

		Lx	dx	qx	mx	k.value
JANUARY						
	Larvae	1000.00	117.14	0.12	0.12	0.13
	<i>C. curvimaclatus</i>		0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>E. pallipes</i>		0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>P. rivier</i>		80.52	0.08	0.08	0.09
	Unknown*		36.62	0.04	0.04	0.04
	Pupae	882.86	17.28	0.02	0.02	0.02
	Tachinidae		0.74	0.00	0.00	0.00
	Unknown*		16.55	0.02	0.02	0.02
	Imagos	865.57				
FEBRUARY						
	Larvae	1000.00	141.97	0.14	0.16	0.18
	<i>C. curvimaclatus</i>		0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>E. pallipes</i>		0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>P. rivier</i>		75.14	0.08	0.09	0.10
	Unknown*		66.83	0.07	0.07	0.08
	Pupae	858.03	184.76	0.18	0.18	0.22
	Tachinidae		32.97	0.03	0.03	0.04
	Unknown*		151.78	0.15	0.15	0.18
	Imagos	673.27	NA	NA	NA	NA
MARCH						
	Larvae	1000.00	224.30	0.22	0.30	0.38
	<i>C. curvimaclatus</i>		0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>E. pallipes</i>		0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>P. rivier</i>		51.31	0.05	0.06	0.06
	Unknown*		172.99	0.17	0.24	0.32
	Pupae	775.70	254.84	0.25	0.25	0.32
	Tachinidae		13.23	0.01	0.01	0.01
	Unknown*		241.61	0.24	0.24	0.30
	Imagos	520.86				
APRIL						
	Larvae	1000.00	65.52	0.07	0.07	0.08
	<i>C. curvimaclatus</i>		0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>E. pallipes</i>		0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>P. rivier</i>		26.50	0.03	0.03	0.03
	Unknown*		39.02	0.04	0.04	0.04
	Pupae	934.48	145.58	0.15	0.15	0.16
	Tachinidae		23.39	0.02	0.02	0.02
	Unknown*		122.19	0.12	0.12	0.14
	Imagos	788.90				
MAY						
	Larvae	1000.00	384.82	0.38	0.45	0.29
	<i>C. curvimaclatus</i>		28.57	0.03	0.04	0.05
	<i>E. pallipes</i>		200.00	0.20	0.20	0.00
	<i>P. rivier</i>		66.23	0.07	0.09	0.11
	Unknown*		90.01	0.09	0.11	0.13
	Pupae	615.18	55.84	0.06	0.06	0.06
	Tachinidae		0.00	0.00	0.00	0.00
	Unknown*		55.84	0.06	0.06	0.06
	Imagos	559.34				
JUNE						
	Larvae	1000.00	165.41	0.17	0.22	0.28
	<i>C. curvimaclatus</i>		0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>E. pallipes</i>		0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>P. rivier</i>		31.33	0.03	0.05	0.06
	Unknown*		134.09	0.13	0.16	0.22
	Pupae	834.59	235.59	0.24	0.24	0.11
	Tachinidae		0.00	0.00	0.00	0.00
	Unknown*		235.59	0.24	0.24	0.11
	Imagos	599.00				
JULY						
	Larvae	1000.00	15.15	0.02	0.02	0.02
	<i>C. curvimaclatus</i>		0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>E. pallipes</i>		0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>P. rivier</i>		7.58	0.01	0.01	0.01
	Unknown*		7.58	0.01	0.01	0.01
	Pupae	984.85	121.79	0.12	0.12	0.16
	Tachinidae		83.33	0.08	0.08	0.12
	Unknown*		38.46	0.04	0.04	0.04
	Imagos	863.05				

Table II. 3 Life table of the Coffee Berry Moth *Prophantis smaragdina* by site pooling together data from the different sampling events in 2015 and/or 2016.

	lx	dx	qx	mx	k.value
col ci					
Larvae	1000.000	127.767	0.128	0.136	0.146
<i>C. curvimaculatus</i>		0.000	0.000	0.000	0.000
<i>E. pallipes</i>		0.000	0.000	0.000	0.000
<i>P. rivier</i>		47.677	0.048	0.051	0.055
Unknown*		80.090	0.080	0.086	0.091
Pupae	872.233	34.499	0.034	0.034	0.037
Tachinidae		1.605	0.002	0.002	0.002
Unknown*		32.893	0.033	0.033	0.035
Imagos	837.734				
tamp c					
Larvae	1000.000	181.798	0.182	0.206	0.226
<i>C. curvimaculatus</i>		0.000	0.000	0.000	0.000
<i>E. pallipes</i>		0.000	0.000	0.000	0.000
<i>P. rivier</i>		64.518	0.065	0.075	0.078
Unknown*		117.280	0.117	0.132	0.148
Pupae	818.202	127.818	0.128	0.128	0.141
Tachinidae		5.232	0.005	0.005	0.005
Unknown*		122.586	0.123	0.123	0.136
Imagos	690.384				
tamp p					
Larvae	1000.000	161.193	0.161	0.216	0.255
<i>C. curvimaculatus</i>		10.989	0.011	0.017	0.019
<i>E. pallipes</i>		0.000	0.000	0.000	0.000
<i>P. rivier</i>		73.435	0.073	0.095	0.110
Unknown*		76.769	0.077	0.104	0.127
Pupae	838.807	108.109	0.108	0.108	0.126
Tachinidae		1.707	0.002	0.002	0.002
Unknown*		106.402	0.106	0.106	0.124
Imagos	730.698				
chal h					
Larvae	1000.000	132.857	0.133	0.174	0.213
<i>C. curvimaculatus</i>		0.000	0.000	0.000	0.000
<i>E. pallipes</i>		0.000	0.000	0.000	0.000
<i>P. rivier</i>		56.667	0.057	0.076	0.087
Unknown*		76.190	0.076	0.098	0.127
Pupae	867.143	460.916	0.461	0.461	0.307
Tachinidae		28.452	0.028	0.028	0.030
Unknown*		432.463	0.432	0.432	0.277
Imagos	406.227				
chal m					
Larvae	1000.000	288.255	0.288	0.302	0.172
<i>C. curvimaculatus</i>		0.000	0.000	0.000	0.000
<i>E. pallipes</i>		166.667	0.167	0.167	0.000
<i>P. rivier</i>		11.940	0.012	0.016	0.017
Unknown*		109.649	0.110	0.119	0.156
Pupae	711.745	284.992	0.285	0.285	0.356
Tachinidae		135.287	0.135	0.135	0.171
Unknown*		149.705	0.150	0.150	0.185

Imagos	426.752				
<u>tamp g</u>					
Larvae	1000.000	36.715	0.037	0.037	0.038
<i>C. curvimaculatus</i>		0.000	0.000	0.000	0.000
<i>E. pallipes</i>		0.000	0.000	0.000	0.000
<i>P. rivier</i>		36.715	0.037	0.037	0.038
Unknown*		0.000	0.000	0.000	0.000
Pupae	963.285	0.000	0.000	0.000	0.000
Tachinidae		0.000	0.000	0.000	0.000
Unknown*		0.000	0.000	0.000	0.000
Imagos	963.285				
<u>tamp m</u>					
Larvae	1000.000	113.178	0.113	0.164	0.241
<i>C. curvimaculatus</i>		0.000	0.000	0.000	0.000
<i>E. pallipes</i>		0.000	0.000	0.000	0.000
<i>P. rivier</i>		15.504	0.016	0.018	0.019
Unknown*		97.674	0.098	0.146	0.222
Pupae	886.822	139.208	0.139	0.139	0.180
Tachinidae		0.000	0.000	0.000	0.000
Unknown*		139.208	0.139	0.139	0.180
Imagos	747.614				

Chapitre III



Comportement d'accouplement de
Prophantis smaragdina

Chapitre III - Article 2 Mating behaviour of the coffee berry moth *Prophantis smaragdina* (Lepidoptera: Crambidae: Spilomelinae) and identification of putative female sex pheromone components. *In prep*

PARTIE SOUMISE A CONFIDENTIALITE

Chapitre III - Article 3 Volatile compounds produced by hair pencils in male *Prophantis smaragdina* (Lepidoptera: Crambidae: Spilomelinae) and first evidence of perillyl alcohol as an insect product. *Accepted to Journal of Insect Science*

Contexte et objectifs de l'étude :

Lors des observations du comportement d'accouplement de *P. smaragdina*, une odeur était sentie systématiquement au moment où le mâle exposait ses pinceaux androconiaux vers la femelle. De nombreuses études ont montré que des mâles de lépidoptères hétérocères, lors du comportement de cour, émettaient une phéromone par le biais de leurs androconies, induisant un comportement inhibiteur ou attractif chez les autres mâles (Hirai 1977, Baker 1983) et/ou chez les femelles (Fitzpatrick and McNeil 1988, Hillier and Vickers 2004b) de la même espèce. La phéromone émise par le mâle jouerait donc un rôle primordial dans le succès de l'accouplement (Jacquin et al. 1991, Lassance and Löfstedt 2009, Roscoe et al. 2016). Les composés de la phéromone mâle identifiés chez des espèces de lépidoptères hétérocères sont souvent des composés aromatiques dont l'odeur est perceptible par l'Homme (Aplin and Birch 1970, Blum 1987). L'objectif de l'étude était d'identifier les composés volatils émis par les pinceaux androconiaux (*hairs pencils* ou HPs) des mâles de *P. smaragdina* et d'étudier la réponse neuronale des antennes mâle et femelle face aux composés identifiés par électroantennographie (EAG).

En résumé

L'analyse des composés volatils des HPs mâle de *P. smaragdina*, extraits selon le protocole décrit par Ameline (1999), a permis d'identifier cinq composés aromatiques : du phénylacétaldéhyde, du phényléthyl alcool, du créosol, du périllyl alcool et du méthyl anthranilate. A notre connaissance, le périllyl alcool est pour la première fois identifié comme produit animal. Les analyses EAG montrent que l'extrait de HPs élicite une réponse neuronale des antennes mâle et femelle significativement supérieure au témoin. Ce même résultat est obtenu pour le créosol. Le phénylacétaldéhyde et le méthyl anthranilate élicitent une réponse neuronale

des antennes supérieure au témoin chez les femelles uniquement. Face aux résultats obtenus, des hypothèses peuvent être émises : les composés volatils des HPs mâles joueraient un rôle sur les mâles et sur les femelles *P. smaragdina*. Plus précisément, le créosol jouerait un rôle sur le comportement des mâles et des femelles. Le phénylacétaldéhyde et le méthyl anthranilate joueraient un rôle sur le comportement des femelles. Des études comportementales sur les mâles et femelles avec les composés identifiés sont nécessaires pour montrer le rôle de chaque molécule composant la phéromone mâle de *P. smaragdina*.

Volatile compounds produced by hair pencils in male *Prophantis smaragdina* (Lepidoptera: Crambidae: Spilomelinae) and first evidence of perillyl alcohol as an insect product.

Oriane Lavogez^{1,2,4}, Centina Pinier³, Samuel Nibouche¹ & Brigitte Frérot³

¹ CIRAD, UMR PVBMT, F-97410 St Pierre, La Réunion, France

² Université de La Réunion, UMR PVBMT, F-97410 St Pierre, La Réunion, France

³ INRA, UMR 1392, Institut d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement de Paris, Route de St Cyr, F-78026 Versailles, France.

⁴SCA Bourbon Pointu, F-97430 Le Tampon, La Réunion, France

Abstract

Courtship behaviour in several pyralid species is associated with the exposure to male hair pencils or special scales that released volatile compounds. Hair pencils chemicals induce conspecific female and / or male behaviours are therefore qualified of male pheromones. Preliminary observation on the Coffee berry moth *Prophantis smaragdina* Butler (Lepidoptera: Crambidae: Spilomelinae) mating behaviour showed that the male displays abdominal hair pencils (HPs) located on the last abdominal segment. The human nose can smell a special scent associated with this behaviour. The aim of the study was to identify the male volatile compounds and validate the results by electroantennography (EAG) on male and female antennae. Gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) analysis of male HP emissions showed five aromatic compounds identified as phenylacetaldehyde, phenylethyl alcohol, creosol, perillyl alcohol and methyl anthranilate. EAG results showed that creosol elicited a significantly greater response than the control on both male and female antennae. On female antennae, response to methyl anthranilate and phenylacetaldehyde were also significantly higher than the response to the control. Those results suggest that creosol could play a behavioural role on conspecific male and female *P. smaragdina* during courtship behaviour and mating choice. Methyl anthranilate and phenylacetaldehyde could also play a role on female behaviour. Perillyl alcohol; is for the first time identified as an insect product. Behavioural bioassays with the synthetic components are missing because the insect did not mate under laboratory conditions but are needed to understand the role of the *P. smaragdina* male pheromone.

Key words: GC-MS, EAG, mating behaviour, male hair pencil compounds, Methyl anthranilate, phenylacetaldehyde, creosol, perillyl alcohol

Introduction

Moth mating behaviour relies on male attraction by the female sex pheromone. After locating the female and landing in the vicinity, the males undertake a courtship more or less sophisticated, leading to a copulation attempt and female acceptance. In several species, the courtship behaviour in male moths is associated with the display of scent-releasing organs called androconial scales, scent fans, hair pencils (HPs) or coremata, from which volatile compounds are emitted (Birch et al. 1990). The females detect the compounds during the courtship and a kind of chemical dialogue is established between the male and the female (Baker 1983, Jacquin et al. 1991). Hair pencil chemicals were identified in several moth species as a blend of volatile molecules, often aromatic molecules (Aplin and Birch 1970, Blum 1987, Birch et al. 1990). Male HPs are diverse across taxa, and are not constant within a systematic group. HP volatile compounds communicate information specific to a species and play a major role in reproductive isolation between sympatric, closely related species (Hillier and Vickers 2011). HP components act on conspecific female and / or male behaviours and can be considered as male pheromones. They influence the overall mating success of a courting male (Fitzpatrick and McNeil 1988, Hillier and Vickers 2004a) and a significant decrease in mating success was observed when HPs were extruded or washed with solvent solution (Hirai 1977, Jacquin et al. 1991, Lassance and Löfstedt 2009, Roscoe et al. 2016). Although the precise role of the HP associated pheromones may vary from one species to another and from one author to another, the previously cited authors conclude that male pheromones are critical for female acceptance (Birch et al. 1989). In the Oriental fruit moth *Grapholita molesta* Busk (Lepidoptera: Tortricidae), males display the HPs in front of the females, and attract them at short-range (Nishida et al. 1982, Baker and Haynes 1989). Such behaviour was also observed in *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera: Noctuidae) (Frérot, unpublished data). Male moth pheromones are also described as affecting the behaviour of conspecific males, inducing an attraction Baker (1983) or an inhibition (Hirai 1977). Some species, in response to conspecific male HP emissions, aggregate such as lekking behaviour in male tobacco moths *Ephestia elutella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae) (Phelan et al. 1986).

Coffee berry moth *Prophantis smaragdina* Butler (Lepidoptera : Crambidae : Spilomelinae) is an important coffee pest mainly present in tropical and subtropical African countries, and in some islands in the south-western Indian Ocean (Guillermet 2009, Waller et al. 2007). Preliminary observations showed that females initiate the calling behaviour between 3.5th and 9th hours after the beginning of the scotophase and mating occurs between 4th and 9th hours after the beginning of the scotophase (Chartier, Lavogez, unpublished data). The male exhibited a very short courtship (less than 2 seconds) for a successful copulation, whereas for unsuccessful mating it lasts longer due to the replication the male attempts to copulate. When close to the female, the male curves the abdomen and attempts to copulate. At this stage, male abdominal HPs are displayed and a fragrance can be smelt by the human nose. These preliminary observations suggest that the male *P. smaragdina* emits volatile compounds that may act as a pheromone during the courtship behaviour. When mating has occurred the pair assumes a 'tail to tail' position.

The present paper described identification of five male HP volatile compounds using gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and electroantennography (EAG) on female and male *P. smaragdina*.

Materials and methods

Insect rearing

Imagos used for our experiments came from field collected larvae which were reared in the laboratory. Green coffee berries (*Coffea* spp.) were harvested during the fructification phase every one to two weeks on six different cultivars in the coffee international germplasm collection of the French Development Research Institute (21°18'S, 55°30'E) and on 'Bourbon Pointu' cultivar in five fields (21°04'S, 55°18'E for 2 fields; 21°14'S, 55°30'E; 21°12'S, 55°20'E and 21°04'S, 55°18'E), on Reunion Island. Coffee berries were spread on plastic lid butter dishes (25*15cm) and put inside a 30cm fine-mesh nylon net cubic cage kept at 25 ± 1°C, 60 ± 10% relative humidity and 12 L: 12 D photoperiod. In the field, final instar *P. smaragdina* larvae fall on the ground and spin a cocoon with a folded dry leaf for the pre-pupa and pupa stages. To reproduce this in the laboratory, double layers of paper towel were put into the cage under the elevated lid of the butter dish containing the berries allowing the larvae to pupate. Every week,

rotten and dry berries were removed and replaced. Pupae were collected, sexed and put separately in 30cm fine-mesh nylon net cubic cages with 2% sucrose solution under the same temperature and relative humidity conditions until emergence. Female and male cages were kept in two separate rooms to avoid odour experiences between the two sexes.

Chemicals

Synthetic chemicals methyl 2-aminobenzoate (methyl anthranilate) (>99%), *p*-mentha-1,8-diene-7-ol (perillyl alcohol) ($\geq 95\%$), 2-phenylacetaldehyde (phenylacetaldehyde) (>90%) and 2-methoxy-4-methylphenol (creosol) (>98%) were purchased from Sigma Aldrich (St-Quentin Fallavier, France).

Extractions of hair pencil volatile compounds for GC/MS

Preliminary tests showed a better GC/MS detection of male HP volatile compounds after collection on Solid Phase MicroExtraction (SPME) fibre extraction than after solvent extraction (Frérot et al. 1997). HP volatile compounds were collected on SPME fibres according to the protocol described by Ameline (1999), during the day. One male HPs of three to 10 day-old (**Figure III. 1**) were excised and placed individually on a drop of physiological solution on the wall of a 2mL vial. A SPME fibre was inserted into the vial for 2 hours then removed from the vials and kept at - 4°C before analysis. Four replications were prepared.

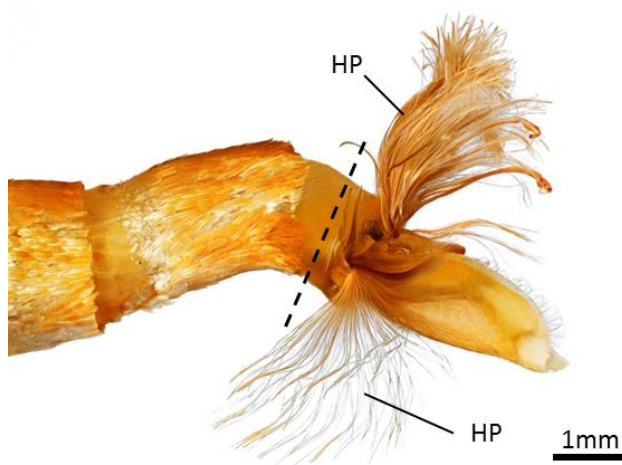


Figure III. 1 Lateral view of Male genitalia of coffee berry moth extruded using gentle pressure at the extremity of the abdomen. The dotted line represents the cut for extractions. HP= hair pencils. Camera: AZ-100 Nikon. Source: A. Franck (CIRAD)

For EAG five excised pairs of HPs from three to 10 day-old males were pooled and put in 200 μ L of hexane and keep at - 4°C until use.

GC/MS analysis

SPME fibres were analysed using a Bruker Scion 436-GC linked to a Bruker Scion SQ detector. The oven was equipped with a fused silica capillary column (30mX0.32mm i.d.) Rxi®-5SilMS (0.25 μ m film thickness, Restek) and was programmed from 50 to 300°C at 8°C/min. The carrier gas was helium N60 at constant flow of 2mL/min. Each SPME fibre was manually inserted in the injector and the HP compounds desorbed in splitless mode, 5 min at 250°C. Mass spectra were recorded in electron impact mode at 70 eV. Kovats' retention indexes (RI) were computed using n-alkanes solution from C10–C24, eluted under the same conditions as the samples. HP compounds were identified according to their retention index and to their mass spectra compared with the INRA library of synthetic compounds and NIST 2014 library (NIST 2014) .

Electroantennography

EAG is an effective tool to evaluate and record the olfactory responses of insects although the technique reflects only the antennae nerve activity. Three to 10 day-old *P. smaragdina* were used for EAG recording. The insects were immobilized using a 1mL micropipette tip cut at the extremity to allow the head to pass through. EAG electrodes were filled with Ringer solution. The reference electrode was inserted into the eye and the recording electrode covered the antenna tip whose distal part was removed. Tested synthetic chemicals were impregnated onto a strip of filter paper (10 X 5 mm), and then placed in a disposable glass pipette. While the air was continuously blown over the head of the moth (40 mL/s), the pipette tip containing the stimulation was inserted in a hole at the end of the glass tube carrying the air stream and an air puff was sent inside this pipette for 0.5s at 12 mL/s for the stimulation. The signals were amplified and connected to Labview (Labview 5.1, National Instruments USA) for electrophysiological trace observation. The response of the antennae was expressed in mV. Six treatments were compared: the control was one μ L of hexane, 10 μ L of HP extract, methyl anthranilate, perillyl alcohol, phenylacetaldehyde and creosol at 1 μ g / μ L were blown once on five different female antennae and on 4 different male antennae with an interval of at least 1 min

between successive stimulations. The order of the six treatments was randomly changed for each antenna.

Statistical analysis of EAG data

The comparison of the antennal responses elicited by the treatments was carried out using a linear mixed model. The treatments, the sex and the treatment $\times$ sex interaction were considered as fixed effects. The order of the treatments within each antenna was added as a fixed effect quantitative covariate, to take into account a possible change in antenna response to stimulus with time. The sex $\times$ order was non-significant and therefore discarded from the model. Antennae were considered as a random replication effect. The analysis was carried out using SAS procedure MIXED (SAS Institute 2008). The comparison was carried out by computing the differences of least squared mean and the significance of differences were tested using a t-test, using the procedure MIXED (with the LSMEANS instruction). As the sex effect appeared non-significant, it was discarded from the model. As the treatment $\times$ sex interaction appeared significant, each treatment was compared to the control within each sex. The depolarisation data were submitted to a Log transformation prior to analysis to achieve a Normal distribution of the residuals of the model.

Results

GC/MS analysis

GC-MS analysis of male HP emission showed five compounds (Figure III. 2) identified according to the NIST 2014 library (NIST 2014) and confirmed by analysing the synthetic molecules in the same GC/MS conditions. Comparison of the retention index computed with the retention time of external standard made with C10 to C22 hydrocarbons (Table III. 1) and mass spectra confirmed the identity of each component. Two minor compounds were identified as: phenyl acetaldehyde about 4% (1) (CAS Number 122-78-1) (M^+ = 120, 12.5%; m/z = 91 (100%), 65 (30%), 51 (8%), 39 (17%)) and 2-phenyl ethanol about 7% (2) (phenylethyl alcohol, CAS Number 60-12-8), (M^+ = 122, 10%, m/z = 91 (100%), 65 (30%), 51 (8%), 39 (18%)). Three main compounds were identified as: creosol, about 20% (3) (2-Methoxy-4-methylphenol, CAS Number 93-51-6) (M^+ = 138, 75%, m/z = 123 (100%), 95 (67%), 67 (75%), 39 (63%)); perillyl

alcohol, about 25% (4) (p-Mentha-1,8-diene-7-ol, CAS Number 18457-55-1), $M^+ = 152$ (5%), $m/z = 39$ (100%), 121(25%), 91 (63%), 79 (75%), 76 (75%), 53 (50%) and methyl anthranilate, about 27% (5) (Methyl 2-aminobenzoate, CAS Number 134-20-3) $M^+ = 151$ (50%), $m/z = 119$ (100%), 92 (75%), 65 (38%) 39 (12%).

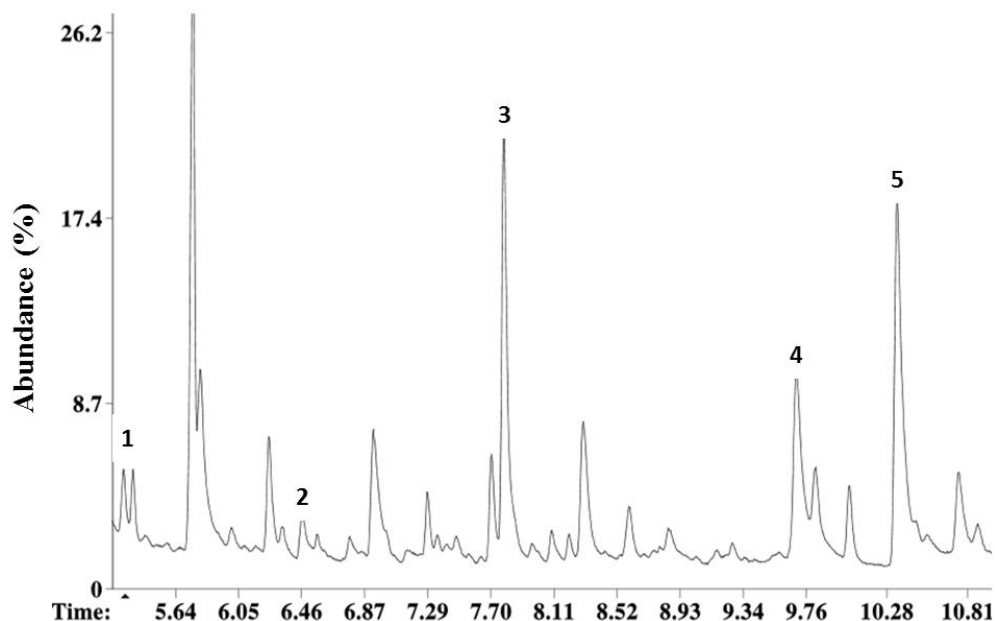


Figure III. 2 Total ion current chromatogram of a hair pencil SPME fibre extract. 1 Phenyl acetaldehyde, 2 2- phenyl ethanol, 3 Creosol, 4 Perillyl alcohol, 5 Methyl Anthranilate.

Table III. 1 Mean ratio, retention times (RT) and retention indexes (RI) of the five aromatic compounds found in male hair pencil SPME fibre extracts (N=4 hair pencil SPME fibre extracts)

molecule names	Ratio (%)	RT			RI		
		Extract		Synthetic	Extract		Synthetic
Phenyl acetaldehyde	4.51 ± 4.32	5.25	± 0.05	5.35	1043.40	± 2.27	1041.9
2-phenyl ethanol	7.40 ± 3.57	6.40	± 0.06	6.307	1113.00	± 2.88	1114.5
Creosol	20.98 ± 9.55	7.71	± 0.07	7.62	1189.03	± 2.91	1192.1
Perillyl alcohol	25.80 ± 9.95	9.59	± 0.08	9.47	1301.35	± 2.93	1301.9
Methyl anthranilate	27.01 ± 21.25	10.26	± 0.06	10.20	1342.53	± 4.42	1344.3

EAG recording

Male HP extract and four out of the five identified aromatic molecules: methyl anthranilate, perillyl alcohol, phenyl acetaldehyde and creosol were tested by EAG on male and female antennae (Figure III. 3). The EAG responses were significantly different among the tested compounds ($F = 23.13$; $df = 5, 33$; $P < 0.001$). The interaction between chemical compounds and the sex of the insect was also significant ($F = 3.63$; $df = 6, 33$; $P = 0.007$). However, amplitude of antennal response was not significant between male and female ($F = 0.30$; $df = 1, 7$; $P = 0.603$).

Male HP extract caused a significantly higher antennal response than the control on both female and male antennae ($P < 0.001$ on both male and female). Among the four synthetic molecules tested by EAG, only creosol response was significantly higher than the control such as male HP extract on both female and male antennae ($P < 0.001$ on both male and female). On female antennae, response to methyl anthranilate and phenylacetaldehyde were significantly higher than the response to the control (respectively, $P = 0.0328$ and $P = 0.0263$) but perillyl alcohol response did not ($P = 0.1179$). On male antennae, methyl anthranilate, phenylacetaldehyde and perillyl alcohol responses were not significantly higher than the response to the control (respectively, $P = 0.8957$, $P = 0.1493$ and $P = 0.6446$).



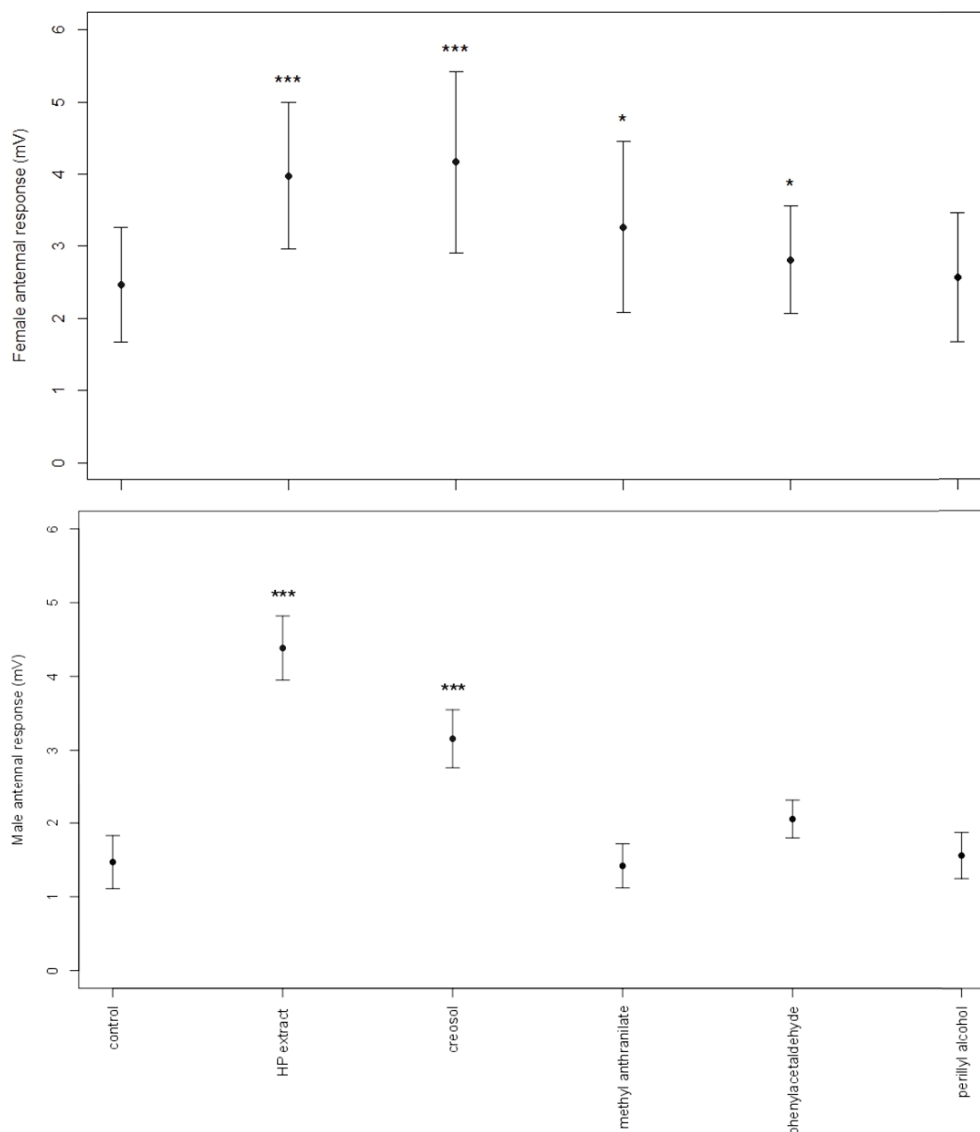


Figure III. 3 Mean of female and male antennal response (mV) $\pm$ SEM to hair pencil extracts and 4 aromatic compounds identified in male hair pencils of the Coffee berry moth. Treatments labelled are significantly different than the antennal response to the control. '***' $P \leq 0.001$, '**' $P \leq 0.01$, '*' $P \leq 0.05$

Discussion

The Hairs Pencils (HPs) of Coffee Berry Moth (*P. smaragdina*) released a blend of phenylacetaldehyde (9%), 2-phenyl ethanol (3%), creosol (37%), perillyl alcohol (18%) and methyl anthranilate (33%). Phenylacetaldehyde and 2-phenyl ethanol were already identified as

an attractant in numerous species of insect, including some Lepidoptera. Both molecules were identified in male HP of Noctuidae (Bestmann et al. 1977). According to Pherobase (El-Sayed 2016), creosol, perillyl alcohol and methyl anthranilate are not components of male Lepidoptera HPs, neither of female pheromone. Creosol is a floral compound mainly identified in Asparagales and once reported as present in an Arthropod (Taira and Arakaki 2002). Methyl anthranilate is also a plant fragrance and there are a few records of it as an insect product. It has been identified as a pheromone in ants (Duffield et al. 1980, Lloyd et al. 1984, Lloyd et al. 1989, Oldham et al. 1994b, Oldham et al. 1994a) and was previously identified as an attractant in the soy beetle (Imai et al. 1997), thrips (Murai et al. 2000) and beneficial insects (James 2005). Perillyl alcohol is a trickier molecule, mainly found in the essential oil of various plants such as lavender, sage, and known as a mosquito repellent and as a treatment for cancer. We did not find any report on this compound as an animal product.

The significant EAG responses on both male and female antennae induced by male HP extracts showed that both sexes detected the male emission (with no significant difference of antennal response between male and female), suggesting that the blend released may act on male and female behaviour, qualifying it as a pheromone. Numerous studies show a correlation between EAG responses to a compound and a behavioural response, either positive or negative (Floyd et al. 1976, Baker and Haynes 1989, Landon et al. 1997, Liendo et al. 2005, Dötterl et al. 2006). Mating behaviour did not occur under laboratory conditions thus we were not able to determine the role of HP emission on male and female reproductive behaviour.

Significant responses of creosol on female and male antennae compared to the control (with no significant difference of antennal response between male and female) suggest that this compound plays a behavioural role on both conspecific male and female *P. smaragdina* during courtship and/or the mating period. Significant responses of methyl anthranilate and phenylacetaldehyde on female antennae compared to the control only suggest that those compounds could play a role on female behaviour.

Behavioural bioassays on males and females with HP extracts and HP volatile compounds are essential to understand the role of each molecule in *P. smaragdina* courtship behaviour.

Acknowledgements

We dedicate this article in to the memory of Serge Quilici who initiated the project. We would like to thank Cedric Lallemand for technical help in the field, the farmers Patrick Bernard, Stephane Benard, Maximin Techer, Henri Yu-Sin and Isabelle Law-Yat for giving us access of their coffee field. We also thank Frederic Chiroleu for helping us in statistical analysis and Antoine Franck for providing us with very high quality pictures. We are grateful to Andrew Hobson for proof reading the English version correction of this article.

The authors thank the Plant Protection Platform (3P, IBISA) where EAG and extraction experiments were carried out. We are grateful to the Institut de Recherche pour le Développement (IRD) for giving us access of the International Coffee collection.

This work was funded by the European Union: European regional development fund (ERDF), by the Conseil Régional de La Réunion, by the Centre de Coopération internationale en Recherche agronomique pour le Développement (CIRAD), by the Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) and by the Agence Nationale de la Recherche et de la Technologie (ANRT) through the CIFRE PhD Grant No. 2013/1406 for O. Lavogez.

Discussion générale



1 Contexte et objectif de la thèse

La réduction des pesticides en agriculture est devenue depuis plusieurs années un enjeu socio-sanitaire majeur. Depuis 2007, la réduction de l'emploi des pesticides est inscrite à l'agenda politique (Guérin 2013). Ainsi, le plan ECOPHYTO est lancé à la suite du Grenelle environnement en 2008. Ce plan, piloté par le ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt, vise à réduire progressivement l'utilisation des pesticides en France tout en maintenant une agriculture économiquement performante. Depuis le lancement du plan, agriculteurs, chercheurs, techniciens des chambres d'agriculture ou des instituts techniques ont déjà engagé de nombreuses actions pour tenter d'atteindre cet objectif.

La pyrale du café *Prophantis smaragdina* est le seul insecte ravageur du café Bourbon Pointu à La Réunion et ses dégâts causent des pertes économiques non négligeables pour les producteurs de café. Cet insecte est également présent dans de nombreux pays producteurs de café de l'Afrique subsaharienne, mais reste cependant peu étudié. Bien qu'une méthode alternative à la lutte chimique contre cet insecte existe (pulvérisations à base de bactéries *Bacillus thuringiensis*), la lutte chimique, plus efficace, est encore utilisée en routine par les agriculteurs réunionnais et des pays africains.

Dans ce contexte, l'objectif de la thèse était de mieux comprendre la biologie et l'écologie chimique de *P. smaragdina* pour envisager la mise au point de méthodes de lutte alternatives à la lutte chimique.

2 Résultats obtenus

L'étude de la biologie de *P. smaragdina* à la Réunion a permis de définir sa dynamique de population à savoir les fluctuations de sa densité de population pendant la période de fructification du café Bourbon Pointu et les différentes causes de mortalité aux différents stades de l'insecte. La densité de population de *P. smaragdina* est la plus importante au début de la période de fructification avec en moyenne environ 20 larves pour 100 fruits en janvier. Pour une lutte efficace, les traitements contre la pyrale du café doivent être mis en place sur les parcelles dès cette période de l'année. La population décroît ensuite jusqu'à la fin de la fructification. Le pic de population de *P. smaragdina* correspond également à la période de l'année où la température et l'humidité relative sont les plus importantes de l'année (été austral).

Statistiquement, seule la corrélation entre la température et la densité de population *P. smaragdina* au champ s'est avérée significative, avec des populations de *P. smaragdina* plus importantes lorsque la température est la plus élevée de l'année. En complément, nous avons montré que la mortalité des nymphes était corrélée à l'interaction de la température et de l'humidité avec une mortalité corrélée positivement à la température lorsque l'humidité est faible. Ces corrélations pourraient expliquer la diminution de la population de *P. smaragdina* dès la fin de la saison cyclonique (mars-avril). Une étude menée par Mendesil and Tesfaye (2009) avaient mis en évidence en Ethiopie une corrélation positive entre l'humidité relative et la densité de population de *P. smaragdina*. Dans un contexte de changement climatique avec une tendance vers des climats plus chauds, ces résultats prédisent une augmentation globale de la population de *P. smaragdina*. Ainsi, *P. smaragdina*, ravageur secondaire dans de nombreux pays d'Afrique producteurs de café, pourrait passer au rang de ravageur majeur (Menéndez 2007, Jaworski and Hilszczański 2013).

Quatre parasitoïdes de *P. smaragdina* ont été identifiés à la Réunion : trois larvaires *Pristomerus rivier* Rousse & Villemant (2012), *Chelonus* cf. *curvimaculatus* Cameron (1906) et *Eriborus* cf. *pallipes* Brullé (Hymenoptera : Ichneumonidae) ; un nymphal, un Tachinidae non identifié. *P. rivier* et le Tachinidae avaient déjà été mentionnés par Chartier et al. (2013). *P. rivier* est une espèce recensée à l'heure actuelle uniquement à La Réunion avec comme hôte connu La Teigne du chou (Brassicaceae) *Plutella xylostella* (Lepidoptera : Plutellidae) et *P. smaragdina* (Rousse and van Noort 2015). *E. Pallipes* est un parasitoïde retrouvé régulièrement sur l'ensemble de l'île de La Réunion (Rousse and Villemant 2012), ce qui suppose que sa gamme d'hôte est largement diversifiée. Cependant, à notre connaissance aucune donnée sur sa biologie et ses hôtes n'est disponible. *C. curvimaculatus* est une espèce recensée dans plusieurs pays d'Afrique, en tant que parasitoïdes de foreurs de tiges appartenant aux familles des Noctuidae (*Busseola fusca* et *Sesamia calamistis*) et de Crambidae (*Chilo partellus*, *C. zacconius*), ce qui suggère que sa gamme d'hôte est diversifiée à La Réunion. En effet la canne à sucre (Poaceae) constitue la culture principale de La Réunion et est un hôte privilégié des foreurs de tiges tels que *Chilo sacchariphagus* et des foreurs de souches *Sesamia calamistis* (ce dernier étant présent également sur maïs (Poaceae), cultivé à La Réunion). Bien que *C. curvimaculatus* ne soit pas recensé à notre connaissance sur *C. sacchariphagus* (Goebel 1999), il est envisageable qu'il soit un parasitoïde de *S. calamistis*. Des espèces d'Ichneumonidae et de Tachinidae ont déjà été retrouvées comme

parasitoïdes de *P. smaragdina* à Sao Tomé et Principe (parasitoïdes non-identifiés), au Congo (*Microbracon* sp.) et au Kenya (*Pristomerus* sp.) (Le Pelley 1968, Ndungi 1994, Mugo et al. 1997, Waller and Hillocks 2007).

Parmi les parasitoïdes identifiés à la Réunion, nous avons montré que *P. rivier* était le parasitoïde le plus efficace contre *P. smaragdina*, lui conférant le rôle parasitoïde candidat pour l'application d'une méthode de lutte biologique par l'utilisation d'ennemis naturels. Au Kenya, bien qu'un parasitoïde du genre *Pristomerus* sp. soit présent, c'est une espèce du genre *Phanerotoma* sp. (Hymenoptera : Braconidae) qui a été utilisée pour lutter contre *P. smaragdina* (Mugo et al. 1997). Nous n'avons cependant pas d'informations sur les raisons du choix de ce parasitoïde ni sur l'efficacité de lutte.

A notre connaissance, nous sommes les premiers à avoir étudié le comportement d'accouplement et les interactions chimiques intraspécifiques de *P. smaragdina*. La période d'accouplement de *P. smaragdina* a lieu de 3h30 à 7h après le début de la scotophase avec une moyenne à 5h40 après le début de la scotophase, soit de 23h20 à 00h40 en heure locale à La Réunion. L'accouplement dure de 24 à 101 min avec une moyenne de 62 min. Pour attirer le mâle, la femelle adopte une position d'appel et émet une phéromone par le biais d'une glande à phéromone. L'analyse des composés volatiles de la glande à phéromones lors de l'appel de la femelle a permis d'identifier les composés suivants : un monoène aldéhyde en C16 (*X*-16Ald, potentiellement *E*12-16Ald, *E*10-16Ald, *E*11-16Ald ou *Z*11-16Ald) *E*10*Z*12-16Ald, 16Ald et 16OH avec *E*10*Z*12-16Ald comme composé majoritaire. Ce mélange pourrait composer en totalité ou en partie la phéromone femelle de *P. smaragdina*. L'ensemble de ces composés a été identifiés dans des phéromones chez des femelles de Crambidae et plus spécifiquement de Spilomelinae (El-Sayed 2016) (**Annexe 2**). Le comportement de cour du mâle de *P. smaragdina* est suivi d'un accouplement lorsque sa durée est courte (moins de deux secondes) tandis qu'un comportement de cour plus long, avec de nombreuses tentatives d'accouplement du mâle, n'aboutit pas à un accouplement. Avant l'accouplement, pendant la parade nuptiale, le mâle expose ses pinceaux androconiaux en direction de la femelle, émettant une odeur perceptible par l'Homme. Ces observations suggèrent l'émission d'une phéromone mâle qui pourrait induire des changements comportementaux des autres mâles et ou de la femelle courtisée et ainsi influencer sur le succès copulatif et/ou reproducteur (Fitzpatrick and McNeil 1988, Birch et al. 1990, Hillier and Vickers 2004). L'analyse des composés volatils des pinceaux androconiaux a mis en évidence les composés

aromatiques suivant : du phénylacétaldéhyde, du phényléthyl alcool, du créosol, du périllyl alcool et du méthyl anthranilate. Le phénylacétaldéhyde ainsi que le phényléthyl alcool ont été identifiés dans des pinceaux androconiaux de mâles de Noctuidae (Bestmann et al. 1977, Jacquin et al. 1991). Le créosol et le méthyl anthranilate, n'avaient jusque-là pas été identifiés chez les Lepidoptera mais ont été identifiés chez d'autres arthropodes : diplopodes (Taira and Arakaki 2002) et fourmis (Duffield et al. 1980, Lloyd et al. 1989, Oldham et al. 1994). Le périllyl alcool est identifié ici pour la première fois comme un produit animal. L'étude électroantennographique de ces composés et d'un extrait organique de pinceaux androconiaux sur les antennes mâles et femelle a montré que le créosol et l'extrait de pinceaux androconiaux élicitaient une réponse neuronale des antennes mâle et femelle équivalente (mâle/femelle et créosol/extrait de pinceaux androconiaux) et significativement supérieure au témoin. Le phénylacétaldéhyde et le méthyl anthranilate élicitent une réponse des antennes supérieure au témoin chez les femelles uniquement. Face à ces résultats, on peut émettre l'hypothèse que les composés volatiles des pinceaux androconiaux mâles pourraient jouer un rôle dans l'accouplement de *P. smaragdina*. Plus précisément, le créosol jouerait un rôle sur le comportement des mâles et des femelles. Le phénylacétaldéhyde et le méthyl anthranilate joueraient un rôle sur le comportement des femelles.

3 Limites des études et perspectives

3.1 Interactions intraspécifiques : la validation de la phéromone femelle, une priorité

Plusieurs difficultés ont été rencontrées pour définir le comportement d'accouplement et identifier des composés phéromonaux de la femelle *P. smaragdina*.

La première difficulté de la thèse a été d'être dépendante de la population d'insecte présente au champ. Les tentatives de mises en place d'un élevage, avec l'élaboration de milieux semi artificiels n'ont pas permis la survie des larves, bien que nous ayons eu à disposition la collection Internationale de Café de l'IRD, où *P. smaragdina* y était présent quasiment toute l'année (**Annexe 6**), le nombre d'individus obtenus au laboratoire restait limité et les expérimentations étaient construites en fonction de l'abondance de *P. smaragdina* au champ.

La deuxième difficulté a été de faire face à un insecte difficile à observer en laboratoire. L'un des objectifs de la thèse était d'observer le comportement d'accouplement de l'insecte, dans l'idéal de filmer ce comportement afin de l'analyser plus finement via des logiciels de comportement tel



que The Observer® (Noldus 1991). Or très peu d'accouplements ont été observés en laboratoire et les tentatives de filmer les accouplements ont échoué.

Simultanément, les analyses de glandes à phéromones extraites dans des conditions de laboratoire ne mettaient pas en évidence de composés phéromonaux. En l'absence de résultats, un screening EAG sur les antennes des mâles avec des composés de synthèse (phérothèque, INRA) identifiés chez des femelles d'espèces de Crambidae a été effectué afin d'émettre des hypothèses sur la composition de la phéromone femelle de *P. smaragdina* (**Annexe 3**).

Dans le but de valider les composés identifiés à partir des glandes à phéromone femelle, des tests préliminaires ont été effectués en tunnel de vol et en olfactomètre à deux voies. Le but était de tester le comportement des mâles face à des femelles en appel ou en présence de glandes à phéromones, excisées lors de l'appel et placées sur une goutte de sérum physiologique. Aucun des deux systèmes n'a pu être validé, car les mâles ne bougeaient pas ou volaient de manière erratique dans le dispositif sans interprétation possible. L'absence d'autres dispositifs d'olfactométrie et de comportements dans les conditions du laboratoire, nous a limité dans les études comportementales nécessaires pour valider les identifications des phéromones mâle et femelle.

L'absence de comportement reproductif et d'émission de phéromone a donné lieu à plusieurs hypothèses qui ont été testées sans succès : une perturbation liée à l'utilisation d'une photopériode inversée, ou l'absence de transition progressive de luminosité entre le jour et la nuit. Les méthodes d'extraction des composés volatiles de la glande à phéromone ont également été travaillées (**Annexe 4**). L'ensemble de ces résultats nous a conduit à poursuivre les collectes de phéromones et les études comportementales en conditions naturelles, mais cela tardivement dans la thèse. Le comportement « perturbé » peut être expliqué par de nombreux facteurs tels que des volatiles présents dans le laboratoire et perturbant son comportement ou une température non-optimale pour l'insecte. En effet la température a un impact connu sur la croissance et le développement d'un insecte (Hallman and Denlinger 1998). La température lors des expérimentations était constante et à 25°C. Si la gamme de température n'est pas remis en cause (du fait que la population de *P. smaragdina* au champ est maximale lorsque la température est en moyenne de 25°C), le fait que la température dans les conditions de laboratoire soit constante, et non cyclique, pourrait être la cause du comportement perturbé de *P. smaragdina* (Delisle 1992, Mozūraitis and Būda 2006). La différence de pression atmosphérique entre le laboratoire et

l'extérieur pourrait également un facteur influençant le comportement de *P. smaragdina* (Wellington 1946, Pellegrino et al. 2013).

Afin de terminer le projet consistant à mettre au point une méthode de lutte biologique contre *P. smaragdina*, **la priorité est de valider la composition de la phéromone femelle**. La communication phéromonale et l'attraction des mâles est une réalité, que nous avons démontré sur le terrain en appâtant les pièges avec des femelles vierges. Dans un premier temps, tester l'ensemble des composés identifiés dans la glande à phéromone femelle au champ. Si un mélange attractif était ainsi identifié, une méthode de lutte par l'utilisation de phéromone sexuelle pourrait être envisagée. Il sera intéressant de poursuivre les extractions de glandes à phéromones femelles, selon le protocole décrit par Ameline (1999) avec un nombre de glandes à phéromone par fibre SPME supérieur à 20 afin de détecter d'éventuels composés mineurs de la phéromone femelle afin de les intégrer dans les piégeages au champ. Au préalable et pendant les tests d'attractivité de mélanges au champ, des pièges contrôles, contenant chacun deux femelles vierges de *P. smaragdina* doivent être mis en place au champ afin de contrôler la présence d'individus mâles au champ. Des expérimentations d'olfactométrie pourraient être entreprises en complément des essais au champ ou si la population au champ de *P. smaragdina* n'est pas suffisamment abondante pour des essais de piégeage. Avec les difficultés rencontrées lors des essais préliminaires pour valider un système d'olfactométrie, il pourrait être envisagé de placer les dispositifs d'olfactométrie en conditions extérieures. Le tunnel de vol est un système couramment utilisé pour tester le comportement de lépidoptères hétérocères (Allison and Cardé 2016). Les composés identifiés à partir des glandes à phéromone de femelle de *P. smaragdina* pourraient être testés sur les mâles en tunnel de vol placé en extérieur avec quelques modifications du dispositif par rapport à celui du laboratoire. En effet le tunnel de vol utilisé au laboratoire du Pôle de Protection des Plantes est rectangulaire avec des dimensions de 1m x 1m x 2,50m et l'air est aspiré. Pour faciliter les observations de nuit (à l'aide de caméras infrarouge), la taille du tunnel de vol pourrait être de taille plus réduite et être de forme hémicylindrique (**Figure D. 1**), avec de l'air soufflé. Ce système pourrait également être utilisé pour tester les composés identifiés dans les pinceaux androconiaux mâles sur les femelles de *P. smaragdina*.

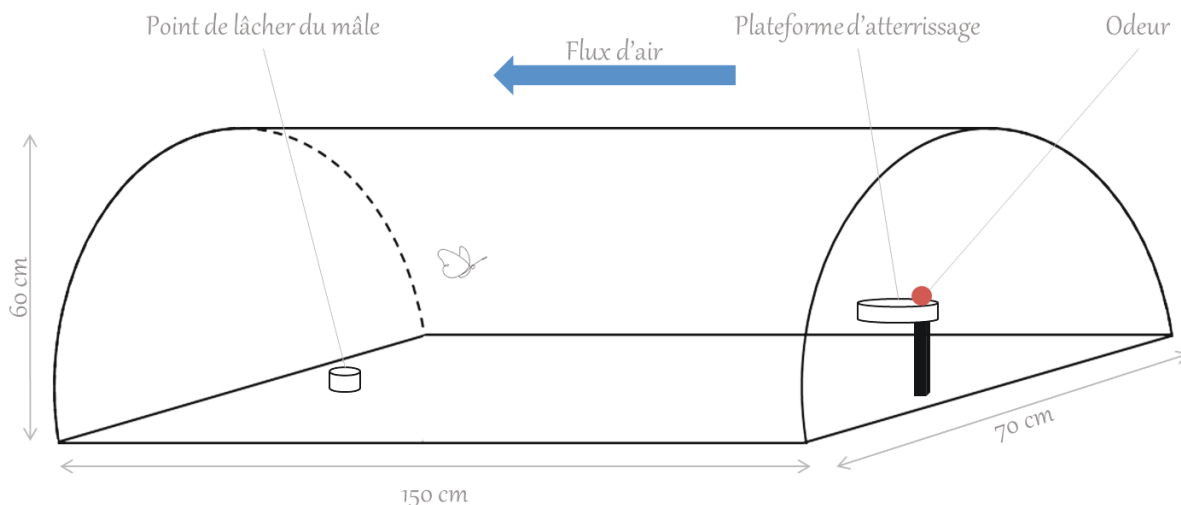


Figure D. 1 Schéma d'un tunnel de vol pour l'observation du comportement de *P. smaragdina* face à un ou plusieurs composé(s).

Un autre système d'olfactométrie en conditions naturelles pourrait être testé, ce système consisterait à placer les pièges contenant les composés à tester sur les bras d'une plateforme tournante. Ce système est placé dans une grande cage de 3m x 3m x 2.5m, elle-même placée dans un endroit aéré exempt de toutes sources de pollution lumineuse. Environ 50 insectes sont lâchés dans la cage pendant une durée définie. A la fin de cette période, les insectes piégés sont comptés pour quantifier l'attractivité des composés testés. Ce système, mis au point par Jang et al. (1997) a été utilisé pour nombreuses études sur l'attractivité des mouches des fruits face à des COVs. Il serait intéressant d'appliquer ce système à un lépidoptère hétérocère difficile à observer dans des conditions de laboratoire tel que *P. smaragdina* (Figure D. 2).

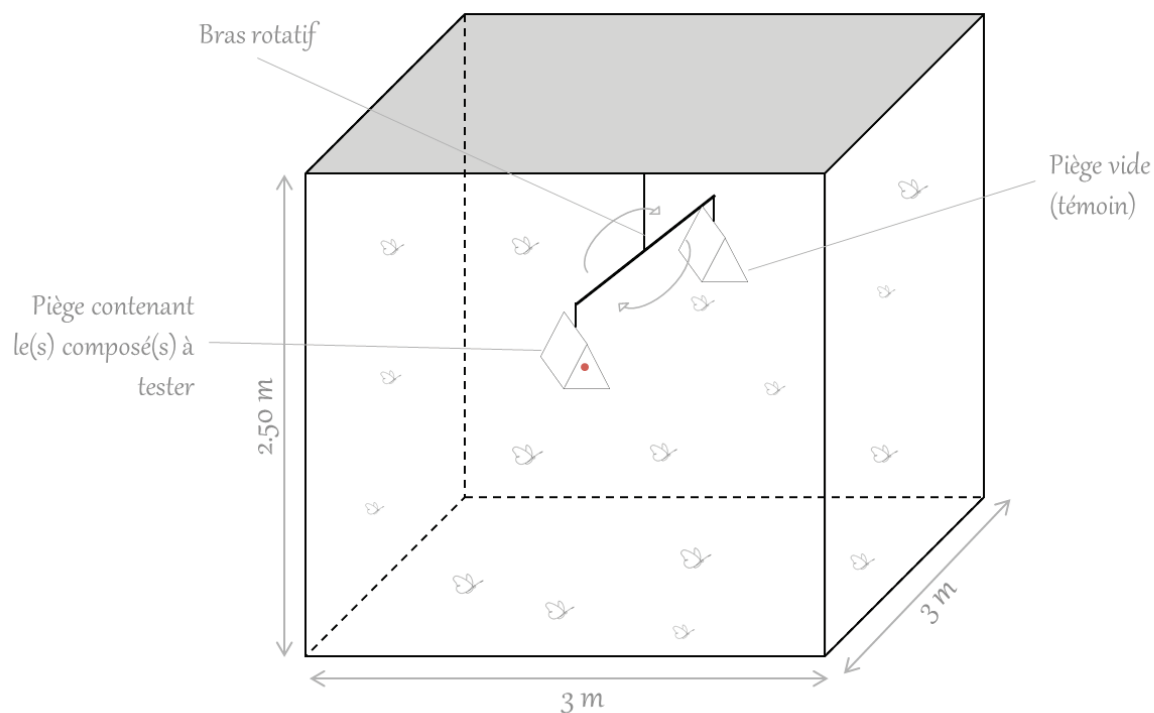


Figure D. 2 Schéma de l'olfactomètre à piège rotatif inspiré du système mis au point par Jang et al. (1997) pour tester les composés de glandes à phéromone sur des mâles de *P. smaragdina*.

Une fois la phéromone validée par olfactométrie ou par piégeage au champ, les différentes méthodes de lutte par l'utilisation de phéromone sexuelle, par confusion sexuelle ou piégeage de masse, pourront être étudiées. Si l'une des deux méthodes s'avère efficace et économiquement viable, le système de piégeage ou de confusion sexuelle pourra être commercialisé. Si les systèmes testés ne réduisent pas suffisamment la population de *P. smaragdina* sous le seuil de nuisibilité économique et / ou ne sont pas économiquement viable pour l'agriculteur, la phéromone sexuelle de *P. smaragdina* pourrait tout de même être utilisée en *monitoring*, qui consiste à utiliser les pièges contenant la phéromone de synthèse femelle pour contrôler la présence de l'insecte ravageur au champ et pour cibler les traitements. Cependant, si l'on souhaite lutter contre *P. smaragdina* de façon totalement biologique, il sera nécessaire de trouver une autre méthode de lutte biologique en complément du monitoring, telle que la lutte par l'utilisation d'ennemis naturels.

3.2 Interactions interspécifiques et avec l'environnement: mieux comprendre pour mieux lutter

Les données de biologie obtenues à partir de récoltes dans les parcelles de Bourbon Pointu nous ont donné des informations sur la dynamique des populations de *P. smaragdina* dans les parcelles de Bourbon Pointu pendant la période de fructification (cf. Article 1). Cependant nous avons estimé la température, l'humidité relative et les effets *top-down* (effets des ennemis naturels) sur la population de *P. smaragdina* et non les effets *bottom-up* (effets de la plante). De plus, ces effets *top-down* et *bottom-up* sont influencés par de nombreux facteurs autres que la température et l'humidité relative à prendre en compte pour mieux comprendre la biologie de l'insecte phytophage (Figure D. 3).

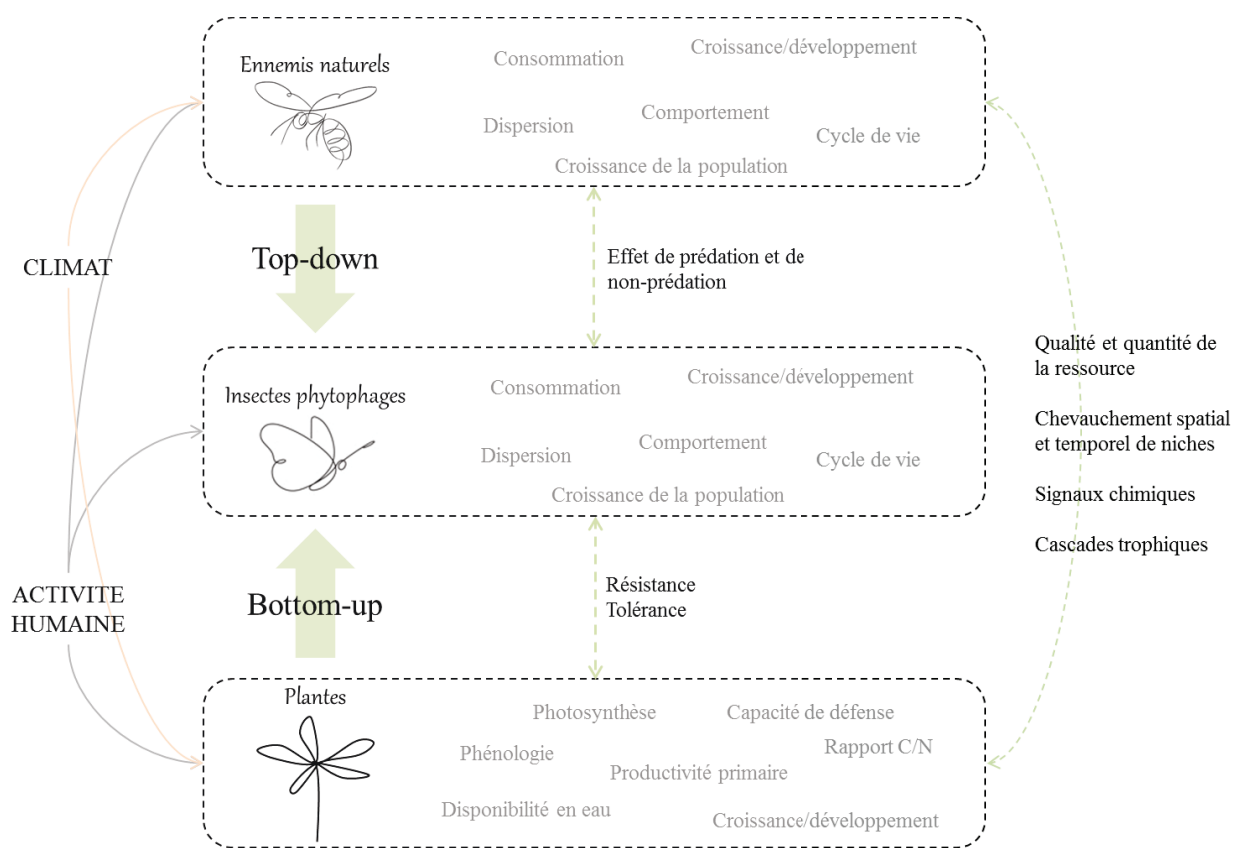


Figure D. 3 Complexité des facteurs influençant les différents niveaux trophiques. D'après Jamieson et al. (2012).

Nous pouvons remarquer dans ce schéma la nécessité de s'intéresser à la biologie des différents niveaux trophiques entourant l'insecte ravageur (plantes hôtes et ennemis naturels) et aux facteurs abiotiques et environnementaux (climat, activités humaines telles que les pratiques

agricoles ou le paysage) pour mieux définir leurs interactions et mettre au point une méthode lutte biologique.

Afin d'améliorer nos connaissances sur la biologie de *P. smaragdina*, des expérimentations complémentaires en laboratoire, telles que des tests de fécondité auraient apporté des précisions sur la croissance et le développement de l'insecte. Cependant, pour les raisons citées dans la partie précédente, ces expérimentations n'ont pu être effectuées.

La biologie de *P. smaragdina* a été suivie dans les parcelles de Bourbon Pointu uniquement pendant la période de fructification. La mise en place de tentes d'émergence (Dosdall 2012, Amouroux et al. 2014) dans les parcelles dès la fin de la période de fructification permettrait de savoir si *P. smaragdina* effectue une diapause au stade nymphal pendant l'hiver austral.

3.2.1 Interaction hôte – parasitoïde : étude du cas *P. smaragdina* – parasitoïdes

Afin de lutter contre la Pyrale du buis, *Cydalima perspectalis* (Crambidae : Spilomelinae), une méthode en cours de développement consiste dans un premier temps à contrôler la présence des adultes et par conséquent la période de ponte des femelles par monitoring, grâce à la phéromone de synthèse femelle placée dans des pièges. Lorsque la présence d'adultes est détectée, des Trichogrammes d'élevage (Hymenoptera : Trichogrammatidae) sont lâchés à proximité des attaques de la Pyrale. L'espèce de Trichogramme (non citée) utilisée pour cette lutte est un parasitoïde naturel de la Pyrale du buis en Asie (Wan et al. 2014, Tabone et al. 2015). Cette méthode de lutte pourrait être appliquée à *P. smaragdina*, avec l'utilisation en complément du *monitoring* d'un parasitoïde. Notre étude sur la dynamique des populations de *P. smaragdina* a révélé que parmi les parasitoïdes naturels identifiés à La Réunion, *P. rivier* est un potentiel candidat pour appliquer une méthode de lutte par l'utilisation d'ennemis naturels. Cependant ce potentiel doit être confirmé par des études spécifiques sur la biologie de *P. rivier*, sur ses interactions avec son environnement et sur ses interactions avec son hôte *P. smaragdina*, à l'échelle de la parcelle mais également du paysage. Identifié à La Réunion par Rousse and Villemant (2012), *P. rivier* n'a fait jusque-là l'objet d'aucune étude. Des récoltes régulières sur plusieurs parcelles de Bourbon Pointu ainsi que la mise en place de tentes Malaises (qui servent de pièges à insectes volants, en particulier les Hyménoptères et les Diptères) selon un protocole établi préalablement permettraient d'obtenir des données sur le parasitisme de *P. rivier* et des

autres parasitoïdes de *P. smaragdina* et sur leur abondance au champ. En parallèle, la mise en place d'un élevage de *P. rivier* (et/ou d'un autre parasitoïde révélant un fort taux de parasitisme) au laboratoire permettrait de valider et d'optimiser un système d'élevage pouvant être appliqué dans le cadre d'une lutte par l'utilisation de ce parasitoïde contre *P. smaragdina*. De plus, l'élevage permettrait la mise en place de pupes sentinelles dans les parcelles échantillonnées afin de contrôler l'hyperparasitisme du parasitoïde, qui pourrait influencer le taux de parasitisme contre *P. smaragdina* (Stiling 1993, Schooler et al. 2011).

L'ensemble de ces résultats, associés à des données de pratiques agricoles et de paysage environnant les parcelles échantillonnées, donneraient des informations sur l'influence de ces paramètres sur le parasitisme et l'abondance du parasitoïde au champ (Maalouly et al. 2013).

Ces études permettraient de valider ou non la possibilité d'une lutte par l'utilisation de *P. rivier* ou d'un autre parasitoïde contre *P. smaragdina* dans les parcelles de Bourbon Pointu.

Dans le cas où cette étude révèle la possibilité de lutter contre *P. smaragdina* par l'utilisation d'un parasitoïde de façon efficace et viable économiquement, il serait intéressant d'affiner les connaissances au niveau des interactions du complexe tritrophique ravageur – plante hôte – parasitoïde afin d'optimiser la lutte.

3.2.2 Interaction plantes - insectes : étude du complexe *P. smaragdina* – plantes hôtes – parasitoïdes.

Afin de mieux compléter nos connaissances sur la biologie de *P. smaragdina* et d'optimiser des moyens de lutte biologiques dans les parcelles, il est important de s'intéresser à la plante hôte et à son effet *bottom-up* sur l'insecte, mais également à l'interaction parasitoïde – plante hôte.

Dans le schéma classique, les femelles de lépidoptères hétérocères une fois accouplées sont attirées par les composés organiques volatils (COVs) émis par la plante hôte pour pondre leurs œufs (Phelan et al. 1991, Turlings et al. 1995, Suckling et al. 1996, Bethenod et al. 2005). La ponte et/ou les attaques larvaires sur la plante peuvent dans certains cas induire une réaction de défense de la plante hôte par l'émission de COVs de défense, les *herbivore – induced plant volatiles* (HIPVs) qui peuvent jouer un rôle répulsif sur l'insecte ravageur et/ou attirer les ennemis naturels de l'insecte (cf. Chapitre I, partie 1.2.3). L'idée serait d'utiliser ce complexe d'interactions insecte ravageur – plante hôte – parasitoïde afin de (1) sélectionner des plantes *pull* alternatives à *Coffea arabica* cv. Bourbon Pointu afin d'attirer *P. smaragdina* en dehors des

parcelles de Bourbon Pointu, (2) sélectionner des plantes attractives / ressources pour le parasitoïde à placer au sein et à proximité des parcelles de Bourbon Pointu, (3) sélectionner des plantes *push* répulsives pour *P. smaragdina* à placer en inter-rang dans les parcelles de Bourbon Pointu (Figure D. 4).

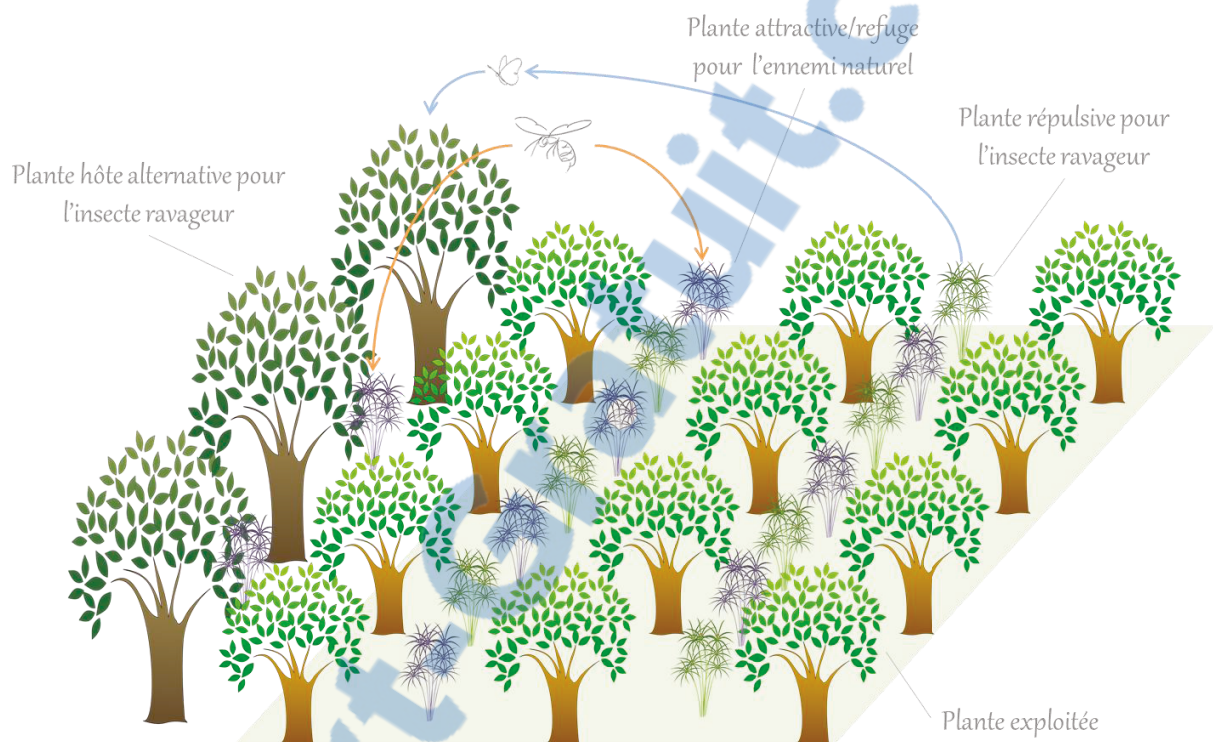


Figure D. 4 Schéma d'un système push-pull contre un insecte ravageur au sein d'une parcelle aménagée par l'ajout de plantes attractives pour l'ennemi naturel de l'insecte ravageur.

(1) D'après la bibliographie et des observations personnelles, *P. smaragdina* a été recensé sur des plantes de la famille des Rubiaceae autres que *Coffea* sp. (Hinckley 1964, Guillermet 2005, Kaiser et al. 2008), des Verbenaceae (Paulian and Viette 1956) et des Menispermaceae (Le Pelley 1959, Guillermet 2005, Waller and Hillocks 2007). Parmi ces espèces, certaines sont indigènes de La Réunion telles que *Myomina obovata* (aussi appelé Bois de rat) ou *Musseanda arcuata* (aussi appelé Lingue café) appartenant à la famille des Rubiaceae. Une prospection plus approfondie des plantes indigènes et endémiques attaquées par *P. smaragdina* permettrait tout d'abord de connaître plus précisément les autres ressources de *P. smaragdina*, notamment en dehors de la période de fructification du café Bourbon Pointu dans le cas où *P. smaragdina* n'effectuerait pas de diapause. Dans un deuxième temps, parmi les plantes hôtes recensées, celles pouvant s'adapter

aux conditions climatiques que subissent les parcelles de Bourbon Pointu et étant attaquées à la même période que le café Bourbon Pointu seraient sélectionnées en plus du café Bourbon Pointu pour effectuer des tests de préférence d'oviposition (Blackmer et al. 2001, Mochiah et al. 2001, Haile and Hofsvang 2002, Yin et al. 2005) et de survie des larves. Les tests d'oviposition seraient effectués avec des plants entiers en tunnel de vol comme précédemment expliqué. La ou les plante(s) indigène(s) présentant une meilleure préférence d'oviposition et une plus faible survie des larves que les plants de café Bourbon Pointu pourrai(en)t être sélectionnées pour être utilisée(s) en tant que plantes *pull*.

(2) L'étude sur la biologie de *P. rivier* ou d'un autre parasitoïde efficace contre *P. smaragdina* (cf. partie précédente) pourrait être utilisée pour effectuer une sélection des plantes endémiques, indigènes et /ou d'intérêt agronomique potentiellement attractives / ressources pour le parasitoïde. En effet, les plantes peuvent constituer des ressources directes pour le parasitoïde adulte (nectar) (Landis and Menalled 1998, Wilkinson and Landis 2005) ou indirectes (plantes ressources d'hôtes alternatifs) et/ou apporter un habitat favorable au développement de l'insecte (microclimat, zone de refuge contre les ennemis naturels etc.) (Barbosa 1998, Landis et al. 2005). La quantité ainsi que les aménagements spatio-temporels de ses ressources dans les paysages agricoles peuvent significativement influencer sur l'efficacité du parasitoïde contre l'insecte ravageur (Menalled et al. 2004) (Ricci et al. 2011).

Le comportement du parasitoïde sur les plantes sélectionnées potentiellement ressources (directes ou indirectes) pourrait être étudié en tunnel de vol afin de sélectionner la ou les meilleure(s) plante(s) attractive(s)/ressource(s) pour le parasitoïde à placer au sein et à proximité des parcelles de Bourbon Pointu. Simultanément, l'extraction des COVs de ces plantes permettrait de comprendre le mécanisme d'interaction plantes – parasitoïde.

Ayant connaissance d'hôtes alternatifs aux parasitoïdes tel que *Plutella xylostella*, ravageur du chou pour *P. rivier* et possiblement *Sesamia calamistis* ravageur du maïs pour *C. curvimaculatus*, nous pouvons imaginer la mise en place de choux en et/ou de maïs respectivement en interang et à proximité des parcelles de café Bourbon Pointu pour favoriser le développement et l'efficacité des parasitoïdes contre *P. smaragdina*.

Comment mettre en évidence des HIPVs ?

Des extractions et analyses par GC-MS de COVs de plants attaqués et non attaqués permettraient de mettre en évidence les composés de défense de la plante émis en cas d'oviposition ou d'attaques larvaires de *P. smaragdina* (Figure D. 5). Les composés identifiés pourraient faire l'objet de tests électroantennographiques (EAG) puis de test comportementaux en tunnel de vol sur *P. rivier* et *P. smaragdina*.



Figure D. 5 Système d'extraction de COVs pour la mise en évidence de HIPVs. Après aspiration pendant un temps donné des COVs contenu dans le sac téflon. Les tubes contenant l'adsorbant sont analysés par GC-MS.

(3) Cette ou ces plante(s) sélectionnée(s) pourrai(en)t également être testée(s) sur le comportement de *P. smaragdina* pour savoir si elles sont répulsives ou non. De même, des Rubiaceae indigènes ou endémiques de La Réunion non attaqués par *P. smaragdina*, hypothétiquement répulsives pour *P. smaragdina*, pourraient faire l'objet de tests comportementaux et d'extractions de COVs. Là où les plantes définies comme répulsives pourraient ainsi être intégrées dans les parcelles de Bourbon Pointu.

Comme mentionné précédemment les plantes répulsives pour *P. smaragdina* et / ou attractives pour le parasitoïde peuvent être des plantes d'intérêt agronomique, ce qui serait une source de revenu supplémentaire pour l'agriculteur.

L'étude du complexe d'interactions *P. smaragdina* – plantes hôtes – parasitoïdes, associé à la sélection de plantes indigènes et/ou endémiques à intégrer dans les agrosystèmes caféicoles,



permettrait la réduction des dégâts provoqués par *P. smaragdina* dans les parcelles de Bourbon Pointu et contribuerait à la conservation d'espèces, ainsi qu'au maintien de la biodiversité et de l'endémisme de l'île de La Réunion.

Pour conclure, l'abondance d'un insecte ravageur au sein d'une culture est la conséquence d'une multitude de facteurs, biotiques et abiotiques. Afin de diminuer la population du ravageur sous le seuil de nuisibilité économique tout en préservant l'environnement, il est essentiel de prendre en compte l'ensemble de ces facteurs. Pour une lutte biologique efficace et durable, il n'existe donc pas une mais plusieurs solutions prenant en compte la biologie de l'insecte ravageur et des niveaux trophiques qui l'entourent ; les mécanismes d'interactions du complexe tritrophique ravageur - ennemis naturels - plante et l'environnement à l'échelle de la parcelle et du paysage.

Références bibliographiques



- (1) Mémoire de M. Louis Boyvin d'Hardancourt, ancien directeur de la compagnie des Indes Orientales, depuis son établissement par édit du mois d'août 1664, et ce qu'il s'est passé depuis sa régie jusqu'à sa réunion à celle d'occident par édit du mois de mai 1719 et années postérieures, déclarations et arrêts qui la concernent et différents mémoires. 414p. dans les archives du ministère de la Guerre à Vincennes, volume A¹2565.
- (2) Lettre de Justamond du 19 septembre 1717. Citée par Pierre Margry dans son étude sur les Oles de France et de Bourbon sous le gouvernement de Mahé de la Bourdonnais, revue maritime et coloniale, octobre 1862, pp. 340-341.
- (3) Ordonnance du conseil supérieur de Bourbon, 1^{er} décembre 1724, Archives départementales de La Réunion, fonds de la compagnie des Indes. Série C⁰.
- (4) Lougnon Albert, le mouvement maritime aux îles de Bourbon et de France pendant les premières années du règne personnel de Louis XV (1727 – 1735), Nérac, 1958.
- (5) Voyages aux colonies orientales, lettres écrites à M. Le comte de Montalivet, ancien ministre de l'intérieur pendant les années 1817 à 1820. Edité par ARS terres Créoles, 1990.
- (6) L'île de la Réunion, étude de géographie humaine citée dans Le café de La Réunion, une « civilisation » disparue. Par Claude Wanquet dans Fragments pour une histoire des économies et sociétés de plantation à La Réunion, Saint-Denis, 1989. 352p.

Adati, T., and S. Tatsuki. 1999. Identification of female sex pheromone of the legume pod borer, *Maruca vitrata* and antagonistic effects of geometrical isomers. Journal of Chemical Ecology 25: 105-115.

Alfaro, C., V. Navarro-Llopis, and J. Primo. 2009. Optimization of pheromone dispenser density for managing the rice striped stem borer, *Chilo suppressalis* (Walker), by mating disruption. Crop Protection 28: 567-572.

Allison, J. D., and R. T. Cardé. 2016. Pheromone communication in moths : evolution, behavior, and application. University of California press 416 p.

Altstein, M. 2004. Role of neuropeptides in sex pheromone production in moths. Peptides 25: 1491-1501.

Amarasekare, P., and V. Savage. 2011. A framework for elucidating the temperature dependence of fitness. The American Naturalist 179: 178-191.

Ambrogio, B., M. Fonseca, M. A. Coracini, and P. G. Zarbin. 2009. Calling behaviour and male response towards sex pheromone of poplar moth *Condylorrhiza vestigialis* (Lepidoptera: Crambidae). Journal of Pest Sciences 82: 55-60.

- Ameline, A. 1999.** Identification de la phéromone sexuelle de *Sesamia nonagrioides* lef. (lep., noctuidae) et contribution à la compréhension des mécanismes de la confusion sexuelle. Etude comportementale, physico-chimique et piégeage sexuel. Université Paris XIII
- Amouroux, P., F. Normand, H. Delatte, A. Roques, and S. Nibouche. 2014.** Diapause incidence and duration in the pest mango blossom gall midge, *Procontarinia mangiferae* (Felt), on Reunion Island. Bulletin of Entomological Research 104: 661-670.
- Ando, T., S.-i. Inomata, and M. Yamamoto. 2004.** Lepidopteran Sex Pheromones, pp. 51-96. In S. Schulz (ed.), The Chemistry of Pheromones and Other Semiochemicals I, vol. 239. Springer Berlin Heidelberg.
- Angeli, S., F. Ceron, A. Scaloni, M. Monti, G. Monteforti, A. Minnocci, R. Petacchi, and P. Pelosi. 1999.** Purification, structural characterization, cloning and immunocytochemical localization of chemoreception proteins from *Schistocerca gregaria*. European Journal of Biochemistry 262: 745-754.
- Anonymous. 1992.** Control of berry moth, (*Prophantis smaragdina*) (Butler) in coffee, pp. 1427-1428, Kenya Coffee. Technical Circular No 75. Coffee Research Foundation.
- Aplin, R. T., and M. C. Birch. 1970.** Identification of odorous compounds from male Lepidoptera. Experientia 26: 1193-1194.
- Atkinson, D. 1994.** Temperature and organism size: a biological law for ectotherms? Advances in ecological research 25: 1-1.
- Ba-Angood, S., and S. M. A. Al-Sunaidi. 2004.** Assesment of damage caused by the coffee berry moth, *Prophantis smargdina*, in different flowering and fruit setting dates in Yafe'a area, Republic of Yemen. In Y. S. R. Foundation [ed.], Science Conference Sana'a.
- Bacca, T., E. Lima, M. Picanço, R. Guedes, and J. Viana. 2006.** Optimum spacing of pheromone traps for monitoring the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella*. Entomologia experimentalis et applicata 119: 39-45.
- Badji, C. A., A. E. Eiras, A. Cabrera, and K. Jaffe. 2003.** Evaluation of sexual pheromone of *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae). Neotropical Entomology 32: 221-229.
- Baker, T. C. 1983.** Variations in male oriental fruit moth courtship patterns due to male competition. Experientia 39: 112-114.
- Baker, T. C., and R. T. Cardé. 1979.** Endogenous and exogenous factors affecting periodicities of female calling and male sex pheromone response in *Grapholitha molesta* (Busck). Journal of Insect Physiology 25: 943-950.
- Baker, T. C., and K. F. Haynes. 1989.** Field and laboratory electroantennographic measurements of pheromone plume structure correlated with oriental fruit moth behaviour. Physiological Entomology 14: 1-12.

- Bale, J. S., G. J. Masters, I. D. Hodkinson, C. Awmack, T. M. Bezemer, V. K. Brown, J. Butterfield, A. Buse, J. C. Coulson, and J. Farrar. 2002.** Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Global Change Biology* 8: 1-16.
- Barbosa, P. A. 1998.** Conservation biological control, Academic Press.
- Bates, D., M. Mächler, B. Bolker, and S. Walker. 2015.** Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. 2015 67: 48.
- Bellows Jr, T., R. Van Driesche, and J. Elkinton. 1992.** Life-table construction and analysis in the evaluation of natural enemies. *Annual review of entomology* 37: 587-612.
- Bernhard, K., P. Jarrett, M. Meadows, J. Butt, D. Ellis, G. Roberts, S. Pauli, P. Rodgers, and H. Burges. 1997.** Natural isolates of *Bacillus thuringiensis*: worldwide distribution, characterization, and activity against insect pests. *Journal of Invertebrate Pathology* 70: 59-68.
- Bestmann, H. J., O. Vostrowsky, and H. Platz. 1977.** Pheromone XII. Männchenduftsstoffe von Noctuiden (Lepidoptera). *Experientia* 33: 874-875.
- Bethenod, M., Y. Thomas, F. Rousset, B. Frérot, L. Pélozuelo, G. Genestier, and D. Bourguet. 2005.** Genetic isolation between two sympatric host plant races of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hübner. II: assortative mating and host-plant preferences for oviposition. *Heredity* 94: 264.
- Birch, M., D. Lucas, and P. White. 1989.** The courtship behavior of the cabbage moth, *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae), and the role of male hair-pencils. *Journal of Insect Behaviour* 2: 227-239.
- Birch, M. C., G. M. Poppy, and T. C. Baker. 1990.** Scents and eversible scent structures of male moths. *Annual Review of Entomology* 35: 25-58.
- Birkett, M. A., C. A. Campbell, K. Chamberlain, E. Guerrieri, A. J. Hick, J. L. Martin, M. Matthes, J. A. Napier, J. Pettersson, and J. A. Pickett. 2000.** New roles for cis-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97: 9329-9334.
- Blackiston, D. J., E. Silva Casey, and M. R. Weiss. 2008.** Retention of memory through metamorphosis: can a moth remember what it learned as a caterpillar? *PLOS ONE* 3: e1736.
- Blackmer, J. L., A. E. Eiras, and C. L. de Souza. 2001.** Oviposition preference of *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée)(Lepidoptera: Crambidae) and rates of parasitism by *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Lycopersicon esculentum* in São José de Ubá, RJ, Brazil. *Neotropical Entomology* 30: 89-95.
- Blum, M. S. 1987.** Biosynthesis of arthropod exocrine compounds. *Annual review of entomology* 32: 381-413.
- Brattsten, L., C. Holyoke Jr, J. Leeper, and K. Raffa. 1986.** Insecticide resistance: challenge to pest management and basic research. *Science* 231: 1255-1261.

- Breer, H., I. Boekhoff, J. Krieger, K. Raming, J. Strotmann, and E. Tareilus. 1992.** Molecular mechanisms of olfactory signal transduction. Society of General Physiologists series 47: 93-108.
- Breheny, P., and W. Burchett. 2012.** Visualizing regression models using visreg.
- Brossut, R. 1996.** Phéromones: la communication chimique chez les animaux, Centre National de la Recherche Scientifique.
- Byers, J. 2007.** Chemical ecology of bark beetles in a complex olfactory landscape, pp. 89-134, Bark and wood boring insects in living trees in Europe, a synthesis. Springer.
- Cabrera, A., A. Eiras, G. Gries, R. Gries, N. Urdaneta, B. Mirás, C. Badji, and K. Jaffe. 2001.** Sex Pheromone of Tomato Fruit Borer, *Neoleucinodes elegantalis*. Journal of Chemical Ecology 27: 2097-2107.
- Cantelo, W. W., M. Jacobson, and A. W. Hartstack. 1982.** Moth trap performance: Jackson trap vs. Texas pheromone trap. Southwestern Entomologist 7: 212-215.
- Cardé, R., and A. Mafra-Neto. 1997.** Mechanisms of Flight of Male Moths to Pheromone, pp. 275-290. In R. Cardé and A. Minks (eds.), Insect Pheromone Research. Springer US.
- Cardé, R., A. Comeau, T. Baker, and W. Roelofs. 1975.** Moth mating periodicity: temperature regulates the circadian gate. Cellular and Molecular Life Sciences 31: 46-48.
- Carisey, N., and É. Bause. 2007.** Does nutrition-related stress carry over to spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae) progeny? Bulletin of Entomological Research 92: 101-108.
- Casagrande, E. 1993.** The commercial implementation of mating disruption for the control of the rice stem borer, *Chilo suppressalis*, in rice in Spain. Bulletin OILB SROP (France).
- Cattaneo, A. M., F. Gonzalez, J. M. Bengtsson, E. A. Corey, E. Jacquín-Joly, N. Montagné, U. Salvagnin, W. B. Walker, P. Witzgall, G. Anfora, and Y. V. Bobkov. 2017.** Candidate pheromone receptors of codling moth *Cydia pomonella* respond to pheromones and kairomones. Scientific Reports 7: 41105.
- Chartier, M., S. Quilici, B. Frerot, M. Noirot, S. Glenac, and F. Descroix. 2013.** La pyrale du café à la Réunion. Phytoma-La Défense des végétaux: 43-46.
- Choi, K., J. Lee, J. Park, J. Cho, J. Song, D. Kim, and K. Boo. 2009.** Sex pheromone composition of the cotton caterpillar, *Palpita indica* (Lepidoptera: Pyralidae), in Korea. Journal of Asia-Pacific Entomology 12: 269-275.
- Colinet, H., B. J. Sinclair, P. Vernon, and D. Renault. 2015.** Insects in fluctuating thermal environments. Annual Review of Entomology 60: 123-140.
- Cork, A., S. Alam, F. Rouf, and N. Talekar. 2005.** Development of mass trapping technique for control of brinjal shoot and fruit borer, *Leucinodes orbonalis* (Lepidoptera: Pyralidae). Bulletin of entomological research 95: 589.

- Cornell, H. V., and B. A. Hawkins. 1995.** Survival Patterns and Mortality Sources of Herbivorous Insects: Some Demographic Trends. *The American Naturalist* 145: 563-593.
- Cornell, H. V., B. A. Hawkins, and M. Hochberg. 1998.** Towards an empirically-based theory of herbivore demography. *Ecological Entomology* 23: 340-349.
- Crowe, T. J. 2008.** Coffee Pests in Africa, pp. 419-458, *Coffee: Growing, Processing, Sustainable Production*. Wiley-VCH Verlag GmbH.
- De Saeger, H. 1943.** Quelques Braconides nouveaux du genre *Microbracon*. *Revue de Zoologie et de Botanique Africaines* 36: 361-389.
- Decazy, B., N. Coulibaly, and P. H. Tramier. 1985.** Notes sur quelques déprédateurs des caféiers en Côte d'Ivoire. Onzième colloque de l'International Association on Coffee Science (ASIC), Lomé, Côte d'Ivoire: 659-669.
- Deisig, N., F. Dupuy, S. Anton, and M. Renou. 2014.** Responses to pheromones in a complex odor world: sensory processing and behavior. *Insects* 5: 399-422.
- Delisle, J. 1992.** Age related changes in the calling behaviour and the attractiveness of obliquebanded leafroller virgin females, *Choristoneura rosaceana*, under different constant and fluctuating temperature conditions. *Entomologia experimentalis et applicata* 63: 55-62.
- Delvare, G., and H. P. Aberlenc. 1989.** *Lepidoptera*. *DelvArbel*: 201-227.
- Dent, D. R., and C. S. Pawar. 1988.** The influence of moonlight and weather on catches of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in light and pheromone traps. *Bulletin of Entomological Research* 78: 365-377.
- Derron, M. 1977.** *Prophantis smaragdina* Butler and *Cryptophlebia colivora* Meyrick (Lepidoptera): two important pests on *Coffea arabica* L. on the island of Sao Tomé. *Mitteilungen*.
- Dhillon, M. K., F. Hasan, A. K. Tanwar, and A. S. Bhadauriya. 2016.** Effects of thermophotoperiod on induction and termination of hibernation in *Chilo partellus* (Swinhoe). *Bulletin of Entomological Research* 107: 294-302.
- Dicke, M. 2000.** Chemical ecology of host-plant selection by herbivorous arthropods: a multitrophic perspective. *Biochemical Systematics and Ecology* 28: 601-617.
- Dong, K. 2007.** Insect sodium channels and insecticide resistance. *Invertebrate Neuroscience* 7: 17-30.
- Dosdall, L. M. 2012.** Evidence for successful overwintering of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), in Alberta. *The Canadian Entomologist* 126: 183-185.
- Dötterl, S., A. Jürgens, K. Seifert, T. Laube, B. Weißbecker, and S. Schütz. 2006.** Nursery pollination by a moth in *Silene latifolia*: the role of odours in eliciting antennal and behavioural responses. *New Phytologist* 169: 707-718.

Downham, M., D. Hall, D. Chamberlain, A. Cork, D. Farman, M. Tamo, D. Dahounto, B. Datinon, and S. Adetonah. 2003. Minor components in the sex pheromone of legume podborer: *Maruca vitrata* development of an attractive blend. *Journal of Chemical Ecology* 29: 989-1011.

Duffield, R., J. Wheeler, and M. Blum. 1980. Methyl anthranilate: identification and possible function in *Aphaenogaster fulva* and *Xenomyrmex floridanus*. *Florida Entomologist*: 203-206.

Eberhard, W. G. 1994. Evidence for widespread courtship during copulation in 131 species of insects and spiders, and implications for cryptic female choice. *Evolution* 48: 711-733.

Eiras, Á. E. 2000. Calling behaviour and evaluation of sex pheromone glands extract of *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae) in wind tunnel. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 29: 453-460.

El-Sayed, A. M. 2016. The Pherobase: Database of Pheromones and Semiochemicals. <<http://www.pherobase.com>>

El-Sayed, A. M., D. M. Suckling, C. H. Wearing, and J. A. Byers. 2006. Potential of mass trapping for long-term pest management and eradication of invasive species. *Journal of Economical Entomologist* 99: 1550-1564.

El-Sayed, A. M., A. R. Gibb, V. J. Mitchell, L.-A. M. Manning, J. Revell, B. Thistleton, and D. M. Suckling. 2013. Identification of the sex pheromone of *Conogethes pluto*: a pest of *Alpinia*. *Evolutionary, Mechanistic and Environmental Approaches to Chemically-Mediated Interactions* 23: 93-101.

Fitzpatrick, S. M., and J. N. McNeil. 1988. Male scent in lepidopteran communication: The role of male pheromone in mating behaviour of *Pseudaletia unipuncta* (haw.) (lepidoptera: Noctuidae). *Memoirs of the Entomological Society of Canada* 120: 131-151.

Flint, H. M., and J. R. Merkle. 1983. Mating behavior, sex pheromone responses, and radiation sterilization of the Greater Wax Moth (Lepidoptera: Pyralidae) 1. *Journal of Economic Entomology* 76: 467-472.

Floyd, M. A., D. A. Evans, and P. E. Howse. 1976. Electrophysiological and behavioural studies on naturally occurring repellents to *Reticulitermes lucifugus*. *Journal of Insect Physiology* 22: 697-701.

Frago, E., J. Pujade-Villar, M. Guara, and J. Selfa. 2011. Providing insights into browntail moth local outbreaks by combining life table data and semi-parametric statistics. *Ecological Entomology* 36: 188-199.

Frappa, C. 1934. Les insectes nuisibles au Caféier à Madagascar. *Bulletin économique de Madagascar*.

Frérot, B., C. Malosse, and A.-H. Cain. 1997. Solid-phase microextraction (SPME): A new tool in pheromone identification in lepidoptera. *Journal of High Resolution Chromatography* 20: 340-342.

- Furlong, M. J., and M. P. Zalucki. 2017.** Climate change and biological control: the consequences of increasing temperatures on host-parasitoid interactions. *Current Opinion in Insect Science*.
- Gerber, G., and M. Howlader. 1987.** The effects of photoperiod and temperature on calling behaviour and egg development of the bertha armyworm, *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of insect physiology* 33: 429-436.
- Getchell, T. V., F. L. Margolis, and M. L. Getchell. 1984.** Perireceptor and receptor events in vertebrate olfaction. *Progress in Neurobiology* 23: 317-345.
- Goebel, F.-R. 1999.** Caractéristiques biotiques du foreur de la canne à sucre *Chilo sacchariphagus*(Bojer, 1856)(Lepidoptera: Pyralidae) à l'île de la Réunion. Facteurs de régulation de ses populations et conséquences pour la lutte contre ce ravageur.
- Guérin, M. 2013.** Introduction-La réduction des pesticides agricoles. Enjeux, modalités et conséquences. *Économie rurale. Agricultures, alimentations, territoires*: 7-9.
- Guillermet, C. 2005.** Les Hétérocères, ou papillons de nuit, de l'île de La Réunion vol. 1 famille des Noctuidae Quadrifides, Association N.D.P.(Nature, Découverte et Partage), [Saint Gilles-les-bains (La Réunion)].
- Haarer, A. E. 1956.** Modern coffee production. Modern coffee production.
- Haile, A., and T. Hofsvang. 2002.** Host plant preference of the stem borer *Busseola fusca* (Fuller) (Lepidoptera: Noctuidae). *Crop Protection* 21: 227-233.
- Hajek, A. E., and R. J. St. Leger. 1994.** Interactions Between Fungal Pathogens and Insect Hosts. *Annual Review of Entomology* 39: 293-322.
- Hajek, A. E., R. I. Carruthers, and R. S. Soper. 1990.** Temperature and Moisture Relations of Sporulation and Germination by *Entomophaga maimaiga* (Zygomycetes: Entomophthoraceae), a Fungal Pathogen of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). *Environmental Entomology* 19: 85-90.
- Hallman, G. J., and D. L. Denlinger. 1998.** Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management, Westview Press.
- Han, R. D., M. Parajulee, Z. He, and F. Ge. 2008.** Effects of environmental humidity on the survival and development of pine caterpillars, *Dendrolimus tabulaeformis* (Lepidoptera: Lasiocampidae). *Insect science* 15: 147-152.
- Hassanali, A., H. Herren, Z. R. Khan, J. A. Pickett, and C. M. Woodcock. 2008.** Integrated pest management: the push-pull approach for controlling insect pests and weeds of cereals, and its potential for other agricultural systems including animal husbandry. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363: 611-621.
- Hemingway, J., L. Field, and J. Vontas. 2002.** An overview of insecticide resistance. *Science* 298: 96-97.

Herman, T., J. Clearwater, and C. Triggs. 2005. Impact of pheromone trap design, placement and pheromone blend on catch of potato tuber moth. *New Zealand Plant Protection* 58: 219.

Hillier, N., and N. Vickers. 2004. The role of heliothine hairpencil compounds in female *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) behavior and mate acceptance. *Chemical Senses* 29: 499-511.

Hillier, N., and N. Vickers. 2011. Hairpencil volatiles influence interspecific courtship and mating between two related moth species. *Journal of Chemical Ecology* 37: 1127-1136.

Himeno, K.-I., and H. Honda. 1992. (E, Z)-and (E, E)-10, 12-Hexadecadienals, major components of female sex pheromone of the Cotton Leaf-Roller, *Notarcha derogata* (Fabricius)(Lepidoptera: Pyralidae). *Applied Entomology and Zoology* 27: 507-515.

Hinckley, A. D. 1964. Ecological notes on the larvae of some pyraloid moths in Fiji. *Pacific Insects*: 234-241.

Hirai, K. 1977. Observations on the function of male scent brushes and mating behavior in *Leucania separata* W. and *Mamestra brassicae* L. : Lepidoptera, Noctuidae. *Applied Entomology and Zoology* 12: 347-351.

Honda, H., K.-I. Himeno, and Y. Yoshiyasu. 1994. Chemotaxonomy of the cotton leaf-roller (Lepidoptera: Pyralidae) in Japan with special reference to differences in sex pheromones. *Applied Entomology and Zoology* 29: 323-330.

Hothorn, T., F. Bretz, and P. Westfall. 2008. Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical journal* 50: 346-363.

Howse, P. E., I. D. R. Stevens, and O. T. Jones. 1998. Lure and kill, pp. 300-313, *Insect pheromones and their use in pest management*. Springer Netherlands, Dordrecht.

Imai, T., S. Tsuchiya, M. Maekawa, T. Fujimori, and S. W. Leal. 1997. Methyl anthranilate, a novel attractant for the soybean beetle, *Anomala rufocuprea* Motschulsky (Coleoptera: Scarabaeidae). *Applied Entomology and Zoology* 32: 45-48.

Jacquín, E., P. Nagnan, and B. Frerot. 1991. Identification of hairpencil secretion from male *Mamestra brassicae* (L.)(Lepidoptera: Noctuidae) and electroantennogram studies. *Journal of Chemical Ecology* 17: 239-246.

James, D. G. 2005. Further field evaluation of synthetic herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects. *Journal of Chemical Ecology* 31: 481-495.

Jamieson, M. A., A. M. Trowbridge, K. F. Raffa, and R. L. Lindroth. 2012. Consequences of climate warming and altered precipitation patterns for plant-insect and multitrophic interactions. *Plant physiology* 160: 1719-1727.

Jang, E. B., L. A. Carvalho, and J. D. Stark. 1997. Attraction of female Oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, to volatile semiochemicals from leaves and extracts of a nonhost plant, *Panax* (*Polyscias guilfoylei*) in laboratory and olfactometer assays. *Journal of Chemical Ecology* 23: 1389-1401.

- Jaworski, T., and J. Hilszczański. 2013.** The effect of temperature and humidity changes on insects development their impact on forest ecosystems in the expected climate change, pp. 345, Forest Research Papers.
- Jung, J., K. Han, K. Choi, and K. Boo. 2000.** Sex pheromone composition for field-trapping of *Dichocrocis punctiferalis* (Lepidoptera: Pyralidae) males. Korean Journal of Applied Entomology 39: 105-110.
- Jurenka, R. 2004.** Insect pheromone biosynthesis. Topics in current chemistry 239: 97-132.
- Kaiser, C. N., D. M. Hansen, and C. B. Mueller. 2008.** Exotic pest insects: another perspective on coffee and conservation. ORYX 42: 143-146.
- Kawazu, K., H. Honda, S. Nakamura, and T. Adati. 2007.** Identification of sex pheromone components of the Box Tree Pyralid, *Glyphodes perspectalis*. Journal of Chemical Ecology 33: 1978-1985.
- Keil, T. A., and R. A. Steinbrecht. 1984.** Mechanosensitive and olfactory sensilla of insects. Insect ultrastructure 2: 477-516.
- Kemp, M. U., E. Emiel van Loon, J. Shamoun-Baranes, and W. Bouten. 2012.** RNCEP: global weather and climate data at your fingertips. Methods in Ecology and Evolution 3: 65-70.
- Kerslake, J., L. Kruuk, S. Hartley, and S. Woodin. 1996.** Winter moth (*Operophtera brumata* (Lepidoptera: Geometridae)) outbreaks on Scottish heather moorlands: effects of host plant and parasitoids on larval survival and development. Bulletin of Entomological Research 86: 155-164.
- Kesselmeier, J., and M. Staudt. 1999.** Biogenic volatile organic compounds (VOC): an overview on emission, physiology and ecology. Journal of atmospheric chemistry 33: 23-88.
- Kessler, A., and I. T. Baldwin. 2002.** Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. Annual review of plant biology 53: 299-328.
- Khan, Z., C. A. O. Midega, A. Hooper, and J. Pickett. 2016.** Push-Pull: chemical ecology-based integrated pest management technology. Journal of Chemical Ecology 42: 689-697.
- Kim, J., and I.-K. Park. 2013.** Female sex pheromone components of the box tree pyralid, *Glyphodes perspectalis*, in Korea: Field test and development of film-type lure. Journal of Asia-Pacific Entomology 16: 473-477.
- Klun, J., B. Leonhardt, M. Schwarz, A. Day, and A. Raina. 1986.** Female sex pheromone of the pickleworm, *Diaphania nitidalis* (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Chemical Ecology 12: 239-249.
- Konno, Y., K. Arai, K. Sekiguchi, and Y. Matsumoto. 1982.** (E)-10-hexadecenal, a sex pheromone component of the yellow peach moth, *Dichocrocis punctiferalis* Guenée (Lepidoptera: Pyralidae). Applied Entomology Zoology 17: 207-217.
- Kranthi, K., D. Jadhav, S. Kranthi, R. Wanjari, S. Ali, and D. Russell. 2002.** Insecticide resistance in five major insect pests of cotton in India. Crop Protection 21: 449-460.

Ministère de l'agriculture, 2015. Plan Ecophyto II
<http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/151022_ecophyto.pdf>.

Landis, D., and F. Menalled. 1998. Ecological considerations in the conservation of effective parasitoid communities in agricultural systems. *Conservation biological control*: 101-121.

Landis, D. A., F. D. Menalled, A. C. Costamagna, and T. K. Wilkinson. 2005. Manipulating plant resources to enhance beneficial arthropods in agricultural landscapes. *Weed Science* 53: 902-908.

Landon, F., S. Ferary, D. Pierre, J. Auger, J. C. Biemont, J. Levieux, and J. Pouzat. 1997. *Sitona lineatus* host-plant odors and their components: effect on locomotor behavior and peripheral sensitivity variations. *Journal of Chemical Ecology* 23: 2161-2173.

Lassance, J.-M., and C. Löfstedt. 2009. Concerted evolution of male and female display traits in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *BMC Biology* 7: 1-12.

Le Pelley, R. H. 1959. Agricultural Insects of East Africa, East African High Commission, Nairobi.

Le Pelley, R. H. 1968. Pests of coffee, Longmans. London.

Lecolier, A. 2006. Caractérisation de certains impacts de la mutation Laurina chez *Coffea arabica* L. aux niveaux histo-morphologique et moléculaire, Université de la Réunion.

Lenoir, A. 2011. La communication chez les insectes et autres organismes.

Liendo, C., F. Morillo, P. Sánchez, W. Muñoz, J. Guerra, A. Cabrera, and J. V. Hernández. 2005. Olfactory behavior and electroantennographic responses of the cocoa beetle, *Steirastoma breve* (Coleoptera: Cerambycidae). *Florida Entomologist* 88: 117-122.

Liu, M., Y. Tian, and Y. Li. 1994. Identification of minor components of the sex pheromone of yellow peach moth *Dichorocis punctifealis* guenée and field trials. *Insect Science* 1: 150-155.

Lloyd, H., N. Schmuff, and A. Hefetz. 1984. Chemistry of the male mandibular gland secretion of the carpenter ant, *Camponotus thoracicus* fellah Emery. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 78: 687-689.

Lloyd, H., M. Blum, R. Snelling, and S. Evans. 1989. Chemistry of mandibular and Dufour's gland secretions of ants in genus *Myrmecocystus*. *Journal of Chemical Ecology* 15: 2589-2599.

Lu, P.-F., H.-L. Qiao, and Y.-Q. Luo. 2013. Female sex pheromone blends and male response of the legume pod borer, *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Crambidae), in two populations of mainland China. *Zeitschrift für Naturforschung C* 68: 416-427.

Luziau, R. 1953. Contribution to the phytosanitary prospection of the Isle of Reunion. *Phytoma* 6: 16-21; 13-19.

Maalouly, M., P. Franck, J.-C. Bouvier, J.-F. Toubon, and C. Lavigne. 2013. Codling moth parasitism is affected by semi-natural habitats and agricultural practices at orchard and landscape levels. *Agriculture, ecosystems & environment* 169: 33-42.

Marchese, S., S. Angeli, A. Andolfo, A. Scaloni, A. Brandazza, M. Mazza, J.-F. Picimbon, W. S. Leal, and P. Pelosi. 2000. Soluble proteins from chemosensory organs of *Eurycantha calcarata* (Insects, Phasmatodea). *Insect biochemistry and molecular biology* 30: 1091-1098.

Martin, M. M., and H. M. Van't Hof. 1988. The cause of reduced growth of *Manduca sexta* larvae on a low-water diet: Increased metabolic processing costs or nutrient limitation? *Journal of Insect Physiology* 34: 515-525.

Martiré, D., and J. Rochat. 2008. Les papillons de la Réunion et leurs chenilles, Biotope.

Matsumoto, S., J. Joe Hull, A. Ohnishi, K. i. Moto, and A. Fónagy. 2007. Molecular mechanisms underlying sex pheromone production in the silkmoth, *Bombyx mori*: Characterization of the molecular components involved in bombykol biosynthesis. *Journal of Insect Physiology* 53: 752-759.

Mazomenos, B., D. Raptopoulos, I. Lefkidou, and A. Mazomenos-Pantazi. 1994. Female sex pheromone components of jasmine moth *Palpita unionalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Chemical Ecology* 20: 745-751.

McNeil, J. N., and J. Delisle. 1993. Le potentiel de l'écologie chimique dans la lutte contre les insectes nuisibles. *Phytoprotection* 74: 29-39.

Meagher, R. L., N. D. Epsky, and R. Cherry. 2007. Mating behavior and female-produced pheromone use in tropical sod webworm (Lepidoptera: Crambidae). *Florida Entomologist* 90: 304-308.

Menalled, F. D., D. A. Landis, and L. E. Dyer. 2004. Research and extension supporting ecologically based IPM systems. *Journal of crop improvement* 11: 153-174.

Mendesil, E., and A. Tesfaye. 2009. The influence of weather on the seasonal incidence of coffee berry moth, *Prophantis smaragdina* (Butler). *Journal of Asia-Pacific Entomology* 12: 203-205.

Menéndez, R. 2007. How are insects responding to global warming? *Tijdschrift voor Entomologie* 150: 355.

Michereff, M. F., M. Michereff Filho, and E. F. Vilela. 2007. Mating behavior of the coffee leaf-miner *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville)(Lepidoptera: Lyonetiidae). *Neotropical entomology* 36: 376-382.

Millar, J., J. S. McElfresh, and F. D. A. Marques. 2002. Unusual acetylenic sex pheromone of grape leaffolder (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of economic entomology* 95: 692-698.

Mochiah, M. B., A. J. Ngi-Song, W. A. Overholt, and M. Botchey. 2001. Host suitability of four cereal stem borers (Lepidoptera: Crambidae, Noctuidae) for different geographic populations of *Cotesia sesamiae* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) in Kenya. *Biological Control* 21: 285-292.

- Mochizuki, F., Y. Aoki, H. Sugie, J. Tabata, A. Takahashi, and H. Higuchi. 2009.** Sex attractant of the bean webworm, *Pleuroptya ruralis* (Crambidae: Pyraustinae). Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology 53: 53-56.
- Mosbah, A., V. Campanacci, A. Lartigue, M. Tegoni, C. Cambillau, and H. Darbon. 2003.** Solution structure of a chemosensory protein from the moth *Mamestra brassicae*. Biochemical Journal 369: 39-44.
- Mozūraitis, R., and V. Būda. 2006.** Pheromone release behaviour in females of *Phyllonorycter junoniella* (Z.) (Lepidoptera, Gracillariidae) under constant and cycling temperatures. Journal of Insect Behavior 19: 129-142.
- Mugo, H. M., G. O. Omondi, and S. M. Ndugo. 1997.** Biological control of coffee insect pests in Kenya. Dix-septième Colloque Scientifique International sur le Café, Nairobi, Kenya: 646-652.
- Mugo, H. M., E. M. El-Banhawy, L. W. Irungu, and P. N. Ndegwa. 2011.** The insect pests of coffee and their distribution in Kenya. International Journal of Science and Nature 2: 564-569.
- Murai, T., T. Imai, and M. Maekawa. 2000.** Methyl anthranilate as an attractant for two thrips species and the thrips parasitoid *Ceraninus menes*. Journal of Chemical Ecology 26: 2557-2565.
- Mutyambai, D. M., T. J. A. Bruce, C. A. O. Midega, C. M. Woodcock, J. C. Caulfield, J. Van Den Berg, J. A. Pickett, and Z. R. Khan. 2015.** Responses of parasitoids to volatiles induced by *Chilo partellus* oviposition on Teosinte, a wild ancestor of Maize. Journal of Chemical Ecology 41: 323-329.
- Nakano, R., T. Takanashi, T. Fujii, N. Skals, A. Surlykke, and Y. Ishikawa. 2009.** Moths are not silent, but whisper ultrasonic courtship songs, vol. 212.
- Ndugo, S. M., and S. K. Ndoiru. 1999.** A technique for rearing the Coffee Berry Moth, *Prophantis smaragdina* Butler (Lepidoptera: Pyralidae) in the laboratory. Kenya Coffee 64: 2819-2823.
- Ndungu, A. 1994.** New natural enemies of the Coffee Berry Moth, *Prophantis smaragdina* (Butler) in Kenya. Kenya Coffee 59: 1725-1726.
- Nishida, R., T. C. Baker, and W. L. Roelofs. 1982.** Hairpencil pheromone components of male oriental fruit moths, *Grapholitha molesta*. Journal of Chemical Ecology 8: 947-959.
- NIST 2014.** NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library computer program, version 2.2. By NIST, Gaithersburg, MD, USA: National Institute of Standards and Technology.
- Noldus, L. P. J. J. 1991.** The Observer: A software system for collection and analysis of observational data. Behavior Research Methods, Instruments, & Computers 23: 415-429.
- Oldham, N. J., E. D. Morgan, B. Gobin, and J. Billen. 1994a.** First identification of a trail pheromone of an army ant (*Aenictus* species). Cellular and Molecular Life Sciences 50: 763-765.

- Oldham, N. J., E. David Morgan, B. Gobin, E. Schoeters, and J. Billen. 1994b.** Volatile secretions of old world army ant *Aenictus rotundatus* and chemotaxonomic implications of army ant dufour gland chemistry. *Journal of Chemical Ecology* 20: 3297-3305.
- Orci, K. M., and G. Szöcs. 2009.** Ultrasonic and Sonic emission during the courtship behaviour in males of Z-and E-pheromone strains of the European Corn Borer *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera, Pyraustidae). *Bioacoustics* 19: 93-107.
- Paulian, R., and P. E. L. Viette. 1956.** Essai d'un catalogue biologique des Lépidoptères Hétérocères de Tananarive. *Mémoires de l'Institut Scientifique de Madagascar* 6.
- Pellegrino, A. C., M. F. G. V. Peñaflor, C. Nardi, W. Bezner-Kerr, C. G. Guglielmo, J. M. S. Bento, and J. N. McNeil. 2013.** Weather forecasting by insects: modified sexual behaviour in response to atmospheric pressure changes. *PLOS ONE* 8: e75004.
- Pelosi, P. 1994.** Odorant-binding proteins. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology* 29: 199-228.
- Pelosi, P., M. Calvello, and L. Ban. 2005.** Diversity of odorant-binding proteins and chemosensory proteins in insects. *Chemical senses* 30: i291.
- Pelosi, P., J.-J. Zhou, L. P. Ban, and M. Calvello. 2006.** Soluble proteins in insect chemical communication. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* 63: 1658-1676.
- Peñuelas, J., and J. Llusà. 2001.** The complexity of factors driving volatile organic compound emissions by plants. *Biologia Plantarum* 44: 481-487.
- Phelan, P. L., C. J. Roelofs, R. R. Youngman, and T. C. Baker. 1991.** Characterization of chemicals mediating ovipositional host-plant finding by *Amyelois transitella* females. *Journal of Chemical Ecology* 17: 599-613.
- Phelan, P. L., P. J. Silk, C. J. Northcott, S. H. Tan, and T. C. Baker. 1986.** Chemical identification and behavioral characterization of male wing pheromone of *Ephestia elutella* (Pyralidae). *Journal of Chemical Ecology* 12: 135-146.
- Picimbon, J.-F. 2002.** Les péri-récepteurs chimiosensoriels des insectes. *M/S: médecine sciences* 18: 1089-1094.
- Picimbon, J.-F., and W. S. Leal. 1999.** Olfactory soluble proteins of cockroaches. *Insect biochemistry and molecular biology* 29: 973-978.
- Picimbon, J.-F., K. Dietrich, H. Breer, and J. Krieger. 2000.** Chemosensory proteins of *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae). *Insect biochemistry and molecular biology* 30: 233-241.
- Plénet, A. 1965.** Parasites animaux des principales plantes cultivées à la Réunion. In *Congrès de la Protection des Cultures Tropicales; Comptes Rendus des travaux; Chambre de Comm. et d'Ind. Marseille*: 203-216.

- R Core Team 2016.** R: A language and environment for statistical computing computer program, version By R Core Team, Vienna, Austria.
- Raina, A., J. Klun, M. Schwarz, A. Day, B. Leonhardt, and L. Douglass. 1986.** Female sex pheromone of the melonworm, *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera: Pyralidae), and analysis of male responses to pheromone in a flight tunnel. *Journal of Chemical Ecology* 12: 229-237.
- Raina, A. K., and J. A. Klun. 1984.** Brain factor control of sex pheromone production in the female corn earworm moth. *Science* 225: 531-533.
- Reardon, B. J., D. V. Sumerford, and T. W. Sappington. 2006.** Impact of trap design, windbreaks, and weather on captures of European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) in pheromone-baited traps. *Journal of economic entomology* 99: 2002-2009.
- Regier, J. C., C. Mitter, M. A. Solis, J. E. Hayden, B. Landry, M. Nuss, T. J. Simonsen, S.-H. Yen, A. Zwick, and M. P. Cummings. 2012.** A molecular phylogeny for the pyraloid moths (Lepidoptera: Pyraloidea) and its implications for higher-level classification. *Systematic Entomology* 37: 635-656.
- Ricci, B., P. Franck, J.-C. Bouvier, D. Casado, and C. Lavigne. 2011.** Effects of hedgerow characteristics on intra-orchard distribution of larval codling moth. *Agriculture, ecosystems & environment* 140: 395-400.
- Roscoe, L. E., P. Silk, and E. S. Eveleigh. 2016.** Evidence of male hair pencil pheromone in *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Insect Science* 16: 27.
- Rousse, P., and C. Villemant. 2012.** Ichneumons in Reunion Island: a catalogue of the local Ichneumonidae (Hymenoptera) species, including 15 new taxa and a key to species. *Zootaxa* 3278: 1-57.
- Rousse, P., and S. van Noort. 2015.** Revision of the Afrotropical species of *Pristomerus* (Ichneumonidae: Cremastinae), with descriptions of 31 new species. 2015.
- Rouyar, A., N. Deisig, F. Dupuy, D. Limousin, M.-A. Wycke, M. Renou, and S. Anton. 2015.** Unexpected plant odor responses in a moth pheromone system. *Frontiers in Physiology* 6: 148.
- Royama, T. 1996.** A fundamental problem in key factor analysis. *Ecology* 77: 87-93.
- Royer, L., and J. N. McNeil. 1992.** Evidence for a male sex pheromone in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Canadian Entomologist* 124.
- Sandler, B. H., L. Nikonova, W. S. Leal, and J. Clardy. 2000.** Sexual attraction in the silkworm moth: structure of the pheromone-binding-protein-bombykol complex. *Chemistry & biology* 7: 143-151.
- SAS Institute 2008.** OnlineDoc® 9.2. Cary computer program, version By SAS Institute, NC, USA.

- Schooler, S. S., P. De Barro, and A. R. Ives. 2011.** The potential for hyperparasitism to compromise biological control: Why don't hyperparasitoids drive their primary parasitoid hosts extinct? *Biological control* 58: 167-173.
- Scriber, J. M. 1977.** Limiting effects of low leaf-water content on the nitrogen utilization, energy budget, and larval growth of *Hyalophora cecropia* (Lepidoptera: Saturniidae). *Oecologia* 28: 269-287.
- Solis, M. A. 2007.** Phylogenetic studies and modern classification of the Pyraloidea (Lepidoptera). *Revista Colombiana de Entomología* 33: 1-8.
- Southwood, T. R. E., and P. A. Henderson. 2009.** *Ecological methods*, John Wiley & Sons.
- Stanley, J., M. Julien, E. Rumbo, and A. White. 2009.** Post release monitoring of *Xubida infusella* (Lep.: Pyralidae): an example of using pheromones for the early detection of establishing populations of biological control agents, pp. 4-14. In, *Proceedings of the 10th International Symposium on Biological Control of Weeds*, Montana State University, Bozeman, MT, 1999.
- Steinbrecht, R. A. 2007.** Structure and function of insect olfactory sensilla, pp. 158-183, Ciba Foundation Symposium 200 - Olfaction in Mosquito-Host Interactions. John Wiley & Sons, Ltd.
- Stiling, P. 1993.** Why do natural enemies fail in classical biological control programs? *American Entomologist* 39: 31-37.
- Suckling, D., G. Karg, A. Gibb, and S. Bradley. 1996.** Electroantennogram and oviposition responses of *Epiphyas postvittana* (Lepidoptera: Tortricidae) to plant volatiles. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 24: 323-333.
- Tabone, E., T. Enriquez, M. Venard, E. Colombel, C. Gutleben, M. Guérin, F. Robert, A. i. Lacordaire, and J. C. Martin. 2015.** Development of a biocontrol program against the Box Tree Moth *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859), p. 83p. In, *IUFRO population dynamics and integrated control of forest defoliating and other insects*, 2015-09-28 2015, Sopot, Poland.
- Taira, J., and K. Arakaki. 2002.** Secretions of *Chamberlinius hualienensis* Wang (Polydesmida: Paradoxosomatidae) during the reproductive migration stage. *Applied Entomology Zoology* 37: 621-624.
- Tapley, R. G., and M. E. A. Materu. 1961.** Microbial control of lepidopteran coffee pests. *Kenya Coffee* 26.
- Thomson, L. J., S. Macfadyen, and A. A. Hoffmann. 2010.** Predicting the effects of climate change on natural enemies of agricultural pests. *Biological Control* 52: 296-306.
- Tippawan, S., W. Somsak, T. Seiji, S. Sho, F. o. S. C. M. U. Department of Biology, F. o. S. C. M. U. Department of Biology, F. o. S. K. U. Department of Biology, and F. o. S. K. U. Department of Biology. 1999.** Larval growth and diapause in a tropical moth, *Omphisca fuscidentalis* Hampson(Physiology). *Zoological science* 16: 725-733.

Turlings, T., J. H. Loughrin, P. J. McCall, U. Röse, W. J. Lewis, and J. H. Tumlinson. 1995. How caterpillar-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92: 4169-4174.

Valles, S. M., R. R. Heath, and J. L. Capinera. 1992. Production and release of sex pheromone by *Diaphania nitidalis* (Lepidoptera: Pyralidae): periodicity, age, and density effects. *Annals of the Entomological Society of America* 85: 731-735.

Van Rie, J., W. McGaughey, D. Johnson, B. Barnett, and H. Van Mellaert. 1990. Mechanism of insect resistance to the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Science(Washington)* 247: 72-74.

Viette, P. 1998. "*Botys coffealis* Bordage", 1896, le Borer des fruits du caféier à La Réunion: un nom spécifique resté pratiquement inconnu (lepid. Pyraloidea).

Vogt, R., and L. Riddiford. 1986. Pheromone reception: a kinetic equilibrium. *Mechanisms in insect olfaction*/edited by TL Payne, MC Birch, and CEJ Kennedy. **Vogt, R. G., and L. M.**

Riddiford. 1981. Pheromone binding and inactivation by moth antennae. *Nature* 293: 161-163.

Vogt, R. G., G. D. Prestwich, and M. R. Lerner. 1991. Odorant-binding-protein subfamilies associate with distinct classes of olfactory receptor neurons in insects. *Journal of Neurobiology* 22: 74-84.

Wakamura, S., and N. Arakaki. 2004. Sex pheromone components of pyralid moths *Terastia subjectalis* and *Agathodes ostentalis* feeding on the coral tree, *Erithrina variegata*: Two sympatric species share common components in different ratios. *Evolutionary, Mechanistic and Environmental Approaches to Chemically-Mediated Interactions* 14: 181-185.

Wakamura, S., N. Arakaki, K. Kinjo, and T. Yasuda. 1998. Sex pheromone of the cotton caterpillar, *Diaphania indica* (Saunders)(Lepidoptera: Pyralidae): identification and field attraction. *Applied Entomology Zoology* 33: 429-434.

Wakamura, S., S. Ohno, N. Arakaki, T. Kohama, D. Haraguchi, and H. Yasui. 2010. Identification and field activity of the sex pheromone component of the sweetpotato vine borer moth *Omphisa anastomosalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Applied Entomology Zoology* 45: 635-640.

Waller, J. M., and R. J. Hillocks. 2007. *Coffee Pests, Diseases and Their Management*, CABI Pub.

Wan, H., T. Haye, M. Kenis, S. Nacambo, H. Xu, F. Zhang, and H. Li. 2014. Biology and natural enemies of *Cydalima perspectalis* in Asia: Is there biological control potential in Europe? *Journal of Applied Entomology* 138: 715-722.

Wellington, W. 1946. The effects of variations in atmospheric pressure upon insects. *Canadian journal of research* 24: 51-70.



Wilkinson, T., and D. Landis. 2005. Habitat diversification in biological control: the role of plant resources. *Plant Provided Food for Carnivorous Insects, a Protective Mutualism and its Applications*. Cambridge University Press, Cambridge: 305-325.

Witzgall, P., P. Kirsch, and A. Cork. 2010. Sex pheromones and their impact on pest management. *Journal of Chemical Ecology* 36: 80-100.

Wyatt, T. D. 2003. Pheromones and animal behaviour: Communication by Smell and Taste, Cambridge University Press, Cambridge.

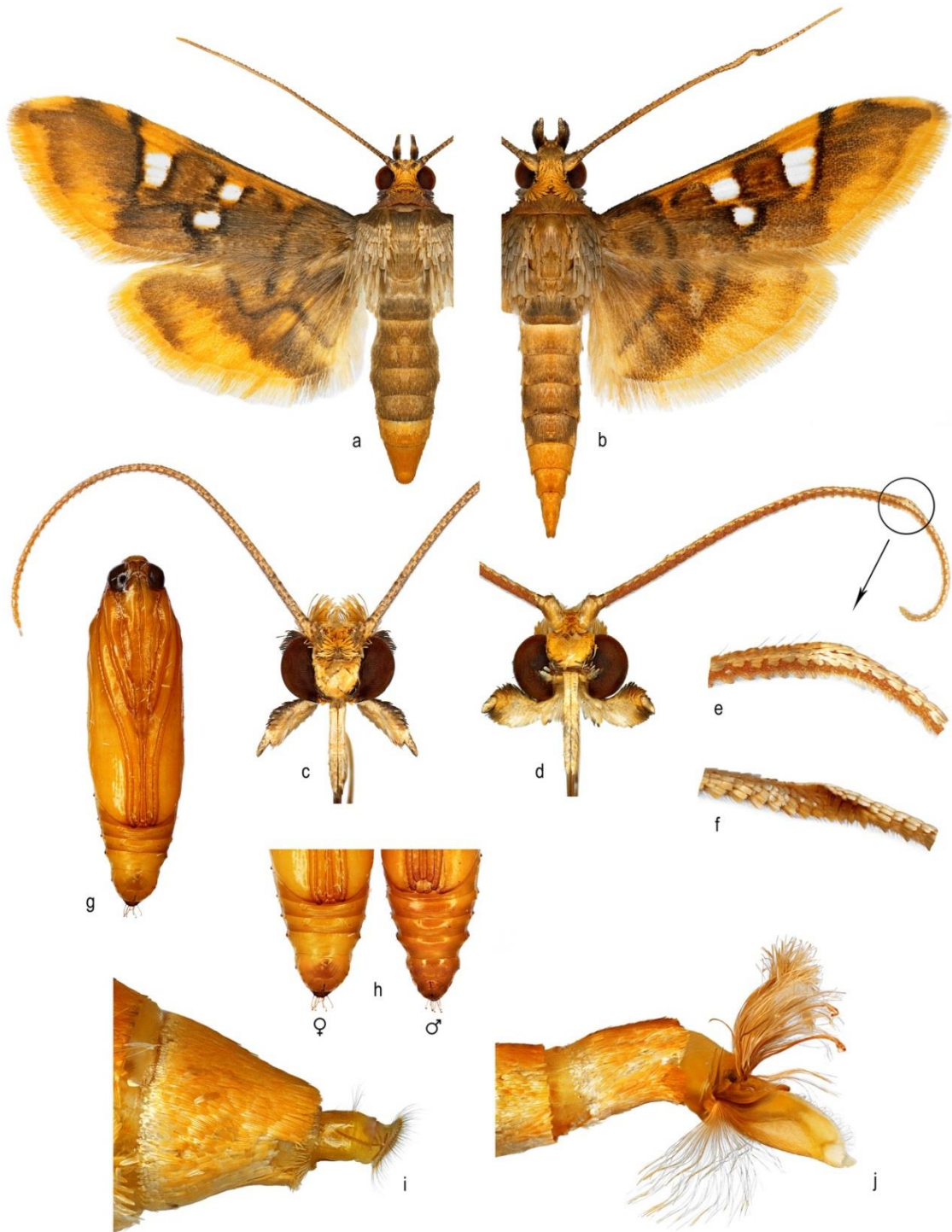
Yin, J., Y.-Z. Cao, L.-Z. Luo, and Y. Hu. 2005. Oviposition preference of the meadow moth, *Loxostege sticticalis* L., on different host plants and its chemical mechanism. *Acta Ecologica Sinica* 25: 1844-1852.

Zagatti, P. 1981. Comportement sexuel de la pyrale de la canne sucre *Eldana Saccharina* (Wlk.) lié à deux phéromones émises par le male. *Behaviour* 78: 81-97.

ANNEXES



ANNEXE 1: Planche de *P. smaragdina* (Lepidoptera : Crambidae :
Spilomelinae)



Prophantis smaragdina (Butler, 1875). (Photographies Antoine FRANCK/CIRAD)

a. femelle en vue dorsale; **b.** mâle en vue dorsale; **c.** tête & antenne de la femelle; **d.** tête & antenne du mâle; **e.** détail de l'antenne du mâle (face antérieure); **f.** détail de l'antenne du mâle (face postérieure); **g.** nymphe en vue ventrale; **h.** nymphes femelle et mâle en vue ventrale; **i.** pièces génitales de la femelle en vue latérale; **j.** pièces génitales du mâle (androconies & édéage) en vue latérale.

ANNEXE 2: Composés de phéromones femelles identifiés chez des espèces de Spilomelinae (Lepidoptera: Crambidae)

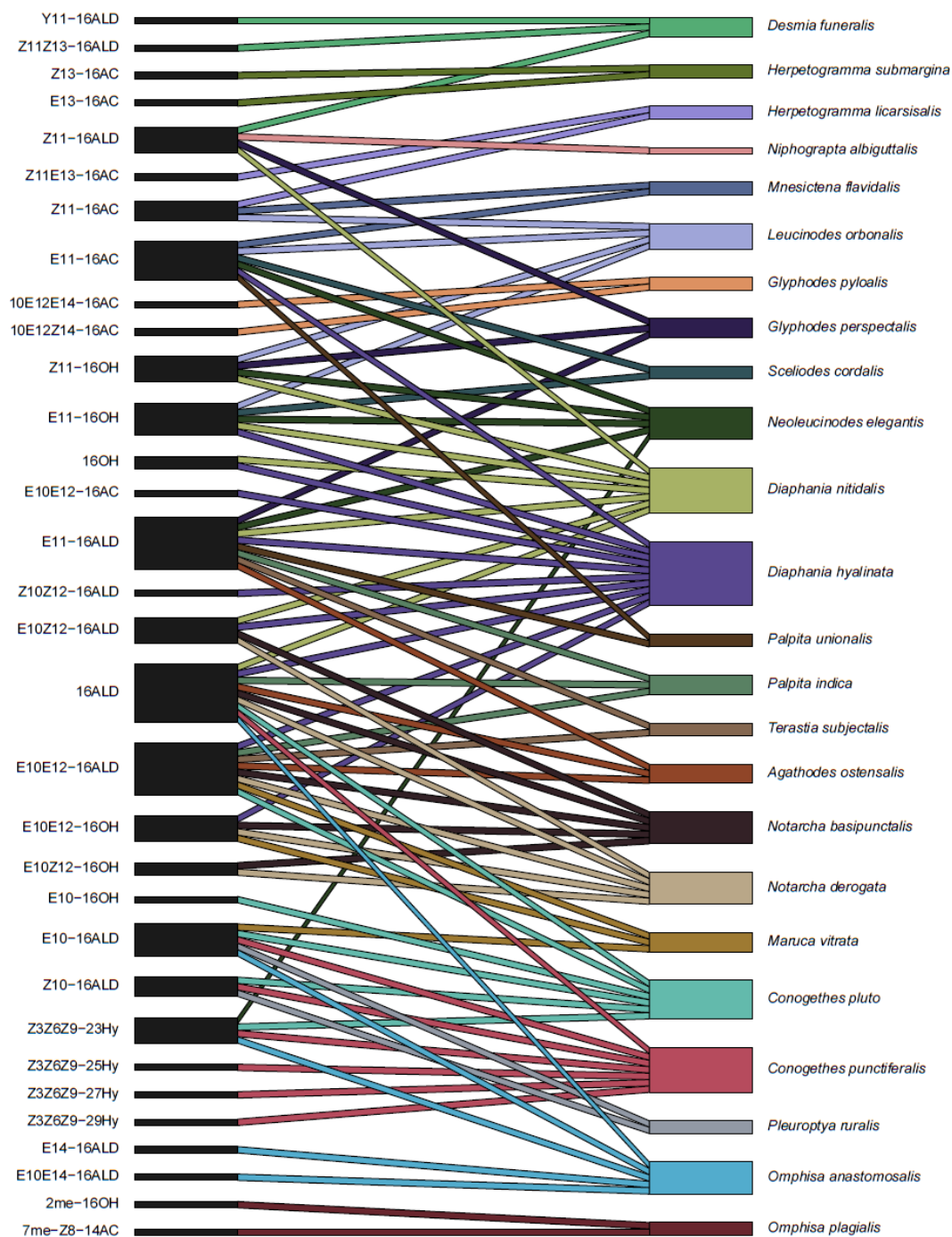


Figure A2. 1 Composés de phéromones femelles identifiés chez des espèces de Spilomelinae (Lepidoptera: Crambidae). D'après El-Sayed (2016)

Rapport-Gratuit.com

ANNEXE 3: Screening électroantennographique sur mâle *P. smaragdina* mené en 2014

Figure A3. 1 histogramme du screening électroantennographique (EAG) de composés identifiés chez des femelles de *Pyrallioidea* sur des antennes mâles de *Prophantis smaragdina*.

N = nombre d'antennes de mâle testées par composé

(une antenne = un mâle)

HEXANE = Témoin

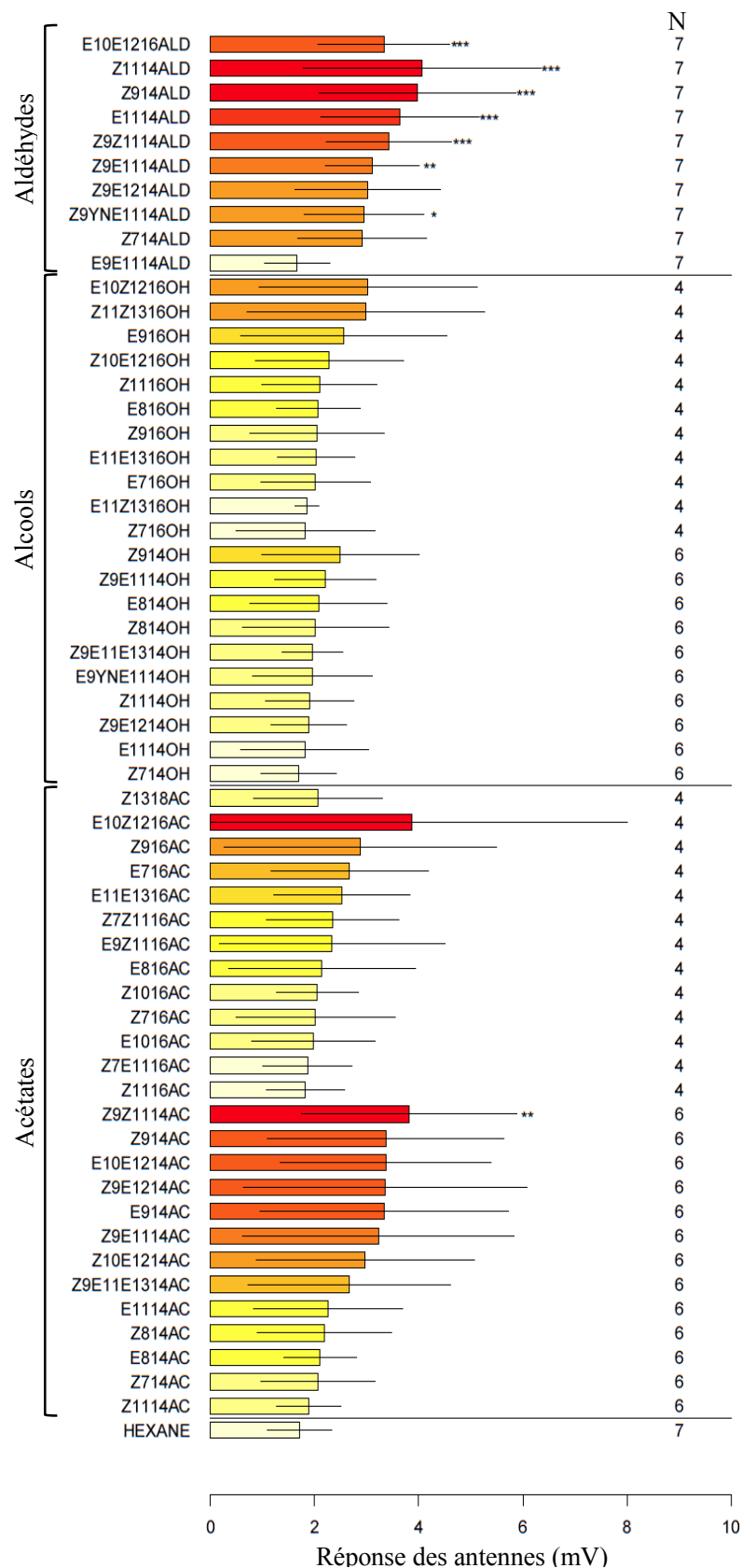
Les analyses statistiques ont suivi la même procédure que les analyses EAG de l'article 2 (*Mating behaviour of the coffee berry moth *P. smaragdina* and identification of putative female sex pheromone components*) avec une transformation log des réponses.

Les étoiles montrent une réponse des antennes mâles significativement différentes par rapport au témoin.

*** $P < 0.001$

** $P < 0.01$

* $P < 0.05$



ANNEXE 4: Extraction des composés de glandes à phéromones de femelles *P. smaragdina*

Tableau A4. 1 Méthodes d'extractions de composés de glandes à phéromone de femelles *P. smaragdina* effectuées pendant la thèse. L'identification des molécules susceptibles de composer la phéromone femelle (cf. article 2) a été effectuée à partir des analyses des échantillons surlignés en gris.

Extraction	Nom de l'extrait	Date d'extraction	Conditions	nombre de glandes extraites	Méthode	Volume (µL)
1	E1	Jul-14	contrôlées - photophase inversée	11	solvant éthanol	50
2	E2	Jul-14	contrôlées - photophase inversée	3	solvant hexane	50
3	glandesfemellesB3	Jul-14	contrôlées - photophase inversée	4	SPME bleue (frotté sur la glande)	-
4	glandesfemellesr2	Jul-14	contrôlées - photophase inversée	5	SPME rouge (frotté sur la glande)	-
5	E3	Aug-14	contrôlées - photophase inversée	6	solvant hexane	50
6	E4	Aug-14	contrôlées - photophase inversée	7	solvant toluène	50
7	glandefemelle6	Aug-14	contrôlées - photophase inversée	1	SPME rouge (frotté sur la glande)	-
8	jaune1	Aug-14	contrôlées - photophase inversée	5	SPME jaune (frotté sur la glande)	-
9	G1	Aug-14	contrôlées - photophase inversée	7	SPME grise (frotté sur la glande)	-
10	C1	Oct-14	contrôlées - photophase inversée	13	solvant chloroforme	50
11	E2015_1	Apr-15	contrôlées - photophase inversée	20	solvant éthanol	300
12	E2015_2	Apr-15	contrôlées - photophase inversée	20	solvant hexane	300
13	E2015_3	May-15	contrôlées - photophase inversée	9	solvant hexane	300
14	E0303-25032017F	Mar-17	naturelles	81	solvant hexane	50
15	8FemellesAmline	Mar-16	naturelles	8	SPME rouge méthode Amline	-
16	E3003-24052016F	Mar-16	contrôlées - photophase normale	52	solvant hexane	100
17	E08062016glF	Jun-16	contrôlées - photophase normale	10	PBAN puis hexane	50
18	SPME10-11082016	Aug-16	naturelles	15	SPME rouge méthode Amline	-
19	SPME23-24082016	Aug-16	naturelles	12	SPME rouge méthode Amline	-
20	SPME0909-15122017	Sep-16	naturelles	10	SPME rouge méthode Amline	-
21	SPME0512217	Dec-16	naturelles	15	SPME rouge méthode Amline	-



ANNEXE 5 : Essais d’attractifs au champ menés pendant la thèse

Tableau A5. 1 Formulations testées en 2015, 2016 et 2017 au champ, testées selon le protocole défini dans l’article 2 (M&M partie *field test*).

Molécules	Formulations testées (en µg)																																																						
	2015															2016									2017																														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45										
Z9-14ALD	100	-	-	-	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-									
E11-14ALD	-	-	100	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-									
Z11-14ALD	-	100	-	50	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-									
E9E11-14ALD	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-									
Z9Z11-14ALD	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-									
Z9E11-14ALD	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-									
Z9E12-14ALD	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-									
Z9-16AC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-									
Z11-16ALD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	90	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-									
E10-16ALD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	90	10	10	10	-	10	-	6	-	-	100	-	-	60	-	-	1000	-	-	-	600	-	-	-										
E12-16ALD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	6	-	-	100	-	-	-	60	-	-	1000	-	-	-	600	-	-	-									
Z12-16ALD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	6	-	-	100	-	-	-	60	-	-	1000	-	-	-	600	-	-									
E10E12-16Al	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	90	50	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-								
E10Z12-16Al	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	90	50	10	50	10	90	-	-	-	-	10	10	10	10	-	-	-	100	100	100	100	-	-	-	1000	1000	1000	1000	-	-								
Z11Z13-16OH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-								
E10Z12-16OH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	10	50	90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-								
E10E12-16OH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	10	50	90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-								

Figure A5. 1 Photo d’un piège témoin



Deux femelles vierges *P. smaragdina*

Mâles *P. smaragdina* attirés par les
femelles et piégés sur la plaque de glue

ANNEXE 6: Données de récoltes sur la collection de café

Lieu : Collection internationale de café à Bassin Martin

Propriétaire : IRD

Coordonnées GPS : S 21° 18.5351' E055°30.4865'

Altitude : 310m

Tableau A6. 1 : Moyennes des récoltes par mois (exprimés en grammes) effectuées en 2014, 2015 et 2016 sur six espèces de caféier. Les zones colorées correspondent à la période de fructification de chaque espèce. CS, *Cyclonic Summer*.

Species	janvier	février	mars	avril	mai	juin	juillet	août	septembre	octobre	novembre	décembre
ANT	-	19.04 ± 19.04	164.10 ± 53.68	256.50 ± 45.01	317.36 ± 121.92	199.07 ± 36.71	253.10 ± 23.84	290.72 ± 28.85	200.80 ± 68.12	97.26 ± 68.21	-	-
EUG	31.80	51.00 ± 37.15	113.30 ± 31.07	195.06 ± 38.48	270.90 ± 91.88	177.85 ± 36.35	227.14 ± 19.69	287.06 ± 20.85	72.70 ± 72.70	-	-	-
POCS	-	-	-	-	-	-	123.40 ± 51.90	57.92 ± 36.54	220.88 ± 58.16	327.64 ± 132.02	33.06 ± 132.02	20.00
PSE	55.70	230.55 ± 62.62	128.03 ± 41.11	100.07 ± 63.37	0.00	0.00	42.23 ± 42.23	-	-	-	-	-
PSI	-	-	-	-	1.24 ± 1.24	0.00	190.47 ± 38.14	147.00 ± 62.74	98.98 ± 57.23	7.49 ± 4.79	-	-
SES	0.00	153.62 ± 72.87	229.67 ± 73.69	54.44 ± 26.62	94.10 ± 39.29	22.38 ± 22.38	-	-	-	7.80 ± 7.80	24.00 ± 7.80	16.00

CS
SUMMER
WINTER
SPRING
CS

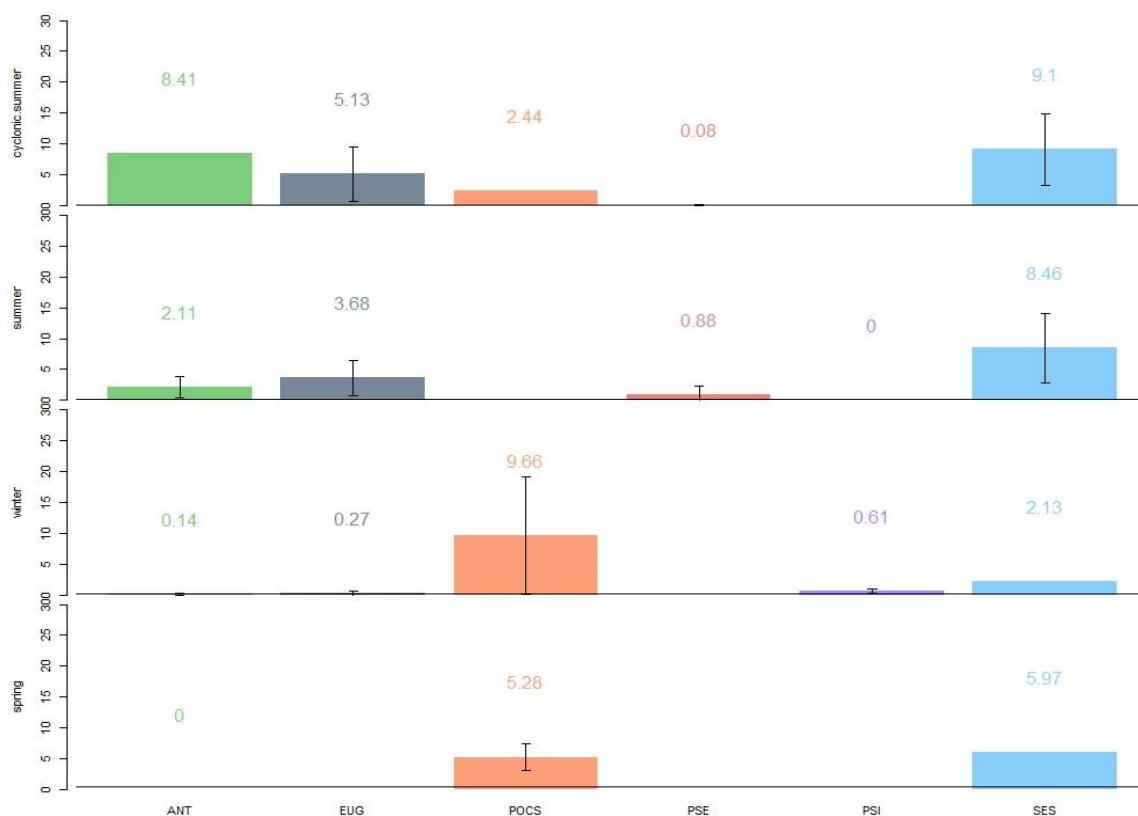


Figure A6. 1 Densité de population de *P. smaragdina* chez différentes espèces de caféier (abréviations en abscisse) par saison, exprimé en nombre de larves pour 100 fruits (moyennes des années 2014, 2015 et 2016).

ANNEXE 6: Données de récoltes sur la collection de café

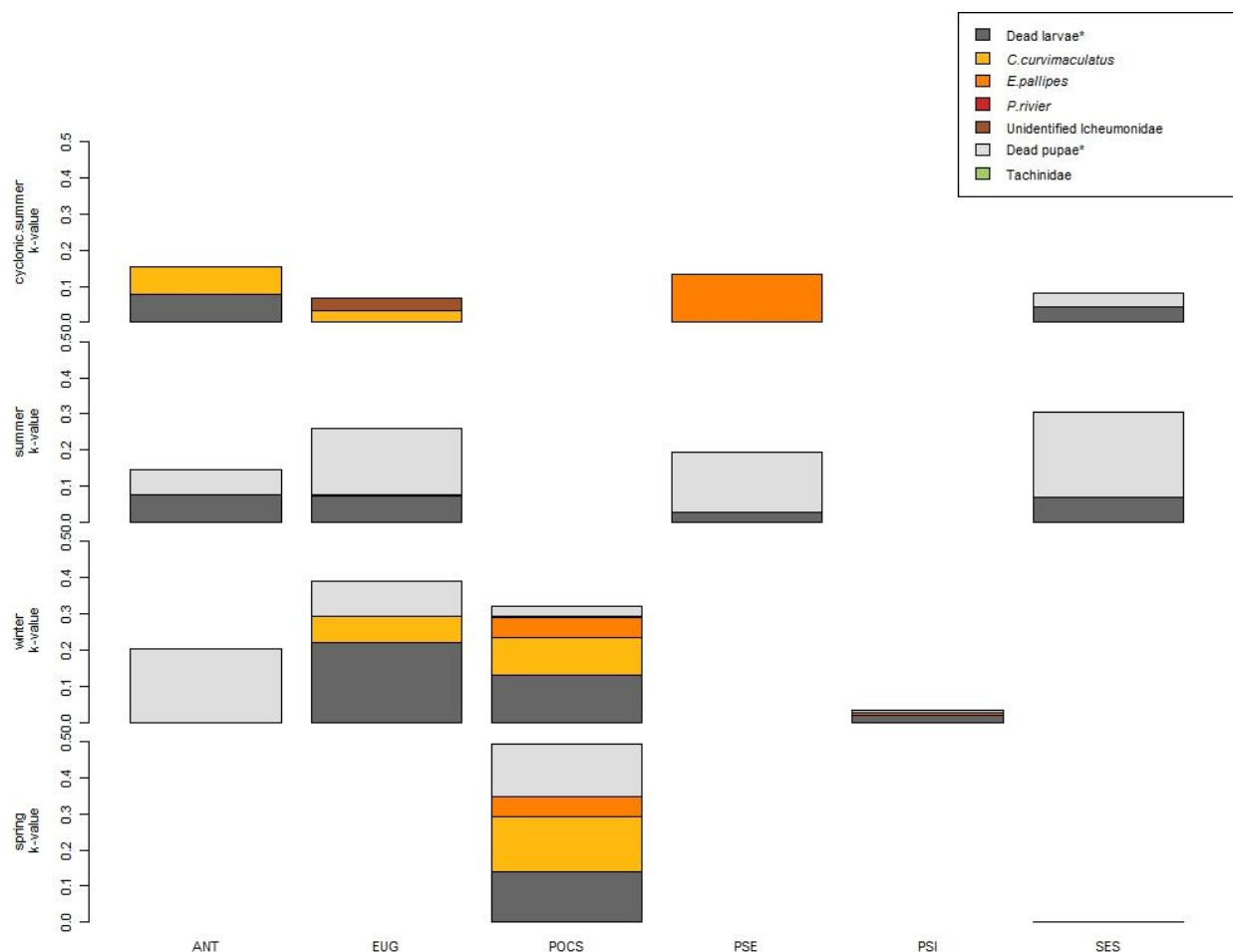


Figure A6. 2 Différentes causes de mortalité exprimées par les k-values (cf. article 1 pour plus de détails) des larves et des nymphes de *P. smaragdina* selon la saison (**Tableau A6. 1**) et les différentes espèces de caféier (abréviations en abscisse), moyenne des années 2015 et 2016. ‘*’ Morts de causes inconnues. La catégorie ‘Unidentified Ichneumonidae’ correspond aux pupes d’Ichneumonidae non-émergées et par conséquent non identifiées.

ANNEXE 6: Données de récoltes sur la collection de café

Tableau A6. 2 Table de vie de *P. smaragdina* sur six espèces de caféier en fonction des saisons. Moyenne des tables de vie des années 2015 et 2016. Les liaisons de gauches indiquent une différence significative entre saisons : « * » = p-value < 0.05 ; « ** » = p-value < 0.01

		ANT				EUG				POCS				PSE				PSI				SES									
		lx	dx	qx	mx	kvalue	lx	dx	qx	mx	kvalue	lx	dx	qx	mx	kvalue	lx	dx	qx	mx	kvalue	lx	dx	qx	mx	kvalue	lx	dx	qx	mx	kvalue
CYCLONIC SUMMER																															
Larvae		1000,0	142,86	0,14	0,15	0,15	1000,0	60,61	0,06	0,06	0,07	NA	NA	NA	NA	NA	1000,0	125,00	0,13	0,13	0,13	NA	NA	NA	NA	NA	1000,0	40,80	0,04	0,04	0,04
Chelonus curvimaculatus			71,43	0,07	0,07	0,08		30,30	0,03	0,03	0,03		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Eriborus pallipes			0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		125,00	0,13	0,13	0,13		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Pristomerus rivier			0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Unidentified Ichneumonidae			0,00	0,00	0,00	0,00		30,30	0,03	0,03	0,03		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Unknown			71,43	0,07	0,07	0,08		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		40,80	0,04	0,04	0,04
Chrysalis		857,1	0,00	0,00	0,00	0,00	939,4	0,00	0,00	0,00	0,00	NA	NA	NA	NA	NA	875,0	0,00	0,00	0,00	0,00	NA	NA	NA	NA	NA	959,2	38,32	0,04	0,04	0,04
Tachinidae			0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Unknown			71,43	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		40,80	0,04	0,04	0,04
Imagos		857,1					939,4					NA					875,0					NA					920,9				
SUMMER																															
Larvae		1000,0	68,00	0,07	0,07	0,08	1000,0	70,76	0,07	0,07	0,08	NA	NA	NA	NA	NA	1000,0	27,78	0,03	0,03	0,03	NA	NA	NA	NA	NA	1000,0	65,20	0,07	0,07	0,07
Chelonus curvimaculatus			0,00	0,00	0,00	0,00		4,08	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Eriborus pallipes			0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Pristomerus rivier			0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Unidentified Ichneumonidae			0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Unknown			68,00	0,07	0,07	0,08		66,68	0,07	0,07	0,07		NA	NA	NA	NA		27,78	0,03	0,03	0,03		NA	NA	NA	NA		65,20	0,07	0,07	0,07
Chrysalis		932,0	230,92	0,23	0,23	0,07	929,2	166,81	0,17	0,17	0,19	NA	NA	NA	NA	NA	972,2	138,89	0,14	0,14	0,16	NA	NA	NA	NA	NA	934,8	183,57	0,18	0,18	0,23
Tachinidae			0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Unknown			68,00	0,23	0,23	0,07		66,68	0,17	0,17	0,19		NA	NA	NA	NA		27,78	0,14	0,14	0,16		NA	NA	NA	NA		65,20	0,18	0,18	0,23
Imagos		701,1					762,4					NA					833,3					NA					751,2				
WINTER																															
Larvae		1000,0	500,00	0,50	0,50	0,00	1000,0	229,17	0,23	0,23	0,29	1000,0	250,69	0,25	0,27	0,29	NA	NA	NA	NA	NA	1000,0	25,15	0,03	0,03	0,03	NA	NA	NA	NA	NA
Chelonus curvimaculatus			500,00	0,50	0,50	0,00		62,50	0,06	0,06	0,07		87,59	0,09	0,10	0,10		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA
Eriborus pallipes			0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00		48,73	0,05	0,05	0,06		NA	NA	NA	NA		7,58	0,01	0,01	0,01		NA	NA	NA	NA
Pristomerus rivier			0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA
Unidentified Ichneumonidae			0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00		3,31	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA
Unknown			0,00	0,00	0,00	0,00		166,67	0,17	0,17	0,22		111,05	0,11	0,12	0,13		NA	NA	NA	NA		17,58	0,02	0,02	0,02		NA	NA	NA	NA
Chrysalis		500,0	166,67	0,17	0,17	0,20	770,8	79,17	0,08	0,08	0,09	749,3	25,82	0,03	0,03	0,03	NA	NA	NA	NA	NA	974,8	7,58	0,01	0,01	0,01	NA	NA	NA	NA	NA
Tachinidae			0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA
Unknown			0,00	0,17	0,17	0,20		166,67	0,08	0,08	0,09		111,05	0,03	0,03	0,03		NA	NA	NA	NA		17,58	0,01	0,01	0,01		NA	NA	NA	NA
Imagos		333,3					691,7					723,5					NA					967,3					NA				
SPRING																															
Larvae		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1000,0	293,62	0,29	0,33	0,35	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1000,0	0,00	0,00	0,00	0,00
Chelonus curvimaculatus			NA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		127,66	0,13	0,14	0,15		NA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Eriborus pallipes			NA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		46,81	0,05	0,05	0,06		NA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Pristomerus rivier			NA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Unidentified Ichneumonidae			NA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Unknown			NA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		119,15	0,12	0,13	0,14		NA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Chrysalis		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	706,4	136,17	0,14	0,14	0,15	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1000,0	0,00	0,00	0,00	0,00
Tachinidae			NA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00		NA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Unknown			NA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		119,15	0,14	0,14	0,15		NA	NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		0,00	0,00	0,00	0,00
Imagos		NA					NA					570,2					NA					NA					1000,0				

Résumé:

La Pyrale du Café, *Prophantis smaragdina* Butler (Lepidoptera: Crambidae: Spilomelinae), est un ravageur des cultures de café présent en Afrique subsaharienne. A La Réunion, *P. smaragdina* est le principal insecte ravageur de la culture du caféier 'Bourbon Pointu', café de haute qualité reconnu à l'échelle internationale. Le plan gouvernemental ECOPHYTO, ajouté aux enjeux environnementaux, contraignent les producteurs de café à réduire l'utilisation de pesticides qui est la seule solution efficace actuelle contre *P. smaragdina*. Cette thèse a été entreprise afin d'améliorer nos connaissances sur la bio-écologie et l'écologie chimique de *P. smaragdina* afin de développer une méthode de lutte biologique contre cet insecte. L'étude de la biologie a montré que la population de *P. smaragdina* était la plus importante au début de la période de fructification c'est-à-dire en janvier. Une corrélation positive entre la température et la densité de population a été montrée. Quatre parasitoïdes de *P. smaragdina* ont été identifiés à La Réunion. Parmi eux, *Pristomerus rivier* (Hymenoptera: Ichneumonidae) est révélé comme parasitoïde candidat pour une éventuelle lutte contre *P. smaragdina* par l'utilisation d'ennemis naturels. Les observations du comportement d'accouplement ont montré que, comme la plupart des lépidoptères hétérocères, la femelle attirait le mâle par l'émission d'une phéromone sexuelle. Quatre molécules suspectés de composer la phéromone femelle ont été identifiées par chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (GC/MS). Les tests d'électroantennographie (EAG) ont montré que le composé majoritaire identifié induisait une réponse significative des antennes mâles, le faisant candidat pour être le composé majoritaire de la phéromone femelle de *P. smaragdina*. Les tests de piégeage au champ avec les composés identifiés n'ont, jusque-là, pas entraîné de captures, probablement à cause d'un composé mineur manquant ou d'un mauvais ratio de composés dans les pièges. Il est suggéré que le mâle *P. smaragdina* émet une phéromone pendant le comportement de cour. L'analyse GC/MS des composés volatiles de pincesaux androconiaux des mâles a mis en évidence cinq composés aromatiques. Les tests EAG des composés identifiés sur les antennes des mâles et des femelles suggèrent que le créosol pourrait jouer un rôle sur les comportements du mâle et de la femelle.

Mots clés : *Prophantis smaragdina*, Crambidae, parasitoïdes, *Pristomerus rivier*, café, phéromone.

Abstract:

The Coffee berry moth, *Prophantis smaragdina* (Lepidoptera: Crambidae: Spilomelinae) is an important pest of coffee mainly recorded in sub-Saharan Africa. In Reunion Island, *P. smaragdina* is the only insect pest of coffee. *P. smaragdina* larvae, by eating coffee cherry albumen, cause major yield losses in 'Bourbon Pointu' (BP) production, which is a high value-added and internationally known coffee. Governmental ECOPHYTO plan, added to environmental concerns, constrain coffee farmers to reduce insecticide spraying which is, until now, the only efficient control method of *P. smaragdina*. This thesis was undertaken to improve our knowledge of the bio-ecology and chemical ecology of *P. smaragdina* to develop an efficient and economically sustainable biocontrol method against this insect. Our bio-ecology study showed that *P. smaragdina* population was the most abundant at the beginning of BP fructification period i.e in January. A positive correlation between temperature and *P. smaragdina* population density was showed. Four parasitoids of *P. smaragdina* in Reunion were identified. Among them, *Pristomerus rivier* (Hymenoptera: Ichneumonidae) is a potential candidate for *P. smaragdina* biocontrol. Mating behaviour observations showed that, as most of moths, the female emits a sexual pheromone to attract males for mating. Four compounds suspected to compose the female pheromone identified using gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/ MS). Electroantennography (EAG) test on male showed that the major identified compound induced a response of male antennae, it could be the major compound of *P. smaragdina* female pheromone. Field trapping tests with identified compounds, until now, did not yield any captures, probably because of a lack of minor pheromone components or because of erroneous compounds ratios used in traps. A study of *P. smaragdina* courtship behaviour suggested that the male of *P. smaragdina* emits pheromone. Five aromatic compounds were identified in male hair pencil volatiles by GC/MS. EAG tests of those compounds on male and female antennae suggest that creosol could play a role on male and female behaviour.

Key words: *Prophantis smaragdina*, Crambidae, parasitoid, *Pristomerus rivier*, coffee, pheromone.

LETTRE D'ENGAGEMENT DE NON-PLAGIAT

Je, soussigné(e) Oriane Lavogez,
en ma qualité de doctorant(e) de l'Université de La Réunion, déclare être conscient(e) que le
plagiat est un acte délictueux passible de sanctions disciplinaires. Aussi, dans le respect de la
propriété intellectuelle et du droit d'auteur, je m'engage à systématiquement citer mes
sources, quelle qu'en soit la forme (textes, images, audiovisuel, internet), dans le cadre de la
rédaction de ma thèse et de toute autre production scientifique, sachant que l'établissement est
susceptible de soumettre le texte de ma thèse à un logiciel anti-plagiat.

Fait à Saint-Pierre, le (date) 22/08/2017.

Signature :



Extrait du Règlement intérieur de l'Université de La Réunion
(validé par le Conseil d'Administration en date du 11 décembre 2014)

Article 9. Protection de la propriété intellectuelle – Faux et usage de faux, contrefaçon, plagiat

L'utilisation des ressources informatiques de l'Université implique le respect de ses droits de propriété intellectuelle ainsi que ceux de ses partenaires et plus généralement, de tous tiers titulaires de tels droits.

En conséquence, chaque utilisateur doit :

- utiliser les logiciels dans les conditions de licences souscrites ;
- ne pas reproduire, copier, diffuser, modifier ou utiliser des logiciels, bases de données, pages Web, textes, images, photographies ou autres créations protégées par le droit d'auteur ou un droit privatif, sans avoir obtenu préalablement l'autorisation des titulaires de ces droits.

La contrefaçon et le faux

Conformément aux dispositions du code de la propriété intellectuelle, toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle d'une œuvre de l'esprit faite sans le consentement de son auteur est illicite et constitue un délit pénal.

L'article 444-1 du code pénal dispose : « Constitue un faux toute altération frauduleuse de la vérité, de nature à causer un préjudice et accomplie par quelque moyen que ce soit, dans un écrit ou tout autre support d'expression de la pensée qui a pour objet ou qui peut avoir pour effet d'établir la preuve d'un droit ou d'un fait ayant des conséquences juridiques ».

L'article L335_3 du code de la propriété intellectuelle précise que : « Est également un délit de contrefaçon toute reproduction, représentation ou diffusion, par quelque moyen que ce soit, d'une œuvre de l'esprit en violation des droits de l'auteur, tels qu'ils sont définis et réglementés par la loi. Est également un délit de contrefaçon la violation de l'un des droits de l'auteur d'un logiciel (...) ».

Le plagiat est constitué par la copie, totale ou partielle d'un travail réalisé par autrui, lorsque la source empruntée n'est pas citée, quel que soit le moyen utilisé. Le plagiat constitue une violation du droit d'auteur (au sens des articles L 335-2 et L 335-3 du code de la propriété intellectuelle). Il peut être assimilé à un délit de contrefaçon. C'est aussi une faute disciplinaire, susceptible d'entraîner une sanction.

Les sources et les références utilisées dans le cadre des travaux (préparations, devoirs, mémoires, thèses, rapports de stage...) doivent être clairement citées. Des citations intégrales peuvent figurer dans les documents rendus, si elles sont assorties de leur référence (nom d'auteur, publication, date, éditeur...) et identifiées comme telles par des guillemets ou des italiques.

Les délits de contrefaçon, de plagiat et d'usage de faux peuvent donner lieu à une sanction disciplinaire indépendante de la mise en œuvre de poursuites pénales.