



**HAL**  
open science

# Identification et Application Agronomique de Synergistes Végétaux de la Phéromone du Charançon *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) 1790

Arman Avand-Faghieh

► **To cite this version:**

Arman Avand-Faghieh. Identification et Application Agronomique de Synergistes Végétaux de la Phéromone du Charançon *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) 1790. Life Sciences [q-bio]. INAPG (AgroParisTech), 2004. English. NNT : 2004INAP0003 . pastel-00000692

**HAL Id: pastel-00000692**

**<https://pastel.hal.science/pastel-00000692>**

Submitted on 21 Jul 2004

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Institut National Agronomique  
Paris-Grignon



Institut National de la Recherche  
Agronomique

## THÈSE

Présentée par :

Arman AVAND-FAGHIIH

Pour obtenir le titre de DOCTEUR DE L'INA-PG  
Mention : Biologie et Agronomie 'Protection des Cultures'

### IDENTIFICATION ET APPLICATION AGRONOMIQUE DE SYNERGISTES VÉGÉTAUX DE LA PHÉROMONE DU CHARANÇON *RHYNCHOPHORUS FERRUGINEUS* (OLIVIER) 1790

Soutenue le 20 avril 2004 devant le jury composé de :

|                         |   |            |
|-------------------------|---|------------|
| M. Frédéric MARION-POLL | Professeur, INA-PG                      | Président  |
| M. Jean-Marc JALLON     | Professeur, Université Paris Sud        | Rapporteur |
| M. Eric THIBOUT         | Directeur de Recherche, CNRS            | Rapporteur |
| M. Didier ROCHAT        | Chargé de Recherche, INRA               | Examineur  |
|                         |   | r          |
| M. Pierre ZAGATTI       | Directeur de Recherche, INRA            | Examineur  |
|                         |   | r          |
| M. Enzo CASAGRANDE      | Ph.D., Technical Manager, AgriSense-BCS | Examineur  |
|                         |   | r          |

M. Gholam-Abbas ABDOLLAHI Directeur de Recherche, PPDRI

Examineur  
r



A l'âme de mon grand père  
Mohammad-Taghi SADJADIAN

et

à Didier ROCHAT



## AVANT-PROPOS

Arrivé au bout du chemin de ma thèse, je prends quelques temps pour regarder en arrière et voir un peu ce trajet que j'ai parcouru pendant quatre ans afin d'exprimer tous mes remerciements, et si j'y arrive, mes sentiments à ceux qui m'ont accompagné et soutenu jusqu'à ce point précis de ma vie :

**Didier ROCHAT**, de qui j'ai beaucoup appris depuis mes années de maîtrise, et il me reste encore tant de choses à apprendre. Grâce à lui, j'ai eu le bonheur de faire mes études en France ; il m'a soutenu et suivi pas à pas du début jusqu'à la fin de ma thèse. Je lui suis reconnaissant de m'avoir encadré avec autant de soin et d'avoir eu la patience de me former en tenant compte de mes capacités ;

**Monsieur Charles DESCOINS** qui m'a soutenu pour faire ma thèse à l'Unité de Phytopharmacie et Médiateurs Chimiques du centre de l'INRA à Versailles et **Monsieur Pierre LEROUX** pour m'avoir accueilli au sein de son unité ;

**Michel RENO** qui a assuré l'encadrement de la partie électrophysiologique, **Christian MALOSSE** qui a analysé un très grand nombre d'extraits, **Jean-Paul MORIN**, **Pierre ZAGATTI**, **Martine LETTERE**, **Philippe LUCAS** et **Frédéric MARION-POLL** qui ont toujours été disponibles pour m'aider et m'encourager avec beaucoup de gentillesse ;

**Thérèse LASNIER** qui m'a accompagné et a contribué à la partie CPG-EAG, ou comme elle préfère GC-EAG. Elle a toujours été là pour m'encourager, ou plutôt devrais-je dire me « pousser » en avant avec une gentillesse inoubliable. Un très grand merci pour avoir pris le temps de corriger mon manuscrit ;

**Dominique TAUBAN** et **Monsieur MASQUARELLE** du Muséum National d'Histoire Naturelle qui m'ont aidé et ont contribué à la partie microscopie électronique avec beaucoup de patience et de bonne humeur ;

**Kazem MOHAMMADPOUR**, **Reza ERFANIAN**, **Faridoddin YOUSEFI** qui m'ont suivi dans les palmeraies de Saravan au Baloutchistan 6 mois par an avec beaucoup de patience et de sympathie et ont contribué à la partie piégeage sur le terrain ;

Les conseillers culturels et les attachés scientifiques du Service Culturel de l'Ambassade de France en Iran, surtout **Messieurs REGNIER**, **TELLIER**, **PAQUETOT** et **BLANCHY** qui m'ont gentiment appuyé afin de profiter d'une Bourse du Gouvernement Français ;

**Monsieur Gholam-Abbas ABDOLLAHI** qui m'a toujours soutenu pour le financement de mon travail en Iran ;

**La Société AgiSense-BCS Ltd** et surtout **Monsieur Enzo CASAGRANDE** qui m'a généreusement fourni les diffuseurs de phéromone et le matériel plastique servant à la confection des diffuseurs d'odeurs végétales ;

Mes amis, **Laurent PELOZUELO**, **Imen SAID**, **Gaëlle GUIRAUDIE**, **Adeline PEZIER**, **Delphine CALAS**, **Christine MERLIN** et **Nour-Eddine ES-SAFI** pour leurs encouragements et leur complicité ;

et à la fin de ce chemin : **Messieurs Jean-Marc JALLON** et **Eric THIBOUT** qui ont accepté la lourde tâche de rapporteur.

## Table des matières

|   |           |
|---|-----------|
| <b><u>Introduction</u></b>  | <b>1</b>  |
| <b><u>Revue bibliographique</u></b>   | <b>4</b>  |
| <b><u>1. Le Charançon rouge des palmiers, <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> (Olivier) 1790</u></b>   | <b>5</b>  |
| <u>1.1. Systématique</u>  | 5         |
| <u>1.2. Morphologie</u>   | 5         |
| <u>1.3. Biologie – Ecologie</u>   | 5         |
| <u>1.3.1. Plantes-hôtes</u>   | 7         |
| <u>1.3.2. Ecologie chimique de l'adulte</u>   | 9         |
| <u>1.4. Répartition géographique</u>  | 11        |
| <u>1.5. Importance économique</u>   | 11        |
| <u>1.5.1. En Asie tropicale dans l'aire du cocotier</u>   | 12        |
| <u>1.5.2. Au Moyen-Orient dans l'aire du palmier dattier</u>  | 12        |
| <u>1.6. Méthodes de lutte</u>   | 13        |
| <u>1.6.1. Lutte chimique</u>  | 13        |
| <u>1.6.2. Lutte biologique</u>  | 14        |
| <u>1.6.3. Lutte génétique</u>   | 15        |
| <u>1.6.4. Lutte éthologique et piégeage olfactif</u>  | 15        |
| <u>1.6.4.1. Outils pour le piégeage</u>   | 15        |
| <u>1.6.4.2. Piégeage de masse</u>   | 17        |
| <u>1.6.4.3. Impact du matériel végétal comme synergiste de phéromone sur le piégeage</u>  | 19        |
| <b><u>2. L'effet synergique des odeurs végétales sur les réponses des insectes aux phéromones</u></b>   | <b>21</b> |
| <u>2.1. Le rôle des odeurs végétales sur la communication phéromonale</u>   | 21        |
| <u>2.2. Le concept et la mise en évidence de l'effet phérosynergique des odeurs végétales</u>   | 21        |
| <u>2.3. Les synergistes végétaux des phéromones d'insectes</u>  | 23        |
| <u>2.3.1. Nitidulidae</u>   | 23        |
| <u>2.3.2. Dynastinae</u>  | 23        |
| <u>2.3.3. Curculionidae</u>   | 24        |
| <u>2.4. Les techniques pour identifier des phérosynergistes végétaux</u>  | 25        |
| <u>2.4.1. Les méthodes électrophysiologiques</u>  | 26        |
| <u>2.4.2. Les tests comportementaux</u>   | 27        |
| <b><u>Partie expérimentale</u></b>  | <b>29</b> |
| <b><u>1. Extraction, analyses et identification des composés volatils émis par le cœur du palmier dattier au cours de la fermentation</u></b> | <b>30</b> |
| <u>1.1. Introduction</u>  | 30        |
| <u>1.2. Matériels et Méthodes</u>   | 33        |
| <u>1.2.1. Extraction de l'odeur du cœur de palmier dattier</u>  | 33        |
| <u>1.2.1.1. Matériel végétal</u>  | 33        |

|  |           |
|--|-----------|
| <u>1.2.1.2. Dispositifs et méthodes de collecte d'effluves</u>   | 34        |
| <u>1.2.1.3. Collecte d'effluves sur un polymère adsorbant en 2002</u>  | 35        |
| <u>1.2.1.4. Collecte d'effluves par SPME</u>   | 35        |
| <u>1.2.2. Analyses CPG</u>   | 35        |
| <u>1.2.3. Analyses CPG-SM</u>  | 36        |
| <u>1.2.4. Identification et quantification des produits</u>  | 36        |
| <u>1.3. Résultats et Discussion</u>  | 38        |
| <u>1.3.1. Analyses qualitatives</u>  | 38        |
| <u>1.3.2. Analyses quantitatives</u>   | 41        |
| <b><u>2. Etude morphofonctionnelle de l'antenne du charançon rouge des palmiers, <i>R. ferrugineus</i>, par microscopie électronique à balayage et électroantennographie</u></b> | <b>45</b> |
| <u>2.1. Introduction</u>   | 45        |
| <u>2.1.1. Morphologie de l'antenne et réponse EAG</u>  | 45        |
| <u>2.1.2. Morphologie de l'antenne des rhynchophores</u>   | 47        |
| <u>2.1.3. Morphologie de l'antenne de <i>R. ferrugineus</i></u>  | 47        |
| <u>2.1.4. Equipement sensoriel de l'antenne des <i>Rhynchophorus</i> spp.</u>  | 47        |
| <u>2.2. Matériels et Méthodes</u>  | 49        |
| <u>2.2.1. Matériel vivant</u>  | 49        |
| <u>2.2.2. Etude des principaux types de structures cuticulaires de la massue de l'antenne de <i>R. ferrugineus</i> et de leur répartition par MEB</u>                            | 49        |
| <u>2.2.2.1. Estimation de la surface de la zone sensorielle de la massue</u>   | 49        |
| <u>2.2.2.2. Préparation des antennes</u>   | 50        |
| <u>2.2.2.3. Estimation de la densité des soies sur la massue</u>   | 50        |
| <u>2.2.3. Efficacité de l'EAG pour cribler des produits actifs au niveau SNP</u>   | 51        |
| <u>2.2.4. Etude de la réponse EAG de l'effet de la position de l'électrode sur la massue</u>   | 54        |
| <u>2.3. Résultats et Discussion</u>  | 55        |
| <u>2.3.1. Résultats de l'étude par MEB : Soies cuticulaires observées sur l'antenne de <i>R. ferrugineus</i></u>   | 55        |
| <u>2.3.1.1. Types de soies</u>   | 56        |
| <u>2.3.1.2. Dimorphisme sexuel au niveau de la densité des soies</u>   | 58        |
| <u>2.3.1.3. Répartition des soies sur la surface de la massue</u>  | 58        |
| <u>2.3.2. Résultats de l'étude électroantennographique</u>   | 60        |
| <u>2.3.2.1. Efficacité de l'EAG pour cribler des produits actifs au niveau SNP</u>   | 60        |
| <u>2.3.2.2. Effet de la position de l'électrode d'enregistrement sur la massue, sur la réponse EAG</u>   | 61        |
| <u>2.4. Conclusion</u>   | 63        |
| <b><u>3. Criblage de constituants d'odeurs de cœur de palmier dattier actifs sur l'antenne de <i>R. ferrugineus</i> par le couplage CPG-EAG</u></b>                              | <b>66</b> |
| <u>3.1. Introduction</u>   | 66        |
| <u>3.2. Matériels et Méthodes</u>  | 67        |
| <u>3.2.1. Matériel vivant</u>  | 67        |
| <u>3.2.2. Odeurs naturelles du cœur de dattier et mélange synthétique</u>  | 67        |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.2.3. Analyse électrophysiologique des odeurs du cœur de dattier par CPG-EAG  | 68        |
| 3.3. Résultats   | 71        |
| 3.4. Discussion  | 77        |
| <b><u>4. Etude de la réponse de <i>R. ferrugineus</i> au ferruginéol et à des extraits végétaux par olfactométrie - Observations sur la fécondité des femelles capturées par piégeage olfactif et la mobilité de l'insecte en conditions semi naturelles</u></b> | <b>81</b> |
| 4.1. Introduction  | 81        |
| 4.2. Matériels et Méthodes   | 82        |
| 4.2.1. Evaluation de la réponse de <i>R. ferrugineus</i> à la phéromone synthétique et à des extraits végétaux dans deux types d'olfactomètre au laboratoire   | 82        |
| 4.2.1.1. Matériel vivant   | 82        |
| 4.2.1.2. Olfactomètre à deux puits   | 83        |
| 4.2.1.3. Olfactomètre à quatre voies   | 84        |
| 4.2.2. Etat physiologique de l'appareil reproducteur de femelles collectées sur dattiers ou capturées par piégeage olfactif  | 86        |
| 4.2.3. Etude de la mobilité des adultes de <i>R. ferrugineus</i> au cours de la journée  | 87        |
| 4.3. Résultats et Discussion   | 87        |
| 4.3.1. Evaluation de la réponse de <i>R. ferrugineus</i> à la phéromone synthétique et aux extraits de matériel végétal dans deux types d'olfactomètre au laboratoire  | 87        |
| 4.3.1.1. Olfactomètre à deux puits   | 87        |
| 4.3.1.2. Olfactomètre à quatre voies   | 88        |
| 4.3.2. Etat physiologique de l'appareil reproducteur des femelles collectées sur dattiers ou capturées par piégeage olfactif   | 90        |
| 4.3.3. Etude sur l'activité des adultes de <i>R. ferrugineus</i> au cours de la journée  | 92        |
| <b><u>5. Approche sur le terrain par piégeage olfactif</u></b>   | <b>94</b> |
| 5.1. Introduction  | 94        |
| 5.2. Matériels et Méthodes   | 95        |
| 5.3.1. Pièges  | 95        |
| 5.3.2. Matériel végétal  | 95        |
| 5.3.3. Diffuseur d'odeurs synthétiques   | 96        |
| 5.3.4. Odeurs végétales synthétiques   | 97        |
| 5.3.5. Protocole expérimental  | 99        |
| 5.3.6. Analyses des résultats  | 100       |
| 5.3. Résultats   | 105       |
| 5.3.1. Criblage de l'effet phérosynergique d'odeurs végétales variées complétant le travail initié en 2000   | 105       |
| 5.3.1.1. Mélanges à base de EtOH et EtAc (essai 1)   | 105       |
| 5.3.1.2. Mélanges à base d'odeur de cœur de palmier dattier (essai 2)  | 106       |
| 5.3.1.3. Mélanges sans EtOH ni EtAc (essai 3)  | 107       |
| 5.3.1.4. Phérosynergistes décrits chez les charançons des palmiers dans la bibliographie (essai 4)   | 107       |
| 5.3.1.5. Gaz carbonique (essai 5)  | 108       |



|   |            |
|---|------------|
| <u>5.3.2. Evaluations complémentaires des mélanges les plus efficaces en 2000</u>   | 110        |
| <u>5.3.2.1. Réévaluation des 5 mélanges les plus actifs en 2000 (essai 6)</u>   | 110        |
| <u>5.3.2.2. Effet d'associations des mélanges les plus efficaces en 2000 (essais 7-9)</u>                                       | 111        |
| <u>5.3.3. Activité du mélange 27 et de mélanges dérivés</u>   | 113        |
| <u>5.3.3.1. Effet phérosynergique du mélange 27 (essai 10)</u>  | 113        |
| <u>5.3.3.2. Effet dose-réponse chez le mélange 27 (essai 11)</u>  | 115        |
| <u>5.3.3.3. Effet dose-réponse de la fraction minoritaire du mélange 27 (essai 12)</u>  | 116        |
| <u>5.3.3.4. Effet des composés minoritaires du mélange 27 : (essais 13 et 14)</u>   | 116        |
| <u>5.3.3.5. Evolution comparée des effets du mélange 27 et du matériel végétal au cours du temps (essai 15)</u>                 | 119        |
| <u>5.3.3.6. Effet de la fraction majoritaire du mélange 27 (essai 16)</u>   | 120        |
| <u>5.3.4. Activité du mélange MAJ</u>   | 121        |
| <u>5.3.4.1. Effet du mélange MAJ en comparaison avec les différentes quantités de matériel végétal (essais 17 et 18)</u>        | 121        |
| <u>5.3.4.2. Effet phérosynergique comparés du mélange MAJ et du matériel végétal (essai 19)</u>                                 | 122        |
| <u>5.3.5. Effet phérosynergique du matériel végétal sous différentes formes (essai 20)</u>                                      | 123        |
| <u>5.4. Discussion</u>  | 125        |
| <u>5.4.1. Criblage de l'effet phérosynergique chez les odeurs végétales</u>   | 125        |
| <u>5.4.1.1. Mélanges ou produits choisis à partir de données bibliographiques</u>   | 125        |
| <u>5.4.1.2. Mélanges construits à partir de composés volatils identifiés dans l'odeur du cœur de dattier ou criblés par EAG</u> | 126        |
| <u>5.4.2. Activité du mélange 27</u>  | 127        |
| <u>5.4.3. Effet phérosynergique du matériel végétal et du mélange MAJ</u>   | 129        |
| <b><u>Conclusions et Perspectives</u></b>   | <b>131</b> |
| <b><u>Références</u></b>  | <b>134</b> |
| <b><u>Annexe 1</u></b>  | <b>146</b> |
| <b><u>Annexe 2</u></b>  | <b>157</b> |
| <b><u>Liste des Figures</u></b>   | <b>166</b> |
| <b><u>Liste des Tableaux</u></b>  | <b>170</b> |

## Introduction

Le Charançon rouge des palmiers, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) 1790, est le ravageur le plus destructif des palmiers cultivés en Asie, au Moyen-Orient et dans le bassin méditerranéen. Les larves, ainsi que les œufs et les nymphes de cet insecte, vivent dans le stipe des palmiers et sont donc inaccessibles à une lutte chimique simple. Par ailleurs, il n'est pas possible de détecter les palmiers infestés car les symptômes ne sont visibles que tardivement après le début de l'infestation et le palmier a alors subi des dégâts irrémédiables.

L'identification de la phéromone d'agrégation chez cette espèce (4-méthyl-5-nonanol) (Hallett *et al.*, 1993a) a offert un nouvel outil et ouvert un autre horizon pour développer la méthode de piégeage de masse dans le cadre de la lutte intégrée contre ce ravageur. Comme chez les autres espèces du genre *Rhynchophorus*, les mâles produisent une phéromone d'agrégation qui est peu attractive pour les individus mais fortement synergique avec des odeurs végétales. Pour obtenir cet effet synergique et donc un niveau optimal de capture, il est nécessaire d'associer du matériel végétal à l'attractif phéromonal. Différents types de matériel végétal comme le cœur, le stipe et les pétioles de palmiers ou la tige de canne à sucre ont été utilisés comme synergistes de la phéromone de *R. ferrugineus* selon leur disponibilité dans les régions infestées et les intérêts appliqués et/ou économiques. D'une part, la préparation du matériel végétal, surtout le cœur de palmier, est laborieuse et coûteuse et d'autre part, l'efficacité des pièges diminue rapidement avec le temps, à cause de la dessiccation du matériel végétal, particulièrement dans les milieux désertiques de l'aire de répartition du palmier dattier au Moyen-Orient. Il est préconisé de renouveler le matériel végétal tous les 10-20 jours ce qui est un frein à l'essor de l'application des pièges à phéromone sur une grande échelle pour la mise en oeuvre d'un piégeage de masse.

Plusieurs travaux ont été effectués pour extraire et identifier les composés volatils des plantes-hôtes des charançons des palmiers, fournissant une longue liste de molécules appartenant à différentes familles chimiques. Les méthodes utilisées pour cribler les molécules responsables de l'effet synergique sur la phéromone, soit au niveau périphérique par électroantennographie ou enregistrement unitaire soit au niveau de la réponse comportementale par les tests olfactomé-

triques ou du piégeage sur le terrain, n'ont pas permis d'identifier la molécule ou un mélange synergique de la phéromone de *R. ferrugineus*, compétitif avec le matériel végétal.

Le travail présenté dans ce mémoire s'inscrit donc dans l'optique d'une optimisation de l'utilisation de pièges combinants 'phéromone-kairomone' par l'identification des kairomones à action synergique avec la phéromone. Cette recherche a été effectuée pendant 3 ans entre 2000 et 2003 à l'Unité de Phytopharmacie et Médiateurs Chimiques du centre INRA de Versailles et dans les palmeraies infestées par le ravageur en Iran (six mois par an). Dans ce cadre, nous avons profité des expériences et du savoir-faire déjà disponible sur *R. palmarum*, une espèce dont la biologie, l'écologie chimique et les plantes-hôtes sont très similaires.

La démarche appliquée consiste en :

1. l'identification des composés volatils émis par le cœur de stipe du palmier dattier, la plante-hôte de *R. ferrugineus* au Moyen-Orient et dans le bassin méditerranéen, au cours de sa fermentation.

2. l'étude de l'efficacité et de la pertinence de la méthode d'électroantennographie compte tenu de la morphologie particulière de l'antenne de *R. ferrugineus*. La distribution des différents types morphologiques de sensilles sur la massue a été étudiée par microscopie électronique à balayage et les réponses antennaires aux produits phéromonaux et végétaux ont été comparées à partir de branchement de l'électrode d'enregistrement sur différentes positions de l'antenne afin de vérifier s'il y a une régionalisation morphologique et/ou fonctionnelle des sensilles sur l'antenne.

3. le criblage de composants de l'odeur du cœur de stipe de palmier dattier, actifs au niveau antennaire, à l'aide du couplage chromatographie en phase gazeuse – électroantennodectographie (CPG-EAG).

4. la validation de la réponse comportementale de *R. ferrugineus* à sa phéromone dans deux types d'olfactomètres, l'un statique et l'autre dynamique, utilisés comme outils efficaces de laboratoire pour étudier l'effet synergique des odeurs végétales sur la phéromone de *R. palmarum*. Nous avons essayé de mettre en évidence l'effet synergique des odeurs de cœur de stipe de palmier dattier par olfactométrie au laboratoire.

5. l'effet synergique de mélanges synthétiques élaborés à partir de l'odeur du dattier, de criblages EAG et des composés identifiés chez les plantes-hôtes des charançons du genre *Rhynchophorus* (d'après les données bibliographiques) a été étudié sur le terrain par des essais de piégeage. L'approche de terrain s'est révélée être la méthode la plus pertinente pour mettre au point un mélange synergiste synthétique dans une perspective d'application agronomique. Dans cette approche de terrain, la totalité de la chaîne comportementale de l'insecte aboutissant au piégeage (le vol vers la source d'odeur, l'atterrissage à proximité de la source odorante, la marche vers l'ouverture de piège et enfin l'entrée dans le piège) a été considérée comme la réponse à un mélange synthétique et cette réponse a été comparée avec celle au matériel végétal comme référence. L'état physiologique des femelles capturées dans les pièges a été étudié en examinant leur appareil reproducteur.

Les résultats des travaux susmentionnés ont fourni des arguments concernant la possibilité d'utiliser des produits synthétiques très simples comme synergistes de la phéromone du *R. ferrugineus* pour l'application agronomique en piégeage de masse.

# **Revue bibliographique**

# 1. Le Charançon rouge des palmiers, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) 1790

## 1.1. Systématique

Le Charançon rouge des palmiers, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) 1790 (Insecta, Coleoptera, Curculionidae), est l'une des 10 espèces du genre *Rhynchophorus* Herbst appartenant à la tribu des Rhynchophorini et à la sous-famille des Rhynchophorinae. [Wattanapongsiri](#) (1966) retient les 10 espèces suivantes dans le genre *Rhynchophorus* : *R. palmarum* (L.) et *R. cruentatus* (Fabricius) en Amérique ; *R. phoenicis* (Fabricius) et *R. quadrangulus* Quedenfeldt en Afrique ; *R. ferrugineus* (Olivier), *R. vulneratus* (Panzer), *R. bilineatus* (Montrouzier), *R. distinctus* Wattanapongsiri et *R. lobatus* Wattanapongsiri en Asie.

## 1.2. Morphologie

Adulte : L'imago de *R. ferrugineus* est un charançon de taille moyenne à grande, mesurant 19-42 mm de longueur et 8-16 mm de largeur. Sa couleur varie du brun orangé au noir et le pronotum présente généralement des taches noires sur fond plus clair dont le nombre et la forme varient beaucoup.

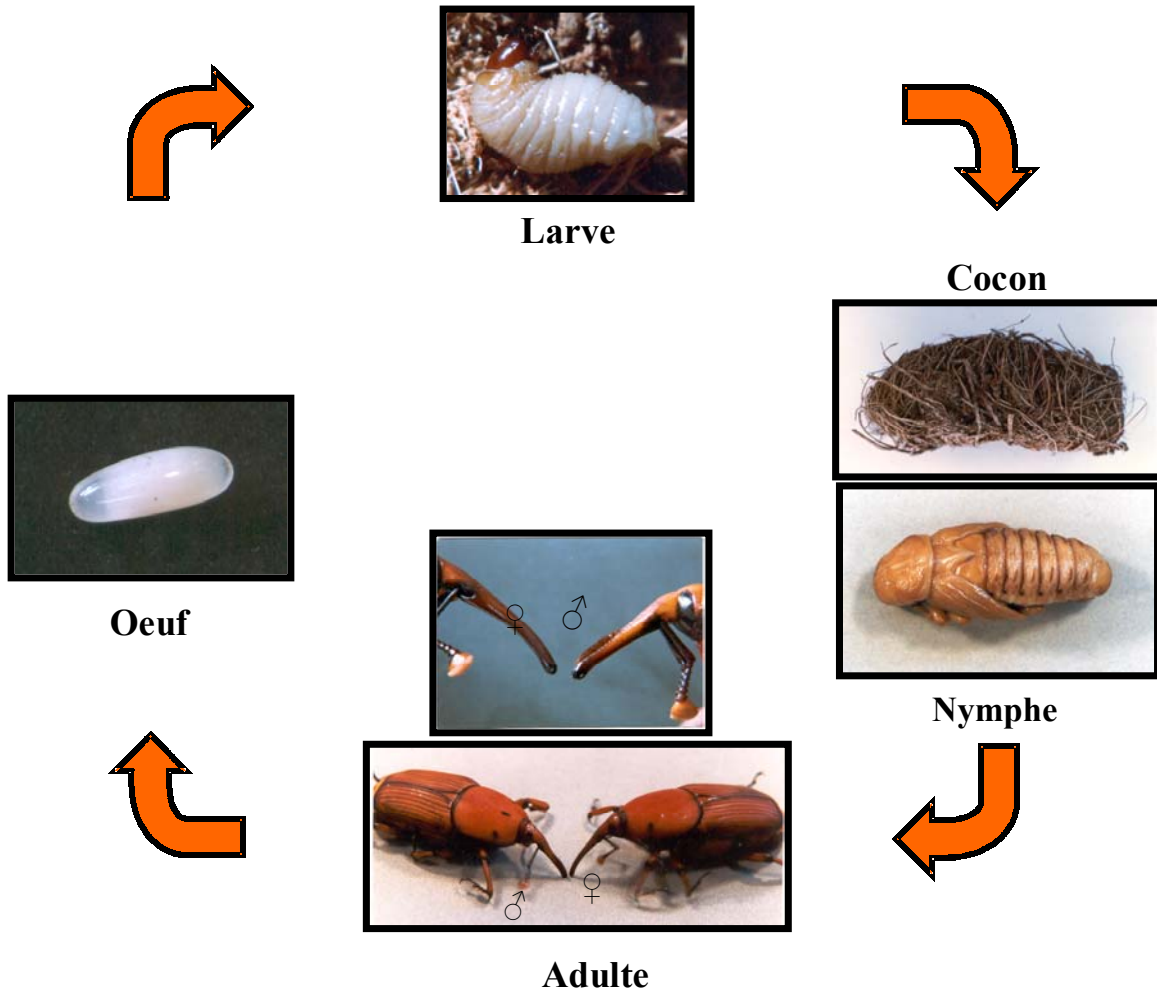
Des soies épaisses et droites sont présentes sur la partie apicale ou subapicale du rostre des mâles. Le rostre des femelles est glabre et plus long, fin et cylindrique que celui des mâles.

Stades pré-imaginaux : Les œufs mesurent en moyenne  $0,98 \times 2,96$  mm. Les larves sont typiquement curculioniformes, c'est-à-dire apodes avec une capsule céphalique bien développée et dotées de fortes mandibules. Les larves mesurent 36-47 mm de long et 15-19 mm de large au dernier stade larvaire. La longueur de la nymphe varie de 27 à 40 et sa largeur de 13 à 16 mm ([Wattanapongsiri, 1966](#)). L'adulte, l'œuf, la larve et la nymphe de *R. ferrugineus* sont illustrés sur la Figure 1.

## 1.3. Biologie – Ecologie

Les durées des stades de développement de *R. ferrugineus* et ses autres caractères biologiques, d'après la bibliographie, sont présentés dans le Tableau 1.

Adulte : l'adulte de *R. ferrugineus* est de mœurs nettement diurnes selon Lepesme *et al.* (1947), actif entre le lever et le coucher du soleil (Nirula, 1956 *in* : Wattanapongsiri, 1966 ; Sharif & Wajih, 1983). Il est doué d'un vol puissant (Lepesme *et al.*, 1947 ; Sharif & Wajih, 1983) et peut se déplacer entre 500 et 800 m pour une période indéterminée (Goonewardena & Valu, 1958 *in* : Wattanapongsiri, 1966). Il est capable de trouver les stipes nouvellement blessés de *Metroxylon sagu* distants d'au moins 900 m (Leefmans, 1920 *in* : Wattanapongsiri, 1966).



**Figure 1** : Les stades du cycle de développement de *Rhynchophorus ferrugineus*.

Les adultes s'accouplent plusieurs fois dans leur vie mais le nombre d'accouplements n'a pas d'effet sur la fécondité des femelles. Les femelles pondent seulement sur les palmiers dans les tissus frais et mous accessibles (blessures) [(Copeland, 1931 ; Huston, 1933 ; Ayyar, 1940) *in* : Wattanapongsiri, 1966] et à l'aisselle des rejets sur les stipes (stem shoots) dans le cas du palmier

dattier ([Avand-Faghih, 1996](#) ; Muralidharan et al., 2000). Les femelles pondent tout au long de leur vie.

Stades pré-imaginaux : les larves se nourrissent dans les tissus sains et frais, comme les gaines foliaires, le système vasculaire et le bourgeon terminal, en creusant des galeries dans les stipes de palmiers, notamment juste au-dessus du plateau radiculaire. Elles sont à l'origine des dégâts imputables à l'espèce et entraînent la mort des palmiers quand le bourgeon terminal est touché. Les fortes infestations larvaires entraînent la formation de grandes cavités dans les stipes des palmiers, qui peuvent être brisés par le vent. Dans des cas moins extrêmes, les arbres sont cependant affaiblis et sujets à une pourriture des tissus infestés.

Les jeunes feuilles du palmier ou les rejets s'étiolent en prenant une couleur blanchâtre puis se dessèchent à cause des lésions induites par la présence de larves. Le bruit causé par l'alimentation des larves et le suintement d'un liquide visqueux, brun et nauséabond au niveau des galeries larvaires sont considérés comme les symptômes et ne sont visibles que tardivement après le début de l'infestation.

A la fin de la période larvaire qui peut durer entre 25 et 105 jours, les larves construisent des cocons fibreux où se trouvent la nymphe et l'adulte immature. Les adultes peuvent se reproduire juste après l'émergence. Cet insecte est polyvoltin (3-4 générations par an) et nous pouvons observer tous les stades du développement pendant l'année à cause du chevauchement des générations ([Avand-Faghih, 1996](#)).

### **1.3.1. Plantes-hôtes**

A l'exception de *R. palmarum* et *R. cruentatus* qui possèdent des plantes-hôtes de familles différentes (Arecaceae, Poaceae, Caricaceae, Bromeliaceae et Scitamineae pour *R. palmarum* et Arecaceae et Bromeliaceae pour *R. cruentatus*), les autres espèces de charançons des palmiers sont considérées comme des espèces oligophages, inféodées exclusivement à des plantes de la famille des Arecaceae. Les principales plantes-hôtes de *R. ferrugineus* répertoriées sont les suivantes ([Wattanapongsiri, 1966](#)) :

*Areca catechu* L. (Noyer de Bétel)

*Arenga pinata* (Wurmb) Merrill

*Borassus flabellifer* L.



**Tableau 1** : Caractères biologiques du charançon rouge des palmiers, *Rhynchophorus ferrugineus*, d'après les données bibliographiques

| Nombre d'œufs pondus par femelle | Durée du stade (jour) |                       |                                  |                                | Durée d'une génération (jour) | Référence                         |
|----------------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
|                                  | Œuf                   | larve                 | nymphe                           | adulte                         |                               |                                   |
| 127-276                          | 3-4                   | 25-61                 | 18-33                            | 50-90                          | 48-82                         | Ghosh, 1912 ●                     |
| 531                              | 3                     | 60-105                | 13-17 (période prénymphe : 3-6)  | 107                            | 60                            | Leefmans, 1920 ●                  |
| 300                              | 3-4                   | 30-105                | 17-50                            |                                | 60-165                        | Ghosh, 1923 ● & 1940 ●            |
| 30-800                           | 3                     | 60                    | 15                               |                                | 90-180                        | Lepesme <i>et al.</i> , 1947 ●    |
| 162-350                          | 3                     | 35-38                 | 11-19 (période prénymphe : 2-11) | 39-72 (♀)                      | 45-68                         | Viado & Bigornia, 1949 ●          |
|                                  |                       | 36-78<br>(moyenne 55) |                                  | 63-109 (♂)                     |                               |                                   |
| 3-186                            | 1-6                   | 41-78                 | 15-27                            | 20-120 (♀)<br>39-72 (♂)        | 57-111                        | Avand-Faghieh, 1996               |
| 206 ± 24                         |                       |                       |                                  | 58 ± 3,5 (♀) ■<br>70 ± 7 (♂) ■ | 97 (moyenne)                  | Muralidharan <i>et al.</i> , 2000 |

■ Moyenne ± écart type

● Cité dans la revue de Wattanapongsiri (1966)

*Caryota cumingii* Lodd. ex Mart.  
*C. maxima* Blume  
*Cocos nucifera* L. (Cocotier)  
*Corypha elata* Roxburgh  
*C. gebanga* Mart.  
*Elaeis guineensis* Jacquin (Palmier à huile)  
*Metroxylon sagu* Rottboell (Sagoutier)  
*Nipa* sp.  
*Oreodoxa regia* Hbk.  
*Phoenix dactylifera* L. (Palmier dattier)  
*P. sylvestris* (L.) Roxburgh

Les palmiers, dattier et espèces ornementales comme *Chamaerops humilis* L. et *Phoenix theophrasti* sont des plantes-hôtes de *R. ferrugineus* en Espagne (Barranco *et al.*, 1996).

### 1.3.2. Ecologie chimique de l'adulte

Attraction par la plante-hôte : Le tissu juteux du cœur de stipe des palmiers est attractif pour les *Rhynchophorus* spp. Ce sont des insectes oligophages opportunistes, répondant aux produits volatils issus de fermentation de plantes-hôtes blessées (Revue : Giblin-Davis *et al.*, 1996a). Paul (1929) a constaté que les adultes de *R. ferrugineus* sont attirés par les blessures ou les fentes sur les palmiers et a préconisé d'éviter de blesser les palmiers, de panser les blessures et d'utiliser des pièges à base de morceaux de stipes de palmiers pour prévenir les infestations ultérieures de cet insecte. L'efficacité du piégeage de *R. palmarum* à l'aide de morceaux de palmiers a été étudiée et optimisée (Morin *et al.*, 1986).

Communication phéromonale : La production de phéromone d'agrégation par les mâles de charançons de la sous-famille des Rhynchophorinae a été mise en évidence pour la première fois chez *Rhabdoscelus obscurus* (Boisduval) (Chang *et al.*, 1971 ; Chang & Curtis, 1972). Les phéromones d'agrégation des charançons du genre *Rhynchophorus* ont été identifiées d'abord chez *R. palmarum* (Rochat *et al.*, 1991b) et puis chez les autres espèces dans les années 90 (Revue : Giblin-Davis *et al.*, 1996a).

Le 4-méthylnonan-5-ol (ferruginéol) a été identifié comme la phéromone d'agrégation chez *R. ferrugineus* (Hallett *et al.*, 1993a ; Rochat & Avand-Faghieh, 2000). Cette molécule est aussi la phéromone d'agrégation de *R. vulneratus* (Rochat *et al.*, 1993a,b ; Hallett *et al.*, 1993a), de *R. bilineatus* (Oehlschlager *et al.*, 1995), et de *Dynamis borassi* (Giblin-Davis *et*

*al.*, 1997). C'est aussi le composé majoritaire de la phéromone d'agrégation de *Metamasius hemipterus* (Rochat *et al.*, 1993b ; Perez *et al.*, 1997) et l'un des composés minoritaires identifiés chez *R. palmarum* (Revue : Giblin-Davis *et al.*, 1996a).

La cétone correspondante, 4-méthylnonan-5-one (ferruginéone), est un composé minoritaire spécifique des mâles chez *R. ferrugineus* (Hallett *et al.*, 1993a ; Rochat & Avand-Faghih, 2000), *R. vulneratus* (Hallett *et al.*, 1993a) et *M. hemipterus* (Perez *et al.*, 1997).

Le 3-méthyl-octan-4-ol (phoenicol) est un autre composé minoritaire, produit par les mâles de *R. ferrugineus* (Rochat & Avand-Faghih, 2000). Le phoenicol est la phéromone d'agrégation de *R. phoenicis* (Gries *et al.*, 1993 ; Rochat *et al.*, 1993a,b).

Chez *R. ferrugineus*, seul l'isomère (4*S*,5*S*) du ferruginéol est produit et est actif en électroantennographie (EAG). L'énantiomère (4*R*,5*R*) est inactif en piégeage sur le terrain et il n'y a pas d'effet inhibiteur des stéréo-isomères non naturels, ce qui permet d'utiliser un mélange racémique contenant les 4 stéréo-isomères pour les applications agronomiques (Perez *et al.*, 1996). Il n'y a pas de différence entre les captures des pièges appâtés avec le ferruginéol seul ou les mélanges de ferruginéol avec les composés minoritaires (Hallett *et al.*, 1993a ; Avand-Faghih, 1998). Le rôle comportemental de ces composés minoritaires reste mal connu.

Dans des essais de piégeage sur le terrain, le matériel végétal a une attractivité très faible mais il agit en synergie avec le ferruginéol et la combinaison des deux permet des captures jusqu'à 10 fois plus importantes que le matériel végétal seul (Hallett *et al.*, 1993a,b). L'effet synergique du cœur de dattier avec le ferruginéol a été mis en évidence par piégeage de terrain en Iran par Rochat & Avand-Faghih (2000). La capture de l'ensemble 'ferruginéol + matériel végétal' a été 4,4 fois supérieure à la somme des captures par la phéromone seule et par le matériel végétal seul.

Hallett *et al.* (1993a,b) ont rapporté qu'il n'y aucune différence au niveau des réponses des insectes des deux sexes dans les essais de piégeage effectués à Java et aux Emirats Arabes Unis. Mais plusieurs autres travaux ont montré que les pièges appâtés avec du matériel végétal associé à du ferruginéol ou des mâles vivants, comme source de phéromone naturelle, capturent significativement plus de femelles que de mâles (Avand-Faghih, 1998 ; Rajapakse *et al.*, 1998-99 ; Faleiro & Chellapan, 1999 ; Rochat & Avand-Faghih, 2000).

## 1.4. Répartition géographique

Jusqu'à la fin des années 70, l'aire de *R. ferrugineus* s'étendait dans la zone du cocotier en Asie depuis l'Inde, en passant par le Sri Lanka, la Birmanie, le nord de la Thaïlande, le Vietnam à l'est jusqu'à Taiwan, l'île Hainan et les Philippines. Il est aussi présent dans certaines îles de l'archipel indonésien et au Japon. Il a été signalé de façon douteuse en Australie (Victoria) ainsi qu'en Mésopotamie (Irak) (Buxton, 1920 ; [Lepesme et al., 1947](#) ; [Wattanapongsiri, 1966](#) ; [FAO, 1995](#) ; [Aman et al., 2000](#)).

*R. ferrugineus* a été signalé au Pakistan ([Sharif & Wajih, 1983](#)) à la frontière de l'aire du cocotier avec celle du dattier.

C'est dans les années 1980-90 que *R. ferrugineus* est apparu au Moyen-Orient et au nord de l'Afrique, dans la zone de culture du palmier dattier. Il est signalé en Arabie Saoudite en 1984, au Qatar et dans les Emirats Arabes Unis en 1985, en Egypte en 1992, au Sultanat d'Oman et au Koweït en 1993 ([FAO, 1995](#)). Les dégâts de *R. ferrugineus* sont observés pour la première fois en Iran en 1990 dans les palmeraies de la région de Saravan (province de Sistan & Baloutchistan) près de la frontière pakistanaise ([Avand-Faghih, 1996](#)). Il est aussi signalé dans le bassin méditerranéen en Europe et au Proche-Orient : en Espagne ([Barranco et al., 1996](#)), en Israël, en Palestine et en Jordanie ([Hamburger et al., 2002](#) ; [Kehat, 1999](#)).

## 1.5. Importance économique

Les palmiers ont plusieurs utilisations : alimentation, engraissement des animaux, confection d'objets variés etc. Parmi les palmiers, les cocotiers, les palmiers à huile et les dattiers sont les trois espèces les plus importantes dans le commerce international ([Howard, 2001](#)).

Le palmier dattier est associé à des systèmes agricoles très diversifiés qui varient de la monoculture fruitière basée sur la production intensive de dattes de qualité à l'agriculture d'oasis où le dattier est cultivé pour son caractère multi-usage et pour les associations culturelles qu'il autorise. Toutes les parties du palmier peuvent être utilisées et sa présence est un facteur de maintien des populations dans les sites les plus isolés. La dattes est un aliment de grande valeur énergétique (1 kg de pulpe de dattes mûres fournit 3000 calories) et reste dans la base de l'alimentation de nombreuses populations ([CIRAD - GRET, 2002](#)).

En 2002, l'Iran a été le deuxième producteur mondial de dattes (après l'Egypte) avec une production annuelle de 874.986 t (14% de la production mondiale) sur une superficie de 183.269 ha de palmeraies ([FAO, site internet](#)).

Les échanges internationaux concernent le dixième de la production mondiale et l'Iran est le deuxième pays exportateur de dattes (108.000 t) après les Emirats Arabes Unis (CIRAD - GRET, 2002).

### 1.5.1. En Asie tropicale dans l'aire du cocotier

*R. ferrugineus* est un ravageur très destructif du cocotier dans la région orientale. Son attaque est toutefois limitée aux palmiers jeunes aboutissant à leur mort. *R. ferrugineus* est souvent associé à *Oryctes rhinoceros* qui fournit l'entrée du charançon. Dans certaines régions de culture du cocotier en Thaïlande 1,3% des palmiers (sur 300.000) ont été gravement infestés et supprimés pendant 4 ans (Wattanapongsiri, 1966).

### 1.5.2. Au Moyen-Orient dans l'aire du palmier dattier

On estime que 2% des palmiers dattiers sont annuellement attaqués par *R. ferrugineus* au Pakistan, attaque qui est souvent mortelle (Sharif & Wajih, 1983). Dès l'introduction de *R. ferrugineus* dans la péninsule Arabique et l'Egypte, cet insecte est devenu le ravageur le plus important pour la culture du palmier dattier. L'insecte est aujourd'hui présent dans toute l'aire du palmier dattier au Moyen Orient et les dégâts sont particulièrement graves dans certaines régions où plus de 5% des palmiers sont infestés. Les dégâts du ravageur ont été estimés comme sérieux au Koweït, au Qatar, aux Emirats Arabes Unis, en Arabie Saoudite, en Oman et comme modérés en Egypte (FAO, 1995).

Ce ravageur est considéré comme une menace pour la production du dattier en Iran. Des mesures de quarantaine interne ont été mises en places pour empêcher l'extension du ravageur dans le pays dès 1991. Malgré tous les efforts mis en œuvre, la surface infestée ne cesse d'augmenter depuis la découverte du ravageur (Avand-Faghih, 1998). Depuis l'introduction de *R. ferrugineus* en Iran (en 1990) jusqu'au début 1999, 9.080 palmiers dattiers ont été attaqués dont 6.732 sont localisés dans les palmeraies des faubourgs de Saravan, (premières palmeraies infestées en Iran avec 290.000 palmiers dattiers de la variété Mazafati préférée des consommateurs iraniens pour sa qualité). En 1998, 0,6% des palmiers étaient infestés (Farazmand, 1999). D'une part, l'augmentation progressive de la surface infestée et d'autre part, la limitation du nombre de techniciens chargés du contrôle des palmeraies, ont réduit l'efficacité des méthodes de lutte et le nombre de palmiers infestés a augmenté au fur et à mesure depuis 1994 (Avand-Faghih, 1998). La région infestée par le ravageur en Iran est présentée sur la Figure 2.

## 1.6. Méthodes de lutte

La vie cachée de *R. ferrugineus* dans les stipes de palmiers et la difficulté pour identifier les palmiers attaqués au début de l'infestation, sont des obstacles très sérieux à la lutte contre ce ravageur. Les symptômes de l'infestation ne sont visibles qu'après des dégâts très importants et souvent irrécupérables et la seule solution appliquée a été d'éliminer les palmiers gravement endommagés et de les remplacer par de nouveaux palmiers.

Compte tenu de l'attractivité du tissu frais des palmiers pour *R. ferrugineus*, des mesures préventives comme éviter de blesser les palmiers, panser les blessures et les fentes et piéger les adultes par des morceaux de palmiers ont été préconisées (Paul, 1929).

### 1.6.1. Lutte chimique

L'injection de solutions insecticides non systémiques, soit d'organo-phosphorés à base de Fenthion, Trichlorphon, Dichlorvos, soit de carbamates à base de Carbaryl et même un produit systémique tel que le Monocrotophos, (aujourd'hui interdit au niveau européen à cause de ses effets dangereux pour l'homme), a été appliquée pour traiter les palmiers infestés (Rao *et al.*, 1973 ; Abraham *et al.*, 1975 ; Muthuraman, 1984).



**Figure 2** : Provinces de la culture de dattier en Iran : ■ et localisation géographique de la région infestée par *Rhynchophorus ferrugineus* : ●.

Ces molécules très toxiques pour les Vertébrés et non respectueuses de l'environnement ne sont souvent pas assez efficaces contre les larves qui ne sont pas toujours en contact avec

l'insecticide (Gunawardena & Gunatilake, 1993). Malgré ces inconvénients, l'utilisation de produits insecticides demeure préconisée même pour prévenir les infestations ultérieures, sans prise en compte des effets susceptibles d'affecter l'agro-écosystème (Revue : Murphy & Briscoe, 1999). La fumigation des palmiers infestés par le phosphore d'aluminium (Phostoxin) a été appliquée comme méthode curative la plus efficace sur les différents stades de *R. ferrugineus* grâce à la pénétration du gaz dans les galeries larvaires (Rao *et al.*, 1973 ; Avand-Faghieh & Gharib, 1995). Cette méthode est développée en Iran pour traiter les palmiers infestés. Les cachets de Phostoxin sont mis à l'entrée des galeries larvaires après avoir éliminé les feuilles et les rejets sur le stipe. La partie infestée du stipe est recouverte par un film plastique pour limiter la fuite du gaz insecticide et pour assurer sa pénétration jusqu'au fond des galeries larvaires (Figure 3).

### 1.6.2. Lutte biologique

Les ennemis naturels de *R. ferrugineus*, pathogènes ou entomophages, décrits dans la bibliographie sont listés dans le Tableau 2. Des nématodes entomopathogènes appartenant aux familles des Steinernematidae et des Heterohabditidae associés aux bactéries symbiotiques du genre *Xenorhabdus*, ont été le sujet de recherches pour les appliquer en lutte biologique (Hanounik, 1998 ; Salama & Abd-Elgawad, 2001 & 2002). L'efficacité de ces nématodes sur le terrain est limitée avec seulement 50% de mortalité sur les larves de *R. ferrugineus* (Hanounik, 1998) et une survie de 24 h sur le tissu des palmiers infestés (Salama & Abd-Elgawad, 2001).



**Figure 3** : Lutte chimique contre *Rhynchophorus ferrugineus* par la méthode de fumigation au phosphore d'aluminium (Phostoxin).

### 1.6.3. Lutte génétique

La possibilité de stériliser des mâles de *R. ferrugineus* à l'aide de radiations ou de produits chimiques a été étudiée au laboratoire sans aucun résultat prometteur pour la lutte contre le ravageur (Rahalkar *et al.*, 1974 & 1975 ; Ramachandran, 1991).

### 1.6.4. Lutte éthologique et piégeage olfactif

L'identification de la phéromone d'agrégation de *R. ferrugineus* en 1993 a ouvert un nouvel horizon pour lutter contre cette espèce en offrant un outil supplémentaire, a priori pratique, efficace et nettement plus respectueux de l'environnement. La capture plus importante de femelles que de mâles par les pièges à phéromone est un avantage remarquable pour le développement du piégeage de masse dans le cadre d'un programme de la lutte intégrée (Avand-Faghieh, 1998).

**Tableau 2** : Ennemis naturels du charançon rouge des palmiers, *Rhynchophorus ferrugineus*, d'après les données bibliographiques.

| Groupe             | Ordre (Famille)           | Espèce                                       | Référence                              |
|--------------------|---------------------------|--|--|
| <b>Virus</b>       |                           | Virus à polyhédrose cytoplasmique            | Gopinadhan <i>et al.</i> , 1990        |
| <b>Bactéries</b>   | Pseudomonadaceae          | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                | Banerjee & Dangar, 1995                |
| <b>Champignons</b> |                           | <i>Beauveria bassiana</i> (Balsamo) Vuillmin | Ghazavi & Avand-Faghieh, 2002          |
|                    | Hyphomyceta               | <i>Metarhizium anisopliae</i> (Mesh.) Sorok. | Ghazavi & Avand-Faghieh, 2002          |
| <b>Nématodes</b>   | (Entaphelenchidae)        | <i>Praecocilenchus ferruginophorus</i> n.sp. | Rao & Reddy, 1980                      |
| <b>Acarions</b>    | (Laelapidae)              | <i>Hypoaspis</i> sp.                         | Peter, 1989                            |
|                    | (Pymotidae)               | <i>Tetrapolypus rhynchophori</i>             | Peter, 1989                            |
| <b>Insectes</b>    | Dermaptera (Forficulidae) | <i>Chelisoche moris</i> F.                   | Abraham & Kurian., 1974                |
|                    |                           | <i>Platymeris leavicollis</i>                | Kurian, 1978                           |
|                    | Hymenoptera (Scoliidae)   | <i>Scolia erratica</i>                       | Peter, 1989 ;<br>Wattanapongsiri, 1966 |
|                    | Diptera (Sarcophagidae)   | <i>Sarcophaga fuscicauda</i>                 | Ayyar, 1940                            |

#### 1.6.4.1. Outils pour le piégeage

Le modèle de piège décrit pour *R. palmarum* (Oehlschlager *et al.*, 1993), a été utilisé pour *R. ferrugineus*. Lors d'une étude comparative, la forme et la position des pièges ont été optimisées pour l'application agronomique en Iran (Avand-Faghieh, 1998) :



Pièges : ce sont des seaux en plastique (24 l) fermés par un couvercle avec 8 trous rectangulaires (5 × 8 cm) avec une solution aqueuse d'un détergent ménager (2%) au fond des pièges (5 cm). La solution aqueuse retient et tue les insectes capturés et constitue une source d'humidité ralentissant le dessèchement du matériel végétal utilisé comme le synergiste de la phéromone dans les pièges. Le diffuseur de phéromone et le matériel végétal sont suspendus au couvercle dans le piège (Figure 39, p. 97). Les pièges sont attachés aux stipes des dattiers sur le sol. (Avand-Faghih, 1998 ; Rochat *et al.*, 1998).

Taux de diffusion de phéromone : Un taux de diffusion autour de 5 mg/j de ferruginéol est nécessaire et suffisant pour atteindre un niveau de capture optimal (Avand-Faghih, 1998 ; Rochat *et al.*, 1998).

Matériel végétal : le cœur de rejets de dattiers de la variété Mazafati dans un sac en plastique perforé est utilisé comme synergiste de la phéromone (Avand-Faghih, 1998 ; Rochat *et al.*, 1998).

Le protocole optimal de piégeage a été aussi étudié dans les cocoteraies des régions tropicales humides (Hallett *et al.*, 1999) où des résultats similaires ont été obtenus.

Dans certains cas, le protocole de piégeage a été modifié pour des raisons pratiques propres aux utilisateurs. Par exemple, il est démontré que les pièges attachés aux stipes des palmiers au sol ou à une hauteur de 1,5 m capturent plus d'insectes que ceux qui sont placés à une hauteur de 4-10 m (Avand-Faghih, 1998 ; Faleiro *et al.*, 1998 ; Hallett *et al.*, 1999). Mais en Egypte les pièges sont installés à 3 m pour prévenir le vandalisme (El Garhy, 1996). Quelques protocoles de piégeage de *R. ferrugineus* d'après la bibliographie sont présentés dans le Tableau 3.

La surface extérieure des pièges est parfois recouverte de toile de sacs de jute pour faciliter la marche des insectes vers les ouvertures présentes sur les parois verticales du seau (en Egypte et en Arabie Saoudite).

Hallett *et al.* (1999) ont montré que des pièges dont le couvercle est remplacé par deux plaques verticales perpendiculaires insérées dans un entonnoir adapté à la partie supérieure du seau (vane trap) capturaient plus que le modèle avec couvercle perforé et que des pièges noirs sont plus efficaces que les pièges blancs. L'effet de la couleur n'est pas solidement étayé compte tenu du nombre très faible de captures (seulement 16 insectes capturés) pendant l'essai. La couleur du piège n'avait aucun effet sur la capture de *R. palmarum* (Oehlschlager *et al.*, 1993).

Il est conseillé d'installer les pièges sur les palmiers âgés, taillés et sans rejets, présentant un stipe élevé et nu, très lignifié, qui ne sont pas sensibles à l'infestation afin d'éviter le risque que les charançons attirés par le piège n'infestent l'arbre qui le porte (Faleiro *et al.*, 1998 ; Rochat *et al.*, 2001).

**Tableau 3** : Quelques protocoles de piégeage olfactif de *Rhynchophorus ferrugineus* d'après la bibliographie.

| Pays (référence)       |  | Iran<br>(Avand-Faghih,<br>1998)    | Arabie Saoudite<br>(Faleiro <i>et al.</i> ,<br>1998 & 2000) | Egypte<br>(El Garhy, 1996)                              | Indonésie<br>(Hallett <i>et al.</i> ,<br>1999) |
|------------------------|--|------------------------------------|---|---|--|
| Pièges                 | Volume (litre)                             | 24                                 | 5   | 9   |  |
|                        | Couleur                                    | Rouge                              | ?   | ?   | Noir   |
|                        | Nombre d'ouvertures                        | 8                                  | 4   | 12  | 'Vane trap'                                    |
|                        | Dimension des ouvertures (mm)              | 80 × 50                            | 50 × 15   | 25 (Ø)  | -  |
|                        | Position des ouverture                     | Couvercle                          | Haut de seau  | Haut de seau  | -  |
|                        | Système de rétention des insectes capturés | Solution aqueuse d'un détergent    | Solution d'un insecticide                                   | Matériel végétal traité à l'insecticide                 | Matériel végétal traité à l'insecticide        |
|                        | Position de piège                          | Attaché au stipe du palmier au sol | Attaché au stipe à 1,5 m                                    | Attaché au stipe à 3 m                                  | Attaché au stipe du palmier au sol             |
| Diffuseur de phéromone | Taux de diffusion (mg/j)                   | 5                                  | ?   | 3 (au laboratoire)                                      | 3 (au laboratoire)                             |
| Synergiste végétal     | Type de plante                             | Stipe de palmier dattier           | Stipe de palmier dattier ou datte (fruits)*                 | Stipe de palmier dattier haché ou tige de canne à sucre | Stipe de palmier cocotier                      |
|                        | Quantité (kg)                              | ≈ 1                                | 0,3   | 0,5   | 2  |

\* Rochat, communication personnelle

#### 1.6.4.2. Piégeage de masse

La phéromone synthétique de *R. ferrugineus* a été mise sur le marché par plusieurs sociétés spécialisées. Cependant, il existe très peu de données publiées sur l'efficacité de la phéromone en lutte. Ces dernières années, deux campagnes de piégeage de masse ont été réalisées l'une en Iran par nous-mêmes et l'autre en Arabie Saoudite dans le cadre de programmes de lutte intégrée :

En Iran, l'efficacité de trois densités de pièges à phéromone (2, 1, 0,5 pièges/ha *vis* témoin sans piège) a été comparée sur 224 ha de palmeraies traditionnelles fortement hétérogènes entre avril et décembre 1998. La lutte chimique curative a été appliquée sur les palmiers infestés en parallèle avec le piégeage de masse. Les insectes piégés ont été dénombrés ainsi que le nombre de palmiers nouvellement infestés dans les parcelles.

Un total de 4.298 insectes (3 femelles : 1 mâle) a été capturé par 196 pièges (0,6 insecte/piège/semaine). Le total des insectes capturés par parcelle est positivement corrélé à la densité des pièges alors que le rendement par piège a été inversement corrélé avec cette dernière. Le nombre de palmiers nouvellement infestés a été plus important dans les parcelles avec 2 pièges/ha que dans le témoin ; l'accroissement de l'infestation a été équivalent dans les parcelles avec 1 et 0,5 piège/ha et les parcelles témoins.

Les résultats ont mis en évidence que le piégeage de masse de *R. ferrugineus* pendant un an n'est pas suffisant pour diminuer le dégât du ravageur malgré le nombre relativement important d'insectes piégés. Il a donc été préconisé de développer la méthode de piégeage de masse avec une densité faible de pièges déterminée en fonction de la sensibilité des parcelles (Rochat *et al.*, 2001).

En Arabie Saoudite, le programme de lutte intégrée contre *R. ferrugineus* en utilisant des pièges à phéromone a été réalisé entre 1994 et 1997 sur une surface de 40 km<sup>2</sup> avec ≈ 700.000 palmiers dattiers. Dans ce programme, 69 pièges ont été initialement utilisés pour surveiller la présence du ravageur dans la région. Afin de localiser les foyers d'infestation, 4-5 pièges de détection ont été ajoutés avec une distance de 200 m autour des pièges de surveillance ayant capturés constamment des insectes pendant 2-3 semaines. Le personnel assurant la recherche et le traitement des arbres infestés a été dirigé sur le terrain selon les informations fournies par ce réseau de surveillance, dirigé prioritairement dans les zones où le nombre d'insectes capturés par piège et par semaine était le plus important. Le piégeage de masse n'était mis en place dans une troisième étape que si les pièges détecteurs et l'examen des arbres ne permettaient pas de repérer clairement de foyer d'infestation. Le nombre des pièges a été augmenté de 902 à la fin de 1994 à 2.613 à la fin de 1997. La majorité des pièges a été installée à la fin de 1995.

En parallèle au piégeage de masse, les symptômes caractérisant la présence de *R. ferrugineus* ont été recherchés pour identifier les palmiers infestés et des mesures curatives ont été appliquées. La lutte chimique prophylactique a été mise en œuvre après chaque tournée d'inspection des palmiers dans les palmeraies gravement infestées.

Dans cette approche (de mi-1994 à fin 1997), 16.904 insectes ont été capturés dont 16.373 par piégeage de masse et 531 par les pièges de surveillance. Un nombre voisin d'insectes a été capturé en 1995 et 1996. Mais la moyenne de captures a diminué en 1997.

La diminution du nombre d'insectes piégés en 1997 montre que quatre ans de piégeage de masse dans le cadre d'un programme de la lutte intégrée est nécessaire pour infléchir le niveau de la population du ravageur.

Le nombre de palmiers infestés a augmenté de 1.037 en 1994 à 1997 en 1996, suivi d'une légère diminution en 1997 où 1775 palmiers attaqués ont été identifiés (Abraham *et al.*, 2000). L'effet de ce programme de lutte intégrée sur la diminution du nombre de palmiers infestés n'est pas évident.

#### ***1.6.4.3. Impact du matériel végétal comme synergiste de phéromone sur le piégeage***

La capture des pièges à phéromone dépend fortement de la qualité et de la quantité du matériel végétal utilisé comme synergiste. En Indonésie, le maximum de captures de *R. ferrugineus* et de *R. vulneratus* avec des pièges contenant 2 kg du stipe de cocotier, soit seul, soit avec la phéromone, a été observé 5 jours après l'installation des pièges ; cet effet est attribué à la production maximale de produits volatils attractifs par le matériel végétal quelques jours après la coupe. La capture des pièges a décliné à partir du 5<sup>e</sup> jour (Hallett *et al.*, 1993a).

En Iran, la quantité de palmier dattier mise dans les pièges comme co-attractif a eu un effet très significatif sur les captures. Celles-ci évoluent en fonction de la durée après la mise en place du dattier dans les pièges. La capture des pièges a augmenté en moyenne 1,3 fois pour un doublement de la quantité de matériel végétal. Elle a augmenté depuis l'installation des pièges jusqu'au 27<sup>e</sup> jour puis a décliné jusqu'à zéro à partir de ce jour pour des quantités de 2.700, 1.300 et 650 g (poids frais). Dans cette expérience, les morceaux de dattier ont été mis dans un sac en plastique perforé pour prolonger la durée d'efficacité synergique du matériel végétal en fournissant des conditions plus favorables aux micro-organismes responsables de la fermentation (Avand-Faghieh, 2000).

Le renouvellement régulier du matériel végétal, à la suite de la perte de son effet synergique dans un délai court, est donc nécessaire pour assurer un niveau optimal de la capture par les pièges. La chute d'efficacité des pièges est plus importante en conditions extrêmement chaudes et sèches au Moyen-Orient aboutissant à la déshydratation rapide du matériel végétal que dans les conditions humides et tropicales. Il est préconisé de changer le matériel végétal tous les 14 jours en conditions de palmeraies iraniennes ce qui demande une main-d'œuvre très importante représentant environ 1/3 du coût de maintien d'un piège pendant deux mois ( $\approx 10$  €).

La limitation et la variation de l'efficacité des matériaux végétaux dans le temps, d'une part, et les difficultés de préparation et de renouvellement des matériaux végétaux, d'autre part, sont les obstacles les plus importants à l'essor de l'application agronomique des pièges à phéromone à grande échelle, surtout pour développer la technique de piégeage de masse de *R. ferrugineus*. La gestion d'un millier de pièges implique de manipuler plusieurs tonnes de stipes par mois.

Des recherches ont été effectuées pour identifier des produits végétaux à effet phérosynergique par des méthodes différentes (voir 2<sup>e</sup> partie de la bibliographie) mais aucun de ces travaux ne semble avoir abouti jusqu'à présent à la mise en œuvre d'un synergiste synthétique de la phéromone compétitif avec le matériel végétal.

## **2. L'effet synergique des odeurs végétales sur les réponses des insectes aux phéromones**

### **2.1. Le rôle des odeurs végétales sur la communication phéromonale**

La communication chimique intra-spécifique chez les insectes phytophages est fortement influencée par la chimie des plantes-hôtes. Les effets des plantes-hôtes sur la communication phéromonale des insectes sont très variés. Ils se manifestent aux niveaux de la biosynthèse et de l'émission des phéromones chez les individus producteurs de phéromones ou lors de la réponse aux phéromones chez les individus récepteurs. Les composés chimiques des plantes peuvent être séquestrés au cours des stades larvaires des insectes pour la production ultérieure de phéromones par les adultes ou être acquis par les adultes comme les précurseurs directs de la biosynthèse des phéromones. La production ou l'émission des phéromones peut être provoquée ou stimulée par les médiateurs chimiques des plantes-hôtes. Dans de nombreux cas, il a été établi que des odeurs végétales augmentent fortement l'attractivité de la phéromone de certains insectes (Landolt & Phillips, 1997).

### **2.2. Le concept et la mise en évidence de l'effet phérosynergique des odeurs végétales**

L'effet synergique des odeurs végétales sur la communication phéromonale, pour lequel nous utiliserons le néologisme 'phérosynergie', a été mis en évidence à la suite de l'attraction très faible de certaines phéromones d'agrégation sur le terrain, insatisfaisante pour des applications agronomiques. Dans la bibliographie, la phérosynergie est généralement attribuée à l'augmentation d'attraction de la phéromone par une odeur végétale à un niveau supérieur à une 'valeur attendue'.

Différents critères ont été utilisés dans la bibliographie pour concrétiser cette 'valeur attendue' et pour valider l'effet phérosynergique. Dans plusieurs cas, la phérosynergie a été établie en montrant que la capture par les pièges appâtés avec la combinaison phéromone-odeur végétale (P+K) est supérieure aux captures par la phéromone (P) ou l'odeur végétale (K) seules :  $(P + K) > (P)$  ou  $(K)$ . Par exemple, chez *Anthonomus grandis* Boheman, la capture des pièges appâtés avec la phéromone d'agrégation et le *trans*-2-hexen-1-ol a été significativement supérieure à celle de la phéromone seule (2,3 fois) ou celle du *trans*-2-hexen-1-ol seul (11 fois) (Dickens, 1989). Chez *Carpophilus hemipterus*, la capture des pièges

appâtés avec la phéromone et du raisin pourri a été significativement supérieure à celle des pièges avec la phéromone seule (15 fois) ou avec le matériel végétal seul (5,6 fois) (Blumberg *et al.*, 1993). Chez *Rhynchophorus palmarum*, la capture des pièges appâtés avec la combinaison des mâles et du stipe de palmier à huile a été supérieure à celle des pièges appâtés avec les insectes mâles seuls (24,6 fois) ou avec le matériel végétal seul (4,1 fois) (Rochat *et al.*, 1991a). Cette démarche a été également utilisée pour montrer l'effet phérosynergique du cœur de palmier dattier chez *R. ferrugineus*, où les pièges appâtés avec la phéromone et le matériel végétal ont capturé 5 et 31 fois plus d'insectes que les pièges appâtés respectivement avec la phéromone seule ou avec le matériel végétal seul (Avand-Faghih, 1998 ; Rochat & Avand-Faghih, 2000). Chez les *Rhynchophorus* spp., les pièges appâtés avec la combinaison de la phéromone et du matériel végétal capturent généralement 8 à 20 fois plus que la phéromone seule et le matériel végétal seul (Revue : Giblin-Davis *et al.*, 1996a).

Dans certains cas, la phérosynergie a été démontrée par la supériorité de (P + K) à l'addition des captures de P et K seuls :  $(P + K) > (P) + (K)$ . Chez *Sitophilus zeamais*, la capture par la combinaison de la phéromone avec le matériel végétal a été > 2 fois plus que la somme de la capture par la phéromone et le matériel végétal seul (Walgenbach *et al.*, 1987). En revanche, Tilles *et al.* (1986) ont utilisé une méthode statistique (test du signe) pour démontrer l'effet synergique de l'éthanol (un produit volatil émis en abondance par les pins morts ou affaiblis) sur l' $\alpha$ -pinène ou un mélange de terpènes (produits volatils des conifères) en comparant les captures des charançons du pin, *Hylobius abietis* (L.), par la combinaison des deux substances, à la somme des captures de chacun des deux séparément. Cette méthode paraît justifier plus rigoureusement l'effet phérosynergique.

Dowd & Bartelt (1991) ont défini trois indices pour montrer les interactions entre les produits phéromonaux et végétaux et quantifier l'effet phérosynergique chez *Carpophilus hemipterus*:

1) attractivité relative (AR) : 
$$AR = [(P) + (K)] / (P)$$

Une AR équivalente à 1 montre que K n'est pas attractive par elle-même.

2) ratio synergique (RS) : 
$$RS = (P + K) / [(P) + (K)]$$

la valeur de RS montre jusqu'à quel point l'activité de la combinaison de deux odeurs (K + P) peut dépasser la somme des activités individuelles de chacune des odeurs. Un RS équivalent à 1 montre l'absence d'effet synergique. Dans ce cas, il y a un effet additif des deux stimuli.

3) attractivité totale (AT) : 
$$AT = AR \times RS = [(P + K)] / (P)$$

Une AT équivalente à 1 montre qu'il n'y a pas d'attractivité en relation avec la phéromone.

Ces indices ont permis de valider l'effet phérosynergique dans un essai comportemental à l'aide d'un tunnel de vol reposant sur des choix binaires où toutes les combinaisons de (P), (K) et (P + K) ont été comparées deux par deux .

Chez *R. palmarum*, l'effet phérosynergique de l'acétoïne a été mis en évidence dans un olfactomètre à quatre voies en utilisant ces coefficients (Saïd, 2003).

### 2.3. Les synergistes végétaux des phéromones d'insectes

L'effet phérosynergique de la plante-hôte a été mis en évidence majoritairement chez les coléoptères pour lesquels les phéromones d'agrégation ont été identifiées. Cependant, ce phénomène a été également observé dans d'autres ordres d'insectes. Par exemple, chez *Drosophila borealis* et *D. littoralis*, l'extrait d'écorce fermenté de tremble a eu un effet synergique sur la phéromone d'agrégation produite par les mâles (Bartelt *et al.*, 1988). Chez un lépidoptère, *Trichoplusia ni* (Hübner), l'attraction de la phéromone sexuelle produite par les mâles a été augmentée par l'odeur de la plante-hôte (cotonnier) dans un tunnel du vol (Landolt *et al.*, 1994).

Parmi les coléoptères, la phérosynergie a surtout été décrite chez les Scolytidae, les Sylvanidae, les Nitidulidae, certains Dynastidae et Curculionidae.

#### 2.3.1. Nitidulidae

Ils sont attirés par les odeurs d'une vaste gamme d'aliments (matières végétales fermentées) comme la pâte à pain, les fruits et les légumes au laboratoire comme sur le terrain. Chez plusieurs espèces, les phéromones d'agrégation produites par les mâles ont été identifiées. Elles sont des attractifs très faibles mais ayant un effet phérosynergique avec des odeurs de nourriture. Certains matériaux végétaux comme la pâte à pain (Bartelt *et al.*, 1995 ; James *et al.*, 1996 & 2000) ; le raisin pourri (Blumberg *et al.*, 1993), le jus de pomme fermenté dans les granules en polyacrylamides (James *et al.*, 2001) ont été utilisés comme phérosynergistes pour les applications agronomiques.

#### 2.3.2. Dynastinae

Il n'y a pas de rapport sur l'attraction des dynastes par leurs plantes-hôtes dans la bibliographie. Les phéromones d'agrégation produites par les mâles ont été identifiées chez



*Oryctes monoceros* (Olivier) (Gries *et al.*, 1994b), *O. rhinoceros* L. (Hallett *et al.*, 1995 ; Morin *et al.*, 1996), *O. elegans* Prell (Rochat *et al.*, 2004), *Scapanes australis* Boisduval (Rochat *et al.*, 2000b & 2002) et *Strategus aloeus* L. (Rochat *et al.*, 2000b). L'effet phérosynergique de rafle de palmier à huile a été démontré chez *O. rhinoceros* (Hallett *et al.*, 1995 ; Sudharto Ps *et al.*, 2001) et *O. monoceros* (Allou *et al.*, 2002) et celui du cœur de stipe de palmier dattier chez *O. elegans* (Rochat *et al.*, 2004). La canne à sucre et le cocotier ont eu un effet phérosynergique chez *Scapanes australis grossepunctatus* mais l'effet phérosynergique du cocotier a été significativement supérieur à celui de la canne à sucre (Rochat *et al.*, 2000b & 2002). L'effet phérosynergique est très spectaculaire chez *O. elegans* pour lequel l'attractivité de la phéromone seule est très faible sur le terrain (Rochat *et al.*, 2004). Chez *O. rhinoceros*, la phéromone seule présente à l'inverse une attractivité importante (Hallett *et al.*, 1995 ; Morin *et al.*, 1996).

### 2.3.3. Curculionidae

Les phéromones d'agrégation produites par les mâles ont été également identifiées chez plusieurs Curculionides. Les odeurs de différents tissus de leurs plantes-hôtes, servant de source de nourriture ou de sites d'oviposition, jouent un rôle phérosynergique. Par exemple, chez *Anthonomus grandis* Boheman, les essais de piégeage sur le terrain ont mis en évidence le rôle phérosynergique de l'odeur de feuille verte (alcools et aldéhydes à six atomes de carbone issus de la dégradation oxydative des lipides végétaux comme l'acide linoléique et l'acide linoléique : *trans*-2-hexen-1-ol, *cis*-3-hexen-1-ol ou 1-hexanol par exemple). Le *trans*-2-hexen-1-ol a non seulement augmenté la capture des pièges à la phéromone mais a aussi prolongé leur durée d'attraction (Dickens, 1989). Les (*E*)- $\beta$ -ocimène et  $\beta$ -caryophyllène (sesquiterpènes) ont également amélioré l'attraction de la phéromone de *A. grandis* sur le terrain.

Chez *Conotrachelus nenuphar* (Herbst), certaines odeurs de fruits de plantes-hôtes comme le benzaldéhyde, l'isovalérate d'éthyle et le limonène ont des effets attractifs. L'effet phérosynergique du benzaldéhyde a été démontré sur le terrain. L'isovalérate d'éthyle et le limonène n'ont pas eu d'effet phérosynergique (Pinero & Prokopy, 2003).

Chez *Metamasius hemipterus sericeus*, les doses élevées d'acétate d'éthyle (> 800 mg/j), de propionate d'éthyle (> 300 mg/j), de butyrate d'éthyle (> 100 mg/j) ou le mélange des trois produits ont été aussi attractifs que 250 g de canne à sucre. L'acétate d'éthyle à une dose > 650 mg/j a montré un effet phérosynergique équivalent à 250 g de

canne à sucre sur le terrain (Giblin-Davis *et al.*, 1996b). Chez *R. palmarum*, deux mélanges G (16 composants) et H (28 composants) (Tableau 20, p. 98) ont montré des effets phérosynergiques compétitifs avec  $\approx$  600 g de canne à sucre sur le terrain (Rochat *et al.*, 2000a).

Chez *R. cruentatus*, l'acétate d'éthyle (1843 ou 482 mg/j) et le (S)-(-)-lactate d'éthyle (à une dose indéterminée) ont montré un effet phérosynergique compétitif avec 0,5 kg mais pas avec 1,5 kg de stipe de *Sabal palmetto* (Walter) (Giblin-Davis *et al.*, 1994).

Chez *R. phoenicis*, le propionate d'éthyle (30 mg/j) a montré un effet phérosynergique sur le terrain mais pas compétitif avec 1 kg de tissu de palmier à huile (Gries *et al.*, 1994a).

Chez *R. ferrugineus*, le pentanol avec une dose indéterminée a doublé la capture de la phéromone (0,4 mg/j) sur le terrain mais son effet phérosynergiste n'a pas été comparé avec le matériel végétal (Gunavardena & Herath, 1995 ; Rajapakse *et al.*, 1998-99). Le mélange 12 (Tableau 19, Annexe 2), un mélange synthétique à base d'éthanol et d'acétate d'éthyle et contenant 1,25% de pentanal comme l'un des quatre composés minoritaires a montré également un effet phérosynergique moyen, pas compétitif avec le matériel végétal, dans un criblage effectué sur le terrain (Avand-Faghih, 2000).

#### 2.4. Les techniques pour identifier des phérosynergistes végétaux

Les travaux pour identifier les phérosynergistes végétaux sont nombreux dans la littérature. Mais il y a très peu d'exemples aboutissant à un phérosynergiste synthétique compétitif avec le matériel végétal sur le terrain.

Les odeurs de matériaux végétaux sont qualitativement et quantitativement caractérisées à l'aide de couplage chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse (CPG-SM). Par exemple, 18 composés isolés à partir de banane inoculée avec de la levure, *Saccharomyces cerevisiae*, (Phelan & Lin, 1991) et sept composés isolés de la pâte à pain de blé inoculé avec de la levure (Lin & Phelan, 1991a) ont été identifiés et quantifiés. Les odeurs de quatre plantes-hôtes de *R. palmarum* [le cocotier, le palmier à huile, la canne à sucre et *Jacaratia digitata* (Solms)] ont été caractérisées à l'aide de CPG-SM à la suite de collectes successives de leurs effluves au cours de la fermentation où plus de 100 composés ont été identifiés (Rochat *et al.*, 2000a ; Tableau 4).

Parfois des mélanges synthétiques reconstitués à partir de la caractérisation d'odeurs de matériaux végétaux ont montré de l'attractivité ou un effet phérosynergique intéressant sur le terrain. Chez *Glischrochilus quadrisignatus* (Say) et *G. fasciatus* (Olivier), le mélange

synthétique d'odeur de pâte à pain (contenant de l'acétaldéhyde, de l'acétate d'éthyle, de l'éthanol, du propanol, du 2-méthylpropanol, du 2-méthylbutanol et du 3-méthylbutanol à des doses individuelles bien précises) a été aussi attractif que la pâte à pain ou la banane inoculée avec de la levure sur le terrain (Lin & Phelan, 1991b). Chez *Carpophilus lugubris*, ce mélange synthétique a été non seulement aussi attractif que la pâte à pain mais il a montré aussi un effet phérosynergique intéressant sur le terrain (Lin *et al.*, 1992). Chez *R. palmarum*, les mélanges G et H cités précédemment phérosynergistes compétitifs avec  $\approx 600$  g de canne à sucre, ont été obtenus par criblage de terrain à partir des données analytiques.

En général deux méthodes ont été utilisées pour sélectionner les molécules ou les mélanges actifs comme les phérosynergistes parmi un nombre très important de composés identifiés chez les plantes-hôtes des insectes :

#### 2.4.1. Les méthodes électrophysiologiques

Les techniques d'électrophysiologie comme l'électroantennographie (EAG), l'enregistrement unitaire et le couplage de ces méthodes avec la CPG, surtout la CPG-électroantennographie (CPG-EAG ; abrégée en CPG-EAD par certains auteurs), ont été largement utilisées pour cribler les composés actifs d'une odeur végétale au niveau périphérique. Par exemple, chez *Anthonomus grandis*, les enregistrements unitaires sur l'antenne ont révélé des classes de neurones sélectivement réceptifs aux odeurs de cotonnier : l'odeur de feuille verte, un composé aromatique (bénzaldéhyde), les monoterpènes (linalool et *trans*- $\beta$ -ocimène) et les sesquiterpènes ( $\beta$ -caryophyllène et  $\beta$ -bisabolol) (Dickens, 1989 & 1990). Chez *Metamasius hemipterus sericeus*, l'acétate d'éthyle, le propionate d'éthyle et le butyrate d'éthyle ont été détectés au niveau antennaire dans une analyse CPG-EAG de l'odeur de la canne à sucre (Perez *et al.*, 1997). Chez *R. phoenicis*, l'acétate d'éthyle, le propionate d'éthyle, le propionate d'isobutyle, le butyrate d'éthyle et l'isobutyrate d'éthyle ont été détectés au niveau antennaire dans une analyse CPG-EAG avec l'extrait d'odeur de stipe de palmier à huile (Gries *et al.*, 1994a). Chez *R. ferrugineus*, le pentanol et le hexanol ont été actifs au niveau antennaire dans un criblage des alcools par EAG (Gunawardena & Kern, 1994). Un criblage EAG a été également réalisés avec certains terpènes (Gunawardena, 1994b).

Bien que ces techniques soient efficaces pour un criblage rapide des molécules sémi-chimiques potentiellement actives au niveau antennaire, elles ne peuvent pas indiquer le rôle comportemental des composés sélectionnés.

### 2.4.2. Les tests comportementaux

Les tests olfactométriques en conditions contrôlées au laboratoire ont été développés pour étudier le rôle des odeurs végétales sur la réponse comportementale des insectes. Les mélanges synthétiques d'odeurs de banane et de pâte à pain ont été respectivement aussi attractifs que la banane pour *Carpophilus hemipterus* (L.) (Phelan & Lin, 1991) et que la pâte à pain pour *Carpophilus lugubris* Murray (Lin & Phelan, 1991a) dans les tests de comportement effectués au laboratoire à l'aide d'un tunnel du vol.

Les tests comportementaux ont été également utilisés pour démontrer l'effet phérosynergique de matériaux végétaux surtout chez les coléoptères de petite taille comme *Sitophilus zeamais* (Walgenbach *et al.*, 1987) et les Nitidulides (Blumberg *et al.*, 1993). Saïd (2003) a validé l'effet phérosynergique du jus de canne à sucre et de l'acétoïne chez *R. palmarum* dans un olfactomètre à quatre voies modifié pour la grande taille de cette espèce et équipé d'un stimulateur olfactif adapté à la volatilité importante des produits testés.

Dans certains cas, particulièrement chez les insectes de grandes tailles comme les *Rhynchophorus* spp., il est difficile d'étudier dans un olfactomètre, l'ensemble de la chaîne comportementale intervenant dans l'attraction à longue distance par le message olfactif. Contrairement aux lépidoptères ou aux coléoptères de petites tailles comme les Nitidulides, pour lesquels l'étude de la phase de vol jusqu'à la source d'odeur est possible en tunnel de vol, les efforts pour étudier la réponse des grands coléoptères sont limités à une phase de marche à courte distance. Cette phase correspond uniquement à la phase finale de la chaîne comportementale ou à l'accès à la source odorante et ne traduit pas l'attraction des insectes à longue distance par les odeurs. Cette limite conduit souvent à des résultats contradictoires entre le laboratoire et le terrain. Par exemple chez *R. ferrugineus*, l'éthanol, le propanol, l'isopropanol, le pentanol et l'isopentanol ont été attractifs dans un olfactomètre en Y mais pas sur le terrain (Gunawardena & Gunatilake, 1993 ; Gunavardena & Herath, 1995).

Il est donc nécessaire que l'effet phérosynergique de produits actifs au niveau antennaire ou au niveau du comportement en olfactomètre soit validé sur le terrain par le piégeage.

Les produits phérosynergiques peuvent être criblés directement sur le terrain par le piégeage. Ainsi, par exemple chez *R. cruentatus*, l'acétate d'éthyle et le (S)-(-)-lactate d'éthyle ont montré un effet phérosynergique compétitif avec 0,5 kg de stipe de *Sabal palmetto* (Walter). Ces produits ont été criblés parmi 28 molécules issues de la fermentation de la sève de palmiers, choisis d'après la bibliographie (Giblin-Davis *et al.*, 1994).

Dans ce contexte, le présent travail, décrit dans les chapitres suivants, a eu pour but de caractériser un phérosynergiste synthétique pour faciliter l'essor du piégeage de *R. ferrugineus*, dans une perspective d'application agronomique. Nous avons utilisé des techniques différentes : 1) caractérisation de l'odeur du cœur de dattier à l'aide de CPG-SM ; 2) identification de composés actifs de l'odeur du cœur de dattier au niveau antennaire par EAG et CPG-EAG et enfin 3) criblage de mélanges ou de produits à propriétés phérosynergiques mis en évidence aux points 1 et 2 ou décrits dans la bibliographie par piégeage sur le terrain.

## **Partie expérimentale**

# 1. Extraction, analyses et identification des composés volatils émis par le cœur du palmier dattier au cours de la fermentation

## 1.1. Introduction

Les composés volatils émis par les végétaux sont identifiés par le couplage chromatographie capillaire en phase gazeuse – spectrométrie de masse (CPG-SM). Les odeurs végétales peuvent être des mélanges très complexes, avec une large gamme de molécules. Ainsi, vingt-huit pics chromatographiques ont été obtenus à partir de la sève fermentée du palmier à huile et vingt-cinq molécules ont été identifiées par spectrométrie de masse (SM) avec une variation qualitative et quantitative des produits volatils au cours de la fermentation selon la méthode d'extraction ou la quantité de matériel végétal (Nagnan *et al.*, 1992). Une centaine de composés organiques (fraction des composés à plus de 4 atomes de carbone) a été identifiée par CPG-SM à partir de quatre matériels végétaux attractifs pour *R. palmarum* au cours de la fermentation dont 65% sont issus de la fermentation. Le phénomène de la fermentation a abouti à une forte augmentation de la quantité et de la variété des composés volatils émis par ces tissus végétaux. La quantité de produits volatils émis par les matériaux végétaux de la famille des Areceaceae (cocotier et palmier à huile) a été 2 à 3 fois supérieure à celle recueillie chez les autres plantes (Rochat *et al.*, 2000a). Parmi plus de 100 pics chromatographiques obtenus à partir d'un distillat de stipe du cocotier seulement 14 molécules ont été identifiées par SM (Gunawardena, 1994a). Les composés d'odeurs de plantes-hôtes des charançons des palmiers décrits dans la littérature ont été présentés dans le Tableau 4.

L'activité alimentaire des insectes sur le matériel végétal peut induire de grandes différences dans les quantités de molécules émises par la plante-hôte. Ce phénomène a été observé dans les analyses effectuées à partir de la canne à sucre avec ou sans *R. palmarum* et blessée mécaniquement (Saïd, 2003).

Dans la seule analyse comparative des odeurs de plantes-hôtes de *R. palmarum* : le cocotier, le palmier à huile, la canne à sucre et *Jacaratia digitata*, certains composés caractéristiques pour chaque plante ont été identifiés (Rochat *et al.*, 2000a) :

Canne à sucre : les monoterpènes avec un squelette de carbone de type menthane ( $\alpha$ -phellandrène, isomères de menthol, menthone, isomères de *p*-2-menthenol, *p*-mentha-1,3,8-triène), deux composés aromatiques (*p*-méthylanisole, *m*-isopropylphénol), heptan-2-ol, heptan-2-one, octan-2-one et les sesquiterpènes (longifolène, sesquiterpènes 5, 9 et 11).

**Tableau 4** : Composés volatils des odeurs de matériaux végétaux issus des plantes-hôtes des charançons des palmiers décrits dans la bibliographie.

| Famille chimique         | Produit  | Famille chimique   | Produit  |
|--------------------------|--|--|--|
| Alcools                  | Méthanol ●<br>Ethanol ●<br>Butanol ■<br>2-Méthylbutanol ●<br>Isopentanol ●■<br>2-Méthylpentanol ●<br>(Z)Hex-3-énol ●<br>(E)-Hex-2-énol ●<br>Hexanol ●<br>Méthylhexanol secondaire 1 ●<br>Méthylhexanol secondaire 2 ●<br>Heptan-2-ol ●<br>Butane-2,3-diol ●<br>Hexane-1,3-diol ●■<br>3-Méthylthiopropanol ●<br>1-Méthoxy-2-propanol ■<br>Diéthylène glycol ▲ | Aromatiques ou cycliques   | 2-Phényléthanol ●■<br>Thiofuran ■<br>Guaïacol ●<br>Styrène ●<br>3-Phényl-2-propénoate d'éthyle ■<br>3-Ethénylcyclohexanone ●<br><i>m</i> -Isopropylphénol ●<br>3-Isopropyl-6-méthylcyclohexa-2,4-diénole ●<br>Ethanone 1-(2-hydroxy-5-méthyl) ▲<br>Xylène ▲<br>4-Hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde ▲<br><i>α</i> -Ionone ▲   |
|                          | Esters   | Acétate d'éthyle ●<br>Acétate de propyle ●<br>Acétate d'isobutyle ●<br>Acétate de butyle ●<br>Acétate d'isoamyle ●■<br>Acétate de 2-méthylbutyle ●<br>Acétate de pentyle ●<br>Acétate d'oct-3-ényle ●<br>Propionate d'éthyle ●<br>Propionate d'isopropyle ●<br>Propionate d'isobutyle ●<br>Isobutyrate d'éthyle ●<br>Butyrate d'éthyle ●<br>Isovalérate d'éthyle ●<br>Hexanoate de méthyle ●<br>Hexanoate d'éthyle ●■<br>Octanoate d'éthyle ●■<br>Oct-7-énoate d'éthyle ●<br>Décanoate d'éthyle ●■<br>Undécénoate d'éthyle ●<br>Tiglate d'éthyle ●<br>Tiglate de butyle ●<br>3,3-Diméthylacrylate d'éthyle ●<br>Crotonate d'éthyle ●<br>Lactate d'éthyle ●<br>2-Hydroxy-3-méthylbutanoate d'éthyle ● | Cétones  |
| Aldéhydes                |  |  | Acétaldéhyde ●<br>Hexanal ●<br>(E)-2-Hexénal ●<br>Nonanal ▲<br>Décanal ▲   |
| Monoterpènes             |  |  | Myrcène ●<br><i>α</i> -Pinène ●<br><i>α</i> -Terpinène ●<br>Limonène ●<br><i>α</i> -Phellandréne ●<br><i>β</i> -Phellandréne ●<br>Linalool ●<br>Epoxylinéalool ●<br>Menthone ●<br>Menthol ●<br><i>cis</i> -p-Menth-2-én-1-ol ●<br><i>trans</i> -p-Menth-2-én-1-ol ●<br>Isomenthol ●<br>Acétate de Bornyle ●<br>1,8-Cinéole ●<br><i>α</i> -Thujone ●<br><i>p</i> -Cymène ●<br><i>p</i> -Mentha-1,3,8-triène ●<br>Monoterpène cétone ●                                 |
| Acides                   | Acide acétique ●■<br>Acide isobutyrique ●■<br>Acide propanoïque ■<br>Acide isovalérique ●■<br>Acide hexanoïque ●■<br>Acide octanoïque ●■<br>Acide nonanoïque ▲<br>Acide décanoïque ●■<br>Acide dodécanoïque ■<br>Acide lactique ●■<br>Acide cyclohexanecarboxylique ■<br>Acide méthylbuténoïque ●  | Sesquiterpènes   | Longifolène ●<br>Sesquiterpène 1 (M = 204) ●<br>Sesquiterpène 2 (M = 204) ●<br>Sesquiterpène 3 (M = 222) ●<br>Sesquiterpène 4 (M = 206) ●<br>Sesquiterpène 5 (M = 204) ●<br>Sesquiterpène 6 (M = 204) ●<br>Sesquiterpène 7 (M = 204) ●<br>Sesquiterpène 8 (M = 204) ●<br>Sesquiterpène 9 (M = 204) ●<br>Sesquiterpène 10 (M = 204) ●<br>Sesquiterpène 11 (M = 204) ●<br>Sesquiterpène 12 (M = 224) ●<br>Sesquiterpène 13 (M = 224) ●<br>Trans- <i>β</i> -farnésène ● |
|                          |  |  | Divers   |
| Aromatiques ou cycliques | Phénol ●▲<br>Méthoxybenzène (Anisole) ●<br>1,2-Diméthoxybenzène (Vératrole) ●<br>Dichlorométhoxybenzène ●<br><i>p</i> -Méthylanisole ●<br>Phényléthanone ●▲<br>Acétate de 2-phényléthyle ●<br>Isobutyrate de phénéthyle ■<br>2-Pentylfurane ●  |  |  |

● Rochat, 1991 ; Rochat *et al.*, 2000a. ; ■ Nagnan *et al.*, 1992 ; ▲ Gunawardena, 1994a



Cocotier : les molécules aromatiques (phénol, guaïacol, vératrole), le tiglate d'éthyle, le 3,3-diméthylacrylate d'éthyle, le crotonate d'éthyle, l'hexan-2-one et la nonan-2-one. L'acétoïne, le butane-2,3-diol et les acétates d'isomyle, de 2-méthylbutyle et d'isobutyle ont été considérés comme les composés caractéristiques du cocotier à cause de leurs abondances plus importantes dans le cocotier que dans les autres matériaux végétaux.

Palmier à huile : les acides organiques et leurs esters d'éthyle, le lactate d'éthyle, le 2-hydroxy-3-méthylbutanoate d'éthyle, l'undécanoate d'éthyle et le 3-méthylthiopropanol. Le 2-Phényléthanol a été caractéristique du palmier à huile pour sa quantité abondante dans ce matériel végétal en comparaison avec les autres plantes. Aucun terpène n'a été identifié dans le palmier à huile. Le même type de composés a été identifié dans la sève fermentée de palmiers à huile (vin de palme) par [Nagnan et al.](#) (1992).

Jacaratia digitata : les odeurs de feuille verte (l'hexanal, l'hexanol, les isomères de hexén-1-ol) et les monoterpènes. La différence entre les composés de *Jacaratia digitata* et ceux des autres plantes a été plus importante que la différence entre les composés de la canne à sucre, du cocotier et du palmier à huile ([Rochat et al., 2000a](#)).

Compte tenu de l'installation de *R. ferrugineus* dans l'aire du palmier dattier, nous avons essayé de caractériser l'odeur du cœur de stipe de palmier dattier, le phérosynergiste végétal disponible pour le piégeage au Moyen Orient en suivant les objectifs suivants :

1. étudier les différences et les ressemblances qualitatives des composés de l'odeur du cœur de stipe de palmier dattier avec ceux des odeurs des autres plantes-hôtes des charançons des palmiers dans la littérature ;
2. quantifier les composés de l'odeur du cœur de stipe de palmier dattier, échantillonnés par la technique de Microextraction en Phase Solide (SPME) pour construire des mélanges synthétiques (les mélanges MJ1, MJ2 et MJ2\*) et vérifier leurs effets phérosynergiques sur le terrain (cf. chapitre 5) ;
3. extraire des composés de l'odeur du cœur de stipe de palmier dattier d'une façon cumulative pendant des durées assez longues pour avoir des extraits naturels avec des concentrations assez élevées pour les analyses CPG-SM et CPG-EAG (cf. chapitre 3) et assurer une identification maximum des composants.

## 1.2. Matériels et Méthodes

### 1.2.1. Extraction de l'odeur du cœur de palmier dattier

L'extraction de l'odeur du cœur de palmier dattier a été effectuée selon deux protocoles différents en 2000 et 2002 :

Dans un premier protocole en 2000, nous avons isolé l'odeur du cœur congelé de palmier dattier à l'aide de SPME afin de la caractériser qualitativement et quantitativement pour construire des mélanges synthétiques.

Dans un deuxième protocole en 2002, nous avons collecté les odeurs à partir de deux échantillons de cœur de dattier : congelé et frais à l'aide d'un polymère adsorbant. Les constituants des odeurs du cœur de palmier dattier ont été identifiés. Les solutions des extraits ont été ultérieurement utilisées pour les analyses CPG-EAG et les essais comportementaux au laboratoire.

Nous avons choisi de réaliser nos échantillonnages pendant une période de 14 (en 2000) ou 21 jours (en 2002) car cette période correspond à la durée au cours de laquelle le dattier utilisé pour le piégeage de *R. ferrugineus*, passe par un maximum d'attractivité puis la perd.

Les échantillonnages SPME et la collecte d'effluves sur le polymère adsorbant ont été respectivement effectués à 40° et 30°C, températures correspondant aux conditions des palmeraies iraniennes infestées par *R. ferrugineus*.

#### 1.2.1.1. Matériel végétal

En 2000, un cœur de palmier dattier de la variété Mazafati a été prélevé en Iran (Saravan), congelé dès sa récolte (17/7/01) et réceptionné au laboratoire 4 jours plus tard. Il a été conservé au congélateur et a été décongelé juste avant le début des collectes de ses effluves.

En 2002, un rejet de palmier dattier avec pétioles a été prélevé en Iran (Saravan) et rapporté en France. Le rejet a été conservé en chambre froide (6°C) jusqu'à l'utilisation ( $\approx 45$  j). Les tissus internes du cœur du rejet, protégés par les gaines foliaires ont été utilisés pour la collecte d'odeurs ; ils présentaient l'aspect d'un morceau frais de cœur de palmier dattier. Cette partie mise à nu a été coupée en morceaux ( $\approx 2 \times 2 \times 2$  cm). Une partie des morceaux a été conservée en chambre froide et considérée comme tissus 'frais' et une partie a été congelée (pendant 3 j à -15°C) pour avoir du tissu congelé. Les morceaux de cœur du dattier frais ont été mis dans des sacs plastiques perforés, placés sur une grille dans un dessic-

cateur ( $\approx 10$  l) contenant de l'eau osmosée. L'air circulant autour des sacs a assuré une humidité élevée autour du matériel végétal. Cette méthode a été mise en place pour avoir des conditions de maintien du matériel végétal proches de celles des pièges sur le terrain pour que le cœur de dattier évolue (fermentation) comme dans les conditions naturelles.

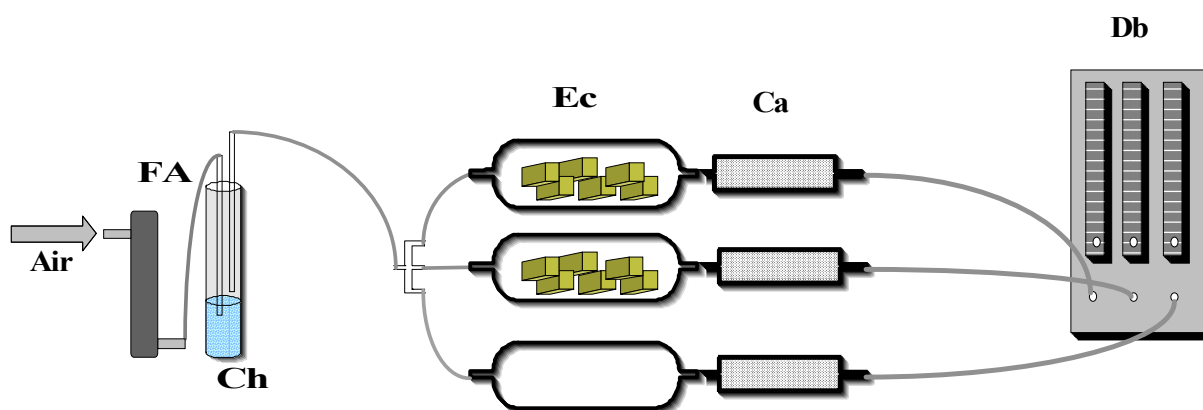
En 2000,  $\approx 200$  g et en 2002,  $\approx 150$  g de matériel végétal ont été utilisés pour la collecte d'effluves (la collecte d'effluves de cœur frais de dattier du 14<sup>e</sup> au 21<sup>e</sup> jour a été effectuée avec  $\approx 40$  g de matériel végétal en 2002).

### 1.2.1.2. Dispositifs et méthodes de collecte d'effluves

Le dispositif de collecte d'effluves est identique à celui utilisé par [Rochat et al.](#) (2000a). Trois enceintes ont été utilisées pour collecter les odeurs végétales, contenant :

- du cœur de dattier congelé, de la tige de canne à sucre (la caractérisation de son odeur n'a pas été effectuée) et rien (témoin vide) en 2000 ;
- du cœur de dattier frais, du cœur de dattier congelé et rien (témoin vide) en 2002.

Toute la verrerie a été lavée dans un détergent (TFD4, France) pendant 24 h. En 2002, elle a été séchée dans une étuve à 150°C pendant au moins 60 h pour éliminer les contaminations organiques éventuelles. Les enceintes ont été parcourues par un flux d'air (100 ml/mn) purifié sur charbon actif et humidifié sur eau osmosée (2000). Le flux d'air n'a pas été humidifié en 2002 afin de nous rapprocher de la situation aride des palmeraies du Moyen-Orient. La Figure 4 montre le dispositif de collecte d'effluves.



**FA** : cartouche de charbon actif pour filtrer l'air ; **Ch** : bain d'eau osmosée pour humidifier l'air (partie non utilisée en 2002) ; **Ec** : enceintes contenant le matériel végétal ou vide comme témoin ; **Ca** : cartouches contenant du Supelpak-2 (deux cartouches en série utilisées en 2002) ; **Db** : débitmètres.

**Figure 4** : Dispositif de collecte d'effluves utilisé pour l'isolement des composés volatils émis par le palmier dattier en 2000 et 2002.

### ***1.2.1.3. Collecte d'effluves sur un polymère adsorbant en 2002***

Les odeurs émises par les matériaux végétaux ont été collectées sur un polymère adsorbant, le Supelpak™-2 (Supelco, Etats-Unis). Le polymère adsorbant a été purifié avant usage dans un Soxhlet par extraction au dichlorométhane (Carlo Erba Reagenti, 99,5%, France) pendant 3 h et puis au *n*-pentane (Merck, 99%, Allemagne) pendant 6 h pour éliminer les contaminations éventuelles.

Le matériel végétal a été mis dans une enceinte en verre connectée à 2 cartouches en verre (en série) remplies avec  $\approx 500$  mg de Supelpak™-2.

La collecte d'effluves a été effectuée en changeant régulièrement les cartouches adsorbantes à partir de la mise en place du matériel végétal dans le dispositif pour chaque échantillon. Cinq prélèvements ont été réalisés : du 1<sup>er</sup> au 4<sup>e</sup> jour (J0-4), du 4 au 7<sup>e</sup> jour (J4-7), du 7 au 10<sup>e</sup> jour (J4-10), du 10 au 14<sup>e</sup> jour (J10-14) et du 14 au 21<sup>e</sup> jour (J14-21). L'extraction des odeurs a été effectuée par 3 ml et 2 ml de *n*-hexane (Carlo Erba Reagenti, > 98%, France) pour respectivement les premières et les secondes cartouches situées à l'extrémité des enceintes. Les flacons contenant les extraits ont été conservés au congélateur jusqu'aux analyses chimiques.

### ***1.2.1.4. Collecte d'effluves par SPME***

La SPME avec une fibre de 100  $\mu\text{m}$  de polydiméthylsiloxane (PDMS) a été utilisée en 2000 pour échantillonner les composés volatils émis par le matériel végétal. Les récipients de matériel végétal et témoin (vide) ont été séparés du flux d'air et les ouvertures des récipients ont été fermées par deux septums. Les échantillonnages SPME ont été effectués après 20 mn : le temps d'équilibre dans l'enceinte. La fibre a été introduite dans le récipient du matériel végétal au travers du septum. Sept échantillonnages ont été effectués pendant 40 mn dès la mise en place du matériel végétal et après 1 (J1), 2 (J2), 4 (J4), 7 (J7), 10 (J10) et 14 (J14) jours.

Deux séries d'échantillonnages SPME ont été effectuées avec la même fibre en 2000, l'une pour analyses en CPG et l'autre en CPG-SM.

## **1.2.2. Analyses CPG**

Toutes les analyses ont été réalisées sur un chromatographe en phase gazeuse Varian Star 3400 Cx équipé d'un injecteur SPI (Septum Programmable Injector), d'un détecteur FID (Flame Ionisation Detector) et d'une colonne capillaire apolaire RTx-5MS (30 m  $\times$  0,32 mm

-DI, de 1  $\mu\text{m}$  d'épaisseur de phase). Le gaz vecteur était l'hélium (15 psi). L'injecteur et le détecteur ont été maintenus à 240°C. La température de la colonne a suivi la programmation suivante : 1 mn à 50°C, puis s'élève à raison de 20°C/mn jusqu'à 70°C où elle se maintient pendant 4 mn, puis atteint une température de 240°C à raison de 10°C/mn et se maintient à cette température finale pendant 5 mn. La durée totale de programmation a été de 28 mn. La désorption de l'échantillon dans le chromatographe a été effectuée pendant 2 ou 10 mn, en 2000 et 2002 respectivement.

### 1.2.3. Analyses CPG-SM

L'identification des effluves végétaux a été réalisée par CPG-SM.

En 2000, la température de l'injecteur de CPG-SM était de 250°C et une colonne apolaire MDN-5S a été utilisée. Le gaz vecteur était l'hélium (13 psi). La température de la colonne a suivi la programmation suivante : 1 mn à 50°C, puis s'élève à 90°C à raison de 5°C/mn ; elle y est maintenue pendant 1 mn puis atteint une température de 300°C à raison de 10°C/mn.

En 2002, un chromatographe en phase gazeuse Delsi DI200 équipé d'une colonne capillaire (30 m  $\times$  0,32 mm -DI, de 0,5 $\mu\text{m}$  d'épaisseur de phase) (Supelco, Bellefonte, PA, USA), couplé à un spectromètre de masse quadripolaire Nermag R30-10 a été utilisé. L'injecteur Splitless était chauffé à 222°C. La programmation de température était la suivante : 1 mn à 40°C, puis de 40°C à 80°C à raison de 3°C/mn, 1 mn à 80°C, puis de 80°C à 300°C à raison de 13°C/mn. Le gaz vecteur était l'hélium à une pression de 1 bar. Les spectres ont été enregistrés en mode 'impact électronique' à 70 eV sur une gamme de masse 40-340 uma.

### 1.2.4. Identification et quantification des produits

Les composés du cœur de palmier dattier ont été identifiés d'après les données de la librairie de CPG-SM en 2000 et 2002.

La quantification des produits a été effectuée seulement pour les échantillonnages d'odeurs de cœur congelé de dattier réalisés par SPME (en 2000), ce qui nous a permis de visualiser les pics des produits volatils (les pics de produits volatils sont cachés par le pic de solvant dans la technique de collecte d'effluves sur un polymère adsorbant). Pour les produits majoritaires des extraits, les identifications obtenues par CPG-SM ont été contrôlées par comparaison des temps de rétention des composés d'extraits naturels avec des composés de référence (échantillonnés par SPME) disponibles dans la banque de produits du laboratoire.

La composition qualitative des différents échantillons de SPME a été décrite. Les quantités de composés volatils issus du cœur de dattier, échantillonnés par SPME ont été déterminées par la formule suivante :

$$Q_i = [(A_p \times C_{FID}) \times (1 + K)] / K$$

où :

$Q_i$  = quantité de composé initialement dans le récipient du matériel végétal

$A_p$  = Aire du pic de produit d'après le chromatogramme

$C_{FID}$  = constante de réponse du détecteur

$K = K_{Fibre}$  (ml)

$K_{Fibre}$  pour chaque composé a été calculé à partir du modèle de régression linéaire de [Bartelt \(1997\)](#) :

$$\text{Log}(K) = B_0 + B_1 \cdot R + B_2 \cdot T + B_3 + B_4$$

où :

$R$  = indice de Kovats

$T$  = température (°C)

$B_0$  = constante du modèle de régression linéaire de Bartelt (-2,82 ± 0,028)

$B_1$  = facteur de l'indice de rétention de CPG (0,00419 ± 0,000023)

$B_2$  = facteur pour la température (-0,0257 ± 0,00059)

$B_3$  = constante de correction pour les fonctions chimiques

$B_4$  = constante de correction pour le noyau benzénique (-0,20 ± 0,017 si présent, 0 sinon)

Les indices de Kovats ont été déterminés à l'aide de la ligne établie à partir de log des temps de rétention du pentane et du pentadécane et leurs indices de Kovats constants pour les alcanes (nombre d'atomes de carbone × 100) ([Debbrecht, 1985](#)). Les alcanes ont été choisis de telle façon que leurs temps de rétention encadrent ceux des produits. Un échantillonnage SPME de mélanges de produits et de deux alcanes a été injecté pour obtenir leurs temps de rétention. Pour l'éthanol, l'acide acétique, l'acétate d'éthyle et l'acide isobutyrique dont les temps de rétention sont inférieurs à celui du pentane, les indices de Kovats calculés par Bartelt ont été utilisés. Dans le cas de l'acétate de méthyle dont l'indice de Kovats n'est pas calculé par [Bartelt \(1997\)](#), une estimation approximative a été effectuée.

Les constantes de réponse du détecteur précédemment calculées pour certains produits avec une colonne apolaire WCOT CPSil8-CB (25 m × 0,32 mm -DI, de 0,4 μm d'épaisseur de phase) ont été utilisées. Pour l'isopentanol, le 2-méthylbutanol, l'acide isobutyrique et l'acide

isovalérique dont les constantes de réponse du détecteur n'étaient pas disponibles, les droites de régression entre la quantité injectée et l'aire du pic obtenue sur le chromatogramme ont été établies. La pente de ces droites fournit les constantes de réponse du détecteur et permet de calculer les quantités injectées à partir de l'aire des pics obtenue. Pour la déterminer, 1 µl de solutions à 1, 10, 100 et 1000 ng/µl de chaque produit a été injecté. Deux répétitions sont réalisées pour chaque concentration.

### 1.3. Résultats et Discussion

Le cœur de dattier utilisé pour les analyses de 2000 s'est dégradé après décongélation, évoluant différemment d'un matériel non congelé en conditions naturelles. Le tissu s'est complètement liquéfié au 14<sup>e</sup> jour alors que dans les conditions naturelles (plus chaudes et plus sèches), il se déshydrate.

Au cours de l'analyse réalisée en 2002, le cœur de dattier a suivi une évolution plus proche de ce que l'on observe en conditions naturelles.

La procédure de séchage prolongé de la verrerie en étuve et la purification du polymère adsorbant dans le Soxhlet par extraction au dichlorométhane et au *n*-pentane a été efficace pour réduire les contaminations.

#### 1.3.1. Analyses qualitatives

Les résultats des analyses montrent que l'odeur du cœur de palmier dattier est un mélange complexe. Au total 109 molécules : 15 alcools, 21 esters, 9 acides, 30 molécules cycliques ou aromatiques, 17 cétones, 2 terpènes, 2 aldéhydes et 13 hydrocarbures (les alcanes ou les alcènes et un produit soufré : le trisulfide diméthyle) ont été identifiées dont 33 composés ont été déjà présentés dans la littérature comme les composants d'odeurs de plantes-hôtes des charançons des palmiers (Rochat, 1991 ; Nagnan *et al.*, 1992 ; Gunawardena, 1994a ; Rochat *et al.*, 2000a). Cette composition montre une richesse importante aux niveaux des produits cycliques ou aromatiques et des esters. Par contre le nombre de terpènes, d'aldéhydes et d'acides a été faible dans le cœur de palmier dattier.

Les produits identifiés en 2000 et 2002, en partie différents, sont présentés dans les Tableaux 5 (2000), 6 (2002, cœur frais de palmier dattier) et 7 (2002, cœur congelé de palmier dattier). Les chromatogrammes correspondants aux analyses des extraits du cœur de dattier de 2002 sont illustrés dans l'annexe 1 (Figures 5 - 14). Les produits volatils comme l'éthanol, l'acétate d'éthyle, l'acide acétique etc. sont identifiés en 2000 où la technique SPME a été

appliquée pour échantillonner les odeurs. Les pics de ces produits ont été éventuellement cachés par le pic du solvant en 2002 où les solutions d'extraits dans l'hexane ont été utilisées pour les analyses chimiques. En 2000 et 2002, au total 30 et 89 composés ont été respectivement identifiés dont dix molécules ont été communes : le 2-méthylbutanol, le butane-2,3-diol, l'acétate d'isobutyle, l'acétate d'isomyle, le nonan-2-one, le phénol, le guaïacol et le 2-phényléthanol composés caractéristiques des palmiers (cocotier ou palmier à huile) d'après [Rochat et al. \(2000a\)](#) et le octan-3-one et le 6-méthylheptan-3-one comme deux autres produits non présentés dans la bibliographie relative aux composants d'odeurs des palmiers.

**Tableau 5** : Pourcentage des composés volatils issus du cœur de dattier échantillonnés par SPME (sans considération de l'air des produits qui ne sont pas identifiés).

| Famille Chimique                | Molécule                        | Echantillons SPME |             |             |              |       |       |       |
|---------------------------------|---------------------------------|-------------------|-------------|-------------|--------------|-------|-------|-------|
|                                 |                                 | J0                | J1          | J2          | J4           | J7    | J10   | J14   |
| <b>Alcools</b>                  | Ethanol ●                       | 100               | 35,3        | 29,9        |              |       |       |       |
|                                 | 2-Méthylbutanol ●               |                   |             | 0,1         |              |       |       |       |
|                                 | Isopentanol ●                   |                   | 0,1         | 0,3         |              |       |       |       |
|                                 | Butan-2-ol                      |                   |             |             |              |       | *     |       |
|                                 | Butane-2,3-diol ●               |                   | 10,3<br>9,2 | 11,1<br>7,8 | 47,8<br>18,2 |       | 0,4   |       |
| <b>Esters</b>                   | Acétate de méthyle              |                   |             | 1,2         |              |       |       |       |
|                                 | Acétate d'éthyle ●              |                   | 35,3        | 44,5        |              |       |       |       |
|                                 | Acétate d'isobutyle (ou butyle) |                   |             | Trace       |              |       |       |       |
|                                 | Acétate de butan-2-ol           |                   |             |             |              |       | Trace |       |
|                                 | Acétate de 2-méthylbutan-1-ol ● |                   | Trace       |             |              |       |       |       |
|                                 | Acétate d'isoamyle ●            |                   | 0,02        | 0,4         |              |       |       |       |
|                                 | Propionate de butan-2-ol        |                   |             |             |              |       | Trace |       |
| Octanoate d'éthyle ●            |                                 | Trace             |             |             |              |       |       |       |
| <b>Acides</b>                   | Acide acétique ●                |                   | 6,0         | 0,2         | 7,1          |       |       |       |
|                                 | Acide propionique ●             |                   |             |             |              |       | Trace |       |
|                                 | Acide isobutyrique ●            |                   |             |             | 0,1          | 1,0   |       |       |
|                                 | Acide 2-méthylbutyrique         |                   |             |             |              | Trace |       |       |
|                                 | Acide butyrique                 |                   |             |             |              |       | Trace | 2,0   |
|                                 | Acide isovalérique ●            |                   |             |             | 0,1          | 0,9   | 0,1   | Trace |
| <b>Cycliques ou aromatiques</b> | Phénol ●                        |                   | 0,5         | 0,4         | 0,7          | Trace | Trace |       |
|                                 | 2-Phényléthanol ●               |                   |             |             | 0,5          | 0,3   |       |       |
|                                 | Acétate de 2-phénéthyle ●       |                   |             |             | 0,3          |       |       |       |
|                                 | Propionate de 2-phénéthyle      |                   |             |             | Trace        |       |       |       |
|                                 | Guaïacol ●                      |                   | 0,1         | 0,1         | 0,4          |       | 0,2   | 0,1   |
| <b>Cétones</b>                  | Acétone                         |                   |             |             |              | *     | *     |       |
|                                 | Butan-2-one                     |                   |             |             |              |       | 97,5  | 8,6   |
|                                 | Nonan-2-one ●                   |                   | 1,6         | Trace       | Trace        |       | 0,9   | Trace |
|                                 | 6-méthylheptan-3-one            |                   |             |             |              |       |       | Trace |
|                                 | Octan-3-one                     |                   |             |             |              |       | Trace |       |
|                                 | Acétoïne ●                      |                   | 1,6         | 3,0         | 23,7         |       | 1,0   |       |

\* : Quantité non calculée à cause du temps de rétention très faible n'ayant pas permis de déterminer l'indice de Kovats et la constante de réponse du détecteur. Les proportions des constituants identifiés aux jours 7 et/ou 10 ont été calculées sans considérer la quantité de ce(s) produit(s).

● : produit identifié chez les plantes-hôtes des charançons des palmiers dans la bibliographie ([Rochat, 1991](#) ; [Nagnan et al., 1992](#) ; [Gunawardena, 1994a](#) ; [Rochat et al., 2000a](#)).

**En gras** : produit identifié dans les autres prélèvements.



L'octan-3-one et l'oct-1-en-3-ol (identifiés en 2002) sont deux composants de l'odeur de l'avoine actifs aux niveaux antennaire et comportemental (dans un mélange synthétique avec le nonanal comme 3<sup>e</sup> composé) chez *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (White *et al.*, 1989). En 2002, 67 et 47 produits ont été respectivement identifiés dans le cœur congelé et frais de stipe de palmier dattier dont 26 ont été communs (Tableaux 6 et 7).

La plupart des produits lourds, caractérisés par un temps de rétention supérieur à 15 mn ne sont pas identifiés.

Les résultats montrent que les extraits obtenus en 2002 possèdent une variation qualitative importante nous permettant de réaliser les analyses CPG-EAG sur une large gamme de composants de l'odeur du cœur de dattier.

**Tableau 6** : Liste des molécules identifiées par collecte d'effluves sur Supelpak<sup>TM</sup>-2 dans l'odeur de cœur frais de stipe de palmier dattier au cours de la fermentation en 2002.

| N°  | Molécule                      | N°         | Molécule   |
|-----|-------------------------------|------------|--|
| 1   | <b>Acétate d'isobutyle</b> ●  | 25         | 2-Pentylfurane ●   |
| 2   | 2,4-Diméthylpenta-2,4-diène   | <b>26</b>  | <b>Octan-3-ol</b>  |
| 3   | 2,4-Diméthylpenta-2,3-diène   | <b>27</b>  | <b>Décane</b>  |
| 4   | 2,4-Diméthylpenta-1,3-diène   | 28         | Méthoxyméthylbenzène                                       |
| 5   | <b>Hexan-3-one</b>            | 29*        | Limonène ●   |
| 6   | <b>Hexan-2-one</b> ●          | <b>30</b>  | <b>Phényléthanone</b> ●                                    |
| 7   | 3,4-diméthylpent-2-ène        | <b>31</b>  | <b>Oxyde de linalool</b>                                   |
| 8   | <b>Hexan-3-ol</b>             | 32*        | 1,3,5,5-Tetraméthylcyclohexa-1,3-diène                     |
| 9   | <b>Octane</b>                 | <b>33*</b> | <b>Triméthylcyclopropane (ou 2-méthyl-1-propénylidène)</b> |
| 10  | <b>Triméthylfurane</b>        | <b>34</b>  | <b>Nonan-2-one</b> ●                                       |
| 11  | <b>Isovalérate d'éthyle</b> ● | <b>35</b>  | <b>Méthyléthylphénol</b>                                   |
| 12  | Ethylbenzène                  | 36         | Undécane   |
| 13  | <b>Xylène</b> ●               | 37         | Bornyl méthyl éther  |
| 14* | <b>Acétate d'isoamyle</b> ●   | 38         | Ethylméthylbenzène   |
| 15  | Styrène ●                     | <b>39</b>  | <b>Dodécane</b>  |
| 16  | <b>Heptan-2-one</b> ●         | 40         | Triméthylbenzène   |
| 17  | <b>Heptan-2-ol</b> ●          | 41*        | 2,4-Décadienal   |
| 18  | Nonane                        | <b>42</b>  | <b>Tridécane</b>   |
| 19  | Anisole ●                     | 43         | Déca-2,4-dienal  |
| 20* | Acétate de propyle ●          | 44         | Acétate de 3,7-diméthyl-6-en-1-ol                          |
| 21  | Propionate de pentyle         | 45*        | Phénol-2,5bis (ou 1,1-diméthyléthyl)                       |
| 22  | <b>Oct-7-èn-4-ol</b>          | 46         | Acide hexadécylique  |
| 23* | <b>Oct-1-èn-3-ol</b>          | 47         | Acide octadécylique  |
| 24  | <b>Octan-3-one</b>            |            |  |

\* : identification douteuse.

● : produit identifié dans les plantes-hôtes des charançons des palmiers dans la bibliographie (Rochat, 1991 ; Nagnan *et al.*, 1992 ; Gunawardena, 1994a ; Rochat *et al.*, 2000a).

**En gras** : produit identifié dans les autres prélèvements.

**Tableau 7** : Liste des molécules identifiées par collecte d'effluves sur Supelpak™-2 dans l'odeur de cœur congelé de stipe de palmier dattier au cours de la fermentation en 2002.

| N° <sup>1</sup> | Molécule                      | N°  | Molécule  |
|-----------------|-------------------------------|-----|---|
| 1               | 2-Ethylfurane                 | 35  | <b>Octan-3-ol</b>   |
| 2               | <b>Butane-2,3-diol •</b>      | 36  | <b>Décane</b>   |
| 3               | <b>Acétate d'isobutyle •</b>  | 37  | Acétate d'hexyle  |
| 4               | Isovalérate de méthyle        | 38  | Butyrate de 2-méthylbutyle                                    |
| 5               | <b>Hexan-3-one</b>            | 39* | 5-Méthylhept-3-èn-2-one                                       |
| 6               | <b>Hexan-2-one •</b>          | 40  | <b>Phényléthanone •</b>                                       |
| 7               | <b>Hexan-3-ol</b>             | 41* | <b>Oxyde de linalool</b>                                      |
| 8               | <b>Octane</b>                 | 42* | <b>Cyclopropanetriméthyl (ou 2-méthyl-1-propénylidène)</b>    |
| 9               | <b>2,3,5-Triméthylfurane</b>  | 43  | Mequinol  |
| 10*             | 3-Méthylpentan-3-ol           | 44  | <b>Guaiacol •</b>   |
| 11*             | 4-Méthylhexan-3-one           | 45  | <b>Nonan-2-one •</b>  |
| 12              | Butyrate de propyle           | 46  | Hexa-2,4-diénoate d'éthyle                                    |
| 13              | <b>Isovalérate d'éthyle •</b> | 47  | 3,7-diméthyl octa-1,6-dièn-3-ol                               |
| 14              | Heptan-4-ol                   | 48* | <b>Undécane-2-one •</b>                                       |
| 15              | <b>Xylène •</b>               | 49  | Butyrate de 3,3-diméthylbutyle                                |
| 16              | <b>Acétate d'isoamyle •</b>   | 50  | 3,7-diméthyl octa-1,6-dièn-3-ol ou phényl éthyl méthyl        |
| 17              | <b>Styrène •</b>              | 51  | <b>Méthyléthylphénol</b>                                      |
| 18              | Heptan-2-one •                | 52  | Décane-3-one  |
| 19              | <b>Heptan-2-ol •</b>          | 53  | Décane-2-one  |
| 20              | <b>Anisole •</b>              | 54  | <b>2-Phényléthanol •</b>                                      |
| 21              | Acétate de pentyle •          | 55  | <b>Dodécane</b>   |
| 22*             | Propionate de néopentyle      | 56  | 2,3,4,5-tetraméthyltricyclo[3.2.1.0 <sup>2,7</sup> ]oct-3-ène |
| 23              | Trisulfide diméthyl           | 57  | Vératrole •   |
| 24              | Acide 2-éthylbutanoïque       | 58  | Bornyl méthyl éther   |
| 25              | <b>Oct-7-èn-4-ol</b>          | 59  | Dodécane  |
| 26*             | <b>Oct-1-èn-3-ol</b>          | 60  | <b>Acétate de 2-phénéthyle •</b>                              |
| 27              | <b>Octan-3-one</b>            | 61  | 4-Ethyl-2-méthoxyphénol                                       |
| 28*             | 6-Méthylheptan-3-one          | 62  | <b>Tridécane</b>  |
| 29*             | 5-Méthylheptan-3-one          | 63  | 1-(4-Hydroxy-5-méthoxyphényl)éthanone                         |
| 30              | <b>Acétate de propyle •</b>   | 64  | 1-(2-Hydroxy-5-méthoxyphényl)éthanone                         |
| 31              | 3-hydroxybutanoate d'éthyle   | 65  | Pentadéc-1-ène  |
| 32              | <b>Phénol •</b>               | 66  | Heptadéc-1-ène  |
| 33              | 6-Méthylhept-5-èn-2-one •     | 67* | 1,5,5,9-Tetraméthylspiro[5,5]-undeca-1,8-diène                |
| 34              | 6-Méthylhept-5-èn-2-ol        |     |   |

<sup>1</sup> numérotation indépendante de celle donnée au Tableau 6.

\* : identification douteuse.

• : produit identifié chez les plantes-hôtes des charançons des palmiers dans la bibliographie (Rochat, 1991 ; Nagnan *et al.*, 1992 ; Gunawardena, 1994a ; Rochat *et al.*, 2000a).

**En gras** : produit identifié dans les autres prélèvements.

### 1.3.2. Analyses quantitatives

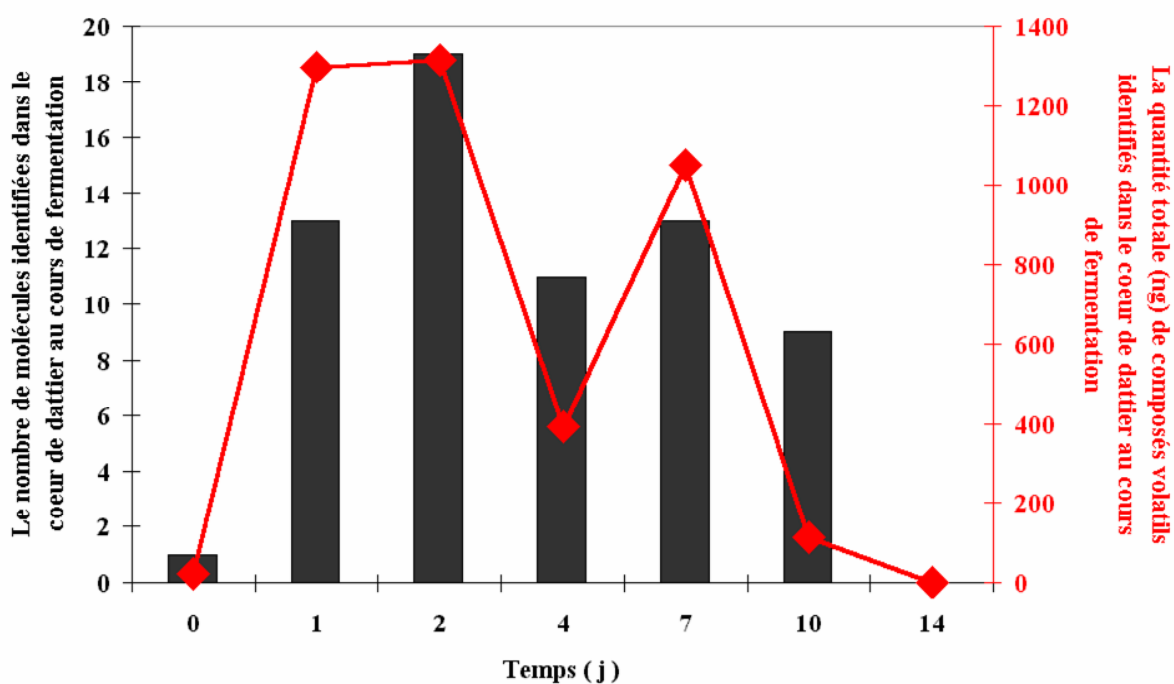
Au point de vue qualitatif, le nombre de molécules identifiées a globalement augmenté jusqu'au deuxième jour de la collecte d'effluves puis a décliné progressivement jusqu'au 14<sup>e</sup> jour. La quantité totale de produits a évolué de façon similaire (Figure 15).

Le maximum du nombre d'alcools a été obtenu au 2<sup>e</sup> jour et puis le maximum d'acides au 4<sup>e</sup> jour, ensuite le maximum des cétones entre le 7<sup>e</sup> et 10<sup>e</sup> jour. Ceci représente un processus classique de fermentation. Le maximum du nombre d'esters et de produits cycliques ou aromatiques a été respectivement obtenu au 1<sup>e</sup>-2<sup>e</sup> et 2<sup>e</sup> jour. L'évolution qualitative et

quantitative des composés de familles chimiques différentes a été respectivement démontré sur les Figures 16 et 17.

Trois phases peuvent être considérées pendant le processus de la fermentation :

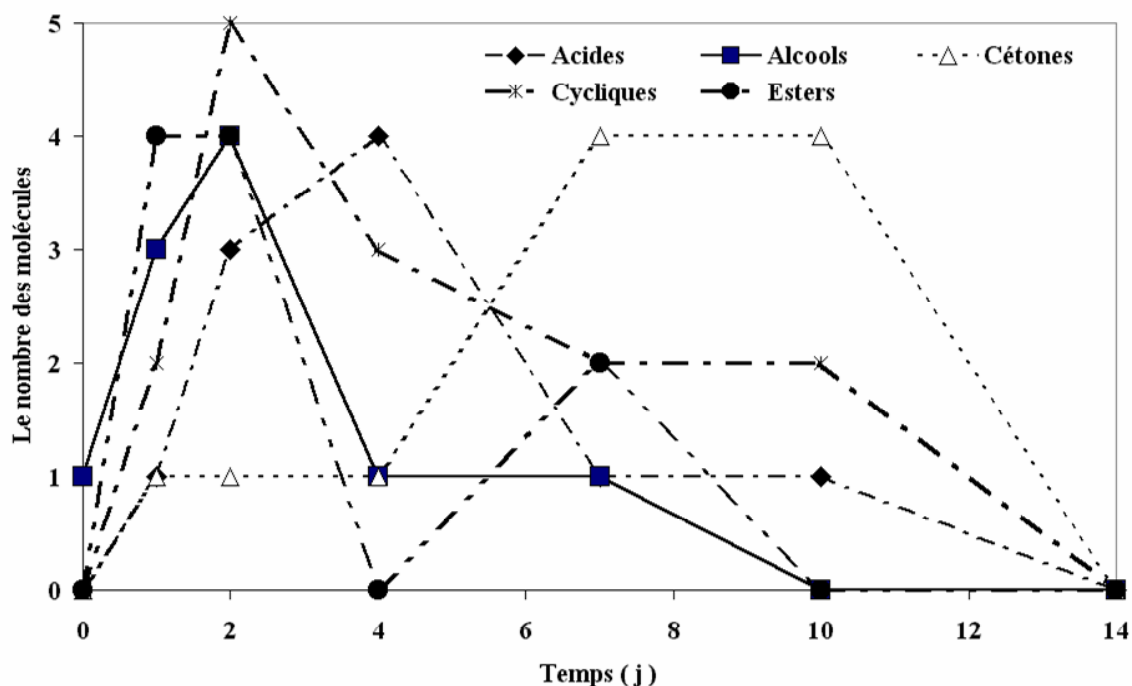
La Phase 1, qui a duré de la mise en place du végétal au 4<sup>e</sup> jour, est caractérisée par la présence d'éthanol et d'acétate d'éthyle comme produits majoritaires (75% du total). Alors que les quantités d'éthanol et d'acétate d'éthyle ont été équivalentes (458 ng) au premier jour, l'acétate d'éthyle (586 ng) a été 1,5 fois plus abondant que l'éthanol (394 ng) au deuxième jour. Le butane-2,3-diol et l'acétoïne sont les deux autres produits les plus abondants durant cette phase. La quantité de butane-2,3-diol reste constante (250 ng ; 19% du total) mais celle de l'acétoïne augmente de 21 ng (1,6%) à 40 ng (3%) du premier au deuxième jour.



**Figure 15** : Evolution qualitative et quantitative de l'odeur du cœur de palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L., au cours de la fermentation d'après les échantillonnages SPME effectués en 2000.

La Phase intermédiaire, le 4<sup>e</sup> jour de collecte, est caractérisée par l'absence d'éthanol et d'acétate d'éthyle et la présence de butane-2,3-diol (259 ng ; 66% du total) et d'acétoïne (93 ng ; 24% du total) comme produits majoritaires. Cette phase correspond à la diminution qualitative et quantitative observée, au quatrième jour sur la Figure 15.

La Phase 2, après le quatrième jour, est caractérisée par l'apparition d'une quantité très importante de butan-2-one au 7<sup>e</sup> (1026 ng ; 97,5% de l'odeur) et 10<sup>e</sup> (90 ng ; 80% de l'odeur) jour comme produit majoritaire après la diminution remarquable des quantités de butane-2,3-diol (4 ng ; 0,4% du total des produits) et d'acétoïne (10 ng ; 1% du total) au 7<sup>e</sup> jour.

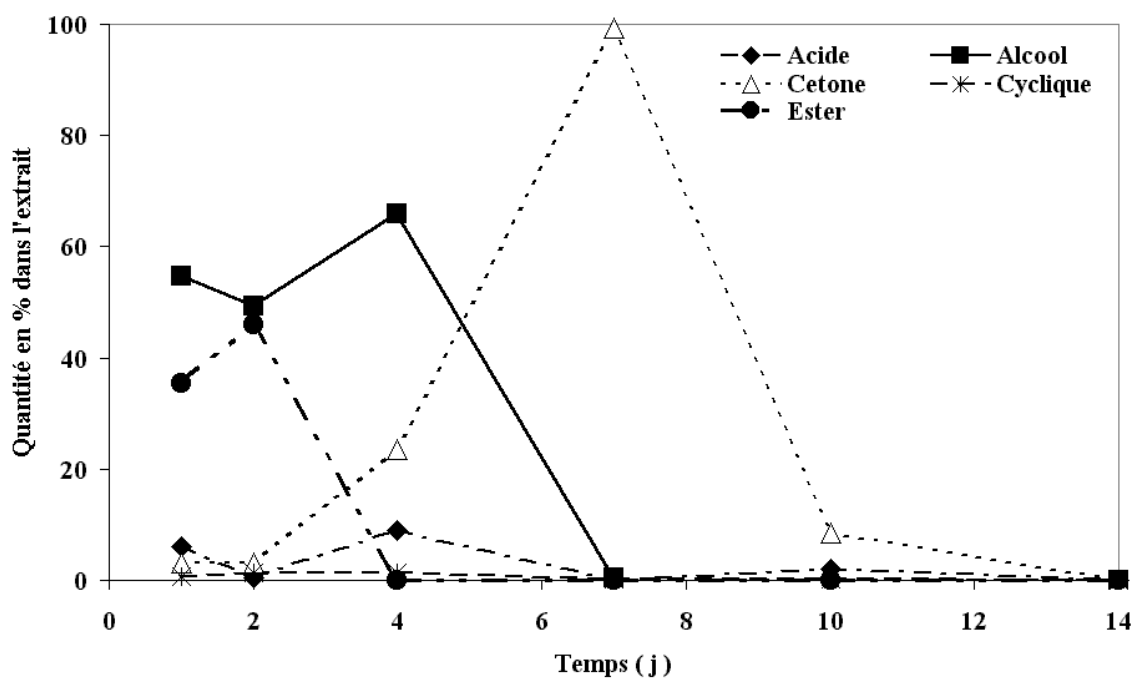


**Figure 16** : Evolution qualitative des composés de différentes familles chimiques au cours de la fermentation du cœur de palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L., d'après les échantillonnages SPME effectués en 2000.

L'acide acétique, la nonan-2-one et l'acétate de méthyle sont présents dans la phase 1, et l'acide butyrique dans la phase 2 en quantités moyennes ( $\geq 20$  ng ;  $> 1\%$ ). Il y a également de l'acide acétique dans la phase intermédiaire en quantité moyenne.

Le guaïacol est le seul produit minoritaire que l'on trouve dans toutes les phases en quantité à peu près constante, 1-2 ng (0,1 - 1,3% de l'odeur). Les autres produits minoritaires comme le phénol, l'isopentanol, l'acétate d'isoamyle, le 2-phényléthanol, l'acide isovalérique et l'acide isobutyrique se trouvent dans la phase 1 ou intermédiaire en quantités faibles ( $< 10$  ng ;  $< 1\%$ ).

Les compositions des odeurs de cœur du palmier dattier au J1 et J2 (première phase), avec le maximum de composants aux niveaux qualitatif et quantitatif, ont été respectivement choisies pour préparer les mélanges synthétiques MJ1 et MJ2 et vérifier leurs effets phérosynergiques sur le terrain.



**Figure 17** : Evolution quantitative (en %) des composés des différentes familles chimiques au cours de la fermentation du cœur de palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L., d'après les échantillonnages SPME effectués en 2000.

D'après les chromatogrammes d'extraits obtenus en 2002, le nombre de composés volatils dans le cœur frais du palmier dattier a diminué jusqu'au 7<sup>e</sup> jour et ensuite a augmenté au fur et au mesure jusqu'à la fin de l'essai. Ce sont surtout des produits moins volatils avec un temps de rétention > 11,5 minutes qui sont apparus après le 7<sup>e</sup> jour. Le cœur congelé du palmier dattier a présenté à peu près la même évolution qualitative au cours du temps mais avec une homogénéité plus importante que dans le cœur frais du palmier dattier. Environ 60 pics ont été intégrés sur les chromatogrammes pour le cœur frais ou congelé du dattier [sans compter les pics contenus dans le solvant (6 pics)] dont 34 ont été communs.

## 2. Etude morphofonctionnelle de l'antenne du charançon rouge des palmiers, *R. ferrugineus*, par microscopie électronique à balayage et électroantennographie

### 2.1. Introduction

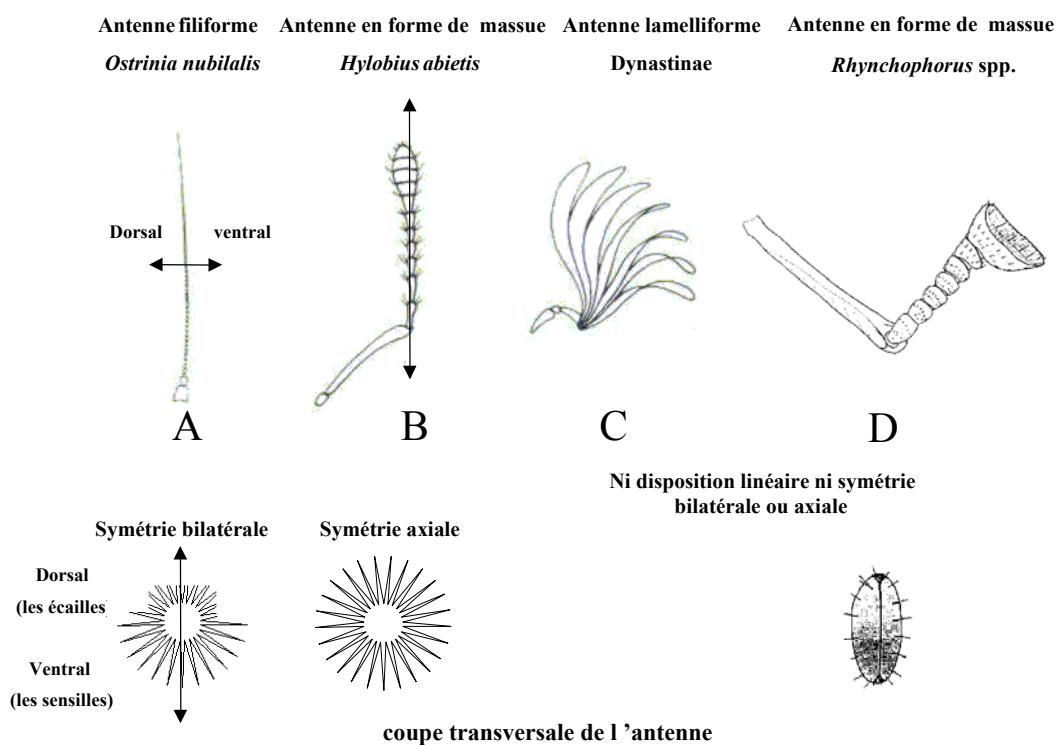
La technique de l'électroantennographie (EAG) a été largement utilisée pour étudier l'activité biologique des produits sémiochimiques, soit phéromonaux soit végétaux, au niveau du système nerveux périphérique (SNP) de l'antenne des insectes où on trouve généralement les sensilles olfactives. Le couplage chromatographie en phase gazeuse - électroantennographie ou (CPG-EAG) est considéré comme un outil performant et facile à mettre en œuvre pour cribler rapidement des composants biologiquement actifs d'un mélange complexe au niveau du SNP. Nous avons donc utilisé cette technique dans le cadre de cette thèse pour cribler des composés d'effluves de cœur de dattier en fermentation (isolés par collectes d'effluves) actifs au niveau du SNP antennaire.

Au préalable, nous avons déterminé les paramètres optimaux d'enregistrement d'EAG à partir de l'antenne de *R. ferrugineus* en prenant en compte la morphologie particulière des antennes des insectes de la famille des Rhynchophoridae.

#### 2.1.1. Morphologie de l'antenne et réponse EAG

Le branchement de l'électrode d'enregistrement à l'extrémité d'une antenne linéaire, comme les antennes filiformes des lépidoptères, permet d'enregistrer la 'somme' des réponses des sensilles réparties 'en série' sur la longueur de l'antenne. Il est démontré que l'amplitude de la phase initiale et rapide de l'EAG est approximativement proportionnelle à la longueur de l'antenne branchée chez *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Nagai, 1981) et *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (White, 1991). Les sensilles trichoïdes sont principalement localisées sur la face ventrale de l'antenne de *O. nubilalis* où il n'y a pas d'écailles. Les amplitudes des réponses EAG sont plus importantes lorsque la face ventrale est exposée au flux d'air odorisé chez cette espèce (Nagai *et al.*, 1977). Chez *O. surinamensis*, les sensilles olfactives sont localisées sur les trois segments de la massue où le positionnement de l'électrode d'enregistrement abouti aux amplitudes EAG plus grandes que sur les autres segments antennaires (White, 1991).

Le charançon du pin, *Hylobius abietis*, possède une antenne à disposition linéaire et à symétrie axiale où les différents types morphologiques et/ou fonctionnels de sensilles sont répartis en anneaux distincts : les sensilles trichoïdes, plus spécialisées dans la réponse aux phéromones des Scolytes, sont ainsi séparées des sensilles basiconiques, plus spécialisées aux odeurs végétales (Mustaparta, 1975). Mais la symétrie axiale et la disposition linéaire des sensilles sur l'antenne ont disparu chez certains groupes d'insectes comme chez les Scarabaeidae aux antennes lamelliformes et les *Rhynchophoridae* avec une antenne à massue comprimée, où les sensilles olfactives sont densément regroupées sur des surfaces plus ou moins planes. Les différents types de répartition des sensilles sur les antennes des insectes sont illustrés sur la Figure 18.



**Figure 18** : Différents types morphologiques d'antennes d'insectes et de répartition des sensilles : **A** : antenne filiforme de Lépidoptères ; ex. *Ostrinia nubilalis* (répartition linéaire des sensilles sur la longueur de l'antenne avec symétrie bilatérale dorso-ventrale) ; **B** : antenne en massue de Curculionidae ; ex. *Hylobius abietis* (répartition linéaire avec symétrie axiale) ; **C** : antenne lamelliforme de Scarabaeidae ; ex. *Melolontha* sp. (sans disposition linéaire ni symétrie) ; **D** : antenne en massue de Curculionidae Rhynchophorinae ; ex. *Rhynchophorus palmarum* (sans disposition linéaire et pseudo symétrie bilatérale).

### 2.1.2. Morphologie de l'antenne des rhynchophores

L'antenne des charançons de la famille des Rhynchophoridae comporte six articles funiculaires ; la massue est constituée par le septième segment funiculaire qui est élargi et dans lequel la vraie massue est comprimée. La base de la massue est lisse et glabre comme les segments funiculaires alors que sa partie apicale est couverte de soies dressées réunies en un 'tapis' très dense lui donnant une apparence veloutée (Thompson, 1992) ; elle se présente fréquemment sous la forme de deux faces planes se rejoignant selon un angle aigu. Il n'y a pas de suture sur la massue.

Le scape n'est pas tout à fait placé dans le scrobe quand il est rétracté (Thompson, 1992). Le premier segment funiculaire avec une petite base triangulaire, fixé dans la cavité large de l'extrémité distale du scape, est parfois nommé pédicelle. Les six segments après le pédicelle sont considérés comme le flagelle dont les cinq segments situés après le pédicelle sont les segments funiculaires et le 6<sup>e</sup> segment flagellaire est la massue (Salama & Abdel Aziz, 2001).

### 2.1.3. Morphologie de l'antenne de *R. ferrugineus*

La morphologie des antennes des charançons du genre *Rhynchophorus* est à peu près identique. Chez *R. ferrugineus*, l'antenne se lève latéralement au scrobe à la base du rostre. Le scrobe est profond et largement ouvert à la face ventrale. Le scape est allongé, plus long que l'ensemble du funicule et de la massue, ou égal à la moitié de la longueur du rostre. Le funicule possède six segments dont le premier est aussi long que l'ensemble des deux suivants. Les 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> segments sont courts, subégaux, et quasiment ronds. Les 4<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> segments sont légèrement plus larges que le 2<sup>e</sup> ou le 3<sup>e</sup> mais moins larges que le 6<sup>e</sup> segment. Le 6<sup>e</sup> segment est à peu près triangulaire. Il y a respectivement 1, 2 et 2 soies sur les 3<sup>e</sup>, 4<sup>e</sup> et 6<sup>e</sup> segments. La massue est large, triangulaire avec plusieurs soies sur les faces dorsale et ventrale. Il y a 8 à 15 soies sur le bord intérieur de la zone veloutée. La massue est plus large que celle de l'antenne de *R. palmarum* et elle n'est pas pointue à la face ventrale comme chez *R. palmarum*, mais tronquée (Wattanapongsiri, 1966).

### 2.1.4. Equipement sensoriel de l'antenne des *Rhynchophorus* spp.

La distribution générale des différents types de sensilles chez *R. ferrugineus* a été étudiée à l'aide de la microscopie électronique à balayage (MEB) sur les antennes, les pièces buccales, les tarse et l'ovipositeur de l'adulte (Salama & Abdel Aziz, 2001). Aucune infor-



mation sur la régionalisation éventuelle de la massue antennaire n'est donnée par ces auteurs, qui ont distingué plusieurs types de sensilles sur l'ensemble de l'antenne :

- 1) Des sensilles basiconiques à multiples pores sur le pédicelle et le funicule ;
- 2) des sensilles trichoïdes de type I, époutées et courbées et mesurant 94  $\mu\text{m}$  de longueur en moyenne, sur le sommet de la massue ;
- 3) des sensilles trichoïdes de type II, le type le plus abondant, sillonnées sur la longueur, effilées et légèrement courbées, à l'extrémité pointue et distinctement crochues mesurant 50-70  $\mu\text{m}$  de longueur ;
- 4) des sensilles basiconiques de type I, répandues partout sur la massue et sur l'une des deux faces de chaque segment funiculaire et mesurant 30-60  $\mu\text{m}$  de longueur ;
- 5) des sensilles basiconiques de type II sur les deux faces du scape et mesurant 20-40  $\mu\text{m}$  de longueur ;
- 6) des sensilles basiconiques de type III droites et sillonnées sur la position dorsale du pédicelle et avec des stries longitudinales qui sont dans la ligne des pores ;
- 7) des sensilles styloconiques qui sont localisées au milieu du scape et qui mesurent entre 36 et 57  $\mu\text{m}$  de longueur.

Chez *R. palmarum*, la structure et la fonction des sensilles concentrées sur la massue ont été étudiées à l'aide du MEB, de la microscopie électronique à transmission (MET) et de l'enregistrement unitaire (Saïd, 2003 ; Saïd *et al.*, 2003). Les observations microscopiques ont montré la présence de cinq types de soie, dont la base est entourée par un anneau de cuticule orné. Ces cinq types ont été caractérisés comme suit :

- 1) Des sensilles cœloconiques les plus longues (250  $\mu\text{m}$ ) et les moins abondantes (20 par antenne) et distribuées sur le pourtour des surfaces sensorielles planes de la massue ;
- 2) des sensilles à pore apical, cannelées, striées, épaisses, mesurant 44  $\mu\text{m}$  de longueur et sont relativement nombreuses (14.000 par antenne) ;
- 3) des soies bifides cannelées longitudinalement, légèrement recourbées, crochues à l'apex, les plus abondantes sur la massue (24.800 par antenne), de 27  $\mu\text{m}$  de longueur ;
- 4) des sensilles basiconiques courtes, avec une cuticule lisse, à une densité de 7.360 par antenne, avec un diamètre uniforme de 1,5  $\mu\text{m}$  et présentant 3 sous-types selon leur longueur ;
- 5) des sensilles trichoïdes effilées à l'extrémité, avec une cuticule lisse, à une densité de 11.190 par antenne et qui mesurent 20  $\mu\text{m}$  de longueur.

Les observations à l'aide de MET ont mis en évidence que les sensilles cœloconiques sont des mécanorécepteurs, les sensilles à pore apical sont des sensilles gustatives tandis que

les sensilles basiconiques et trichoïdes sont des sensilles olfactives. Les soies bifides n'ont aucune innervation ou fonction sensorielle et pourraient avoir une fonction protectrice pour les sensilles olfactives plus courtes.

Au contraire des lépidoptères ou de la plupart des charançons, l'antenne des rhynchophores n'est donc pas assimilable à un segment linéaire et les sensilles sont regroupées à une très forte densité sur deux surfaces de la massue globalement orientées perpendiculairement à l'axe du reste de l'antenne selon une disposition 'en parallèle', pour reprendre l'image d'un montage électrique (et non son fonctionnement). Nous avons donc décidé d'étudier s'il y avait une distribution homogène des différents types morphologiques des sensilles sur la massue et un effet de la position de branchement de l'électrode d'enregistrement sur l'amplitude de la réponse EAG à différents produits.

Nous avons utilisé la MEB pour étudier l'homogénéité de la distribution des différents types de sensilles chez les insectes de deux sexes. Un criblage préliminaire a été effectué par EAG en utilisant plusieurs molécules phéromonales ou végétales. Dans une deuxième étape, l'effet de la position de l'électrode d'enregistrement sur la réponse antennaire à une sélection de molécules choisies à partir du premier criblage a été étudié.

## **2.2. Matériels et Méthodes**

### **2.2.1. Matériel vivant**

Les adultes de *R. ferrugineus* ont été collectés manuellement dans des palmiers dattiers infestés ou ont été capturés par des pièges appâtés avec le ferruginéol et un morceau du cœur du dattier dans la région de Saravan (Province de Sistan & Baloutchistan, Iran). Les mâles et les femelles ont été gardés dans les boîtes plastiques séparées au laboratoire en conditions tropicales (23-28°C ; H.R. : 75-90% ; J13 : N11). Les insectes ont été nourris avec des tiges de canne à sucre. Les antennes ont été utilisées soit pour la microscopie électronique soit pour l'électroantennographie.

### **2.2.2. Etude des principaux types de structures cuticulaires de la massue de l'antenne de *R. ferrugineus* et de leur répartition par MEB**

#### ***2.2.2.1. Estimation de la surface de la zone sensorielle de la massue***

La surface de cette zone (veloutée) a été calculée après prises de vue à l'aide d'une caméra numérique (trois antennes pour chaque face et chaque sexe ; n = 12) à l'aide du logiciel Adobe photoshop 6.0 en étalonnant le nombre de pixels des images avec le nombre de

ceux qui correspondent à 1 mm<sup>2</sup>.

### **2.2.2.2. Préparation des antennes**

La répartition des structures sensorielles sur la massue de l'antenne de *R. ferrugineus* a été étudiée par MEB. Quatre antennes de chaque sexe ont été prélevées. La fixation des antennes a été effectuée dans le paraformaldéhyde. Les antennes fixées ont été conservées dans le réfrigérateur pendant une nuit. Elles ont été rincées dans le tampon phosphate et mises ensuite dans un bain d'éther pendant 15 mn suivi d'un séchage à l'air. Les antennes ont été lavées dans un bain d'eau plus détergent (20%) pendant 1,5 h et passées aux ultra-sons pendant 1 mn pour les débarrasser au maximum des particules et de la pellicule collante qui les maculaient le plus souvent. Ensuite, elles ont été rincées dans l'eau 3 fois pendant 5 mn. La déshydratation a été réalisée dans des bains d'alcools à 30°, 50°, 70° (10 mn chacun), 90° (2 fois pendant 10 mn) et 100° (2 fois pendant 15 mn) avant le montage des antennes sur les plots. La métallisation à l'or a été effectuée pendant 2 mn avec une rotation des plots.

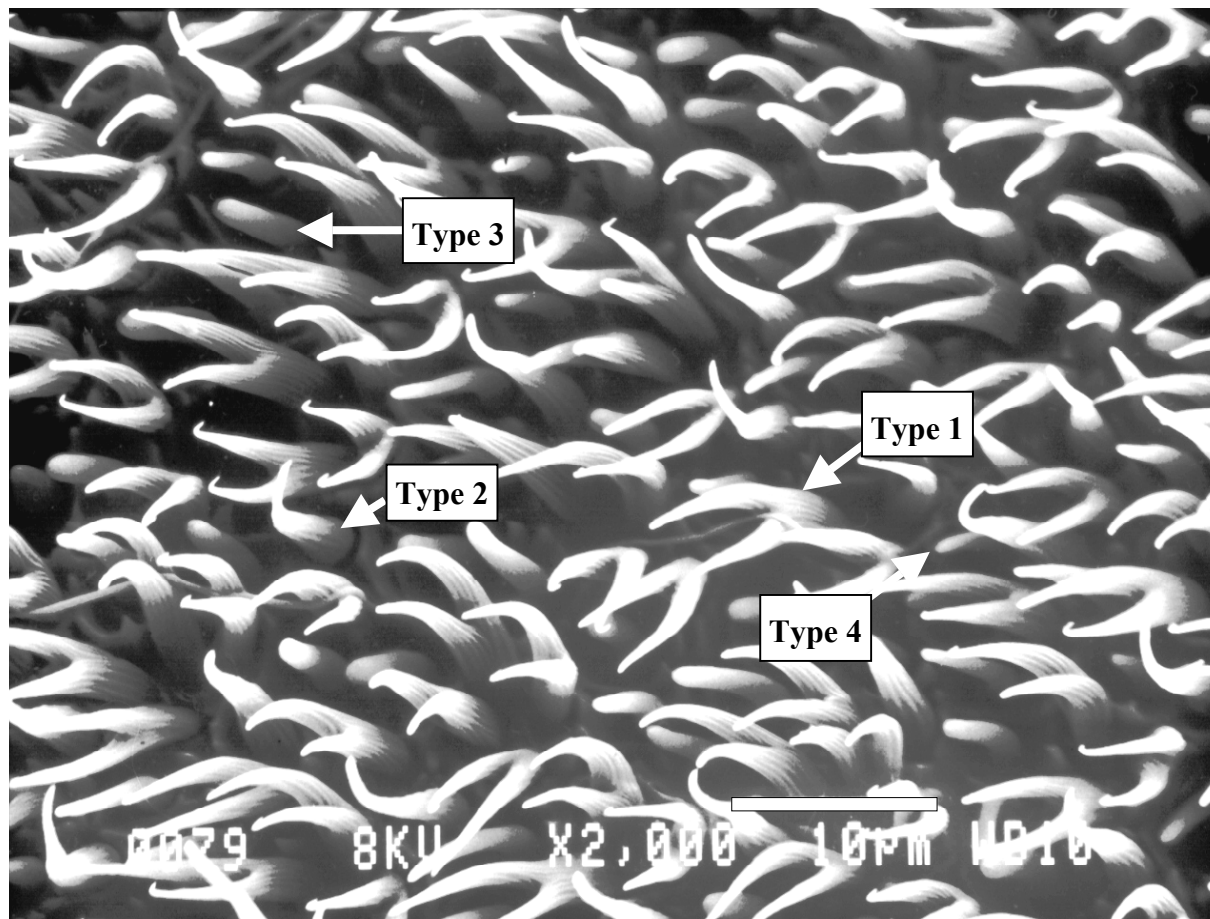
### **2.2.2.3. Estimation de la densité des soies sur la massue**

Un microscope électronique à balayage JeolISM840 a été utilisé. L'aspect général de l'antenne et la répartition des différentes structures ont été observés et des vues d'ensemble de la massue ont été prises.

Soixante-douze clichés ont été réalisés avec un grandissement de  $\times 2.000$ , ce qui nous permettait de visualiser les structures cuticulaires présentes sur une surface de  $\approx 2.800 \mu\text{m}^2$  de massue antennaire. Trois clichés (correspondant à trois portions distinctes) ont été pris pour chaque position (dorsale, centrale et ventrale) de chaque face (externe, interne) de l'antenne de chaque sexe (deux antennes pour chaque sexe et chaque face). Les différents types morphologiques de structures cuticulaires ont été comptés sur les clichés de bonne qualité obtenus (63 clichés ; un cliché est présenté sur la Figure 19).

La densité de chaque type de soies observé aux six emplacements de la massue a été étudiée à l'aide d'une analyse de variance (modèle linéaire généralisé) à 4 facteurs hiérarchisés [sexe, face, position, et bloc (antenne) : une antenne observée correspond à un sexe et une face fixés], suivie du test de comparaison multiples de moyennes (tests de Tukey au seuil de 5%).

La densité des soies de la face externe de l'une des antennes mâles a été manifestement sous-estimée par comparaison avec les données obtenues à partir de l'autre antenne mâle à cause de la mauvaise qualité des 9 clichés correspondants. Les valeurs obtenues à partir de ces mauvais clichés n'ont pas été utilisées pour l'analyse des résultats.



**Figure 19** : Cliché obtenu par microscopie électronique à balayage ( $\times 2.000$  ;  $2.850 \mu\text{m}^2$ ) montrant les différents types morphologiques de soies présentes sur la surface sensorielle de la massue antennaire de *Rhynchophorus ferrugineus*.

### 2.2.3. Efficacité de l'EAG pour cribler des produits actifs au niveau SNP

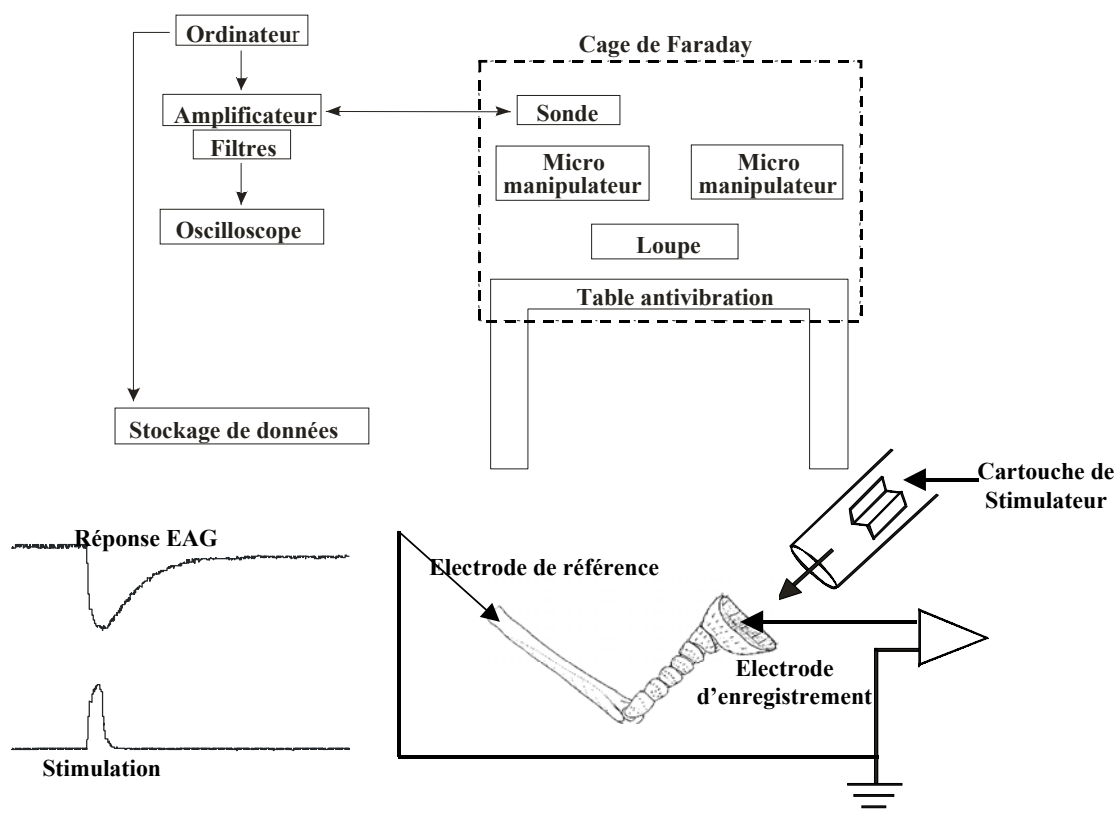
Nous avons utilisé des solutions dans l'hexane ( $10 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) de 27 molécules : composés phéromonaux et molécules de différentes familles chimiques issues de plantes-hôtes des *Rhynchophorus* spp. et choisies à partir des données bibliographiques (Tableau 8). Un micro-litre de solution a été déposé sur un morceau de papier filtre ( $2 \times 1 \text{ cm}$ ) et le papier filtre chargé de solution a été introduit dans une Pipette Pasteur. Le stimulus olfactif est délivré en faisant passer une bouffée d'air ( $0,5 \text{ s}$ ) émise avec un débit de  $\approx 0,3 \text{ l/mn}$  au travers de la pipette. Un courant d'air permanent ( $\approx 0,6 \text{ l/mn}$ ) a été envoyé vers l'antenne. L'air envoyé

vers l'antenne a été filtré sur charbon actif et humidifié dans un bulleur.

**Tableau 8** : Liste des produits utilisés pour les tests électroantennographiques avec leur origine et leur degré de pureté.

| <b>Famille chimique</b>         | <b>Produit</b>               | <b>Référence</b>               | <b>Pureté</b>                        |
|---------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| <b>Phéromones</b>               | Ferruginéol                  | EGNO-Chimie                    | Non déterminée                       |
|                                 | Phoenicol                    | EGNO-Chimie                    | Non déterminée                       |
|                                 | Rhynchophorol                | EGNO-Chimie                    | Non déterminée                       |
| <b>Alcools</b>                  | Ethanol                      | sds                            | 95-96% HPLC                          |
|                                 | Butanol                      | Merck                          | > 99,5%                              |
|                                 | Pentanol                     | Sigma                          | ≈ 99%                                |
|                                 | Hexanol                      | Aldrich                        | 98%                                  |
| <b>Esters</b>                   | Acétate d'éthyle             | Merck                          | Pour l'analyse des traces organiques |
|                                 | Propionate d'éthyle          | Aldrich                        | 99%                                  |
|                                 | Butyrate d'éthyle            | Aldrich                        | 99%                                  |
|                                 | Valérate d'éthyle            | Aldrich Chemical Company, Inc. | 99%                                  |
|                                 | Caprylate d'éthyle           | Aldrich Chemical Company, Inc. | > 99%                                |
|                                 | Acétate de propyle           | Aldrich-Chemie                 | 99%                                  |
|                                 | Acétate d'isomyle            | Aldrich                        | 98%                                  |
|                                 | Tiglate d'éthyle             | Lancaster                      | 98%                                  |
| (S)-(-)-Lactate d'éthyle        | Aldrich-Chemie               | ≈ 98%                          |                                      |
| <b>Acides</b>                   | Acide acétique               | Prolabo                        | Pur cristallisable                   |
|                                 | <i>n</i> -Acide butyrique    | Acrös Organics                 | > 99%                                |
|                                 | Acide octanoïque             | Aldrich Chemical Company, Ltd  | > 99,5%                              |
| <b>Aromatiques ou cycliques</b> | Phénol                       | Analar                         | Non déterminée                       |
|                                 | Guaïacol                     | Sigma                          | Non déterminée                       |
|                                 | 2-Phényléthanol              | Aldrich                        | 99%                                  |
| <b>Terpènes</b>                 | Limonène                     | Prolabo                        | Non déterminée                       |
|                                 | (±)-Linalool                 | Fluka                          | 97%                                  |
|                                 | (+)- $\alpha$ -pinène        | AEG-Chemie KG                  | ≈ 95%                                |
| <b>Lactones</b>                 | Acetoïne                     | Fluka                          | > 97%                                |
|                                 | $\gamma$ -Nonanoïque lactone | Aldrich Chemical Company       | 97%                                  |
| <b>Solvant</b>                  | <i>n</i> -Hexane             | Merck                          | Pour l'analyse des traces organiques |

Le signal électrique antennaire a été recueilli par des électrodes de verre remplies d'une solution électrolytique, le liquide de Roeder. Les EAG ont été enregistrés à partir d'antennes isolées. La massue de l'antenne portant les sensilles a été directement exposée à la stimulation. L'extrémité de la cartouche de stimulation a été située à  $\approx 1$  cm de la massue. L'électrode de référence a été positionnée à la base dans la lumière du scape et celle de l'enregistrement a été amenée au contact avec une face de la massue. Les appareils permettant les enregistrements et le principe de l'EAG sont illustrés sur la Figure 20.



**Figure 20** : Schéma illustrant le principe de l'enregistrement électroantennographique (EAG) à partir d'une antenne de *Rhynchophorus ferrugineus*.

Afin de prévenir tout risque d'adaptation des récepteurs olfactifs de l'antenne, un délai minimum de 1 mn sépare deux stimulations consécutives. Lors des tests de séries de composés, ceux-ci sont testés dans un ordre aléatoire. L'antenne a été stimulée régulièrement au cours de chaque série par une cartouche témoin contenant un papier filtre sur lequel avait été déposé 1  $\mu$ l d'hexane ou une cartouche vide pour passer une bouffée d'air vers l'antenne.

Des réponses importantes à certaines stimulations témoins ont permis de mettre en évidence des pollutions du système de stimulation dues à l'adsorption d'odeurs sur le tuyau plastique connecté à la pipette Pasteur de stimulation. Nous y avons remédié en ajoutant un

manchon PTFE entre la pipette Pasteur et le flexible qui assurait la connexion avec le stimulateur. Les séries concernées ont été éliminées des analyses.

La stimulation de l'antenne par le ferruginéol a été réalisée au minimum 2 fois (début et fin de série) pour vérifier la vitalité de l'antenne. L'expérience a porté sur 4 antennes de chaque sexe. Les amplitudes brutes des réponses EAG (en mV) ont été normalisées en moyenne de la série afin d'éliminer les différences de sensibilité absolue entre individus :

$$\mathbf{EAG}_n = \mathbf{EAG}_{abs} / \mathbf{m}_{série}$$

où :

$\mathbf{EAG}_n$  = EAG normalisé pour un produit

$\mathbf{EAG}_{abs}$  = amplitude de l'EAG pour un produit (mV)

$\mathbf{m}_{série}$  = moyenne des amplitudes des EAG (mV) à tous les produits enregistrées sur une même antenne

Les données normalisées ont été comparées à l'aide d'une analyse de variance (modèle linéaire généralisé) à trois facteurs hiérarchisés [produit, sexe et antenne (= bloc) emboîté dans sexe] après transformation par  $\ln(x + 1)$  suivie de tests de comparaison à un témoin (réponse à l'hexane ; tests de Bonferroni au seuil de 5%; logiciel Minitab v. 12).

#### **2.2.4. Etude de la réponse EAG de l'effet de la position de l'électrode sur la massue**

Six des produits criblés à l'essai précédent et donnant des EAG d'amplitudes significativement supérieures à celles déclenchées par le solvant : le ferruginéol et le phoenicol (phéromones), l'hexanol, le propionate d'éthyle, le tiglate d'éthyle, le lactate d'éthyle, le guaiacol (produit aromatique) et le linalool (monoterpène) ont été choisis pour effectuer cette expérience. Outre leur bonne détection par l'antenne de *R. ferrugineus* montrée à l'étape précédente, les molécules ont été choisies pour représenter un panel restreint mais significatif de structures chimiques variées et de significations biologiques potentiellement larges. Les mêmes solutions que précédemment (10 µg/µl d'hexane) ont été utilisées et l'antenne a été stimulée avec 1 µl d'hexane comme témoin. Les stimulations ont été déclenchées 1 mn après le dépôt de 1 µl de solution sur le papier filtre. La préparation des antennes et les dispositifs de stimulation et d'enregistrement ont été identiques à ce qui est décrit au § 2.2.3.

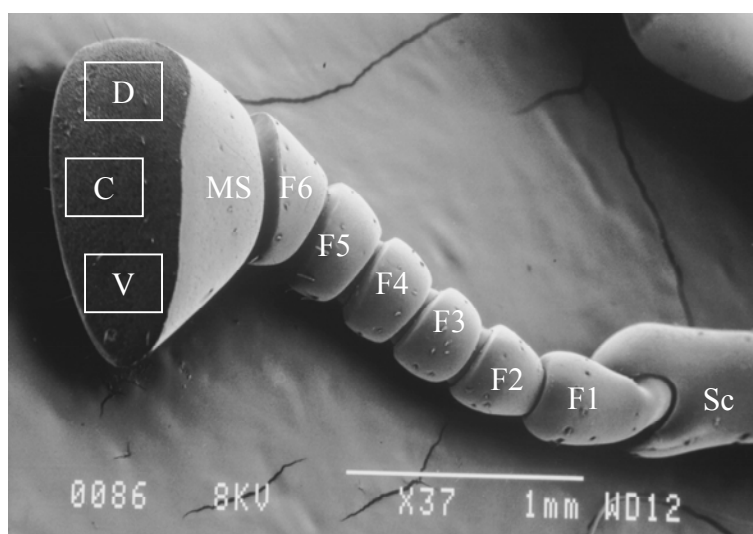
Sur une antenne donnée, nous ne travaillions que sur une face de la massue (externe ou interne). L'électrode d'enregistrement y a été piquée en positions dorsale, centrale ou ventrale (Figure 21) dans un ordre aléatoire au cours de chaque test. Les stimulations par les produits

ont été effectuées dans le même ordre sur toutes les positions. La stimulation de l'antenne par le ferruginéol a été réalisée 2 fois (pour chaque position, au début et à la fin de la série de produits). L'antenne a été stimulée par une bouffée d'air après chaque stimulation par des produits.

L'expérience a porté sur huit antennes de chaque sexe (quatre antennes pour chaque face de la massue). Les amplitudes de l'EAG (en mV) ont été comparées à l'aide d'une analyse de variance (modèle linéaire généralisé) à six facteurs hiérarchisés [produit, sexe, face, position, ordre de branchement de l'électrode de l'enregistrement sur les positions différentes et bloc (antenne) emboîté dans 'sexe' et 'face de la massue'] après transformation par  $\text{Ln}(x+1)$  suivie des comparaisons des moyennes deux à deux (tests de Tukey au seuil de 5%).

## 2.3. Résultats et Discussion

### 2.3.1. Résultats de l'étude par MEB : Soies cuticulaires observées sur l'antenne de *R. ferrugineus*



**Figure 21** : Face interne de l'antenne de *Rhynchophorus ferrugineus* : **Sc** : Scape ; **F1 – F6** : segments funiculaires ; **Ms** : Massue ; **D, C et V** : Positions dorsale, centrale et ventrale de la surface de la massue retenues pour la prise des clichés par MEB et positionnement de l'électrode d'enregistrement des EAG.

L'antenne de *R. ferrugineus* est illustrée à la Figure 21. La surface de la partie apicale de la massue ( $0,88 \pm 0,07 \text{ mm}^2$  pour chaque face) est couverte par les structures cuticulaires fines avec une densité équivalente de  $48.000 \pm 6.000/\text{mm}^2$  (moyenne  $\pm$  écart-type) soit environ 169.000 par insecte) qui forment un tapis et lui donnent un aspect velouté. La densité des



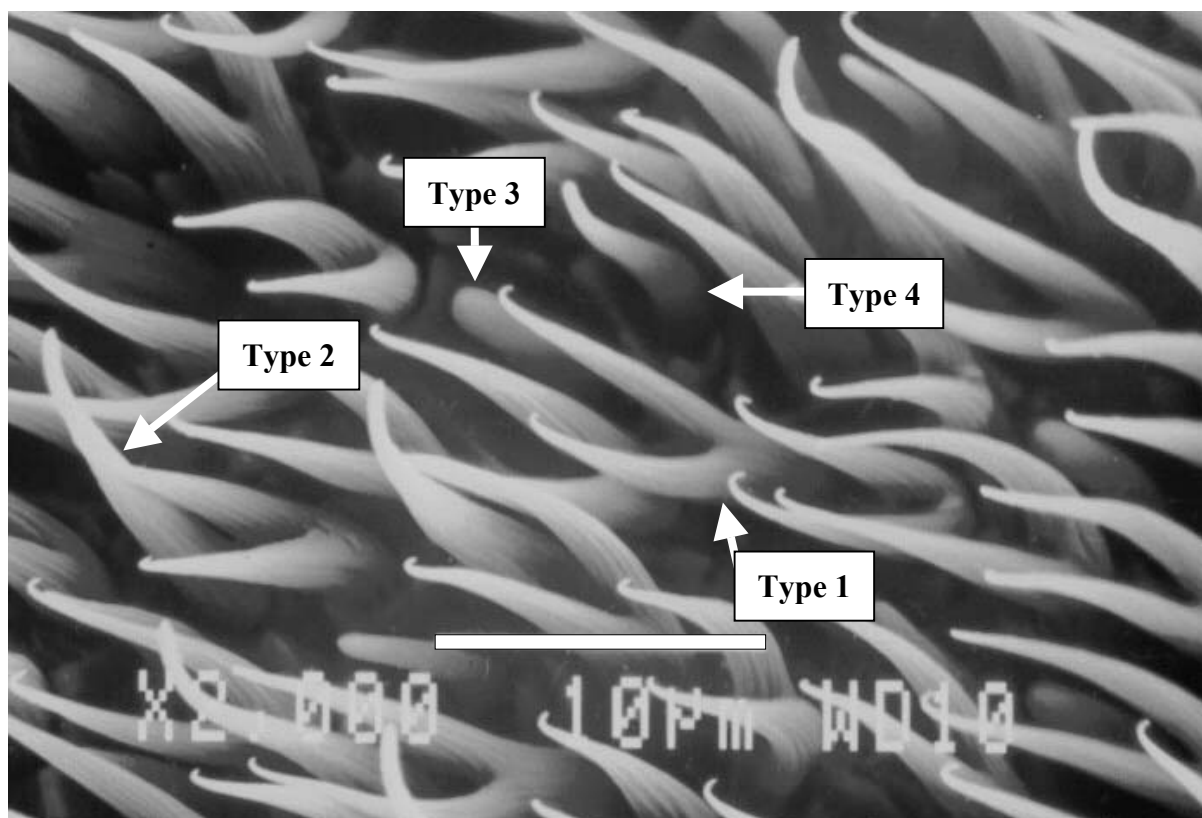
soies chez les femelles et les mâles est respectivement équivalente de  $46.000 \pm 4.000$  et  $50.000 \pm 4.000/\text{mm}^2$ .

### 2.3.1.1. Types de soies

Quatre types principaux de structures cuticulaires, de type 'soie', ont été observés :

Type 1 : C'est le plus abondant avec une densité de  $29.000 \pm 3.000/\text{mm}^2$ . Il s'agit de soies bifides avec une surface striée (longueur :  $\approx 16,2 \mu\text{m}$  ;  $\varnothing$  :  $\approx 3,8 \mu\text{m}$  (à la base)). Chaque branche s'amincit vers l'extrémité et, sur certains clichés en fonction de l'angle de prise de vue, leur extrémité apparaît recourbée comme un crochet (Figures 19 et 22).

Type 2 : il consiste en une soie simple (non fourchue), avec une surface striée, globuleuse à la base et se rétrécissant subitement, et pourvue d'une extrémité longue paraissant droite ou courte et crochue (Figures 19 et 22) selon les clichés. Il est plausible que cette différence ne soit qu'apparente et liée à l'angle d'observation comme pour le type 1. La densité de ces soies est de  $5.000 \pm 2.000/\text{mm}^2$ . Elles sont plus grandes que des soies bifides de type 1.



**Figure 22** : Structures cuticulaires de différents types sur la surface de la massue antennaire de *Rhynchophorus ferrugineus*.

Type 3 : il consiste en une soie simple, lisse, cylindroconique (longueur :  $\geq 10,5 \mu\text{m}$  ;  $\emptyset : \approx 2,8 \mu\text{m}$ ) et avec une densité de  $9.000 \pm 3.000$  par  $\text{mm}^2$  (Figures 19 et 22).

Type 4 : Ce sont des soies similaires à celles de type 3 mais moins épaisses ( $\emptyset : \approx 0,8 \mu\text{m}$ ) ; elles sont présentes à une densité de  $5.000 \pm 1.000/\text{mm}^2$  (Figures 19 et 22).

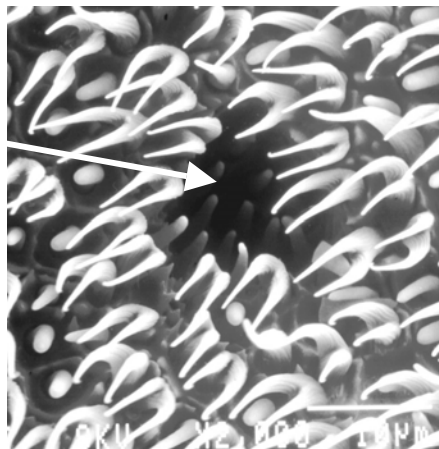
Les différents types de structures cuticulaires observées sur la massue de l'antenne de *R. ferrugineus* ont des aspects morphologiques tout à fait semblables à ceux décrits chez *R. palmarum* par Saïd *et al.* (2003). Les soies de type 1 sont équivalentes aux soies bifides sans pore cuticulaire ni innervation. Le type 2 correspond aux sensilles à pore apical. Chez *R. palmarum*, ces sensilles sont à paroi épaisse et contiennent généralement quatre dendrites entourées ou non par une gaine. Ce sont des chimiorécepteurs gustatifs comme Saïd l'a mis en évidence par enregistrement unitaire en coiffant leur extrémité d'une électrode contenant une solution de saccharose. Les soies des 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> types ressemblent respectivement aux sensilles olfactives basiconiques et trichoïdes décrites de la massue de *R. palmarum*. Les sensilles basiconiques de *R. palmarum* ont une paroi mince et montrent plusieurs pores olfactifs et des dendrites branchées. Les sensilles trichoïdes de cette espèce possèdent une cuticule peu ornée, épaisse et poreuse (moins que celle des sensilles basiconiques), des dendrites non ramifiées et une à quatre cellules (Saïd *et al.*, 2003). Les soies du type 1 pourraient jouer un rôle protecteur des sensilles contre les particules collantes qui maculent l'antenne quand les insectes pénètrent les tissus de palmiers. La longueur plus importante des soies du type 1 en comparaison avec celles des sensilles olfactives est en accord avec cette hypothèse. A part les types susmentionnés, d'autres types, peu abondants, ont été observés sur l'antenne de *R. ferrugineus* :

1) des structures cuticulaires cylindriques de type basiconique groupées dans de petites cavités qui se trouvent disposées sur une ligne parallèle au bord des deux surfaces sensorielles de la massue et également dispersées sur la massue (Figure 23) ;

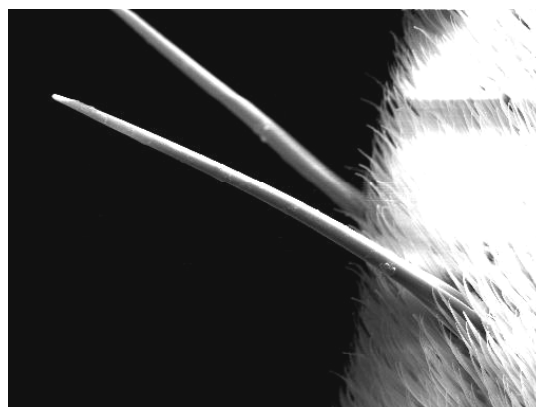
2) des soies similaires au type 2 mais beaucoup plus grosses avec une extrémité courte et crochue (diamètre à la base :  $\approx 6,3 \mu\text{m}$  ; longueur :  $\approx 15 \mu\text{m}$ ). Elles existent en nombre très faible, rangées sur la bordure de la massue à la limite entre les deux faces ;

3) des soies nettement plus grandes que les autres (longueur :  $> 60 \mu\text{m}$  ; largeur à la base :  $\approx 10,5 \mu\text{m}$ ), fortement striées à la base, en nombre faible et rangées sur la périphérie de chaque face de l'antenne (Figure 24). Ces structures sont manifestement équivalentes aux sensilles chaetiques décrites chez *R. palmarum* (même morphologie et localisation mais présentées comme des sensilles cœloconiques par Saïd en 2003). Ces soies sont considérées

comme des mécanorécepteurs chez *R. palmarum* d'après leur morphologie externe et l'absence de pores (Saïd *et al.*, 2003).



**Figure 23** : Groupement de structures cuticulaires cylindriques de type basiconique dans les petites cavités sur la surface de la massue antennaire de *Rhynchophorus ferrugineus*.



**Figure 24** : Sensilles chaetiques sur la périphérie de chaque face de la massue de l'antenne de *Rhynchophorus ferrugineus*.

La densité des différents types de soies sur les différentes positions de la massue antennaire de deux sexes, d'après les comptages effectués, et les résultats des analyses statistiques réalisées sont respectivement présentés dans les Tableaux 9 et 10.

### **2.3.1.2. Dimorphisme sexuel au niveau de la densité des soies**

L'analyse statistique a mis en évidence un dimorphisme sexuel au niveau de la densité des différents types de soies sur la massue de l'antenne. La densité des soies de type 3 est plus élevée chez les femelles que chez les mâles [ $F(1,49) = 6,25$  ;  $P = 0,016$ ] mais au contraire, la densité des soies de type 1 est moins élevée chez les femelles que chez les mâles [ $F(1,49) = 50,33$  ;  $P < 0,001$ ]. Il n'y a pas de différence significative entre les densités de soies de types 2 et 4 entre les deux sexes.

### **2.3.1.3. Répartition des soies sur la surface de la massue**

Les soies de type 2 sont réparties de façon homogène sur la massue de l'antenne. Mais les soies de types 1, 3 et 4 ont une distribution hétérogène entre les faces (interne, externe) de la massue et/ou la position sur les faces (dorsale, centrale, ventrale).

Il y a plus de soies du type 3 sur la face interne que sur la face externe [ $F(1,49) = 8,11$  ;  $P = 0,006$ ] et c'est l'inverse pour les soies de type 1 [ $F(1,49) = 7,98$  ;  $P = 0,007$ ].

Il n'y a globalement pas de différence significative entre la densité des soies de type 4 sur les deux faces de la massue. Mais il y a significativement plus de soies de type 4 en position centrale qu'en positions dorsale et ventrale [ $F(2, 49) = 4,79$  ;  $P = 0,013$ ]. La même chose est observée pour les soies du type 3 mais seulement sur la face interne de la massue [ $F(2, 49) = 3,99$  ;  $P = 0,025$ ].

**Tableau 9** : Densité (millier par  $\text{mm}^2$  ; moyenne  $\pm$  écart-type) des différents types de soies sur les différentes zones de la massue antennaire de deux sexes de *Rhynchophorus ferrugineus*.

| Type de soies | Face    | Position | Femelle        | Mâle           | Moyenne        |
|---------------|---------|----------|----------------|----------------|----------------|
| 1             | Interne | Dorsale  | 26,7 $\pm$ 1,1 | 32,1 $\pm$ 1,6 | 29,4 $\pm$ 3,1 |
|               |         | Centrale | 25,3 $\pm$ 1,9 | 30,0 $\pm$ 2,8 | 27,6 $\pm$ 3,4 |
|               |         | Ventrale | 25,4 $\pm$ 1,3 | 30,5 $\pm$ 1,7 | 28,0 $\pm$ 3,1 |
|               |         | Moyenne  | 25,8 $\pm$ 1,6 | 30,9 $\pm$ 2,2 | 28,3 $\pm$ 3,2 |
|               | Externe | Dorsale  | 27,9 $\pm$ 2,5 | 32,9 $\pm$ 3,6 | 29,6 $\pm$ 3,7 |
|               |         | Centrale | 29,3 $\pm$ 1,9 | 33,9 $\pm$ 5,7 | 31,0 $\pm$ 4,1 |
|               |         | Ventrale | 27,7 $\pm$ 2,8 | 28,8 $\pm$ 0,8 | 28,0 $\pm$ 2,3 |
|               |         | Moyenne  | 28,2 $\pm$ 2,4 | 31,9 $\pm$ 4,1 | 29,5 $\pm$ 3,5 |
| 2             | Interne | Dorsale  | 5,4 $\pm$ 1,4  | 5,5 $\pm$ 1,8  | 5,4 $\pm$ 1,6  |
|               |         | Centrale | 6,1 $\pm$ 0,9  | 5,1 $\pm$ 2,5  | 5,6 $\pm$ 1,9  |
|               |         | Ventrale | 4,1 $\pm$ 0,4  | 5,3 $\pm$ 1,3  | 5,1 $\pm$ 0,9  |
|               |         | Moyenne  | 5,4 $\pm$ 1,1  | 5,3 $\pm$ 1,8  | 5,4 $\pm$ 1,5  |
|               | Externe | Dorsale  | 4,2 $\pm$ 1,7  | 5,4 $\pm$ 1,2  | 4,6 $\pm$ 1,6  |
|               |         | Centrale | 6,4 $\pm$ 1,5  | 4,5 $\pm$ 4,1  | 5,7 $\pm$ 2,7  |
|               |         | Ventrale | 5,1 $\pm$ 1,7  | 6,1 $\pm$ 4,1  | 5,4 $\pm$ 2,5  |
|               |         | Moyenne  | 5,2 $\pm$ 1,8  | 5,3 $\pm$ 3,1  | 5,2 $\pm$ 2,3  |
| 3             | Interne | Dorsale  | 8,1 $\pm$ 1,0  | 8,9 $\pm$ 2,8  | 8,5 $\pm$ 2,0  |
|               |         | Centrale | 11,6 $\pm$ 2,5 | 11,6 $\pm$ 2,9 | 11,6 $\pm$ 2,6 |
|               |         | Ventrale | 9,1 $\pm$ 2,3  | 7,7 $\pm$ 2,1  | 8,4 $\pm$ 2,3  |
|               |         | Moyenne  | 9,6 $\pm$ 2,5  | 9,4 $\pm$ 3,0  | 9,5 $\pm$ 2,7  |
|               | Externe | Dorsale  | 9,5 $\pm$ 3,2  | 6,1 $\pm$ 2,8  | 8,4 $\pm$ 3,4  |
|               |         | Centrale | 9,1 $\pm$ 2,9  | 5,7 $\pm$ 1,2  | 7,8 $\pm$ 2,9  |
|               |         | Ventrale | 9,2 $\pm$ 2,6  | 6,9 $\pm$ 1,2  | 8,4 $\pm$ 2,4  |
|               |         | Moyenne  | 9,3 $\pm$ 2,7  | 6,2 $\pm$ 1,7  | 8,2 $\pm$ 2,8  |
| 4             | Interne | Dorsale  | 4,6 $\pm$ 0,7  | 4,2 $\pm$ 1,8  | 4,4 $\pm$ 1,3  |
|               |         | Centrale | 4,7 $\pm$ 1,1  | 6,2 $\pm$ 1,7  | 5,5 $\pm$ 1,6  |
|               |         | Ventrale | 4,1 $\pm$ 1,4  | 5,4 $\pm$ 1,3  | 4,7 $\pm$ 1,4  |
|               |         | Moyenne  | 4,5 $\pm$ 1,1  | 5,3 $\pm$ 1,7  | 4,9 $\pm$ 1,5  |
|               | Externe | Dorsale  | 4,5 $\pm$ 1,4  | 3,7 $\pm$ 1,2  | 4,2 $\pm$ 1,3  |
|               |         | Centrale | 5,3 $\pm$ 2,3  | 5,6 $\pm$ 2,0  | 5,4 $\pm$ 2,0  |
|               |         | Ventrale | 3,9 $\pm$ 0,8  | 3,9 $\pm$ 0,5  | 3,9 $\pm$ 0,7  |
|               |         | Moyenne  | 4,5 $\pm$ 1,6  | 4,4 $\pm$ 1,5  | 4,5 $\pm$ 1,5  |

**Tableau 10** : Principaux éléments des analyses de variances réalisées sur la densités des différents types de soies sur les différentes zones de la massue de l'antenne chez *Rhynchophorus ferrugineus*.

| Type de soies | F1 : sexe                           | F2 : face                           | F3 : position                       | F4 : antenne (sexe face)            | F1 × F2                             | F1 × F3                             | F2 × F3                             |
|---------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 1             | F(1, 49) = 0,33<br><i>P</i> < 0,001 | F(1, 49) = 7,98<br><i>P</i> = 0,007 | F(2, 49) = 2,69<br><i>P</i> = 0,078 | F(3, 49) = 1,64<br><i>P</i> = 0,192 | F(1, 49) = 1,40<br><i>P</i> = 0,242 | F(2, 49) = 0,72<br><i>P</i> = 0,490 | F(2, 49) = 2,80<br><i>P</i> = 0,071 |
| 2             | F(1, 49) < 0,01<br><i>P</i> = 0,946 | F(1, 49) = 0,03<br><i>P</i> = 0,867 | F(2, 49) = 0,32<br><i>P</i> = 0,727 | F(3, 49) = 0,37<br><i>P</i> = 0,772 | F(1, 49) = 0,02<br><i>P</i> = 0,877 | F(2, 49) = 1,75<br><i>P</i> = 0,184 | F(2, 49) = 0,49<br><i>P</i> = 0,614 |
| 3             | F(1, 49) = 6,25<br><i>P</i> = 0,016 | F(1, 49) = 8,11<br><i>P</i> = 0,006 | F(2, 49) = 1,81<br><i>P</i> = 0,175 | F(3, 49) = 2,03<br><i>P</i> = 0,122 | F(1, 49) = 4,82<br><i>P</i> = 0,033 | F(2, 49) = 0,18<br><i>P</i> = 0,835 | F(2, 49) = 3,99<br><i>P</i> = 0,025 |
| 4             | F(1, 49) = 0,65<br><i>P</i> = 0,422 | F(1, 49) = 1,13<br><i>P</i> = 0,294 | F(2, 49) = 4,79<br><i>P</i> = 0,013 | F(3, 49) = 0,99<br><i>P</i> = 0,405 | F(1, 49) = 1,76<br><i>P</i> = 0,191 | F(2, 49) = 1,80<br><i>P</i> = 0,176 | F(2, 49) = 0,40<br><i>P</i> = 0,675 |

Les cases sont grisées s'il y a une différence significative entre les niveaux du facteur étudié.

### 2.3.2. Résultats de l'étude électroantennographique

#### 2.3.2.1. Efficacité de l'EAG pour cribler des produits actifs au niveau SNP

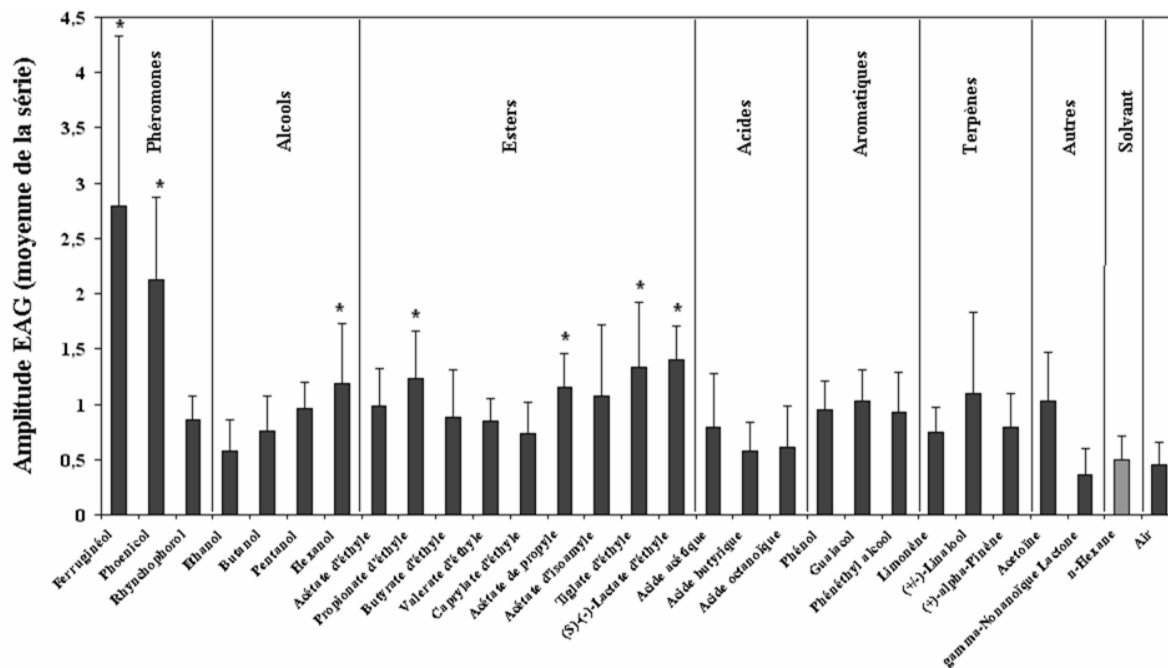
L'analyse des résultats montre que l'amplitude des EAG n'est significativement différente ni entre les sexes [ $F(1,167) = 2,01$  ;  $P = 0,16$ ] ni entre les antennes [ $F(6,167) = 0,65$  ;  $P = 0,69$ ] et qu'il n'y a pas non plus d'interaction entre les facteurs 'produit' et 'sexe' [ $F(28,167) = 1,50$  ;  $P = 0,06$ ].

A l'inverse, nous observons un effet très significatif du produit sur l'amplitude de l'EAG déclenché [ $F(28,167) = 8,31$  ;  $P < 0,001$ ]. L'électroantennographie apparaît donc comme une technique permettant d'obtenir des réponses contrastées au niveau du système olfactif périphérique de *R. ferrugineus* et elle peut donc être utilisée pour cribler les molécules odorantes.

Les amplitudes de l'EAG pour deux produits phéromonaux de *R. ferrugineus* (ferruginéol et phoenicol) et cinq molécules décrites des plantes-hôtes de *Rhynchophorus* spp. (l'hexanol, le propionate d'éthyle, l'acétate de propyle, le tiglate d'éthyle et le (*S*)-(-)-lactate d'éthyle) ont été significativement supérieures à celles déclenchées par l'hexane (Figure 25).

Nos résultats sont globalement en accord avec les résultats publiés. Parmi les alcools testés, l'amplitude des EAG aux alcools a augmenté en fonction de la longueur de la chaîne carbonée : réponses à l'éthanol et au butanol significativement inférieures à celles à l'hexanol, toutes étant significativement supérieures à celles au solvant, ce qui confirme les résultats obtenus par [Gunawardena & Kern \(1994\)](#) sur *R. ferrugineus* et par [Rochat \(1987\)](#) sur *R. palmarum*. Mais la réponse obtenue pour le pentanol n'a pas été significativement différente

de celle au solvant témoin, ce qui est contraire aux résultats de [Gunawardena & Kern \(1994\)](#). La dose testée n'est pas mentionnée sur cette publication.



\* : Amplitudes EAG significativement différentes de celle de l'hexane ;  $P < 0,05$  (tests de Bonferroni) ;  $n=8$ . La barre associée à la moyenne représente l'écart type.

**Figure 25** : Activité électroantennographique de 27 composés phéromonaux ou kairomonaux ( $10 \mu\text{g}$ ) chez *Rhynchophorus ferrugineus*.

D'autre part, la réponse au ( $\pm$ )-linalool a été supérieure à la réponse au limonène, en accord avec les données bibliographiques ([Gunawardena, 1994b](#)). La réponse au propionate d'éthyle a été significativement supérieure à la réponse au solvant, alors que ce produit a été criblé par le couplage CPG-EAG comme un produit actif chez *R. phoenicis* ([Gries et al., 1994a](#)). La réponse EAG la plus importante à un produit issu des plantes-hôtes des charançons de palmiers enregistrée lors de notre expérience l'a été pour le (*S*)-(-)-lactate. Un résultat équivalent avait été mis en évidence pour *R. palmarum* par [Rochat \(1987\)](#).

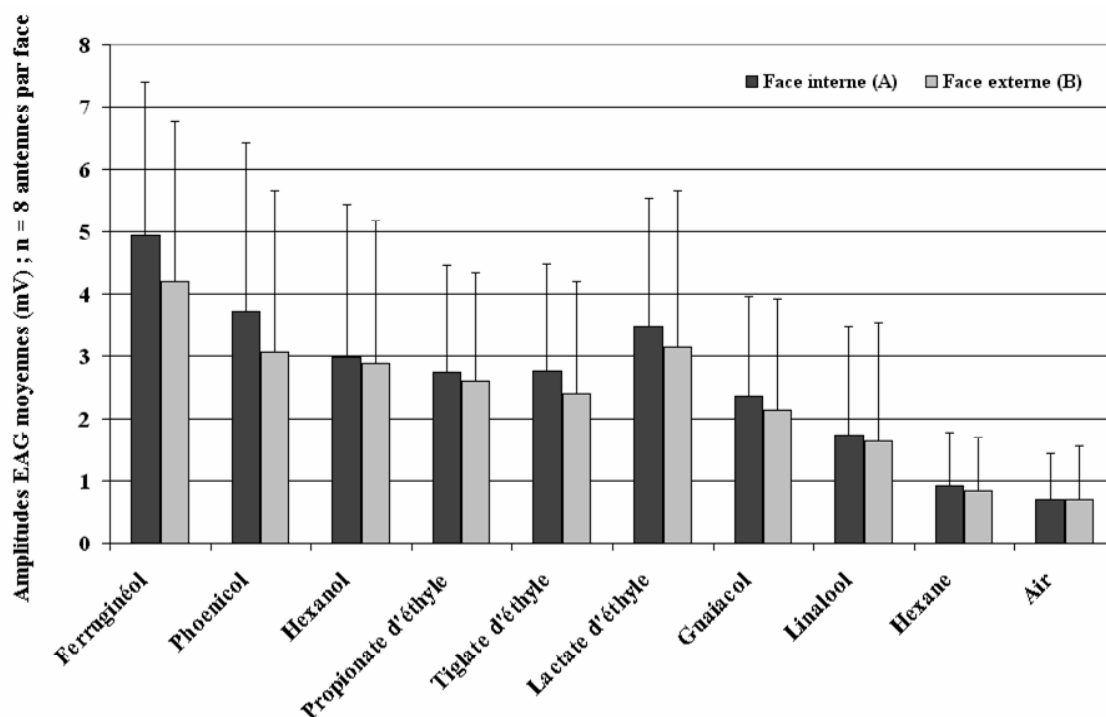
### 2.3.2.2. Effet de la position de l'électrode d'enregistrement sur la massue, sur la réponse EAG

Les amplitudes EAG mesurées pendant cet essai ont été comprises entre 0 et 10,8 mV ( $2,5 \pm 2,2$  mV, moyenne  $\pm$  écart-type). L'analyse des résultats montre que, quelle que soit la molécule odorante, l'amplitude moyenne des EAG :

1. ne présente pas de dimorphisme sexuel (faces et positions confondues) [ $F(1,268) = 0,05$  ;  $P = 0,82$ ],

2. n'est pas affectée par la position (dorsale, centrale ou ventrale) du branchement de l'électrode d'enregistrement sur la face (faces et sexes confondus) [ $F(2,268) = 2,91$  ;  $P = 0,056$ ],

3. est significativement différente entre les deux faces de l'antenne (positions et sexes confondus) [ $F(1, 268) = 12,78$  ;  $P < 0,001$ ], la réponse étant plus importante sur la face interne (Figure 26).



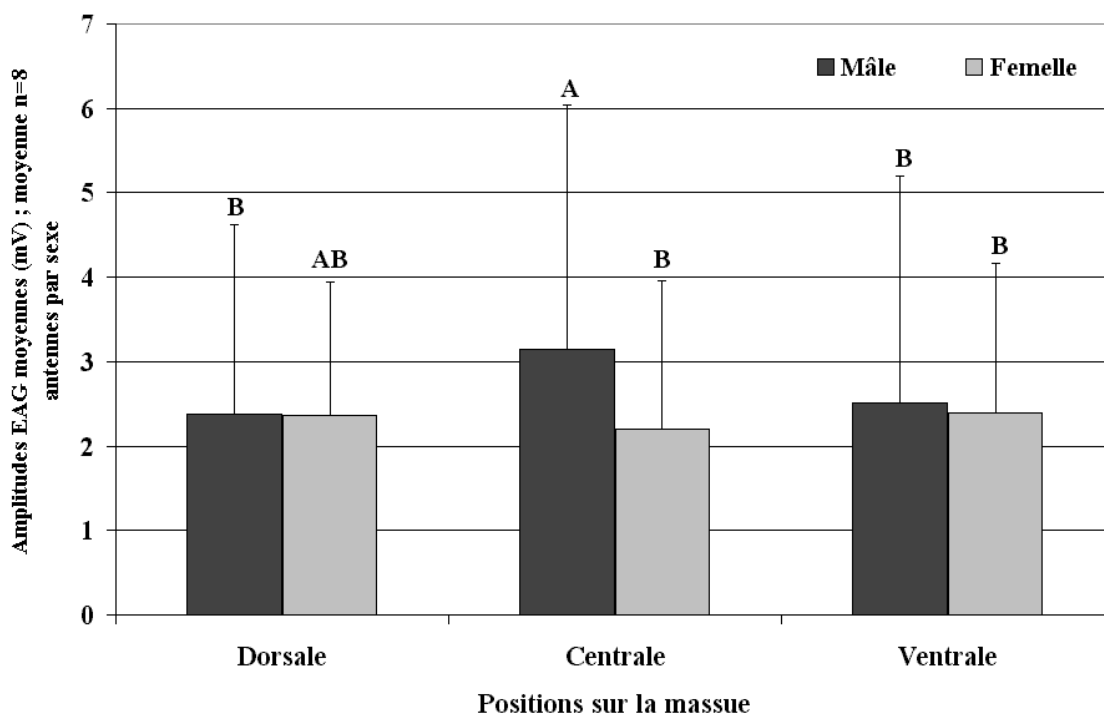
La barre associée à la moyenne représente l'écart type. Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (Tests de Tukey au seuil de 5%).

**Figure 26** : Profil des réponses EAG (à partir de 9 molécules et d'air) obtenues sur deux faces de la massue antennaire chez *Rhynchophorus ferrugineus* (positions et sexes confondus).

4. Aucune interaction significative entre les facteurs topographiques entre eux et/ou le sexe n'a été mise en évidence sur l'amplitude de la réponse EAG sauf entre le sexe et la position sur la face (faces confondues): les réponses obtenues à partir de la position centrale des antennes mâles ont été supérieures à celles obtenues sur les autres positions des antennes des deux sexes hormis la position dorsale des antennes femelles qui a fourni une valeur intermédiaire [ $F(2, 268) = 8,02$  ;  $P < 0,001$ ] (Figure 27).

Ceci montre qu'il n'y a pas de différence entre les profils des réponses électroantennographiques aux produits testés selon la position du branchement de l'électrode d'enregistrement sur la massue de l'antenne des 2 sexes.

Indépendamment du sexe et de la position de l'électrode d'enregistrement, l'amplitude des EAG a très largement dépendu du produit ( $[F(9,268) = 90,91 ; P < 0,001]$ ) en accord avec les résultats de l'essai précédent. Tous les produits ont déclenché des EAG d'amplitudes significativement supérieures à celles induites par le solvant et les bouffées d'air pur témoin.



La barre associée à la moyenne représente l'écart type. Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (Tests de Tukey au seuil de 5%).

**Figure 27** : Profil des réponses EAG obtenues par les enregistrements sur les positions différentes de la massue antennaire de 2 sexes de *Rhynchophorus ferrugineus*.

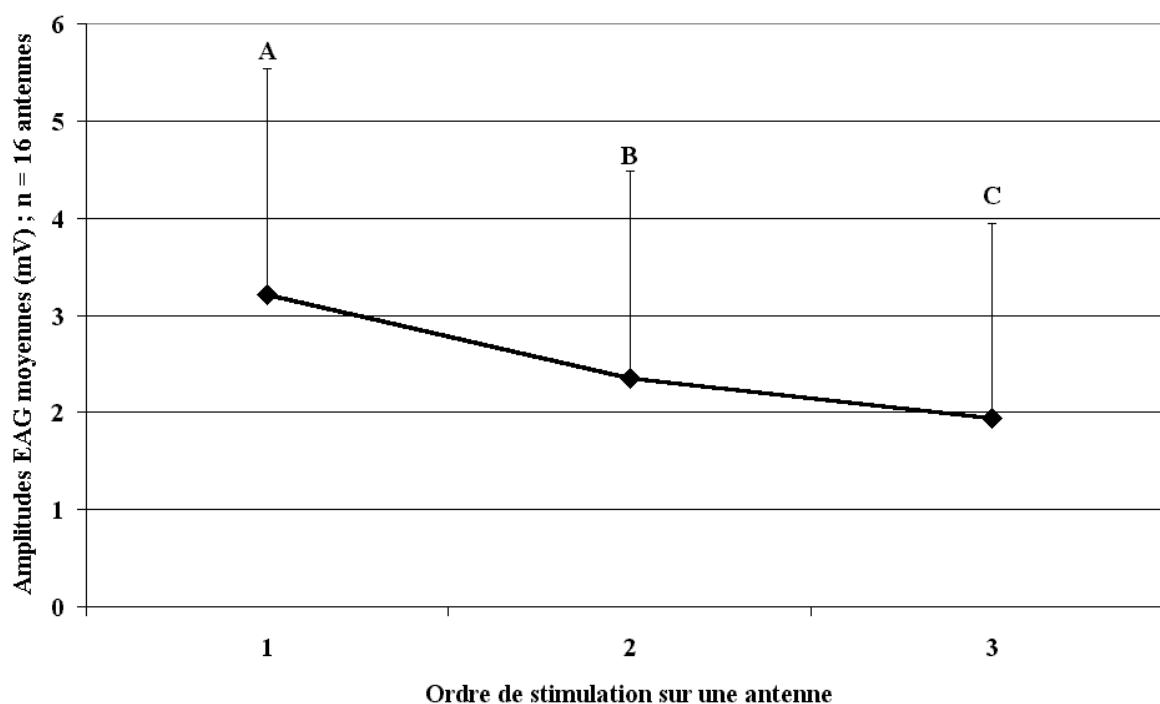
Les réponses EAG ont diminué significativement en fonction de l'ordre de branchement de l'électrode d'enregistrement sur la massue [ $F(2, 268) = 78,98 ; P < 0,001$ ] ce qui montre la perte de vitalité de l'antenne coupée ou l'adaptation des neurones olfactifs en fonction du temps (Figure 28). Cette diminution significative de l'amplitude EAG pose un problème pour les comparaisons quantitatives des réponses EAG.

## 2.4. Conclusion

Une relation entre la densité des soies cuticulaires sur la massue et l'amplitude des EAG a été constatée. Il y a une corrélation positive entre la densité des soies de type 3 et peut-être 4 d'une zone donnée (typologie, interne-externe plus dorsale, centrale et ventrale) sur la massue avec l'amplitude de l'EAG enregistrée en positionnant l'électrode d'enregistrement sur cette zone. L'amplitude EAG plus importante obtenue sur la face interne de la massue est corrélée



avec la densité plus importante des soies de type 3 sur cette face. D'autre part, la densité des soies du type 4 est supérieure sur la position centrale chez les mâles et le branchement de l'électrode d'enregistrement à cet endroit a permis d'obtenir des réponses antennaires plus importantes. La densité des soies du type 3 est également plus importante sur la position centrale de la face interne. Chez *Oryzaephilus surinamensis*, l'effet du positionnement de l'électrode d'enregistrement sur l'amplitude EAG a été également démontré. Le positionnement de l'électrode d'enregistrement sur les segments portant un nombre plus important de sensilles olfactives a abouti aux amplitudes EAG plus grandes (White, 1991).



La barre associée à la moyenne représente l'écart type. Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (Tests de Tukey au seuil de 5%).

**Figure 28** : Profil des réponses EAG de *Rhynchophorus ferrugineus* aux molécules et à l'air en fonction du temps.

Par contre, il n'y a pas eu de relation entre la valeur de l'amplitude EAG et la densité des soies du type 1. La corrélation positive entre les densités des soies de types 3 et 4 et l'amplitude des EAG étaye le rôle sensoriel de ces soies qui sont vraisemblablement des sensilles olfactives chez *R. ferrugineus*. Une telle relation n'existe pas pour les structures de types 1 et 2 et est en accord avec leur absence de rôle olfactif. Ces conclusions sont en accord avec les résultats des observations sur les structures cuticulaires de la massue de l'antenne de *R. palmarum* par MET. D'après ces observations, les structures ayant des morphologies semblables aux types 3 et 4 ont respectivement les caractères des sensilles olfactives basiconiques et

trichoïdes. Les soies de type 2 ont la structure des sensilles gustatives ; celles de type 1 correspondent clairement aux soies bifides non sensorielles décrites chez *R. palmarum* (Saïd *et al.*, 2003). La densité plus forte de sensilles basiconiques chez les femelles que chez les mâles est corrélée à la capture plus importante de femelles que de mâles dans les pièges à la phéromone sur le terrain ainsi qu'à des réponses supérieures des femelles au ferruginéol dans un olfactomètre à deux puits (cf. chapitre 4).

Ces soies pourraient contribuer à la sensibilité plus élevée des femelles aux signaux 'phéromone + odeurs de palmiers'. Néanmoins, les amplitudes EAG aux produits phéromonaux ou kairomonaux n'ont pas été significativement différentes chez les deux sexes, toutes zones de l'antenne confondues.

Les profils identiques à la réponse antennaire aux produits différents, obtenus par le branchement de l'électrode d'enregistrement sur les positions différentes de la massue de l'antenne des deux sexes, nous permettent de brancher l'électrode d'enregistrement en n'importe quelle position sur la massue. Mais le branchement de l'électrode d'enregistrement sur la face interne de la massue, où les amplitudes EAG significativement plus importantes ont été observées, peut être préconisé surtout dans la technique de criblage par le couplage de la chromatographie en phase gazeuse – électroantennographique pour mieux visualiser les réponses antennaires.

La méthode des essais EAG ne nous permet pas de dire si le branchement de l'électrode d'enregistrement sur la face interne ou l'orientation de cette face devant le flux de l'air a conduit à avoir des amplitudes plus importantes.

### 3. Criblage de constituants d'odeurs de cœur de palmier dattier actifs sur l'antenne de *R. ferrugineus* par le couplage CPG-EAG

#### 3.1. Introduction

Les odeurs foliaires, florales et de fruits sont souvent des mélanges de plusieurs dizaines de molécules mais les études sur l'olfaction des insectes ont révélé que seulement une minorité de constituants des mélanges odorants complexes est détectée par l'antenne des insectes. La technique de couplage de chromatographie en phase gazeuse – électroantennographie (CPG-EAG) a été largement utilisée pour identifier des composés phéromonaux mais aussi dans plusieurs cas pour étudier la détection des odeurs végétales par des insectes. Par exemple, cette technique a été utilisée pour identifier les composés kairomonaux d'origine végétale attractifs pour *Drosophila melanogaster* (Zhu *et al.*, 2003), *Rhagoletis pomonella* (Nojima *et al.*, 2003) et *Leptinotarsa decemlineata* (Weißbecker *et al.*, 1997).

Le couplage CPG-EAG a été appliqué pour identifier les odeurs végétales des sites d'oviposition des lépidoptères dans un objectif de développement des produits attractifs pour manipuler le comportement des femelles, parallèlement aux phéromones sexuelles utilisées pour la confusion sexuelle des mâles à des fins agronomiques (Bengtsson *et al.*, 2001 ; Light *et al.*, 2001 ; Fraser *et al.*, 2003 ; Zhang *et al.*, 2003).

La technique CPG-EAG a été également utilisée pour identifier les composés d'odeurs végétales à effet phérosynergique. L'analyse des produits volatils de la canne à sucre par CPG-EAG a révélé que de 4 à 7 de ses composés ont une activité antennaire chez *Metamasius hemipterus sericeus* dont l'acétate d'éthyle, le propionate d'éthyle et le butyrate d'éthyle qui ont provoqué les réponses les plus importantes. Ces produits seuls, en mélanges binaires, ou tous ensemble, ont montré des effets phérosynergiques moyens dans les essais de piégeage sur le terrain, ces effets n'ayant pas été compétitifs avec celui de la canne à sucre dans les conditions des essais (Perez *et al.*, 1997).

Chez *Rhynchophorus phoenicis*, l'acétate d'éthyle, le propionate d'éthyle, le propionate d'isobutyle, le butyrate d'éthyle et l'isobutyrate d'éthyle ont donné des réponses antennaires parmi tous les composants de l'odeur du stipe de palmier à huile. Le propionate d'éthyle avec une dose de 50 mg/j a significativement augmenté la capture de *R. phoenicis* dans les pièges à phéromone. Mais l'effet phérosynergique de 1 kg de tissu de palmier à huile a été supérieur à celui du propionate d'éthyle. Cette attractivité plus importante en présence de matériel végétal

peut être attribuée à des sémiouchimiques non identifiés ou à des quantités libérées de composés connus plus élevées que dans les mélanges de synthèse (Gries *et al.*, 1994a).

Chez *R. ferrugineus*, parmi les composés de l'odeur issue de la distillation du stipe de cocotier, un produit minoritaire, la  $\gamma$ -nonalactone, et un produit majoritaire, le 4-hydroxy-3-méthoxystyrène ont déclenché des réponses antennaires. Le mélange de ces deux produits a montré une attractivité moyenne, significativement moins importante que la solution de l'extrait distillé de la plante-hôte, dans un test de comportement à l'aide d'un olfactomètre en Y. L'effet phérosynergique de ce mélange n'a pas été examiné sur le terrain (Gunawardena *et al.*, 1998).

Aucun des composants d'odeurs des plantes-hôtes des charançons des palmiers, précédemment identifiés par les analyses CPG-SM ou CPG-EAG, n'a montré d'effet phérosynergique compétitif avec le matériel végétal sur le terrain (cf. chapitre 5).

L'odeur du cœur de dattier est constituée de nombreux composants dont certains avec des temps de rétention supérieurs à  $\approx 15$  mn ou des produits minoritaires qui ne sont pas identifiés par CPG-SM (cf. chapitre 1). Nous avons donc décidé de vérifier, par une approche CPG-EAG, si ces produits non identifiés sont actifs au niveau antennaire chez *R. ferrugineus*.

## 3.2. Matériels et Méthodes

### 3.2.1. Matériel vivant

Les adultes de *R. ferrugineus* ont été collectés en Iran puis conservés au laboratoire comme indiqué précédemment (chapitre 2, § 2.2.1).

### 3.2.2. Odeurs naturelles du cœur de dattier et mélange synthétique

L'activité antennaire des composants de sept des extraits d'odeurs naturelles du dattier dont l'obtention a été décrite au chapitre 1 a été étudiée. Il s'agit des extraits (dans l'hexane, Carlo Erba, > 98%) de cœur frais de dattier au cours de la fermentation : J0-4, J4-7, J7-10, J10-14, J14-21 puis de deux extraits de cœur congelé de dattier : J0-4 et J10-14. Les chromatogrammes de ces extraits sont montrés sur les Figures 5-10 et 13 (Annexe 1). La méthode de collecte d'effluves, l'extraction et les composés identifiés dans ces extraits sont présentés au chapitre 1. L'extrait issu de la collecte d'effluves témoin (vide) a été testé pour vérifier les réponses antennaires éventuelles aux impuretés du solvant et aux contaminations au cours des collectes d'effluves.

Une solution synthétique contenant cinq produits (20 ng/ $\mu$ l de chacun dans l'hexane) (Tableau 11) choisis d'après les comparaisons de chromatogrammes de CPG-EAG et CPG-SM a été testée pour confirmer les identifications des molécules actives au niveau antennaire.

**Tableau 11** : Composés de la solution synthétique testée sur l'antenne de *Rhynchophorus ferrugineus* pour confirmer leurs identifications d'après les comparaisons entre les profils de CPG en couplage avec EAG ou SM.

| Famille chimique | Produit                                | Référence               | Pureté |
|------------------|--|-------------------------|--------|
| Alcool           | Heptan-2-ol                            | Aldrich-Chemie          | 98%    |
| Esters           | Acétate de propyle                     | Aldrich Chemie          | 99%    |
|                  | Butyrate d'éthyle                      | Aldrich Chemie          | 99%    |
| Aromatique       | Anisole                                | Aldrich                 | 99%    |
| Alcène           | 3,5,7-Triméthyl-2,4,6,8-undécatétraène | Offert par R.J. Bartelt | 53%    |

### 3.2.3. Analyse électrophysiologique des odeurs du cœur de dattier par CPG-EAG

Tous les enregistrements ont été réalisés à partir d'antennes isolées de mâles. Un seul sexe a été utilisé pour limiter la variabilité des réponses. Les mâles ont été préférés parce qu'il s'agit du sexe émetteur de phéromone et parce qu'ils étaient plus abondants lors de notre travail.

L'électrode de référence a été positionnée à la base de l'antenne (scape) et l'électrode d'enregistrement a été amenée au contact avec la face interne de la massue sur laquelle le branchement donne des amplitudes plus importantes que sur la face externe (résultats présentés en 2.3.3).

Les analyses électrophysiologiques ont été réalisées sur un chromatographe en phase gazeuse (CPG) Varian Star 3400 CX équipé d'un injecteur à température programmable et sans division de flux (SPI: Septum Programmable Injector) et d'une colonne apolaire BPX-5 SGE (25 m  $\times$  0,32 mm -DI, de 0,5  $\mu$ m d'épaisseur de phase). Le gaz vecteur était l'hélium (14 psi). L'injecteur a été maintenu à 220 °C. La température de la colonne a suivi la programmation suivante : 1 mn à 40°C, puis élévation à 80°C à raison de 3°C/mn ; plateau à 80°C pendant 1 mn puis élévation à 300°C à raison de 13°C/mn et maintien pendant 3 mn. La durée totale du programme était de 35,2 mn.

L'effluent de la colonne a été partagé en deux : vers un détecteur FID (Flame Ionisation Detector) et vers l'antenne (détecteur biologique : EAG) à l'aide d'un diviseur (SGE, Australie) avec un rapport de 1:1 muni d'un flux auxiliaire d'hélium. Le détecteur FID et la ligne de transfert vers l'antenne ont été respectivement maintenus à 220° et 305°C. La section de la colonne amenant l'effluent vers l'antenne (60 cm, désactivée) est introduite dans un tube en verre en forme de L parcouru par un courant d'air permanent d'un débit de 1,42 l/mn. Le courant d'air permanent a été filtré sur charbon actif et humidifié par bullage dans de l'eau osmosée. Un trou sur la grande branche du L qui va vers l'antenne nous a permis d'introduire une cartouche en verre connectée à un appareil de stimulation manuelle avec un débit de 367 ml/mn pendant 0,5 s. La massue de l'antenne branchée a été placée à une distance de  $\approx 0,5$  cm de l'extrémité du tube en L. Une stimulation manuelle par 100 ng de ferruginéol dans 1  $\mu$ l d'hexane déposés sur un papier filtre a été effectuée avant l'injection des extraits pour vérifier la sensibilité de l'antenne et l'injection d'un extrait n'a été faite qu'après l'obtention d'un EAG d'amplitude conforme aux résultats obtenus lors de l'étude électroantennographique initiale (chapitre 2, § 2.3.2). L'enregistrement des réponses de l'antenne a été réalisé à partir d'injections de 3  $\mu$ l d'extrait naturel ou 2  $\mu$ l de mélange synthétique. Deux stimulations manuelles par 100 ng du ferruginéol dans 1  $\mu$ l d'hexane sur papier filtre ont été effectuées  $8 \pm 2$  et  $30 \pm 3$  mn après l'injection de l'extrait pour vérifier la vitalité et la sensibilité de l'antenne au cours de l'analyse. Pour les acquisitions, la fréquence est de 10 Hz pour les CPG et de 100 Hz pour EAG sur deux canaux différents. Les signaux FID et EAG ont été visualisés et analysés sur ordinateur à l'aide d'un logiciel Borwin (version 1.21 ; BORLAND, 1997).

Quatre ou cinq enregistrements satisfaisants avec un signal stable et permettant de distinguer les dépolarisations EAG du bruit de fond ont été obtenus avec chaque extrait issu du matériel végétal ou du mélange synthétique et un enregistrement a été fait pour l'extrait issu du témoin de la collecte d'effluves et de l'hexane utilisé comme solvant des extraits (Tableau 12).

L'analyse fine des signaux EAG a été réalisée à l'aide du logiciel EXCEL (version 97). Les traces CPG et EAG ont été visualisées et retraitées graphiquement à partir d'un sous-échantillonnage à 5 Hz compatible avec les capacités du logiciel et après vérification du non écrêtement des signaux. Ainsi, les amplitudes EAG ont été calculées avec le logiciel Excel .

Nous avons essayé d'identifier les molécules déclenchant des EAG de façon reproductible (présentes au minimum sur 3 enregistrements à partir de chaque extrait) en comparant les chromatogrammes obtenus lors du couplage CPG-EAG avec ceux obtenus par CPG-SM,

réalisés sur les mêmes extraits. Les conditions d'analyses CPG-SM sont décrites au chapitre 1 (§ 1.2.3).

**Tableau 12** : Nombres d'analyses et de réponses antennaires reproductibles obtenues par CPG-EAG chez *Rhynchophorus ferrugineus*.

| Origine de l'extrait            | Période de collecte d'effluves | Nb. d'enregistrements satisfaisants (totaux) | Nb. de réponses antennaires reproductibles |
|---------------------------------|--------------------------------|--|--|
| Cœur frais de palmier dattier   | J0-4                           | 5 (10)                                       | 6  |
|                                 | J4-7                           | 4 (7)  | 5  |
|                                 | J7-10                          | 4 (5)  | 5  |
|                                 | J10-14                         | 5 (6)  | 4  |
|                                 | J14-21                         | 4 (7)  | 2  |
| Cœur congelé de palmier dattier | J0-4                           | 3 (3)  | 4  |
|                                 | J10-14                         | 3 (5)  | 0  |
| Mélange synthétique             | -                              | 4 (7)  | 1  |
| Témoin de collecte d'effluves   | J0-4                           | 2 (2)  | 0  |
| Hexane (solvant)                | -                              | 1 (1)  | 0  |

Les propositions structurales pour les molécules actives sur l'antenne obtenues à partir de la SM ont été vérifiées par des co-injections de 1 µl d'extraits de dattier frais (J0-4) et de 1 µl de solution hexanique (100 ng/µl de chaque produit candidat). Les co-injections ont été réalisées sans couplage EAG sur l'appareil équipé pour la CPG-EAG. Une co-élution entre le produit actif sur l'antenne et la molécule retenue a indiqué une très forte probabilité d'identité des composés.

Pour étayer le caractère biologique de l'effet des produits déclenchant des EAG, les courbes 'dose-réponse' pour trois produits ont été établies. La moyenne de l'aire des pics CPG des produits actifs dans chaque extrait et les moyennes des amplitudes normalisées des EAG (division par la moyenne des amplitudes EAG aux stimulations manuelles par 100 ng de ferruginéol), ont été utilisées pour établir les courbes 'dose-réponse'.

### 3.3. Résultats

Les stimulations manuelles avec la phéromone au début et à la fin de chaque analyse CPG-EAG (avec une moyenne d'amplitude de  $7,4 \pm 2,9$  mV) ont montré que 80% des antennes ont gardé leur sensibilité au cours des essais. L'amplitude de la 2<sup>e</sup> stimulation manuelle, réalisée à la fin de chaque analyse, a diminué chez 20% du reste des antennes. La durée de la programmation de CPG (35,2 mn) a été équivalente au temps de stimulations effectuées pendant le premier branchement de l'électrode d'enregistrement lors de l'étude EAG (§ 2.2.4) au cours duquel peu ou pas de diminution de la sensibilité est observé (Figure 27, p. 63 ; ordre 1).

Au total, 53 antennes ont été branchées pour les analyses CPG-EAG dont deux tiers ont été exploitables (Tableau 12).

Identification des produits actifs au niveau antennaire : Dix produits ont induit des EAG reproductibles dans l'ensemble des extraits testés quels que soient leurs âges. Ils ont été identifiés par un numéro. Entre 2 et 6 produits actifs sur l'antenne ont été repérés selon l'extrait (Tableau 13).

Produit 1 : il a déclenché des EAG reproductibles dans les analyses avec l'extrait J0-4 du cœur frais de dattier à 1,48 mn. Le pic de ce produit a été caché par le pic de solvant, impossible de l'identifier par les comparaisons des chromatogrammes de CPG en couplage avec l'EAG et la SM (Figures 29 et 30).

Produit 2 : il a été actif au niveau antennaire comme un composé de l'extrait J0-4 du cœur frais de dattier. L'acétate de propyle a été choisi comme le produit putatif de l'extrait d'après les comparaisons entre les profils de pics sur les chromatogrammes issus de CPG en couplage avec la SM et l'EAG. D'après la co-injection, le temps de rétention de l'acétate de propyle (2,8 mn) a été inférieur à celui du produit actif dans l'extrait (2,9 mn). D'ailleurs, l'acétate de propyle n'a déclenché aucune réponse antennaire dans les analyses effectuées avec le mélange synthétique.

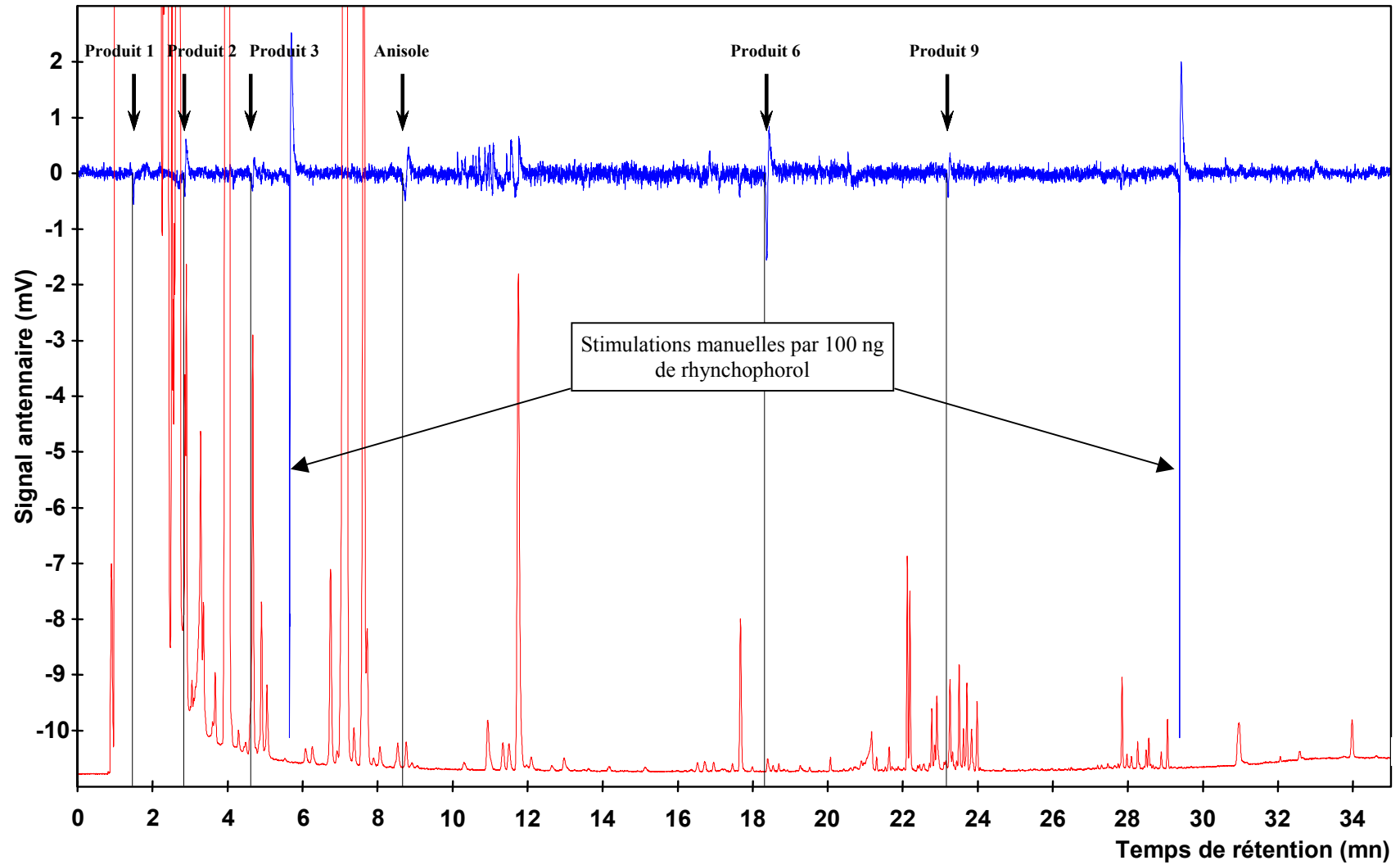
Produit 3 : il est également présent dans l'extrait J0-4 du cœur frais de dattier. Le butyrate d'éthyle a été choisi comme le produit putatif d'après la comparaison des profils de chromatogrammes obtenues par CPG-SM et CPG-EAG aussi bien que la co-injection. Mais le butyrate d'éthyle n'a induit aucune réponse antennaire dans le mélange synthétique.



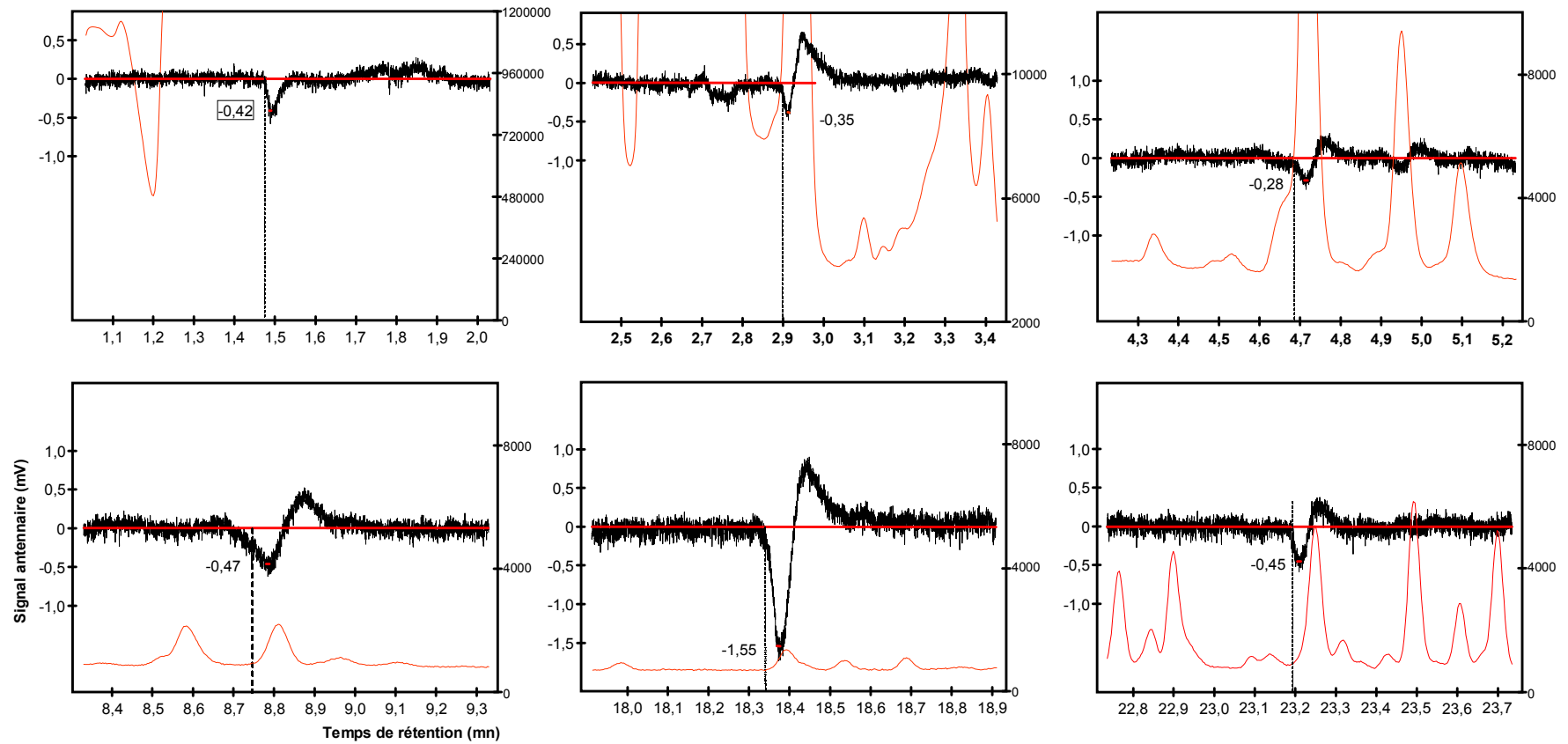
**Tableau 13** : Temps de rétention des composés d'odeur du cœur de dattier actifs sur l'antenne de *Rhynchophorus ferrugineus* par couplage CPG-EAG et amplitudes des EAG induits.

| N° du produit | Temps de rétention (mn) | Amplitude des EAG (mV ; moyenne ± écart-type) |             |             |             |             |              |        |
|---------------|-------------------------|---|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------|
|               |                         | Cœur frais                                    |             |             |             |             | Cœur congelé |        |
|               |                         | J0-4  | J4-7        | J7-10       | J10-14      | J14-21      | J0-4         | J10-14 |
| <b>1</b>      | <b>1,48*</b>            | 0,72 ± 0,28                                   |             |             |             |             |              |        |
| <b>2</b>      | <b>2,90</b>             | 0,71 ± 0,51                                   |             |             |             |             |              |        |
| <b>3</b>      | <b>4,67</b>             | 0,57 ± 0,32                                   |             |             |             |             |              |        |
| <b>4</b>      | <b>8,76</b>             | 0,40 ± 0,07                                   | 0,24 ± 0,14 | 0,03 ± 0,02 |             |             | 0,20 ± 0,11  |        |
| <b>5</b>      | <b>13,50</b>            |   | 0,09 ± 0,09 |             |             |             |              |        |
| <b>6</b>      | <b>18,39</b>            | 1,12 ± 0,52                                   | 0,67 ± 0,17 | 0,48 ± 0,33 | 0,08 ± 0,06 | 0,48 ± 0,40 | 0,38 ± 0,23  |        |
| <b>7</b>      | <b>19,17</b>            |   |             | 0,35 ± 0,01 | 0,10 ± 0,08 |             |              |        |
| <b>8</b>      | <b>20,75</b>            |   |             |             |             |             | 0,18 ± 0,17  |        |
| <b>9</b>      | <b>23,25</b>            | 0,26 ± 0,17                                   | 0,58 ± 0,44 | 0,46 ± 0,39 | 0,67 ± 0,45 | 0,40 ± 0,52 | 0,09 ± 0,09  |        |
| <b>10</b>     | <b>27,84</b>            |   | 0,19 ± 0,01 | 0,14 ± 0,09 | 0,20 ± 0,26 |             |              |        |

\* Le pic de ce composé est caché dans le pic de solvant et il n'a donc pas été possible d'avoir la valeur de son aire. Le temps de rétention attribué correspond au temps de la dépolarisation EAG enregistré pour ce produit.



**Figure 29** : Réponses antennaires de *Rhynchophorus ferrugineus* à six produits dans l'extrait du cœur frais de dattier (J0-4) obtenues par enregistrement CPG-EAG.



**Figure 30 :** Réponses antennaires de *Rhynchophorus ferrugineus* à six produits dans l'extrait du cœur frais de dattier (J0-4) obtenues par enregistrement CPG-EAG.

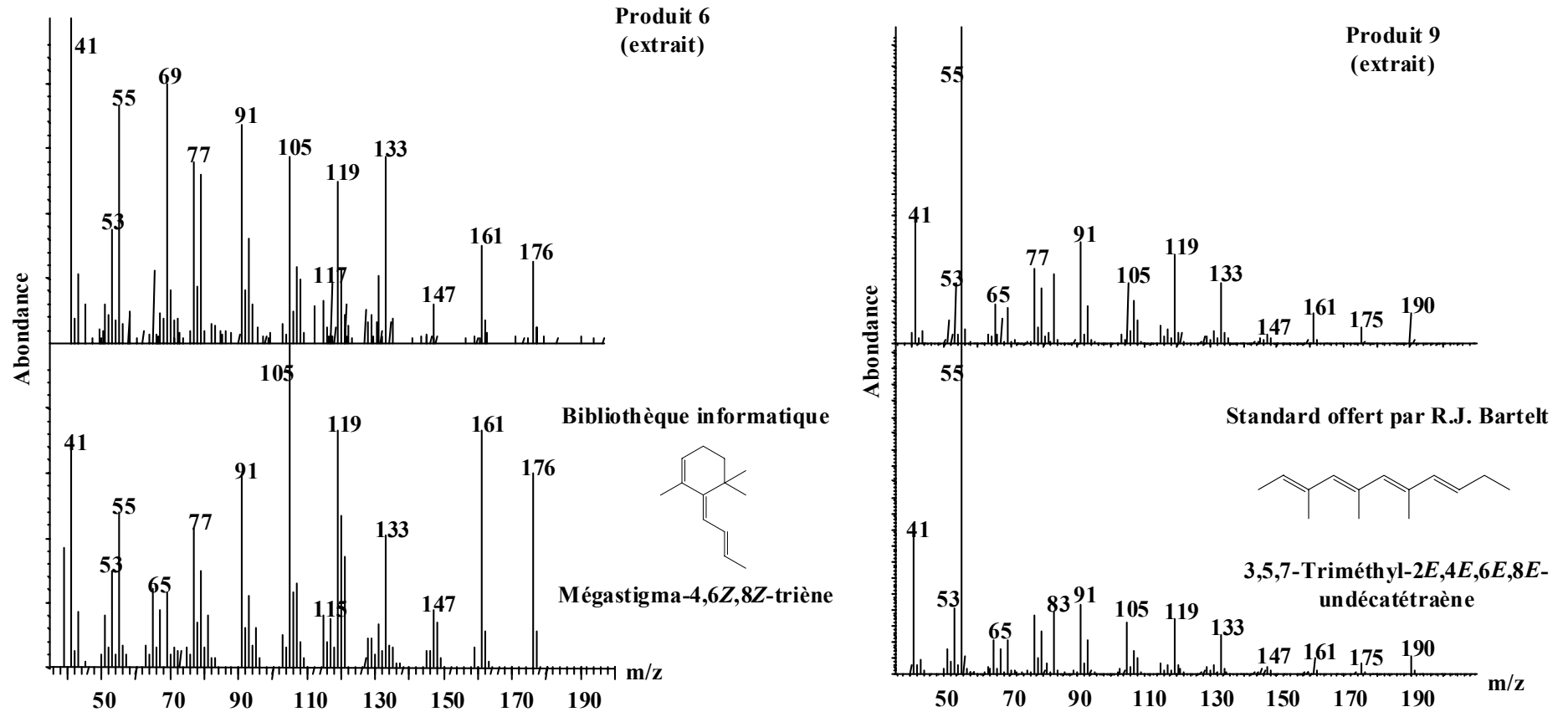
Produit 4 : il a déclenché des réponses reproductibles dans les extraits J0-4, J4-7, J7-10 du cœur frais aussi bien que dans l'extrait J0-4 du cœur congelé de dattier. L'anisole et le heptan-2-ol ont été deux produits putatifs d'après la comparaison des chromatogrammes CPG-SM et CPG-EAG. Le temps de rétention de 2-heptan-2-ol (8 mn) a été différent de celui du produit actif dans l'extrait (8,76 mn) et il n'a pas été actif au niveau antennaire dans le mélange synthétique. Mais l'anisole a présenté un temps de rétention (8,7 mn) comme le produit actif. Elle a également déclenché un EAG au temps de rétention du produit 4 avec une amplitude de  $0,58 \pm 0,2$  mV. Le produit 4 a donc été identifié comme l'anisole.

Produit 5 : il est présent dans l'extrait J4-7 du cœur frais de dattier. La comparaison entre les profils des chromatogrammes de CPG en couplage avec SM et EAG n'a pas permis de faire de correspondance avec un pic précis.

Produit 6 : il est détecté par l'antenne dans tous les extraits testés sauf l'extrait J10-14 du cœur congelé de dattier. Il a un temps de rétention identique à celui du ferruginéol. Les dépolarisations très importantes qu'il a induites, malgré sa quantité très faible dans les extraits, parfois non détectée par le FID (extrait J10-14 du cœur frais par exemple), nous avaient conduits à émettre l'hypothèse d'une contamination des extraits par le ferruginéol. Mais le spectre de masse de cette molécule 6 dans les odeurs de cœur de dattier est différent de celui du ferruginéol et aucune trace de ferruginéol n'a pu être détectée par SM. La librairie de SM nous a fourni une forte correspondance entre ce produit et la mégastigma-4,6Z,8Z-triéne (Figure 31).

Des molécules de structures voisines comme la mégastigma-5,7,9-trién-4-one ou la mégastigma-5,8-dién-4-one sont rencontrées à l'état naturel dans *Osmanthus*, l'essence de *Passiflora incarnata*, le tabac de Virginie et des rhums de Jamaïque. La mégastigma-5,8-dién-4-one est également l'un des constituants de l'arôme de divers fruits comme le fruit de la passion, la carambole et l'abricot et possède une odeur caractéristique de framboise. La mégastigma-5,7,9-trién-4-one est utilisée industriellement pour l'aromatisation du tabac (Boulin *et al.*, 2000). Le mélange racémique de la 2-mégastigma-4,6,8-trién-3-one possède une odeur comme le tabac, le bois, le cuir ou la prune (Weyerstahl *et al.*, 1994). Malheureusement, les efforts pour synthétiser la mégastigma-4,6(Z),8(Z)-triéne n'ont pas abouti, son identification et son activité antennaire et comportementale restent à confirmer.

Produits 7 et 8 : le produit 7 est détecté par l'antenne dans les extraits J7-10 et J10-14 du cœur frais et le produit 8 dans l'extrait J0-4 du cœur congelé de dattier. Les comparaisons



**Figure 31:** Spectres de masse de la mégastigma-4,6Z,8Z-triène et du 3,5,7-triméthyl-2E,4E,6E,8E-undécatétraène (en bas) et de deux composés d'extraits de cœur de dattier actifs au niveau antennaire chez *Rhynchophorus ferrugineus* et ayant des temps de rétention identiques (en haut).

entre les profils des chromatogrammes CPG-SM et CPG-EAG n'ont pas permis de choisir des produits putatifs pour eux.

Produit 9 : Il a déclenché des réponses antennaires reproductibles dans tous les extraits testés sauf l'extrait J10-14 du cœur congelé de dattier. Il a été identifié comme le 3,5,7-triméthyl-2*E*,4*E*,6*E*,8*E*-undécatétraène d'après la librairie de SM. Le spectre de masse de ce produit est présenté sur la Figure 31. Ce produit a été identifié comme le composé minoritaire de la phéromone de *Carpophilus hemipterus* (L.) (Coleoptera, Nitidulidae) par [Bartelt et al.](#) (1990). Trois produits synthétiques, avec des spectres de masse très voisins, nous ont été fournis par R.J. Bartelt : a) le 3,5,7-triméthyl-2*E*,4*E*,6*E*,8*E* -undécatétraène ; b) le 4-éthyl-6,8-diméthyl-2,4,6,8-décatétraène et c) le 4,6,8-triméthyl-2,4,6,8-undécatétraène. Les temps de rétention de ces produits ont été déterminés par l'injection de 1 µl de la solution de chacun dans l'hexane (≈ 100 ng/µl) : 23,23, 22,65 et 23,07 mn pour les produits a, b et c respectivement. Le temps de rétention du 3,5,7-triméthyl-2*E*,4*E*,6*E*,8*E*-undécatétraène a été très proche du produit 9 pour lequel le même spectre de masse a été obtenu (Figure 31). Aucun individu de *Carpophilus* sp. n'a été observé sur le cœur de dattier au cours de la collecte d'effluves et le 3,5,7-triméthyl-2*E*,4*E*,6*E*,8*E*-undécatétraène n'a jamais été identifié comme un produit végétal (Bartelt, communication personnelle). Le 3,5,7-triméthyl-2*E*,4*E*,6*E*,8*E*-undécatétraène n'a produit aucune activité antennaire dans la solution synthétique.

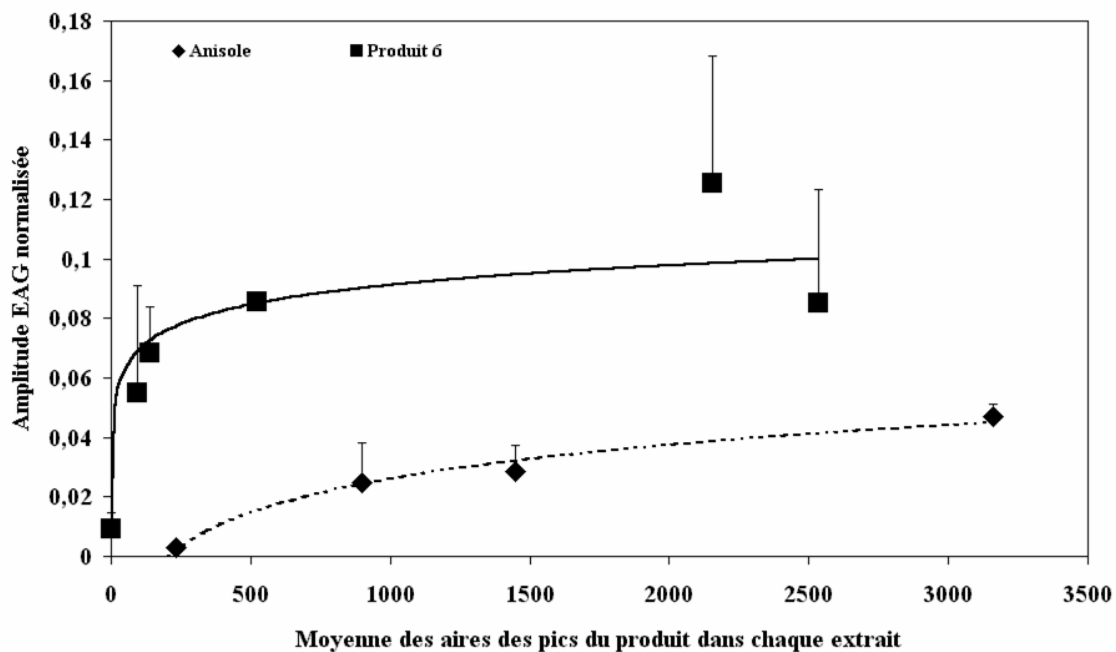
Produit 10 : il est présent dans les extraits J4-7, J7-10 et J10-14 de cœur frais de dattier. La comparaison entre les profils des chromatogrammes de CPG en couplage avec SM et EAG n'a pas permis de faire de correspondance avec un pic précis.

Les amplitudes EAG pour l'anisole et les produits 6 et 9 ont augmenté en fonction de leurs aires de pics dans les différents extraits. Cet effet 'dose-réponse' étaye un effet biologique de ces produits sur l'antenne (Figures 32 et 33). L'effet comportemental de ces produits devra être étudié à la suite de leurs identifications chimiques et leurs synthèses.

### 3.4. Discussion

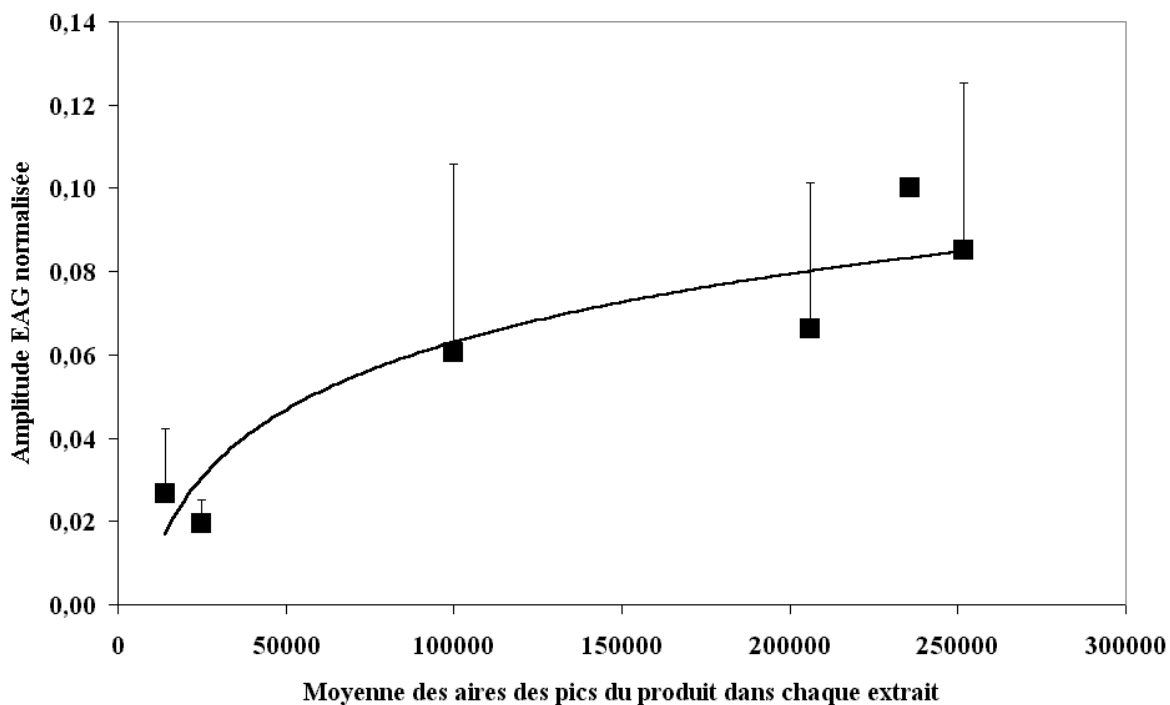
L'activité antennaire de l'anisole comme un constituant de l'odeur de cœur frais de palmier a été mise en évidence pour la première fois. L'anisole est l'un des composés minoritaires du mélange 41 montrant une activité phérosynergique moyenne sur *R. ferrugineus* au cours du criblage effectué par piégeage de terrain ([Avand-Faghieh, 2000](#)).

L'effet phérosynergique de ce produit devra être vérifié ultérieurement avec des doses plus élevées.



La barre associée à chaque point représente l'écart type de la moyenne.

**Figure 32** : Relations entre la dose d'anisole et de produit 6 et la réponse antennaire obtenue par couplage CPG-EAG chez *Rhynchophorus ferrugineus*.



La barre associée à chaque point représente l'écart type de la moyenne.

**Figure 33** : Relation entre la dose de produit 9 et la réponse antennaire obtenue par couplage CPG-EAG chez *Rhynchophorus ferrugineus*.

Malgré le nombre important de composants de l'odeur du cœur de dattier en cours de fermentation (109 molécules identifiées par CPG-SM et entre 18 et 35 pics intégrés par CPG selon l'extrait) seulement 10 composés ont induit des EAG reproductibles dont la majorité sont des produits non identifiés. Cinq composés minoritaires avec une aire de pics < 4.000 (anisole, produits 5, 6, 7 et 10) ont provoqué des réponses antennaires reproductibles. Ce sont des produits avec une volatilité moyenne à faible (temps de rétention > 8,5 mn). Ces produits minoritaires sont moins labiles que les produits volatils en ce sens qu'ils sont présents dans les extraits issus du cœur âgé de dattier. Les produits 4 et 6 sont respectivement présents jusqu'au 10<sup>e</sup> et 21<sup>e</sup> jours dans les extraits issus du cœur frais de dattier, provoquant des réponses reproductibles malgré leurs quantités faibles. La quantité de ces deux produits diminue en fonction de l'âge du cœur de dattier ce qui peut correspondre à la diminution de l'activité phérosynergique de ce matériel végétal sur le terrain. Ces arguments peuvent expliquer le rôle important de produits minoritaires ou moins volatils de l'odeur du matériel végétal, non identifiés jusqu'à présent, comme sémiochimiques actifs sur le comportement de *R. ferrugineus*. La plupart des composés majoritaires n'ont pas été actifs au niveau antennaire. Ce sont aussi des produits considérés comme phérosynergistes putatifs testés sur le terrain sans aucun effet (Avand-Faghih, 2000 ; cf. chapitre 5). Il est donc indispensable d'investir pour mieux caractériser ces constituants de l'odeur de phérosynergistes végétaux et identifier les molécules minoritaires et moins volatiles, négligées dans les analyses précédemment effectuées.

La technique CPG-EAG s'est montrée très efficace pour cribler des molécules actives au niveau antennaire dans un mélange complexe surtout celles qui ne sont pas détectées par FID à cause de leurs quantités trop faibles. Cependant, les comparaisons entre les profils des pics sur les chromatogrammes issus de CPG en couplage avec la SM et l'EAG ont été compliquées par l'emploi de colonnes et de conditions d'analyses différentes pour les deux techniques. Les conditions CPG-SM étant différentes de celles des analyses CPG-EAG, des doutes demeuraient pour une correspondance certaine entre certains pics, notamment minoritaires. Par ailleurs, le nombre important de pics sur le chromatogramme ayant des temps de rétention voisins a rendu difficile l'identification des produits actifs au niveau antennaire. Un couplage CPG-SM-EAG serait très utile, permettant d'utiliser le même matériel (colonne) et le même programme de températures dans les analyses CPG-SM et CPG-EAG et facilitant les compa-



raisons de profils des pics obtenus. La séparation des pics sur les chromatogrammes pourra être améliorée en modifiant les conditions d'analyses.

### **Evolution des produits actifs au niveau antennaire en fonction de l'âge de l'extrait**

Evolution quantitative des réponses antennaires : Le nombre d'EAG reproductibles diminue en fonction du vieillissement du cœur de dattier utilisé pour la collecte d'effluves. Le maximum des réponses a été enregistré pour l'extrait J0-4 de cœur frais de dattier. Mais seulement 2 composés de l'extrait issu du cœur âgé de dattier frais (J14-21) ont provoqué des réponses antennaires reproductibles (Tableaux 12 et 13).

La diminution du nombre de composés actifs dans les extraits en fonction de l'âge du cœur de dattier, utilisé pour la collecte d'effluves, est corrélée à la chute d'activité phérosynergique de ce matériel végétal au cours du temps dans les essais de piégeage sur le terrain.

Evolution qualitative des réponses antennaires : Des EAG aux produits volatils (avec un temps de rétention < 5 mn) ont été seulement observés dans l'extrait le moins altéré du cœur de palmier dattier frais (J0-4 : produits 1, 2 et 3). Inversement le nombre de produits moins volatils (temps de rétention > 18 mn) actifs sur l'antenne a augmenté avec le vieillissement du cœur de dattier. La disparition de produits actifs très volatils et l'apparition de produits actifs moins volatils, en fonction de l'âge du cœur de dattier, est en accord avec l'évolution qualitative respective de ces deux catégories de composés (cf. chapitre 1).

L'aire du pic du produit 9 a augmenté avec l'âge du cœur de dattier. Il semble que cette molécule soit produite par les micro-organismes qui se développent sur le cœur de dattier au cours de sa décomposition.

Les produits 6 et 9 ont produit des réponses antennaires les plus reproductibles dans tous les extraits testés (sauf l'extrait J10-14 du cœur congelé pour lequel il n'y a aucune réponse enregistrée) et dans la majorité des enregistrements.

## **4. Etude de la réponse de *R. ferrugineus* au ferruginéol et à des extraits végétaux par olfactométrie - Observations sur la fécondité des femelles capturées par piégeage olfactif et la mobilité de l'insecte en conditions semi naturelles**

### **4.1. Introduction**

Etudier la réponse comportementale d'un insecte à un extrait ou à un composé identifié par les méthodes d'analyse chimique est indispensable pour mettre en évidence le caractère sémiochimique, soit intraspécifique soit interspécifique de l'extrait ou du composé. Le type de réponse déclenchée peut ainsi être caractérisé chez des individus récepteurs par un test permettant de voir s'il y a un effet attractif, répulsif, etc... Des essais comportementaux bien adaptés peuvent nous fournir des informations intéressantes sur les mouvements des insectes récepteurs vers ou à proximité de la source d'odeur.

Un olfactomètre est un dispositif de laboratoire qui permet de mesurer et de comparer les réponses comportementales des insectes en conditions contrôlées. L'emploi d'olfactomètres est très utile pour déterminer l'effet biologique d'extraits naturels de matériaux végétaux disponibles en quantités limitées et insuffisantes pour les tester dans les conditions naturelles par piégeage de terrain.

Dans le cas des charançons des palmiers, plusieurs types d'olfactomètres ont été décrits pour étudier leurs réponses comportementales à des odeurs au laboratoire. Ces olfactomètres sont le plus souvent des adaptations à la grande taille de ces charançons de modèles décrits antérieurement pour de petits insectes.

Ainsi, [Jaffé \*et al.\* \(1993\)](#) ont utilisé un individu de *R. palmarum* suspendu par un fil, les pattes reposant sur une boule de matériau léger sur laquelle il a pu marcher ou la quitter pour voler. Les effets attractifs de deux sources d'odeurs disposées de chaque côté de la tête de l'insecte, ont été mesurés à partir du temps de marche ou de vol vers chaque source. [Rochat \*et al.\* \(2000a\)](#) ont utilisé un tunnel de vol modifié, en mettant un plancher horizontal au centre du tunnel sur lequel les insectes ont pu marcher, pour mesurer la réponse à des odeurs végétales.

Nous avons évalué l'efficacité de deux types d'olfactomètres pour étudier le comportement de *R. ferrugineus*. Ces olfactomètres avaient été utilisés efficacement sur *R. palmarum*. Le premier type, l'olfactomètre à deux puits, est un système statique (sans flux d'air) et

offrant un choix entre deux odeurs. Il a été adapté par [Rochat et al.](#) en 1991 à partir du dispositif utilisé par [Pierce et al.](#) (1981). Le deuxième type, l'olfactomètre à quatre voies, est un système dynamique (avec flux d'air) et offrant un choix allant jusqu'à quatre odeurs ; il est dérivé du modèle décrit par [Vet et al.](#) (1983) et a été adapté par [Saïd](#) (1999).

L'olfactomètre à deux puits avait été utilisé en 2000 au laboratoire de Saravan (province du Sistan & Baloutchistan, Iran) pour mesurer la réponse de *R. ferrugineus* au ferruginéol avec ou sans dattier mais très peu de réponses nettes au stimuli avaient été observées ([Avand-Faghih, 2000](#)). L'hypothèse d'une forte contamination des locaux par la grande quantité de phéromone synthétique manipulée pour les essais de terrain (habituation des insectes) ou de leur mauvais état de santé (insectes maintenus en forte densité dans de petites enceintes) avait été envisagée pour expliquer ces faibles réponses. Nous avons donc décidé de reprendre les tests olfactométriques dans des conditions mieux contrôlées à Téhéran (pas de manipulation de phéromone de synthèse et meilleures conditions d'élevage).

L'olfactomètre à quatre voies a été très efficace dans les tests effectués avec *R. palmarum* ([Saïd, 2003](#)) et nous avons essayé de valider l'effet phérosynergique des extraits de cœur de dattier, utilisés pour les analyses CPG-SM et CPG-EAG, à l'aide de cet olfactomètre à Versailles.

La détermination de l'état physiologique de l'appareil reproducteur des femelles collectées sur les palmiers dattiers infestés et/ou capturées par les pièges à phéromone et l'étude du rythme de mobilité des insectes au cours de la journée ont été réalisées afin de cerner d'autres causes possibles du peu de réponses enregistrées en olfactomètres en 2000 et 2002 que celles évoquées plus haut et d'optimiser les conditions des tests comportementaux : âge des insectes utilisés pour les essais et période de réalisation des tests dans la journée.

## **4.2. Matériels et Méthodes**

### **4.2.1. Evaluation de la réponse de *R. ferrugineus* à la phéromone synthétique et à des extraits végétaux dans deux types d'olfactomètre au laboratoire**

#### **4.2.1.1. Matériel vivant**

Tous les insectes utilisés ont été collectés à la main sur des palmiers dattiers ou capturés dans des pièges appâtés avec la phéromone et un morceau de cœur de dattier dans les palmeraies infestées à Saravan. Les insectes ont été gardés dans des boîtes plastiques séparés selon le sexe au laboratoire soit à 30°C et une photopériode J12:N12 au 'Plant Pests & Diseases

Research Institute' à Téhéran pour les tests avec l'olfactomètre à deux puits, soit en conditions tropicales (23-28°C ; H.R. : 75-90% ; J13:N11) au laboratoire de Versailles pour les tests avec l'olfactomètre à quatre voies. Ils ont été nourris sur tiges de canne à sucre. Les insectes sont isolés individuellement 24 h avant les tests dans des boîtes sans nourriture. Une heure avant les tests, ils sont apportés dans la pièce d'olfactométrie pour un deuxième conditionnement.

#### 4.2.1.2. Olfactomètre à deux puits

Cet olfactomètre comporte les quatre pièces suivantes (Figure 34) : 1) l'arène circulaire en plastique transparent ( $\varnothing = 50$  cm et hauteur 15 cm) ; 2) le plancher en plastique transparent (60 x 60 cm) avec 2 orifices symétriques ( $\varnothing = 3$  cm) par rapport au centre et espacés de 25 cm ; 3) deux béchers en verre (500 ml) qui sont placés sous les orifices du plancher et 4) le toit en verre (60 x 60 cm). Le plancher a été couvert avec une feuille de papier pour que l'insecte puisse y marcher facilement.

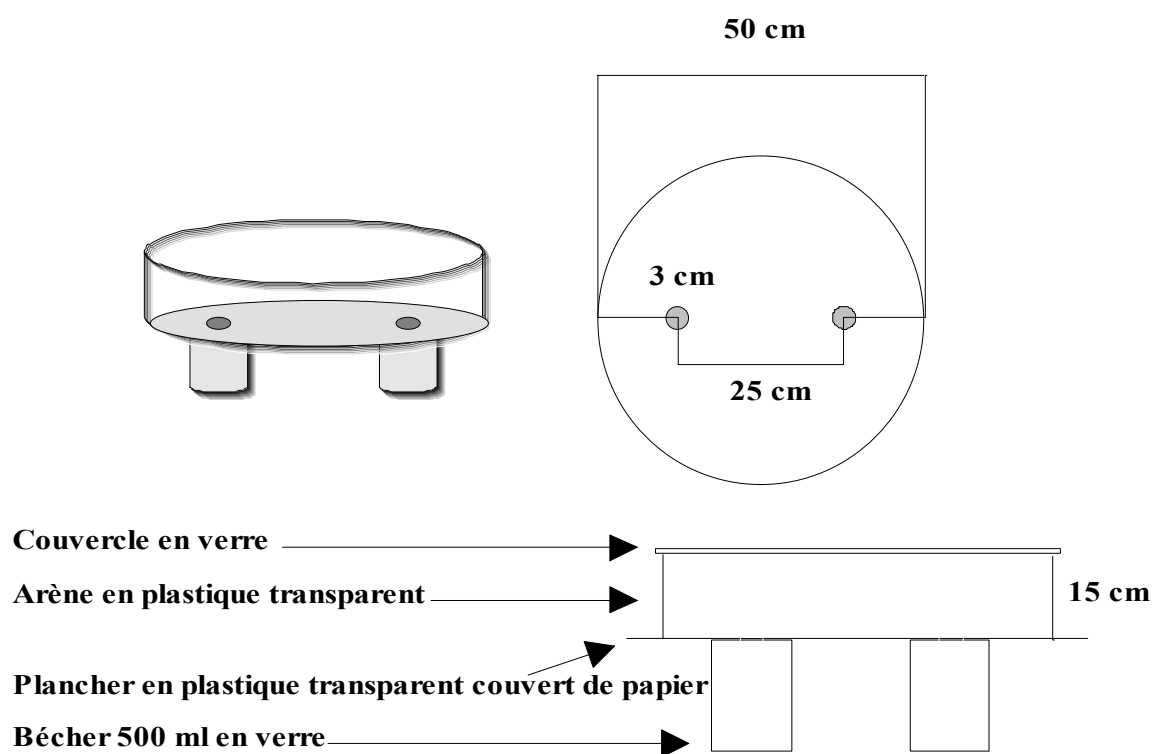


Figure 34 : Schéma de l'olfactomètre à deux puits.

Deux séries d'essais [avec les doses de 0,1 et 1  $\mu\text{g}$  de ferruginéol (EGNO-Chimie, Tancarville, France ; 99%) dans 1  $\mu\text{l}$  d'hexane contre 1  $\mu\text{l}$  d'hexane (MERCK, Allemagne, 99%)] ont été effectuées à Téhéran en 2002 avec le protocole utilisé en 2000, afin de vérifier s'il était possible d'enregistrer un niveau de réponse satisfaisant au ferruginéol dans

l'olfactomètre à deux puits à partir de *R. ferrugineus* maintenus dans de bonnes conditions et testés dans un environnement non contaminé par la phéromone. Les essais ont été réalisés avec deux olfactomètres à la fois. Soixante *R. ferrugineus* (30 femelles et 30 mâles) ont été testés pour la dose de 1 µg et 54 individus (27 femelles et 27 mâles) pour la dose de 0,1 µg de ferruginéol. Un microlitre de la solution de phéromone ou d'hexane a été déposé sur un papier filtre (2 × 2 cm). Les tests ont été effectués pendant les 4 premières heures de la nuit sous lumière rouge et à une température de 30 ± 2°C. L'orientation de l'olfactomètre dans la pièce a été changée après chaque test pour éviter le biais d'une éventuelle hétérogénéité lumineuse ou thermique. Le test a été annulé dans le cas où l'insecte est resté immobile au centre de l'olfactomètre pendant 15 mn et l'insecte testé a été considéré comme inactif. Sinon le test a été poursuivi pendant 30 mn. La présence de l'insecte suspendu au bord de l'entrée d'un puits a été considérée comme le critère de réponse.

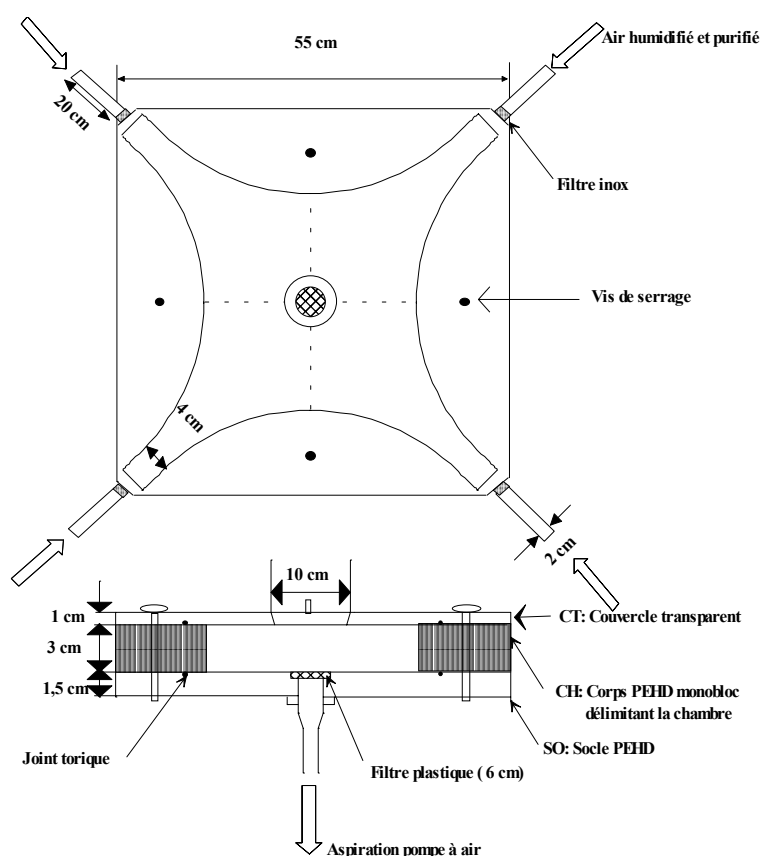
#### **4.2.1.3. Olfactomètre à quatre voies**

Un olfactomètre à quatre voies (Laucoin S.A., Thoiry, France), mis au point pour les tests comportementaux sur les coléoptères de grande taille a été utilisé. Il consiste en une chambre en forme d'étoile à 4 branches. Chaque branche est délimitée par deux arcs de cercles de 90°. L'air pénètre dans la chambre par chacune des branches et est évacué par un orifice situé au centre et à la base de la chambre (Figure 35). La géométrie particulière du système permet de créer quatre zones contiguës dont les atmosphères ne se mélangent pas. Une cinquième zone, circulaire (Ø = 9 cm), est définie au centre de la chambre où l'air des quatre zones se mélange. Le système est formé par trois parties principales : un socle (SO) en polyéthylène haute densité (PEHD) avec l'orifice de sortie d'air, une partie monobloc intermédiaire (CH) en PEHD qui permet de délimiter la chambre de l'olfactomètre et porte les quatre entrées d'air et enfin un couvercle transparent (CT). Deux joints toriques en néoprène assurent l'étanchéité entre les trois éléments. L'ensemble est connecté par des vis de serrage au milieu des quatre côtés de l'olfactomètre (Saïd, 1999).

Neuf séries de tests ont été effectuées en 2002-2003. Les stimuli et le nombre d'insectes testés dans chaque série sont présentés dans le Tableau 14. Dans la première série, nous avons étudié la réponse de l'insecte à 0,1 µg du ferruginéol (EGNO-Chimie, Tancarville, France ; 99%) dans l'hexane (Carlo Erba Reagenti ; > 98%). Dans les autres tests avec plusieurs stimuli, nous avons étudié l'effet phérosynergique de fragments de cœur de dattier conservés au laboratoire (en chambre froide et considérés comme 'frais', ou congelés), à différents

stades de fermentation (tests n°2-5), ou de 1 µl d'extraits issu des collectes d'effluves sur cœur de dattier (Cf. chapitre 1) utilisés pour les tests CPG-EAG (tests n°6-9).

Les tests ont été effectués durant les 5 premières heures de la nuit sous lumière rouge. Le test 1 et une partie des répétitions du test 2 ont été effectués à 30°C et les autres tests ont été réalisés à 25°C. Le débit pour chaque branche de l'olfactomètre a été de 500 ml/mn. La position des stimuli dans les zones de l'olfactomètre a été changée après chaque journée de tests pour éviter le biais d'une éventuelle hétérogénéité lumineuse ou thermique de la pièce.



**Figure 35** : Schéma de l'olfactomètre à quatre voies (d'après Saïd, 2003).

Les insectes qui sont restés pendant 10 mn au centre de l'olfactomètre après leur introduction ont été considérés comme inactifs et le test a été annulé. Dans le cas où l'insecte a été actif avant 10 mn, les durées relatives de fréquentation des quatre voies (sans le temps passé dans la zone centrale) ont été enregistrées à l'aide du logiciel Even 1.0 (Zagatti, INRA, France). L'enregistrement a duré 15 mn pour le test n°1. Après avoir comparé les réponses mesurées après 5, 10 et 15 mn (fréquentations relatives des voies), la réponse de l'insecte n'a été enregistrée que pendant 5 mn pour les autres tests.

#### 4.2.2. Etat physiologique de l'appareil reproducteur de femelles collectées sur dattiers ou capturées par piégeage olfactif

Trois échantillons de femelles de *R. ferrugineus* ont été collectés : 1) sur des dattiers infestés (n = 25) ; 2) par les pièges appâtés avec le cœur de dattier et le ferruginéol (n = 26) et 3) le mélange 27 et le ferruginéol (n = 23) pour dissection et observation de leur appareil reproducteur. Les femelles piégées n'ont été examinées que dans le cas où il n'y avait pas de mâles dans le même piège pour être sûr qu'aucun accouplement n'avait eu lieu après le piégeage. L'échantillonnage des femelles sur les palmiers n'a pas été effectué complètement au hasard : nous avons essayé de collecter les insectes qui n'étaient manifestement pas trop jeunes et extraits d'un cocon par accident lors de la dissection des arbres. L'absence de spermatozoïdes dans la spermathèque a été considérée comme un critère de virginité. Les œufs visibles dans les quatre ovarioles et les quatre trompes ont été comptés. Les œufs à peu près sphériques et situés vers l'apex des ovarioles ont été considérés comme les œufs jeunes et les œufs ovales ou nettement plus longs que larges et situés en aval des ovarioles ou dans les trompes ont été classés comme des œufs mûrs.

**Tableau 14** : Choix proposés en olfactomètre à quatre voies aux adultes de *Rhynchophorus ferrugineus* et nombre d'insectes testés.

| N° de test | Nb. d'insectes testés | Stimulus   |                      |       |        |
|------------|-----------------------|--|----------------------|-------|--------|
|            |                       | 1  | 2                    | 3     | 4      |
| 1          | 43 (21 ♀ et 22 ♂)     | Ferruginéol (0,1 µg)   | Hexane               | Vide  | Vide   |
| 2          | 27 (12 ♀ et 15 ♂)     | Cœur frais de palmier dattier                                | Ferruginéol (0,1 µg) | 1 + 2 | Hexane |
| 3          | 12 (8 ♀ et 4 ♂)       | Cœur frais de palmier dattier fermenté pendant 8 j           | Ferruginéol (0,1 µg) | 1 + 2 | Hexane |
| 4          | 24 (12 ♀ et 12 ♂)     | Cœur congelé de palmier dattier (1 j après décongélation)    | Ferruginéol (0,1 µg) | 1 + 2 | Hexane |
| 5          | 20 (11 ♀ et 9 ♂)      | Cœur congelé de palmier dattier (8-10 j après décongélation) | Ferruginéol (0,1 µg) | 1 + 2 | Hexane |
| 6          | 12 (6 ♀ et 6 ♂)       | Effluves de cœur de dattier frais (1 µl de l'extrait J0-4)   | Ferruginéol (0,1 µg) | 1 + 2 | Hexane |
| 7          | 23 (11 ♀ et 12 ♂)     | Effluves de cœur de dattier frais (1 µl de l'extrait J4-7)   | Ferruginéol (0,1 µg) | 1 + 2 | Hexane |
| 8          | 12 (6 ♀ et 6 ♂)       | Effluves de cœur de dattier frais (1 µl de l'extrait J7-10)  | Ferruginéol (0,1 µg) | 1 + 2 | Hexane |
| 9          | 24 (12 ♀ et 12 ♂)     | Effluves de cœur de dattier congelé (1 µl de l'extrait J0-4) | Ferruginéol (0,1 µg) | 1 + 2 | Hexane |

Le test du  $\chi^2$  a été utilisé pour comparer la proportion de femelles vierges des différents échantillons. Les nombres d'œufs jeunes, mûrs et totaux et le pourcentage d'œufs jeunes dans les ovaires ont été comparés dans les trois échantillons à l'aide d'analyses de variance non-paramétriques à un facteur (test de Kruskal-Wallis). La méthode de comparaisons multiples au seuil de 5% a été utilisée pour comparer les moyennes des échantillons le cas échéant.

#### **4.2.3. Etude de la mobilité des adultes de *R. ferrugineus* au cours de la journée**

La mobilité de 100 adultes de *R. ferrugineus* a été étudiée en conditions semi naturelles à Saravan les 9 et 15 octobre 2002. Chacun des deux jours, 50 charançons (deux lots distincts de 25 mâles et 25 femelles), collectés dans des dattiers, ont été placés individuellement dans des boîtes cylindriques en plastique blanc ( $\text{Ø} \times \text{h} : 15 \times 10 \text{ cm}$ ). Chaque boîte contient  $\approx 5 \text{ cm}$  de sciure non résineuse, un morceau de pomme et un mouchoir en papier humide. L'ouverture des boîtes a été fermée à l'aide de moustiquaire et d'un élastique. Toutes les boîtes ont été mises dans les conditions extérieures à l'abri de la lumière directe du soleil. Les insectes ont été visités toutes les heures à partir de 5h00 (lever du soleil) jusqu'à 18h00 (coucher du soleil à  $\approx 16\text{h}45$ ). La température et l'humidité relative extérieures ont été enregistrées à chaque visite. Les nombres d'insectes cachés dans la sciure, immobiles, en marche, essayant de voler et tombés sur le dos ont été enregistrés à chaque visite. La mobilité des insectes (marche ou tentative de vol) a été enregistrée à chaque heure.

### **4.3. Résultats et Discussion**

#### **4.3.1. Evaluation de la réponse de *R. ferrugineus* à la phéromone synthétique et aux extraits de matériel végétal dans deux types d'olfactomètre au laboratoire**

##### ***4.3.1.1. Olfactomètre à deux puits***

Le comportement des insectes dans l'olfactomètre a été identique à celui observé en 2000 où ils manifestaient une activité faible. A l'arrivée à l'entrée d'un puits, l'insecte y entrait prudemment en se suspendant par les pattes, incliné sur le côté. Dans cette position, il essayait de descendre dans le bécot en tournant autour du puits. La majorité des individus ressortaient du puits après quelques temps d'effort pour y descendre. Le séjour d'un insecte suspendu au bord d'un trou avait été choisi comme le critère de la réponse en 2000. Selon ce critère,  $59 \pm 14\%$  des individus ont répondu, alors que seulement  $26 \pm 10\%$  sont tombés dans les puits pendant les différents tests (Avand-Faghih, 2000). La même proportion d'individus a été mobile après 15 mn en 2000 (87%) et 2002 (86%), mais le nombre des insectes ayant répondu



au stimulus a été plus important en 2002 qu'en 2000. Les résultats des essais sont présentés dans le Tableau 15.

Les deux sexes ont présenté le même niveau d'activité (90%) et de réponse (67%) au cours de l'essai avec 1 µg de ferruginéol. L'activité et la réponse des femelles ont été identiques à la dose de 0,1 µg alors qu'elles ont baissé chez les mâles (74% des mâles actifs et 55% de réponse). La réponse à la phéromone aux deux doses a été plus importante chez les femelles que chez les mâles, significative aux deux doses chez les femelles ( $P < 0,001$  pour 1 µg et  $P < 0,01$  pour 0,1 µg) et uniquement à 1 µg chez les mâles ( $P < 0,001$ ). Les résultats montrent clairement que le seuil de réponse est plus élevé chez les mâles que chez les femelles. Les résultats sont en accord avec les données de piégeage sur le terrain où les pièges capturent plus de femelles que les mâles. L'olfactomètre à deux puits peut donc être utilisé avec le protocole établi en 2000 comme un outil de laboratoire pour faire les tests comportementaux avec le matériel vivant maintenu correctement en élevage et utilisé dans un local exempt de contamination odorante.

**Tableau 15** : Réponses de *Rhynchophorus ferrugineus* à deux doses de phéromone synthétique (ferruginéol) en olfactomètre à deux puits.

| N° de l'essai | Stimulus              | Témoin | Sexe     | Testés | Inactifs | Actifs | Sans choix | Réponses (Choix) |          |        |
|---------------|-----------------------|--------|----------|--------|----------|--------|------------|------------------|----------|--------|
|               |                       |        |          |        |          |        |            | Total            | Stimulus | Témoin |
| 1             | 1 µg de ferruginéol   | Hexane | Femelles | 30     | 3        | 27     | 9          | 18               | 18**     | 0      |
|               |                       |        | Mâles    | 30     | 3        | 27     | 9          | 18               | 15**     | 3      |
|               |                       |        | Total    | 60     | 6        | 54     | 18         | 36               | 33       | 3      |
| 2             | 0,1 µg du ferruginéol | Hexane | Femelles | 27     | 3        | 24     | 8          | 16               | 13*      | 3      |
|               |                       |        | Mâles    | 27     | 7        | 20     | 9          | 11               | 7        | 4      |
|               |                       |        | Total    | 54     | 10       | 44     | 17         | 27               | 20       | 7      |

\* :  $P < 0,01$  ; \*\* :  $P < 0,001$

#### 4.3.1.2. Olfactomètre à quatre voies

La proportion d'individus actifs dans le test n° 1 effectué avec le ferruginéol (100 µg) comme stimulus (14 individus actifs sur 43 testés : 33%) a été 2,3 fois plus faible que lors des tests réalisés avec l'olfactomètre à deux puits en 2000 et 2002. Les *R. ferrugineus* ont été beaucoup moins mobiles et réceptifs à leur phéromone dans ce système que les *R. palmarum* chez lequel près de 100% des individus ont répondu avant 5 mn (Saïd, 1999).

Le test n° 1 a été réalisé entre 37 et 52 j après l'arrivée des insectes en France, ce qui est un délai important par rapport à la durée de vie des adultes. Les essais avec l'olfactomètre à deux puits ont été effectués en Iran moins d'un mois après la récolte des insectes sur le terrain. L'emploi d'insectes en fin de vie pourrait expliquer ce faible niveau de réponse, observé de nouveau lors des tests n°2-9 où seulement entre 8 et 42% des individus ont été actifs. D'après les observations de I. Saïd au cours des tests comportementaux sur *R. palmarum*, l'activité des individus de cette espèce diminue environ un mois après l'arrivée des insectes au laboratoire.

Cependant, il n'y a pas eu de différence entre la proportion d'individus actifs (8%) dans le test n°3 effectué 88 j après l'arrivée des insectes en octobre 2002 et le test n°9 réalisé 20 j après l'arrivée d'un second lot d'insectes en janvier 2003 en France (durée entre collecte des insectes et envoi inconnue). Les *R. ferrugineus* quel que soit leur temps de séjour au laboratoire sont donc très peu mobiles dans l'olfactomètre ce qui pose un problème pour l'évaluation de leur réponse à des odeurs au laboratoire.

Une réponse positive à 100 ng de la phéromone a été mise en évidence dans le test n°1 malgré le nombre faible d'insectes actifs. Les durées relatives de la fréquentation dans la zone de la phéromone et celle de l'hexane ont respectivement diminué et augmenté en élevant le temps d'observation (Tableau 16). Ce changement pourrait traduire une disparition de la phéromone au cours du temps et/ou l'habituation de l'insecte au stimulus. La meilleure réponse à la phéromone a été obtenue avec 5 mn d'observation, ce qui a été choisi pour les autres tests. Le même résultat a été obtenu chez *R. palmarum* (Saïd, 2003).

**Tableau 16** : Fréquentation relative des quatre voies de l'olfactomètre par *Rhynchophorus ferrugineus* dans le test n°1 en fonction de la durée de l'observation.

| Durée d'observation (mn) | Pourcentage du temps passé dans la voie |        |      |      |
|--------------------------|---|--------|------|------|
|                          | Ferruginéol (100 ng)                    | Hexane | Vide | Vide |
| 5                        | 50%                                     | 5%     | 21%  | 24%  |
| 10                       | 42%                                     | 12%    | 28%  | 18%  |
| 15                       | 31%                                     | 20%    | 26%  | 23%  |

Les essais 2-9 avec plusieurs stimuli à la fois, n'ont montré aucun effet phérosynergique du matériel végétal ou des extraits d'effluves (Tableau 17). Le nombre d'insectes réceptifs n'a pas été suffisant pour tirer des conclusions fiables. L'effet phérosynergique de 20 µl de jus de

canne à sucre sur 100 ng de phéromone de *R. palmarum* a été démontré chez cette espèce dans les essais avec 20 individus (10 femelles et 10 mâles) et dans le même olfactomètre à quatre voies (Saïd, 1999). Si un effet du végétal sur *R. ferrugineus* existe, la réceptivité beaucoup plus faible des individus de cette espèce exige un nombre beaucoup plus important de répétitions, impossible à réaliser à cause du nombre limité d'insectes disponibles au laboratoire.

Pour tenter de comprendre l'origine du très faible niveau de réponse des insectes testés aux produits sémiochimiques, nous avons examiné l'état physiologique de l'appareil reproducteur de femelles piégées sur le terrain et étudié la mobilité des *R. ferrugineus* au cours de la journée pour essayer d'optimiser les conditions des tests olfactométriques au laboratoire.

**Tableau 17** : Durées relatives de fréquentation des quatre voies par *Rhynchophorus ferrugineus*.

| N° du test | Effectifs |         |     | Stimulus |       |        |
|------------|-----------|---------|-----|----------|-------|--------|
|            | Testés    | Actifs  | P   | K        | P + K | Hexane |
| 2          | 27        | 6 (22%) | 17% | 72%      | 11%   | 0%     |
| 3          | 12        | 1 (8%)  | 0%  | 14%      | 86%   | 0%     |
| 4          | 24        | 5 (21%) | 0%  | 71%      | 27%   | 2%     |
| 5          | 20        | 6 (30%) | 36% | 34%      | 30%   | 0%     |
| 6          | 12        | 5 (42%) | 72% | 12%      | 15%   | 1%     |
| 7          | 23        | 7 (30%) | 1%  | 21%      | 31%   | 47%    |
| 8          | 12        | 3 (25%) | 10% | 71%      | 0%    | 19%    |
| 9          | 24        | 2 (8%)  | 43% | 19%      | 6%    | 32%    |

P : Phéromone ; K : stimulus d'origine végétale

#### 4.3.2. Etat physiologique de l'appareil reproducteur des femelles collectées sur dattiers ou capturées par piégeage olfactif

Les moyennes du nombre d'œufs jeunes et mûrs par insecte d'échantillons différents ont été présentées dans le Tableau 18. Un nombre total d'œufs de  $84 \pm 32$ ,  $88 \pm 26$  et  $85 \pm 28$  (moyenne  $\pm$  écart type) par femelle a été trouvé dans l'appareil reproducteur des femelles provenant respectivement des palmiers, des pièges avec le mélange phérosynergiste 27 plus phéromone et des pièges avec cœur de dattier plus phéromone. Il n'y a pas de différence significative entre ces valeurs ( $H = 0,81$  ;  $ddl = 2$  ;  $P = 0,67$ ), ni dans le nombre d'œufs jeunes ( $H = 5,79$  ;  $ddl = 2$  ;  $P = 0,055$ ) et d'œufs mûrs ( $H = 1,22$  ;  $ddl = 2$  ;  $P = 0,543$ ). Le pourcen-

tage d'œufs jeunes chez les femelles piégées par le matériel végétal et la phéromone (42%) est significativement moindre que celui des autres femelles (49 et 48% ;  $H = 13,30$  ;  $ddl = 2$  ;  $P = 0,001$ ). Autrement dit, les femelles piégées par la phéromone et le matériel végétal sont un peu plus matures que les femelles prélevées sur dattiers ou piégées par la phéromone et le mélange 27. Un échantillonnage vraiment aléatoire des insectes sur les palmiers aurait vraisemblablement amplifié cette différence puisque nous n'avons volontairement pas ramassé les femelles très jeunes, issues de nymphes présentes dans l'arbre.

Notre résultat est en accord avec l'hypothèse que ce sont surtout des femelles ayant atteint une certaine maturité qui volent pour trouver de nouveaux sites pour pondre et que c'est pendant cette période qu'elles sont capturées par les pièges à phéromone.

**Tableau 18** : Nombres (moyenne  $\pm$  écart type) d'œufs jeunes et d'œufs mûrs dans l'appareil reproducteur des femelles de *Rhynchophorus ferrugineus* collectées sur dattiers ou capturées par pièges olfactifs.

| Lieu d'échantillonnage                | Œufs jeunes | Œufs mûrs dans les |            |             | Total       |
|---------------------------------------|-------------|--------------------|------------|-------------|-------------|
|                                       |             | ovarioles          | trompes    | Total       |             |
| Palmiers dattiers                     | 41 $\pm$ 16 | 31 $\pm$ 14        | 11 $\pm$ 7 | 43 $\pm$ 18 | 84 $\pm$ 32 |
| Pièges à phéromone + matériel végétal | 36 $\pm$ 13 | 35 $\pm$ 12        | 14 $\pm$ 8 | 49 $\pm$ 17 | 85 $\pm$ 28 |
| Pièges à phéromone + mélange 27       | 42 $\pm$ 14 | 33 $\pm$ 12        | 13 $\pm$ 7 | 46 $\pm$ 15 | 88 $\pm$ 26 |

Parmi les femelles échantillonnées sur les palmiers ou dans les pièges appâtés avec phéromone et matériel végétal ou mélange 27, respectivement 19, 24 et 21% sont vierges. Il n'y a pas de différence significative entre les taux de virginité des différents échantillons. Il ne semble donc pas y avoir de relation entre l'accouplement et la réponse aux signaux sémi-chimiques.

Les femelles piégées dans une cocoteraie à Goa (Inde) ont vécu  $\approx 70$  j au laboratoire sur une nourriture naturelle. Chaque femelle a pondu en moyenne 164 œufs pendant sa vie dont 55% ont éclos ; 13% des femelles étaient vierges (Faleiro *et al.*, 2003). Les données de ce travail ont montré que les femelles capturées par les pièges appâtés avec du végétal et la phéromone sont jeunes, gravides et fertiles et sont en accord avec nos propres résultats.

D'après ces observations, il est plus judicieux d'utiliser des insectes accouplés et assez jeunes pour les tests comportementaux au laboratoire qui semblent constituer l'essentiel des insectes réceptifs (pris dans des pièges olfactifs).

### 4.3.3. Etude sur l'activité des adultes de *R. ferrugineus* au cours de la journée

L'activité d'adultes de *R. ferrugineus* de deux sexes au cours de la journée est montrée sur les Figures 36 et 37 page suivante. En moyenne,  $79 \pm 14\%$  des femelles et  $92 \pm 13\%$  des mâles étaient cachés dans la sciure au cours des visites effectuées dans la journée.

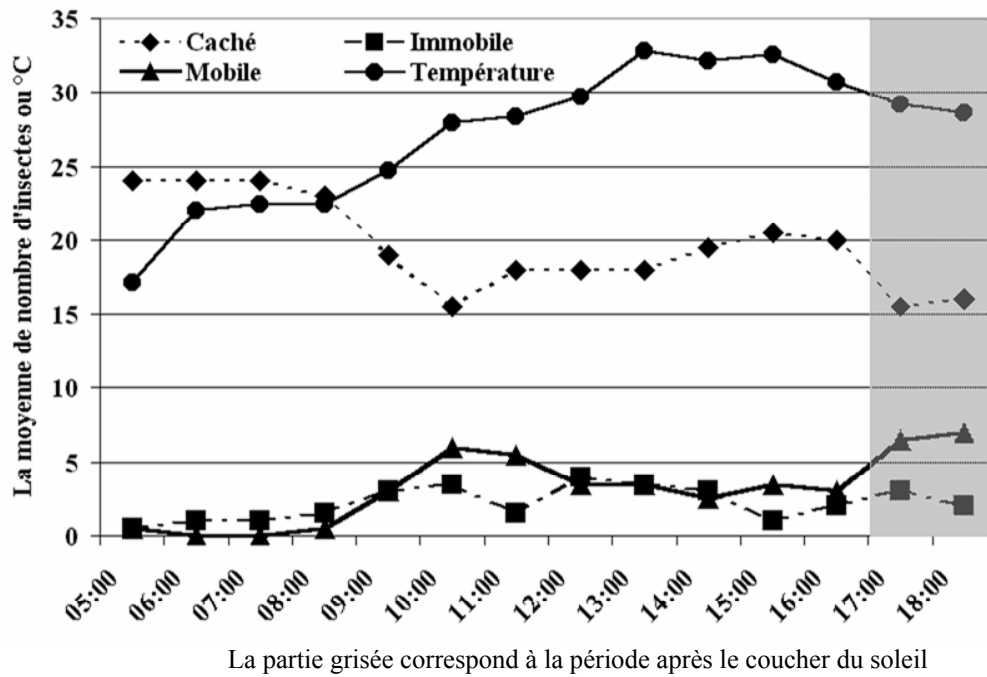
Parmi les insectes visibles, en moyenne  $49 \pm 29\%$  des femelles et  $9 \pm 19\%$  des mâles étaient immobiles et seulement  $13 \pm 11\%$  des femelles et  $7 \pm 12\%$  des mâles ont montré une activité locomotrice (marche et tentative d'envol).

Tous les individus étaient cachés au début de la journée et les premiers mouvements ont été observés à 8h00 à une température de 22°C. L'activité des insectes a continué pendant toute la journée. Les insectes ont été moins mobiles entre 14h00 et 15h00 le 9/10/2002 suite à un coup de vent. L'activité des femelles a été relativement continue et celle des mâles plus épisodique, surtout pour essayer de voler. La température a varié entre 25 et 35°C au cours de l'activité des insectes. Un premier pic d'activité des mâles a été observé entre 10h00 et 11h00 (28-29°C) mais inférieur à celui des femelles. Un second pic d'activité des mâles a été remarqué au crépuscule, entre 17h00 et 18h00 (coucher du soleil à 16h45 le 9/10/2002. 28-30°C). Cette activité des mâles au début de la soirée, à 18h00 a dépassé celle de femelles. Le maximum de mobilité de la journée a été observé à cette période pour les deux sexes.

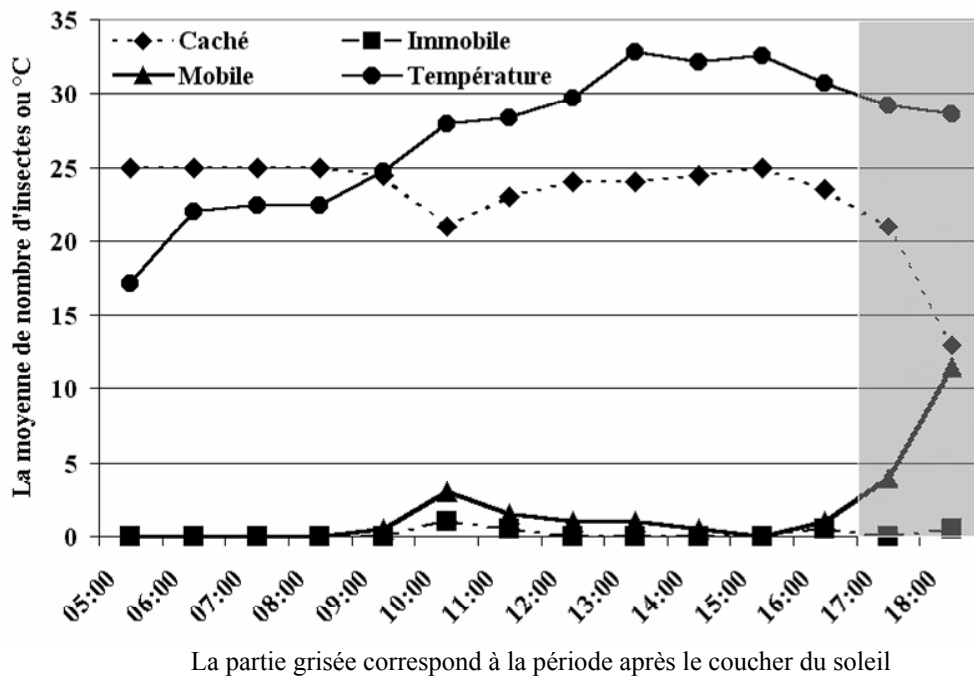
Le maximum de l'activité de *R. palmarum* a été observé entre 10h00 et 12h00 et 16h00 et 18h30 (Hernández *et al.*, 1992) ce qui montre la ressemblance de ces deux espèces au niveau du rythme d'activité pendant la journée.

Les résultats montrent que la réalisation des tests comportementaux au laboratoire aux premières heures de la nuit sous lumière rouge est convenable. Une température entre 28 et 30°C semble nécessaire pour avoir un maximum de réponses.

Les adultes de *R. ferrugineus* ont été peu mobiles comme dans les tests olfactométriques. L'immobilité considérable des adultes est une limitation très importante pour réaliser les tests comportementaux au laboratoire.



**Figure 36** : Activité des individus femelles de *Rhynchophorus ferrugineus* au cours de la journée (moyenne de deux lots de 25 individus, chacun observé une journée).



**Figure 37** : Activité des individus mâles de *Rhynchophorus ferrugineus* au cours de la journée (moyenne de deux lots de 25 individus, chacun observé une journée).

## 5. Approche sur le terrain par piégeage olfactif

### 5.1. Introduction

L'étude de la réponse d'un insecte à un message olfactif (odeurs phéromonales ou végétales) par des tests comportementaux au laboratoire offre la possibilité de déterminer son effet biologique dans des conditions contrôlées et dans des délais généralement plus courts qu'en expérimentation de terrain. Cependant cette démarche nécessite des dispositifs et des méthodes bien adaptés à l'espèce étudiée, ce qui n'est pas toujours possible et empêche parfois cette approche. Par ailleurs, reproduire la totalité d'une séquence comportementale, depuis un effet attractif à longue distance impliquant un vol jusqu'au contact d'une source olfactive est difficile au laboratoire surtout pour des espèces de grande taille. Ainsi, l'étude des réponses olfactives réalisée sur *R. palmarum* en olfactomètre à quatre voies est limitée à la dernière étape de la séquence comportementale, c'est-à-dire la marche de l'insecte vers la source odorante à courte distance (20 cm), et n'intègre pas les autres phases de la réponse à longue distance comme l'envol, le vol vers la source d'odeur et l'atterrissage.

Cet inconvénient a conduit dans plusieurs cas à des résultats contradictoires entre le laboratoire et le terrain. Par exemple, l'étude de l'effet comportemental du *n*-pentanol à l'aide d'un olfactomètre en Y, a démontré l'attractivité de ce produit mais pas d'effet phérosynergique chez *R. ferrugineus*. Par contre, un effet synergique avec le ferruginéol a été mis en évidence dans un essai du piégeage sur le terrain où le *n*-pentanol seul n'avait aucune attractivité à la dose testée. D'autre part, le *n*-pentanol et le *n*-propanol avaient été plus attractifs que le ferruginéol en olfactomètre alors qu'ils n'ont permis de capturer aucun insecte sur le terrain (Gunawardena & Herath, 1995).

Le piégeage sur le terrain a été utilisé dans plusieurs cas pour cribler des phérosynergistes. Cette méthode, au contraire des études au laboratoire, est lourde. Mais dans une perspective de mise au point d'une application agronomique, objectif de cette thèse, son succès permet de disposer de résultats fiables dans les conditions naturelles et complexes d'un agro-écosystème. Pour développer le piégeage olfactif de *Metamasius hemipterus sericeus* (Olivier) en Floride, l'attractivité de l'acétate d'éthyle, du propionate d'éthyle et du butyrate d'éthyle ainsi que les effets phérosynergiques de l'acétate d'éthyle et la canne à sucre ont été démontrés par piégeage dans une bananeraie par Giblin-Davis *et al.* (1996b) et Perez *et al.* (1997), aboutissant à l'optimisation d'un mélange semi-synthétique (250 g de canne à sucre, 3 mg/j de phéromone et 400-800 mg/j d'acétate d'éthyle).

Nous avons entamé un criblage des propriétés phérosynergiques de molécules synthétiques pour *R. ferrugineus* à partir de données bibliographiques en référence au tissu du dattier lors du stage de DAA (Avand-Faghih, 2000). Les mélanges testés ont montré des effets phérosynergiques contrastés. Parmi les 21 mélanges étudiés (à base d'éthanol : EtOH et d'acétate d'éthyle : EtAc) regroupant 71 molécules identifiées chez les plantes-hôtes des charançons de palmiers (Annexe 2, Tableau 19), le mélange 27 avec 95% de mélange 50:50 (v/v) EtOH plus EtAc (désigné par la suite : 'mélange MAJ') et 5% de tiglate d'éthyle, acrylate d'éthyle et 3,3-diméthylacrylate d'éthyle (avec les mêmes proportions) a montré un effet phérosynergique plus intéressant en comparaison avec les autres mélanges testés et compétitif avec le cœur de dattier comme matériel végétal de référence au cours de l'essai effectué sur le terrain (Figure 38) (Avand-Faghih, 2000). En complément de ce volet, nous avons criblé l'effet phérosynergique de nouveaux produits ou mélanges selon la même approche (2001 et 2003). Un second volet du travail (2001-2002) a consisté en une évaluation complémentaire du mélange 27 et de mélanges dérivés pour préciser et améliorer son effet synergique avec la phéromone de *R. ferrugineus*.

## 5.2. Matériels et Méthodes

### 5.3.1. Pièges

Ce sont des seaux rouges en plastique (24 l ;  $\emptyset \times h$  : 34 × 32 cm) avec huit trous rectangulaires (5 × 8 cm) perforés radialement sur le couvercle blanc. Une solution aqueuse de détergent ménager (2%) a été versée au fond des pièges ( $\approx$  5 cm) afin de retenir les insectes et créer une humidité assurant une longévité optimale du matériel végétal en conditions désertiques dans les pièges. Les appâts (diffuseurs de phéromone et/ou de synergiste synthétique putatif, tissu ou jus de dattier) ont été suspendus au couvercle dans les pièges (Figure 39). Les pièges ont été attachés aux stipes des dattiers sur le sol.

### 5.3.2. Matériel végétal

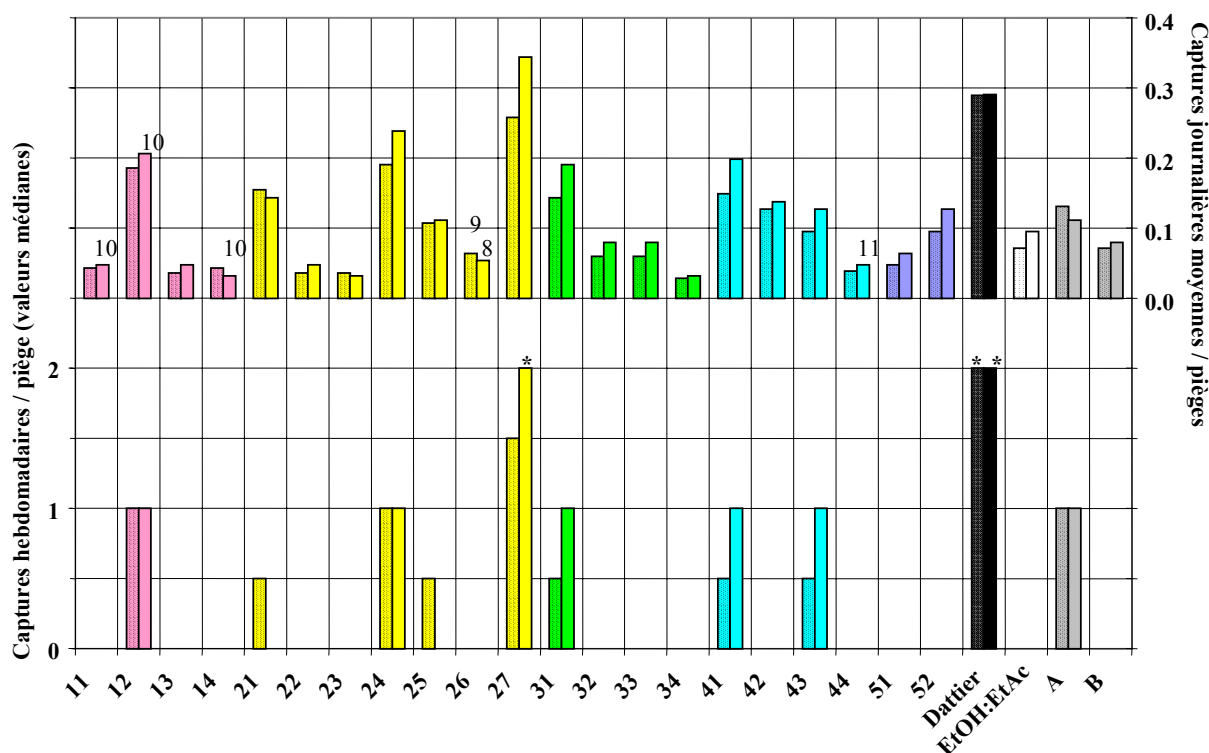
Le cœur ('stipe') de rejets de dattiers de la variété Mazafati a été utilisé comme co-attractif phéromonal naturel et sert de référence. Un morceau de  $\approx$  1 kg (poids frais) a été utilisé en routine sauf cas particuliers précisés. Chaque morceau de dattier a été mis dans un sac en plastique perforé pour éviter sa déshydratation rapide en condition très chaude et sèche du lieu des essais (Avand-Faghih, 2000).

Pour l'essai 20 (étude de l'effet phérosynergique du matériel végétal sous différentes



formes) : 1) le cœur de dattier a été congelé (10-11 j de congélation) ; 2) le jus fermenté du cœur de dattier a été obtenu par pression du cœur de dattier broyé (conservé au réfrigérateur à  $\approx 4^{\circ}\text{C}$  pendant 5 j avant le début de l'essai) ; 3) un extrait de 300 g de cœur de dattier, fermenté dans les conditions naturelles (3 j dans un piège attaché à un palmier dattier) a été obtenu avec 400 ml de 'mélange MAJ' puis a été testé comme phérosynergiste semi synthétique. Les petits morceaux ( $\approx 1 \text{ cm}^3$ ) du cœur de dattier ont été conservés dans le 'mélange MAJ' pendant 2 j au réfrigérateur ( $\approx 4^{\circ}\text{C}$ ) pour obtenir cet extrait.

Le cœur de dattier congelé a été mis dans un sac plastique perforé et le jus dans un flacon en verre ouvert. Le même type de diffuseur de mélanges synthétiques a été utilisé pour cet extrait.



Le matériel végétal et tous les mélanges synthétiques ont été testés en association avec la phéromone.

\* : Effet significativement différent de l'effet moyen ;  $P < 0.05$  (Test de Kruskal Wallis)

Histogramme supérieur : valeurs moyennes ; histogramme inférieur : valeurs médianes.

Captures totales = 234 (201) pour 4 (3) blocs. Barres gauches (droites) sur le graphique.

Dattier :  $n = 32$  (24) ; Kairomones synthétiques :  $n = 12$  (9) sauf mentions contraires.

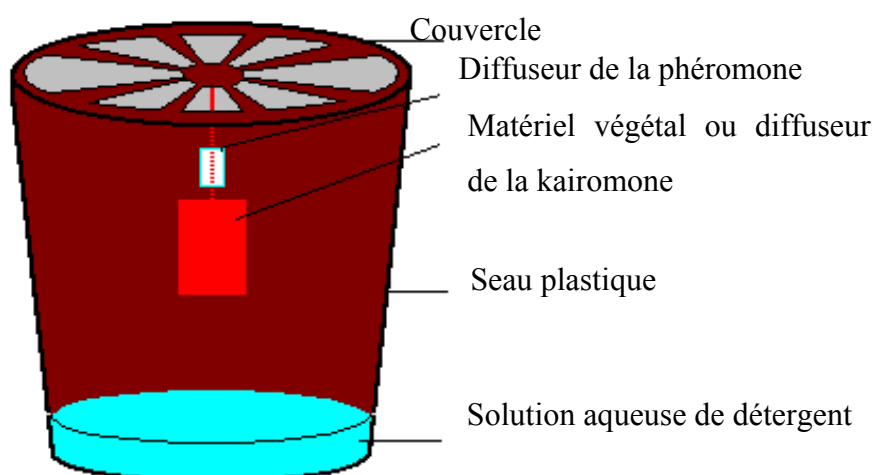
**Figure 38** : L'effet phérosynergique des mélanges synthétiques avec composés minoritaires testés sur le terrain en 2000 (Avand-Faghieh, 2000).

### 5.3.3. Diffuseur d'odeurs synthétiques

Phéromone. Nous avons bénéficié de diffuseurs fournis par la société AgriSense-BCS Ltd (Royaume-Uni), commercialisés sous le nom de « *Rhynchophorus Ferrugineus Phero-*

*mone lure*» et contenant 700 mg d'un mélange de ferruginéol (88,55%), ferruginéone (10,45%) et matériel inerte (1%).

Odeurs d'origine végétale évaluées comme phérosynergistes. Nous avons utilisé soit des poches de 70 cm<sup>2</sup> (aire pour 1 face) fabriquées à partir d'un film plastique bicouche fourni par la société AgriSense-BCS Ltd (Royaume-Uni) soit des diffuseurs Kartell n°731 (2,5 ml ; Italie) avec un trou de Ø = 1 mm sur le couvercle pour les mélanges. Nous avons essayé d'obtenir une diffusion plus importante de produits purs (essai 4) ou de mélanges (essais 3 et 9) en utilisant des diffuseurs Kartell n° 731 par rapport à la diffusion obtenue par les poches décrites plus haut. Des poches de 35 et 17,5 cm<sup>2</sup> (aire pour 1 face) de plastique bicouche (AgriSense-BCS Ltd) ont été utilisées dans l'essai 11 pour obtenir les faibles doses recherchées (étalonnage à partir d'un test effectué au laboratoire). La dose élevée a été obtenue avec trois diffuseurs de 70 cm<sup>2</sup> dans un piège.



**Figure 39** : Schéma du piège utilisé pour les essais de terrain.

#### 5.3.4. Odeurs végétales synthétiques

Dix-huit mélanges contenant une fraction majoritaire (95% du volume total) de 'mélange MAJ' et une fraction minoritaire (5% en volume total) constituées de deux à six molécules ont été testés. Les molécules de chaque fraction minoritaire sont présentées en proportions égales (volume). Les constituants d'une fraction minoritaire ont des structures chimiques apparentées (mélanges 11 à 63) ou regroupent des molécules présentant une même propriété biologique (mélanges EAG avec les produits actifs au niveau antennaire). Les diverses fractions minoritaires ont englobé deux mélanges d'alcools (12, 15), cinq mélanges d'esters (24, 27, 28, 29, 2A), un mélange d'acides (31), un mélange de lactones (35), deux

mélanges de composés aromatiques (= benzéniques) (41, 45), deux mélanges de monoterpènes (53, 54), trois mélanges de cétones (61, 62, 63), un mélange de 2,3-butanediol et d'acétoïne (16) et pour un mélange des produits criblés par EAG (EAG) (Annexe 2 ; Tableau 19). Deux mélanges complexes à base de produits identifiés dans le cœur de dattier fermenté après 1 jour (mélange MJ1) et 2 jours (mélange MJ2) ont été testés ainsi que le synergiste complexe de la phéromone du *R. palmarum* (mélange G ; [Rochat et al., 2000a](#)). Les constituants des mélanges MJ1, MJ2, G et H (un autre phérosynergiste synthétique de *R. palmarum* testé en 2000) sont présentés dans le Tableau 20.

**Tableau 20** : Proportions (en % du volume) des constituants des mélanges MJ1, MJ2\*, MJ2, G et H.

| <b>Composants</b>             | <b>MJ1</b> | <b>MJ2*</b> | <b>MJ2</b> | <b>G</b> | <b>H</b> |
|-------------------------------|------------|-------------|------------|----------|----------|
| Méthanol                      |            |             |            |          | 0,2      |
| Ethanol                       | 35,3       | 24,9        | 29,9       | 62,7     | 59       |
| 2-Méthylbutanol               |            | 0,3         | 0,1        |          | 0,2      |
| Isopentanol                   | 0,1        | 0,9         | 0,3        |          | 0,8      |
| Butane-2,3-diol               | 19,4       | 19,6        | 18,9       | 2,6      | 2,7      |
| Acétate de méthyle            |            | 1           | 1,2        |          |          |
| Acétate d'éthyle              | 35,3       | 37          | 44,5       | 70,4     | 66,2     |
| Acétate de propyle            |            |             |            |          | 0,8      |
| Acétate d'isobutyle           |            |             |            |          | 2        |
| Acétate d'isoamyle            | 0,1        | 0,2         | 0,3        |          | 0,8      |
| Propionate d'éthyle           |            |             |            |          | 0,8      |
| Propionate d'isobutyle        |            |             |            |          | 0,2      |
| Butyrate d'éthyle             |            |             |            |          | 0,8      |
| Isovalérate d'éthyle          |            |             |            |          | 0,2      |
| Octanoate d'éthyle            |            |             |            | 0,2      | 0,2      |
| Décanoate d'éthyle            |            |             |            | 0,2      | 0,2      |
| Tiglate d'éthyle              |            |             |            | 0,3      | 0,3      |
| 3,3-Diméthylacrylate d'éthyle |            |             |            | 0,3      | 0,3      |
| Acide acétique                | 6          | 0,2         | 0,2        |          | 1        |
| Acide isobutyrique            |            | 0,1         | 0,1        |          |          |
| Acide isovalérique            |            | 0,1         | 0,1        |          |          |
| Phénol                        | 0,5        | 0,4         | 0,4        | 1,4      | 1,4      |
| Guaïacol                      | 0,1        | 0,1         | 0,1        | 1,4      | 1,4      |
| 2-Phényléthanol               |            | 0,4         | 0,5        | 2        | 2        |
| Acétate de phénéthyle         |            | 0,3         | 0,3        |          |          |
| Hexan-2-one                   |            |             |            | 1,4      | 1,4      |
| Heptan-2-one                  |            |             |            | 0,3      | 0,3      |
| Nonan-2-one                   | 1,6        |             |            | 0,6      | 0,6      |
| Acétoïne                      | 1,6        | 14,6        | 3          | 6,5      | 6,6      |
| Acétaldéhyde                  |            |             |            |          | 0,8      |
| β-Phellandrène                |            |             |            | 0,3      | 0,3      |
| Menthone                      |            |             |            | 0,2      | 0,2      |

Les proportions de composés minoritaires d'associations de mélanges combinés dans un diffuseur (essai 7) et des mélanges simplifiés issus du mélange 27 (essais 13 et 14) ont été respectivement présentées dans les Tableaux 21 et 22.

L'effet phérosynergique des fractions minoritaires des mélanges 12, 24, 27, 31, 35, 41, 43, EAG et G (c'est-à-dire chacune évaluée sans éthanol ni acétate d'éthyle), de l'acétate d'éthyle, du propionate d'éthyle, du butyrate d'éthyle, du lactate d'éthyle et du gaz carbonique a été étudié. Le gaz carbonique a été produit par la réaction de trois moles de bicarbonate de sodium ( $\geq 99,5\%$ , Riedel de Haën : Période 1 et Merck, Allemagne : Période 2) avec une mole d'acide citrique ( $\geq 99,5\%$ , Riedel de Haën) : 4,56 g de bicarbonate de sodium a été ajouté dans l'eau au fond du piège, dans lequel la solution aqueuse de 3,48 g/l d'acide citrique a goutté pendant  $\approx 12$  h pour fournir un débit de  $\approx 200$  mg/h de  $\text{CO}_2$ . Une bouteille plastique (1 l) a été utilisée comme réservoir de solution d'acide citrique pendant la période 1 d'essai. La bouteille a été suspendue sous le couvercle du piège et la solution s'est écoulée par un petit trou perforé avec une aiguille entomologique). La bouteille plastique a été remplacée par un appareil de perfusion pendant la période 2 pour éviter le problème de cristallisation de la solution au niveau du trou empêchant la solution de couler. La vanne sur le tuyau de l'appareil de perfusion permettait de mieux maîtriser le débit de la solution d'acide citrique s'écoulant par un tuyau de 4 mm de diamètre.

### 5.3.5. Protocole expérimental

Tous les essais ont été effectués dans les palmeraies infestées par *R. ferrugineus* dans les faubourgs de Saravan (Province de Sistan & Baloutchistan en Iran) selon un dispositif en blocs complets équilibrés (sauf 18 et 19). La distance entre les pièges et entre les blocs a été respectivement de 80 m, et au minimum de 200 m. Chaque essai a été répété plusieurs fois au cours du temps (périodes). A chaque période, les traitements ont été redistribués dans chaque bloc, le matériel végétal a été renouvelé et les diffuseurs de phéromone et de mélanges synthétiques ont été pesés sauf pour les essais 2, 4 et 13, où le matériel végétal a été renouvelé toutes les semaines et les diffuseurs ont été pesés au début, après deux semaines et à la fin de chaque essai. Les taux de diffusions de la phéromone et des mélanges kairomonaux ont été estimés d'après les pertes des poids des diffuseurs et ils sont présentés dans le Tableau 23 (Annexe 2, p. 163).

Les essais 18 et 19 ont été réalisés selon un dispositif en randomisation totale (5 et 6 répétitions respectivement). Chaque essai comprend cinq traitements comparés selon trois

combinaisons de trois traitements disposées sur trois sites pendant une période. Chaque combinaison comprend 1 ou 2 traitement(s) commun(s). Chaque site reçoit successivement les trois combinaisons au cours des trois périodes de l'essai.

Les insectes capturés par les pièges ont été collectés et comptés pendant les relevés effectués au cours de chaque période. Le nombre de blocs, de périodes, de relevés et les autres caractéristiques de chaque essai ont été listés dans le Tableau 24. Pendant les relevés la solution de produit détergent a été ajoutée en cas de diminution due à l'évaporation, les diffuseurs vides ont été renouvelés et les pièges ou les appâts ont été remplacés en cas de vandalisme.

### **5.3.6. Analyses des résultats**

Les captures des pièges ont été comparées à l'aide d'une analyse de variance (modèle linéaire généralisé) à quatre facteurs [F1 : appât et F2 : relevé (deux facteurs fixes) ; F3 : bloc et F4 : période (deux facteurs aléatoires)] après transformation par  $\ln(x+1)$ , suivie de tests de comparaisons multiples des moyennes (test de simultanéité de Tuckey,  $P = 5\%$ ) réalisés à l'aide du logiciel MINITAB version 12.2 (MINITAB Inc., 1998).

Le facteur 'période' n'a pas été utilisé pour les analyses des résultats des essais 1, 7 et 13 où les traitements n'ont pas été redistribués au cours du temps. Le facteur 'relevé' correspond à une périodicité hebdomadaire, les calculs étant effectués sur la somme des captures obtenues pour deux relevés consécutifs réalisés après 3 et 4 ou 4 et 3 jours.

Deux analyses indépendantes ont été effectuées pour les deux périodes de l'essai 9, réalisées à environ 3 mois d'intervalle avec deux dispositifs différents de production de gaz carbonique. Les facteurs testés pour les essais 18 et 19 ont été : F1 : appât (facteur fixe), F2 : répétition et F3 : site (deux facteurs aléatoires). Les résultats des analyses de variances sont présentés dans les Tableaux 25 et 26.

**Tableau 21** : Proportions (en % du total) de composés minoritaires des associations des mélanges 12, 24, 27, 31 et 41 testés dans l'essai 7.

| Mélange | Produit                       | Association |             |             |             |             |                |
|---------|-------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|----------------|
|         |                               | 12+24+27+31 | 12+24+27+41 | 12+24+31+41 | 12+27+31+41 | 24+27+31+41 | 12+24+27+31+41 |
| 12      | Butanol                       | 0,31        | 0,31        | 0,31        | 0,31        |             | 0,25           |
|         | 2-Méthylbutanol               | 0,31        | 0,31        | 0,31        | 0,31        |             | 0,25           |
|         | Isopentanol                   | 0,31        | 0,31        | 0,31        | 0,31        |             | 0,25           |
|         | Pentanol                      | 0,31        | 0,31        | 0,31        | 0,31        |             | 0,25           |
| 24      | Acétate de méthyle            | 0,31        | 0,31        | 0,31        |             | 0,31        | 0,25           |
|         | Acétate d'isopropyle          | 0,31        | 0,31        | 0,31        |             | 0,31        | 0,25           |
|         | Acétate de propyle            | 0,31        | 0,31        | 0,31        |             | 0,31        | 0,25           |
|         | Acétate d'isobutyle           | 0,31        | 0,31        | 0,31        |             | 0,31        | 0,25           |
| 27      | Acrylate d'éthyle             | 0,42        | 0,42        |             | 0,42        | 0,42        | 0,33           |
|         | Tiglate d'éthyle              | 0,42        | 0,42        |             | 0,42        | 0,42        | 0,33           |
|         | 3,3-Diméthylacrylate d'éthyle | 0,42        | 0,42        |             | 0,42        | 0,42        | 0,33           |
| 31      | Acide acétique                | 0,42        |             | 0,42        | 0,42        | 0,42        | 0,33           |
|         | Acide propionique             | 0,42        |             | 0,42        | 0,42        | 0,42        | 0,33           |
|         | Acide isobutyrique            | 0,42        |             | 0,42        | 0,42        | 0,42        | 0,33           |
| 41      | Phénol                        |             | 0,42        | 0,42        | 0,42        | 0,42        | 0,33           |
|         | Anisole                       |             | 0,42        | 0,42        | 0,42        | 0,42        | 0,33           |
|         | Vératrole                     |             | 0,42        | 0,42        | 0,42        | 0,42        | 0,33           |

**Tableau 22** : Proportions (en % du total) de composés minoritaires des mélanges simplifiés issus du mélange 27 testés dans les essais 13 et 14.

| Produit          | Essai 13         |                  |                  |           |           |           | Essai 14         |           |           |           |
|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------|-----------|-----------|------------------|-----------|-----------|-----------|
|                  | ACR <sup>1</sup> | TIG <sup>2</sup> | 33D <sup>3</sup> | ACR + TIG | ACR + 33D | TIG + 33D | ACR <sup>1</sup> | ACR + TIG | ACR + 33D | TIG + 33D |
| ACR <sup>1</sup> | 1,67             |                  |                  | 1,67      | 1,67      |           | 5                | 2,5       | 2,5       |           |
| TIG <sup>2</sup> |                  | 1,67             |                  | 1,67      |           | 1,67      |                  | 2,5       |           | 2,5       |
| 33D <sup>3</sup> |                  |                  | 1,67             |           | 1,67      | 1,67      |                  |           | 2,5       | 2,5       |

<sup>1</sup> ACR = Acrylate d'éthyle ; <sup>2</sup> TIG = Tiglate d'éthyle ; <sup>3</sup> 33D = 3,3-Diméthylacrylate d'éthyle

**Tableau 24** : Date, durée, protocole et nombre d'insectes capturés pendant les essais de terrain.

| N° de l'essai | Durée (j) ; | date                         | Nombre de                 |                      |          |                    | Durée ou intervalle entre (j) |         |                       | Nb. d'insectes capturés |          |          | Figures illustrant les résultats |
|---------------|-------------|------------------------------|---------------------------|----------------------|----------|--------------------|-------------------------------|---------|-----------------------|-------------------------|----------|----------|----------------------------------|
|               |             |                              | Traitements               | blocs ou répétitions | périodes | relevés / périodes | périodes                      | relevés | pesées des diffuseurs | ♀♀                      | ♂♂       | Total    |                                  |
| 1             | 35 ;        | 30/6 - 4/8/2001              | 15                        | 4                    | -        | 2                  | -                             | 3 et 4  | 14                    | 281                     | 56       | 337      | 40                               |
| 2             | 27 ;        | 8/8 - 4/9/2002               | 3                         | 8                    | 3        | 3                  | 9                             | 3       | 9                     | 156                     | 49       | 205      | 41                               |
| 3             | 18 ;        | 18/8 - 5/9/2003              | 7                         | 7                    | 2        | 3                  | 9                             | 3       | 9                     | 130                     | 17       | 147      | 42                               |
| 4             | 18 ;        | 17/7 - 4/8/2003              | 7                         | 7                    | 2        | 3                  | 9                             | 3       | 9                     | 171                     | 21       | 192      | 43                               |
| 5             | 18 ;        | 18-27/6/2003<br>11-20/9/2003 | 5                         | 6                    | 2        | 3                  | 9                             | 3       | 9                     | 67<br>73                | 14<br>17 | 81<br>90 | 44                               |
| 6             | 18 ;        | 15/8 - 2/9/2002              | 6                         | 8                    | 2        | 3                  | 9                             | 3       | 9                     | 123                     | 31       | 154      | 45                               |
| 7             | 28 ;        | 5/5 - 2/6/2001               | 13                        | 4                    | -        | 2                  | -                             | 3 et 4  | 14                    | 114                     | 37       | 151      | 46                               |
| 8             | 18 ;        | 16/7 - 3/8/2002              | 2                         | 10                   | 2        | 3                  | 9                             | 3 ou 6  | 18                    | 149                     | 53       | 204      | 47                               |
| 9             | 18 ;        | 16/8 - 3/9/2003              | 7                         | 7                    | 2        | 3                  | 9                             | 3       | 9                     | 161                     | 29       | 190      | 48                               |
| 10            | 27 ;        | 16/4 – 13/5/2002             | 4                         | 8                    | 3        | 3                  | 9                             | 3       | 9                     | 308                     | 79       | 387      | 49                               |
| 11            | 27 ;        | 19/6 – 16/7/2002             | 5                         | 8                    | 3        | 3                  | 9                             | 3       | 9                     | 241                     | 108      | 349      | 50                               |
| 12            | 27 ;        | 16/5 – 12/6/2002             | 5                         | 8                    | 3        | 3                  | 9                             | 3       | 9                     | 295                     | 101      | 396      | 51                               |
| 13            | 28 ;        | 2 - 30/6/2001                | 10                        | 4                    | -        | 2                  | -                             | 3 et 4  | 14                    | 124                     | 37       | 161      | 52                               |
| 14            | 36 ;        | 9/5 - 14/6/2002              | 6                         | 8                    | 4        | 3                  | 9                             | 3       | 9                     | 348                     | 104      | 452      | 53                               |
| 15            | 48 ;        | 18/6 - 5/8/2002              | 4                         | 8                    | 4        | 2                  | 12                            | 6       | 12                    | 354                     | 138      | 492      | 54                               |
| 16            | 27 ;        | 19/9 – 16/10/2002            | 4                         | 8                    | 3        | 3                  | 9                             | 3       | 9                     | 226                     | 58       | 284      | 55                               |
| 17            | 18 ;        | 5-23/5/2003                  | 5                         | 8                    | 2        | 3                  | 9                             | 3       | 9                     | 172                     | 39       | 211      | 56                               |
| 18            | 27 ;        | 4-31/5/2003                  | 3 séries de 3 traitements | 5                    | 3        | 3                  | 9                             | 3       | 9                     | 187                     | 50       | 237      | 57                               |
| 19            | 27 ;        | 13/6 – 10/7/2003             | 3 séries de 3 traitements | 6                    | 3        | 3                  | 9                             | 3       | 9                     | 165                     | 33       | 198      | 58                               |
| 20            | 18 ;        | 24/7 – 11/8/2003             | 6                         | 6                    | 2        | 3                  | 9                             | 3       | 9                     | 179                     | 22       | 201      | 59                               |

**Tableau 25** : Principaux éléments des analyses de variances réalisées sur les résultats des essais de terrain (1 à 17 et 20).

| Essais    | Source de la variance <sup>1</sup> |                               |                                |                               |                                |
|-----------|------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
|           | Appât                              | Relevé                        | Période                        | Bloc                          | Appât × Relevé                 |
| <b>1</b>  | F(14, 278) = 9,02<br>P < 0,001     |                               | F(4*, 278) = 0,29<br>P = 0,885 | F(3, 278) = 2,81<br>P = 0,040 |                                |
| <b>2</b>  | F(2, 198) = 20,66<br>P < 0,001     | F(2, 198) = 2,65<br>P = 0,073 | F(2, 198) = 1,21<br>P = 0,300  | F(7, 198) = 1,17<br>P = 0,319 | F(4, 198) = 2,40<br>P = 0,052  |
| <b>3</b>  | F(6, 266) = 15,63<br>P < 0,001     | F(2, 266) = 0,48<br>P = 0,617 | F(1, 266) = 0,06<br>P = 0,812  | F(6, 266) = 3,47<br>P = 0,003 | F(12, 266) = 1,29<br>P = 0,226 |
| <b>4</b>  | F(6, 266) = 3,81<br>P = 0,001      | F(2, 266) = 1,05<br>P = 0,351 | F(1, 266) = 0,36<br>P = 0,552  | F(6, 266) = 4,55<br>P < 0,001 | F(12, 266) = 0,52<br>P = 0,902 |
|           | F(4, 70) = 3,53<br>P = 0,011       | F(2, 70) = 0,73<br>P = 0,484  |                                | F(5, 70) = 2,02<br>P = 0,087  | F(8, 70) = 2,63<br>P = 0,014   |
| <b>5</b>  | F(4, 70) = 19,20<br>P < 0,001      | F(2, 70) = 0,41<br>P = 0,667  |                                | F(5, 70) = 1,16<br>P = 0,339  | F(8, 70) = 1,18<br>P = 0,325   |
| <b>6</b>  | F(5, 262) = 12,93<br>P < 0,001     | F(2, 262) = 2,00<br>P = 0,138 | F(1, 262) = 0<br>P = 1         | F(7, 262) = 1,98<br>P = 0,059 | F(10, 262) = 2,03<br>P = 0,030 |
| <b>7</b>  | F(12, 189) = 1,81<br>P = 0,048     |                               | F(3, 189) = 1,10<br>P = 0,350  | F(3, 189) = 1,97<br>P = 0,119 |                                |
| <b>8</b>  | F(1, 28) = 23,28<br>P < 0,001      |                               | F(1, 28) = 0,55<br>P = 0,464   | F(9, 28) = 1,64<br>P = 0,151  |                                |
| <b>9</b>  | F(6, 266) = 15,84<br>P < 0,001     | F(2, 266) = 5,71<br>P = 0,004 | F(1, 266) = 1,41<br>P = 0,236  | F(6, 266) = 3,55<br>P = 0,002 | F(12, 266) = 1,89<br>P = 0,036 |
| <b>10</b> | F(3, 267) = 94,25<br>P < 0,001     | F(2, 267) = 4,09<br>P = 0,018 | F(2, 267) = 0,12<br>P = 0,886  | F(7, 267) = 0,84<br>P = 0,553 | F(6, 267) = 1,81<br>P = 0,098  |
| <b>11</b> | F(4, 336) = 18,53<br>P < 0,001     | F(2, 336) = 0,15<br>P = 0,859 | F(2, 336) = 0,81<br>P = 0,447  | F(7, 336) = 4,30<br>P < 0,001 | F(8, 336) = 1,75<br>P = 0,086  |
| <b>12</b> | F(4, 336) = 36,41<br>P < 0,001     | F(2, 336) = 1,06<br>P = 0,349 | F(2, 336) = 1,42<br>P = 0,243  | F(7, 336) = 1,66<br>P = 0,118 | F(8, 336) = 2,69<br>P = 0,007  |
| <b>13</b> | F(9, 144) = 6,71<br>P < 0,001      |                               | F(3, 144) = 3,71<br>P = 0,013  | F(3, 144) = 1,18<br>P = 0,318 |                                |
| <b>14</b> | F(5, 548) = 34,85<br>P < 0,001     | F(2, 548) = 2,06<br>P = 0,128 | F(3, 548) = 0,06<br>P = 0,981  | F(7, 548) = 2,76<br>P = 0,008 | F(10, 548) = 1,14<br>P = 0,333 |
| <b>15</b> | F(3, 238) = 28,34<br>P < 0,001     | F(1, 238) = 0,26<br>P = 0,608 | F(3, 238) = 2,36<br>P = 0,073  | F(7, 238) = 1,16<br>P = 0,326 | F(3, 238) = 3,14<br>P = 0,026  |
| <b>16</b> | F(3, 267) = 86,29<br>P < 0,001     | F(2, 267) = 7,06<br>P = 0,001 | F(2, 267) = 7,34<br>P = 0,001  | F(7, 267) = 1,21<br>P = 0,298 | F(6, 267) = 1,53<br>P = 0,169  |
| <b>17</b> | F(4, 217) = 9,54<br>P < 0,001      | F(2, 217) = 1,67<br>P = 0,191 | F(1, 217) = 0,69<br>P = 0,408  | F(7, 217) = 2,80<br>P = 0,008 | F(8, 217) = 0,76<br>P = 0,638  |
| <b>20</b> | F(5, 192) = 3,43<br>P = 0,005      | F(2, 192) = 3,47<br>P = 0,033 | F(1, 192) = 0,37<br>P = 0,544  | F(5, 192) = 4,52<br>P = 0,001 | F(10, 192) = 1,04<br>P = 0,408 |

<sup>1</sup> Les cases sont grisées s'il y a une différence significative entre les niveaux du facteur étudié.



**Tableau 26** : Principaux éléments des analyses de variances réalisées sur les résultats des essais de terrain (18 et 19).

| Essai | Test | Traitements                               | Source de la variance <sup>1</sup>    |                                       |                                       |                                      |
|-------|------|---|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
|       |      |   | F1 : Appât                            | F2 : répétition                       | F3 : site                             |                                      |
| 18    | 1    | MAJ + P                                   | F (2, 36) = 16,15<br><i>P</i> < 0,001 | F (4, 36) = 1,06<br><i>P</i> = 0,392  | F (2, 36) = 1,44<br><i>P</i> = 0,251  |                                      |
|       |      | MV <sup>2</sup> (1200 g) + P <sup>3</sup> |                                       |                                       |                                       |                                      |
|       |      | P   |                                       |                                       |                                       |                                      |
| 18    | 2    | MAJ + P                                   | F (2, 36) = 3,48<br><i>P</i> = 0,042  | F (4, 36) = 0,35<br><i>P</i> = 0,845  | F (2, 36) = 9,33<br><i>P</i> = 0,001  |                                      |
|       |      | MV (320 g) + P                            |                                       |                                       |                                       |                                      |
|       |      | P   |                                       |                                       |                                       |                                      |
| 18    | 3    | MAJ + P                                   | F (2, 36) = 6,63<br><i>P</i> < 0,004  | F (4, 36) = 0,75<br><i>P</i> = 0,567  | F (2, 36) = 11,36<br><i>P</i> < 0,001 |                                      |
|       |      | MV (140 g) + P                            |                                       |                                       |                                       |                                      |
|       |      | P   |                                       |                                       |                                       |                                      |
| 19    | 1    | MAJ                                       | F (2, 44) = 23,36<br><i>P</i> < 0,001 | F (5, 44) = 1,44<br><i>P</i> = 0,227  | F (2, 44) = 1,61<br><i>P</i> = 0,211  |                                      |
|       |      | P   |                                       |                                       |                                       |                                      |
|       |      | MAJ + P                                   |                                       |                                       |                                       |                                      |
|       | 19   | 2   | MV                                    | F (2, 44) = 18,23<br><i>P</i> < 0,001 | F (5, 44) = 0,10<br><i>P</i> = 0,992  | F (2, 44) = 9,43<br><i>P</i> < 0,001 |
|       |      |   | P                                     |                                       |                                       |                                      |
|       |      |   | MV + P                                |                                       |                                       |                                      |
| 19    | 3    | P   | F (2, 44) = 1,34<br><i>P</i> = 0,272  | F (5, 44) = 0,21<br><i>P</i> = 0,958  | F (2, 44) = 2,14<br><i>P</i> = 0,130  |                                      |
|       |      | MAJ + P                                   |                                       |                                       |                                       |                                      |
|       |      | MV + P                                    |                                       |                                       |                                       |                                      |

<sup>1</sup> Les cases sont grisées s'il y a une différence significative entre les niveaux du facteur étudié.

<sup>2</sup> MV = Matériel végétal

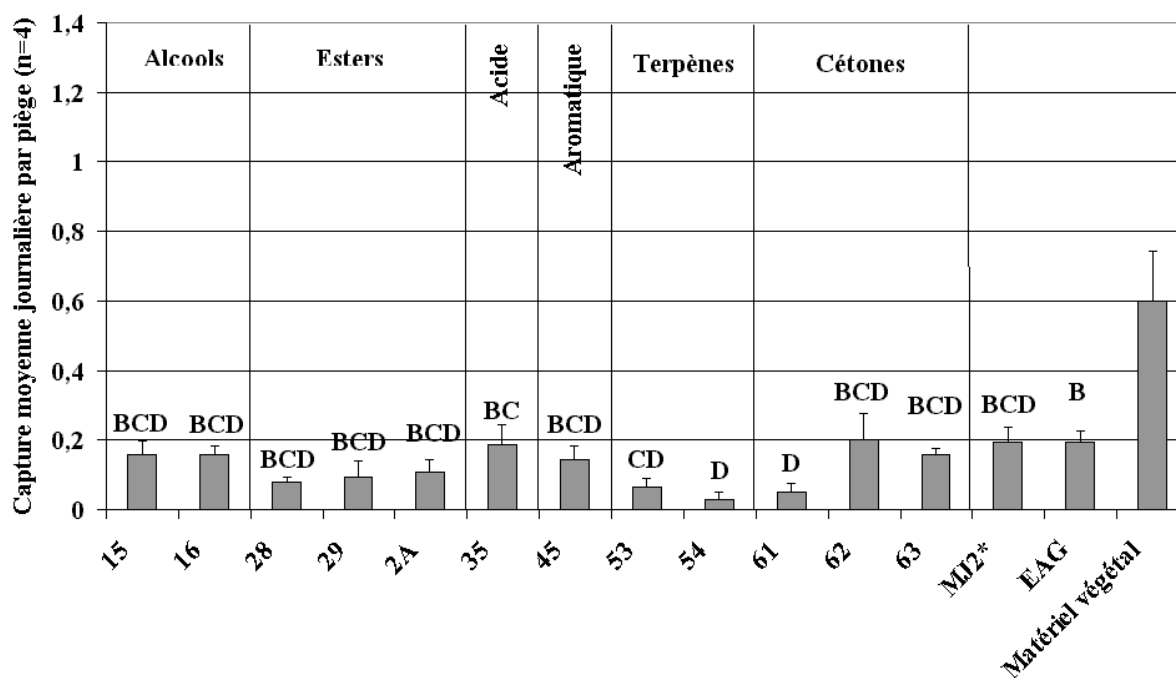
<sup>3</sup> P = Pheromone

### 5.3. Résultats

#### 5.3.1. Criblage de l'effet phérosynergique d'odeurs végétales variées complétant le travail initié en 2000

##### 5.3.1.1. Mélanges à base de EtOH et EtAc (essai 1)

Suite du criblage effectué en 2000 ([Avand-Faghih, 2000](#)), nous avons étudié la propriété phérosynergique de nouveaux mélanges dont les constituants minoritaires ont été choisis soit à partir de la bibliographie (mélanges 15, 16, 28, 29, 2A, 35, 45, 53, 54, 61, 62 et 63), soit d'après les résultats d'analyses d'effluves du cœur de dattier (MJ2\*) ou d'activité électroantennographie (EAG). La proportion d'acétoïne dans l'échantillon SPME de l'odeur de cœur de dattier après 2 j de fermentation a été de 3% alors qu'elle a été fixée à 14,6% dans le mélange MJ2\* suite à une erreur de calcul. Le cœur de dattier a été utilisé comme référence pour comparer son effet phérosynergique avec ceux des mélanges synthétiques. Aucun des mélanges testés n'a pas été compétitif avec le matériel végétal (Figure 40).



Le matériel végétal et tous les mélanges synthétiques ont été testés en association avec la phéromone.

La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

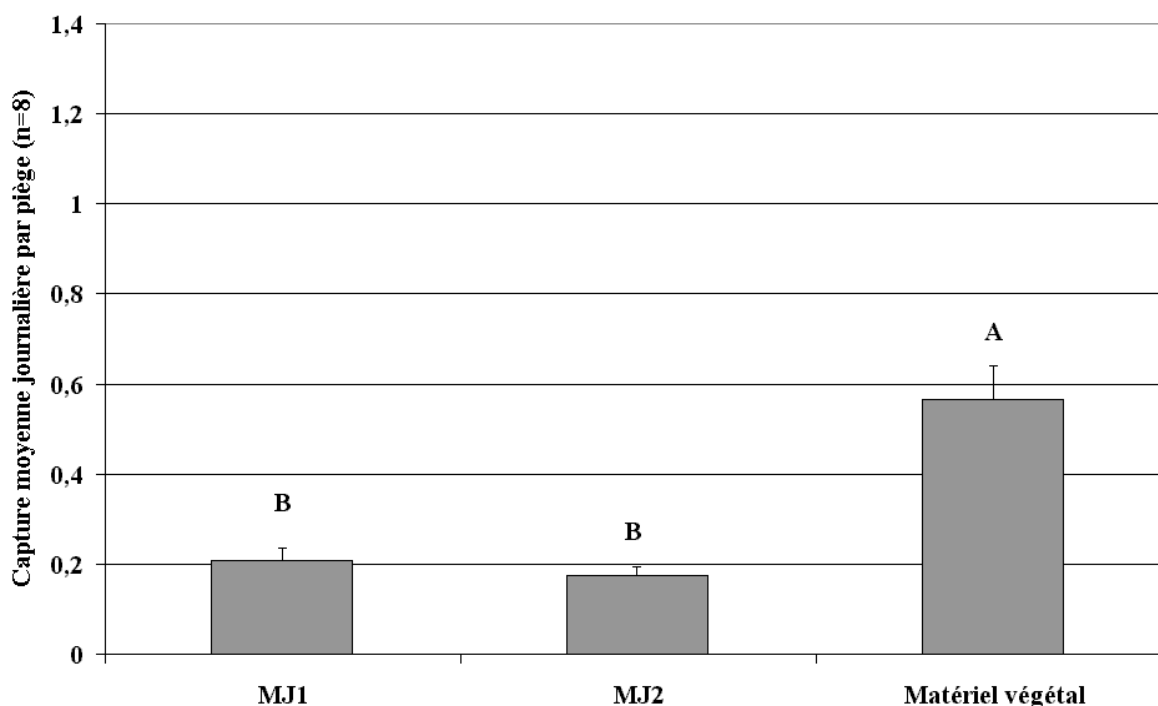
Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 40** : Effet de mélanges synthétiques variés à partir de données bibliographiques en comparaison avec le matériel végétal.

### 5.3.1.2. Mélanges à base d'odeur de cœur de palmier dattier (essai 2)

L'effet phérosynergique du mélange MJ2 (mêmes constituants que le mélange MJ2\* mais proportion d'acétoïne conforme à l'odeur naturelle) a été comparé à celui du mélange MJ1 et du matériel végétal. La capture des pièges appâtés avec le matériel végétal a été significativement supérieure ( $\approx 3$  fois) à celles des pièges appâtés avec les mélanges synthétiques (MJ1 et MJ2) qui ont capturé en moyenne un nombre d'insectes équivalent (Figure 41).

Le matériel végétal et tous les mélanges synthétiques ont été testés en association avec la phéromone.



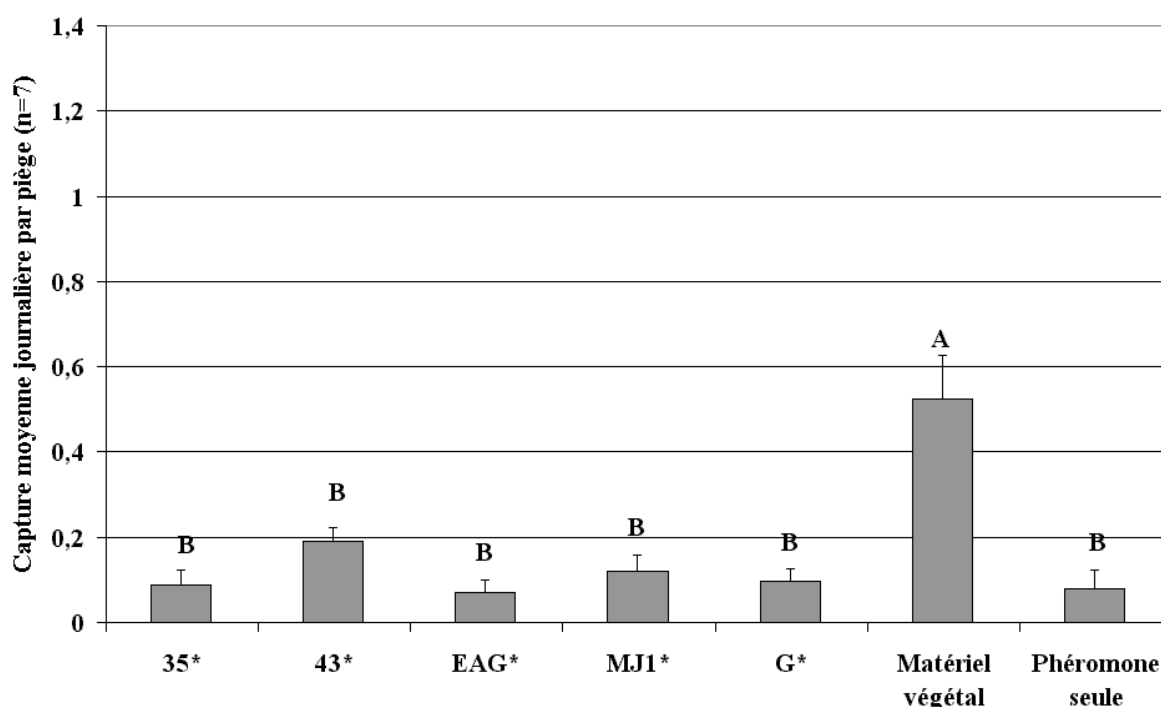
La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 41** : Effet de mélanges synthétiques formulés à partir de l'analyse de headspace du cœur du dattier en comparaison avec le matériel végétal.

### 5.3.1.3. Mélanges sans EtOH ni EtAc (essai 3)

L'effet phérosynergique de la fraction minoritaire (sans éthanol ni acétate d'éthyle) des mélanges 35, 43, EAG, G et MJ1 a été comparé avec celui de 1,2 kg de matériel végétal. La phéromone seule a été utilisée comme référence. Aucun des mélanges, avec les doses testées, n'a montré d'effet phérosynergique compétitif avec celui de 1,2 kg de matériel végétal. Il n'y a pas eu de différence significative entre la capture de la phéromone seule et celles de la phéromone avec les mélanges testés (Figure 42).



Le matériel végétal et tous les mélanges synthétiques ont été testés en association avec la phéromone.

\*: Mélanges d'origine sans éthanol ni l'acétate d'éthyle.

La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

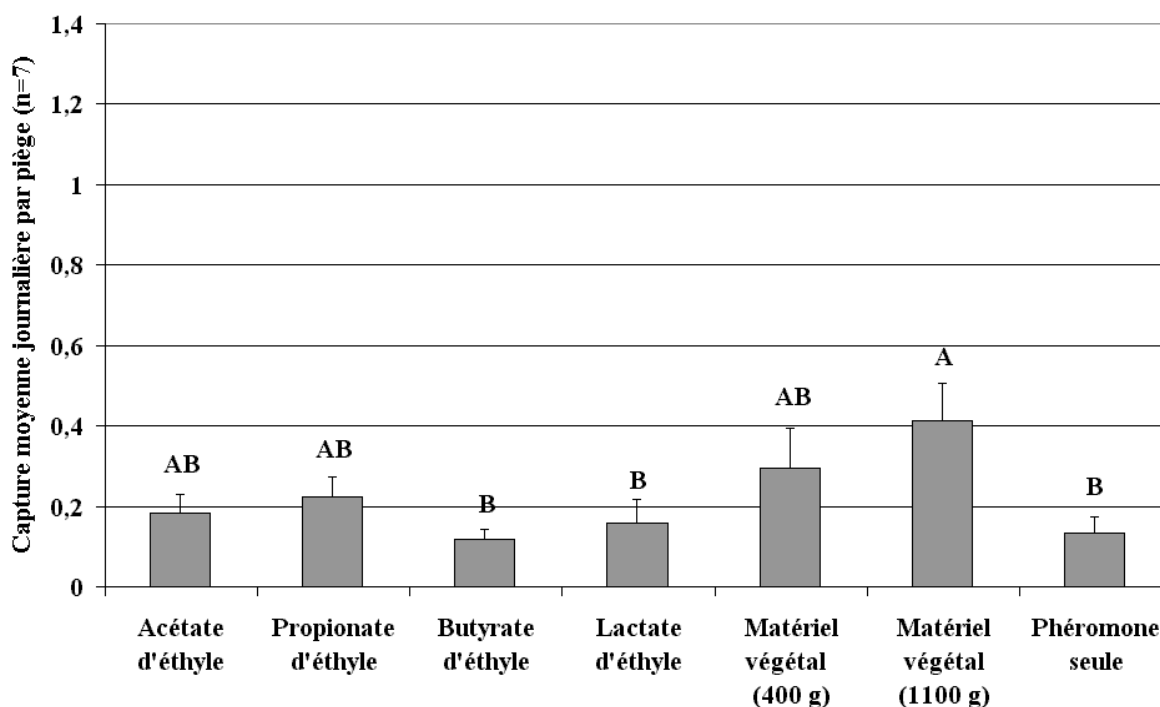
Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 42** : Effet de la fraction minoritaire des mélanges les plus efficaces en 2000 ou dans les essais 1 et 2 en comparaison avec le matériel végétal et la phéromone seule.

### 5.3.1.4. Phérosynergistes décrits chez les charançons des palmiers dans la bibliographie (essai 4)

L'effet sur *R. ferrugineus* des produits purs (acétate d'éthyle, propionate d'éthyle, butyrate d'éthyle et *S*-(-)-lactate d'éthyle), présentés dans la bibliographie comme synergistes des phéromones de *M. hemipterus sericeus*, *R. cruentatus* et *R. phoenicis* (Giblin-Davis *et al.*, 1994 ; Perez *et al.*, 1997 ; Gries *et al.*, 1994a), a été comparé avec ceux de 400 et 1100 g de matériel végétal.

Le propionate d'éthyle (138 mg/j) et l'acétate d'éthyle (209 mg/j) ont montré un effet phérosynergique compétitif avec 1,1 kg de matériel végétal. Les captures des pièges appâtés avec l'acétate d'éthyle et le propionate d'éthyle pendant la 2<sup>e</sup> période de l'essai ont même été supérieures à celles de la première période. Les taux de diffusions ayant également été supérieurs, nous pouvons y voir un effet dose-réponse. Il n'y a pas eu de différence significative entre les captures des pièges appâtés avec 400 g de matériel végétal, les produits purs, ou la phéromone seule (Figure 43). La diffusion exacte du lactate d'éthyle est inconnue et sous-estimée (13 mg/j) à cause de sa propriété hygrophile.



Le matériel végétal et tous les produits synthétiques ont été testés en association avec la phéromone.

La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

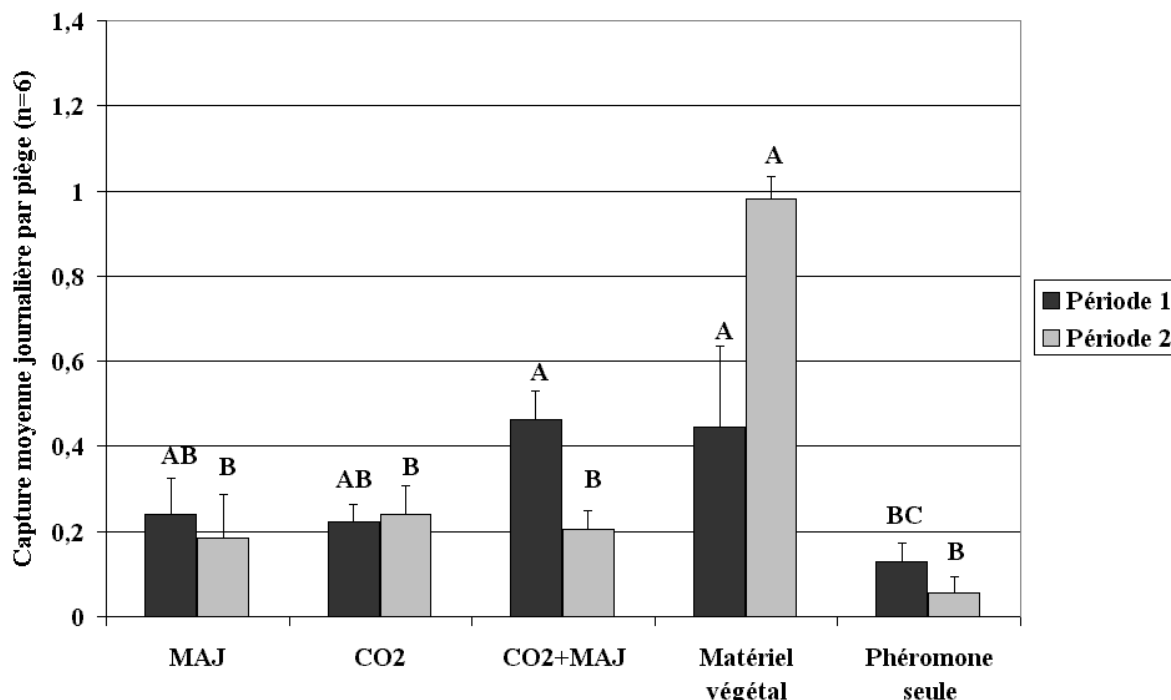
Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 43** : Effet des produits purs, présentés comme les phérosynergistes des charançons de palmiers dans la bibliographie en comparaison avec les deux quantités de matériel végétal et la phéromone seule.

### 5.3.1.5. Gaz carbonique (essai 5)

Le gaz carbonique est le métabolite final de la fermentation alcoolique ; c'est un gaz jouant un rôle de signal odorant chez de nombreux insectes ([White et al., 1993](#) ; [Botto-Mahan et al., 2002](#) ; [Mizell et al., 2002](#)). Ainsi nous avons décidé d'évaluer son rôle phérosynergique chez *R. ferrugineus*. L'effet phérosynergique du gaz carbonique, du mélange MAJ et de deux

ensembles a été comparé à celui de 1,2 kg de matériel végétal. La phéromone seule a été utilisée comme référence. Cet essai a été répété à deux périodes (juin et septembre 2003) et a donné des résultats différents pour chaque période (Figure 44).



Le matériel végétal et tous les produits synthétiques ont été testés en association avec la phéromone.

La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 44** : Effet de MAJ (EtOH + EtAc, 50:50), du gaz carbonique et de l'association des deux en comparaison avec le matériel végétal et la phéromone seule.

Période 1 : les captures moyennes par les pièges contenant deux sources d'odeurs (phéromone + co-attractif) ont été statistiquement équivalentes, 'matériel végétal + phéromone' et combinaison 'MAJ + CO<sub>2</sub> + phéromone' ayant pris significativement plus d'insectes que la phéromone seule. 'MAJ + phéromone' et 'CO<sub>2</sub> + phéromone' ont pris une quantité intermédiaire d'insectes non statistiquement différentes des valeurs extrêmes.

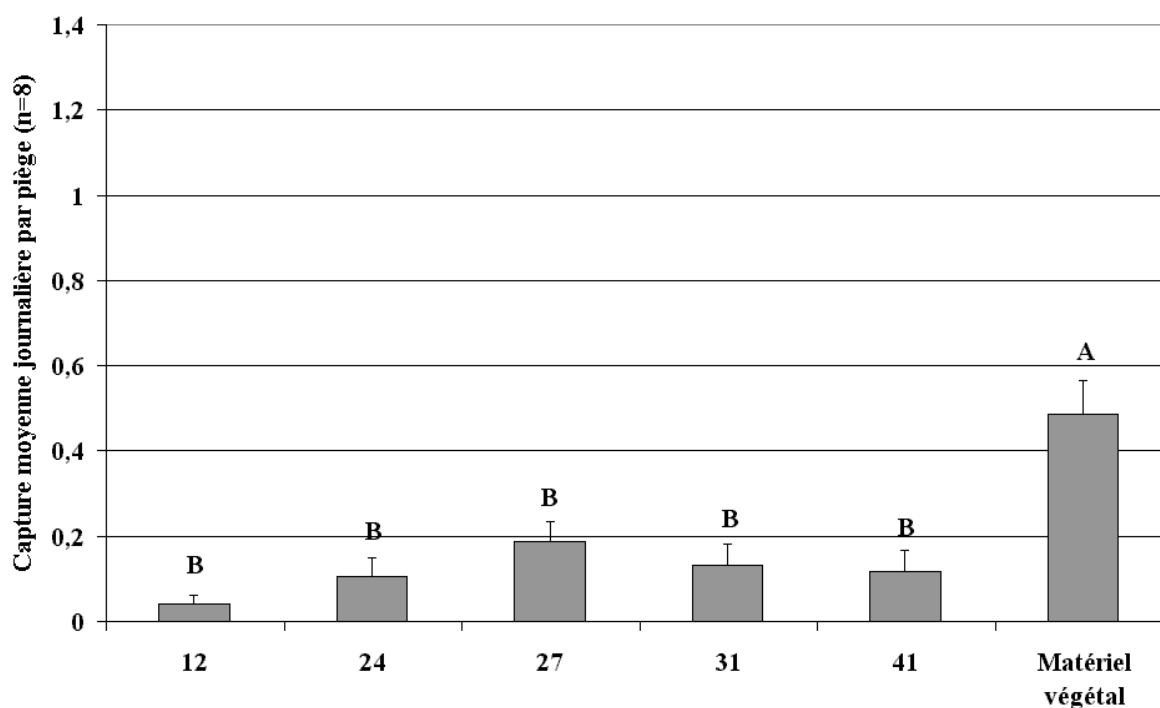
Période 2 : 'Matériel végétal + phéromone' a capturé significativement plus d'insectes ( $\approx 4$  fois) en moyenne que les autres appâts synthétiques, qui ont donné des captures équivalentes.

### 5.3.2. Evaluations complémentaires des mélanges les plus efficaces en 2000

#### 5.3.2.1. Réévaluation des 5 mélanges les plus actifs en 2000 (essai 6)

L'effet phérosynergique des mélanges les plus efficaces en 2000 (12, 24, 27, 31 et 41) a été comparé avec celui du matériel végétal afin de confirmer leur efficacité, établie à partir de peu de captures (64 insectes capturés en tout par ces mélanges en 2000).

La capture des pièges appâtés avec le matériel végétal a été significativement supérieure à celle des pièges appâtés avec les mélanges synthétiques et il n'y a pas eu de différence significative entre les captures des pièges appâtés avec les mélanges synthétiques (Figure 45). Le résultat de cet essai est contraire à celui du criblage effectué en 2000 où le mélange 27 avait montré un effet phérosynergique compétitif avec celui du matériel végétal (pas de différence entre les captures par le mélange 27 et par le matériel végétal).



Le matériel végétal et tous les produits synthétiques ont été testés en association avec la phéromone.

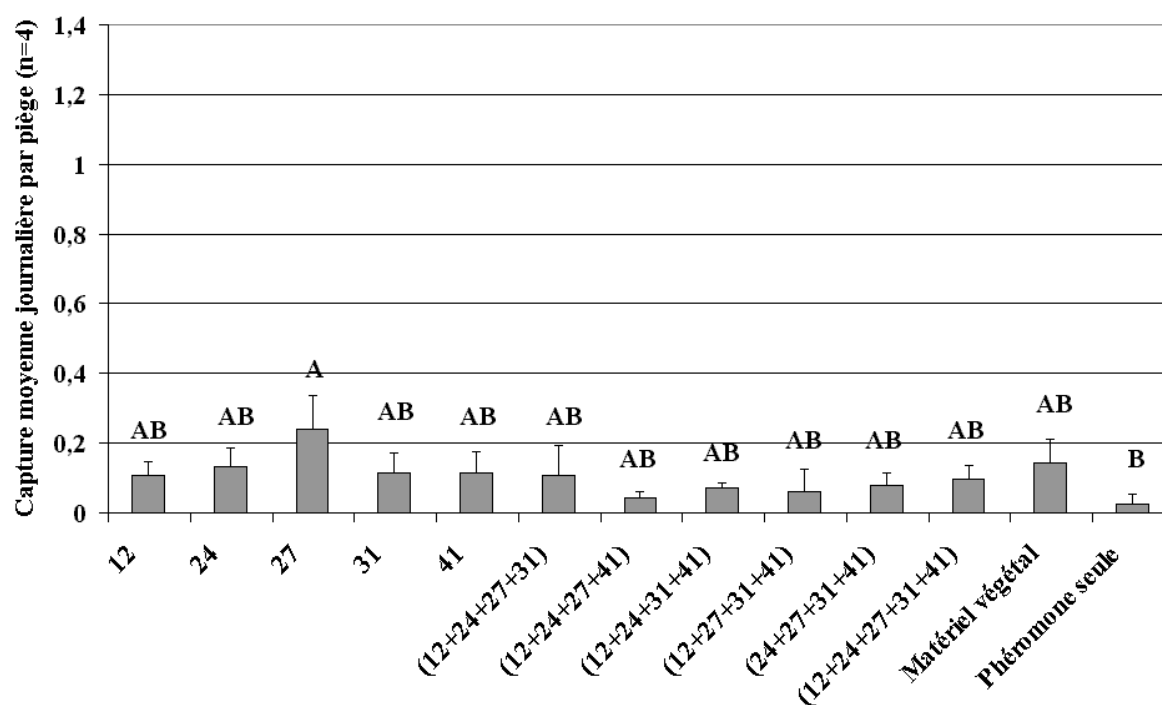
La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 45** : Effet des mélanges les plus efficaces en 2000 en comparaison avec le matériel végétal.

### 5.3.2.2. Effet d'associations des mélanges les plus efficaces en 2000 (essais 7-9)

Associations dans un diffuseur unique (essai 7) : dans cet essai, l'effet phérosynergique de l'association des mélanges 12, 24, 27, 31 et 41 (combinaisons avec quatre et cinq mélanges) dans un diffuseur unique a été comparé avec celui de chaque mélange et du matériel végétal. La phéromone seule a été utilisée comme référence. Seule la capture des pièges appâtés avec le mélange 27 associé à la phéromone a été significativement supérieure à celle des pièges appâtés avec la phéromone seule. Cependant, elle n'a pas été significativement différente de celles des autres mélanges ou du matériel végétal (Figure 46). Tous les autres appâts testés, y compris le matériel végétal, ont conduits à des captures statistiquement équivalentes.



Le matériel végétal et tous les produits synthétiques ont été testés en association avec la phéromone.

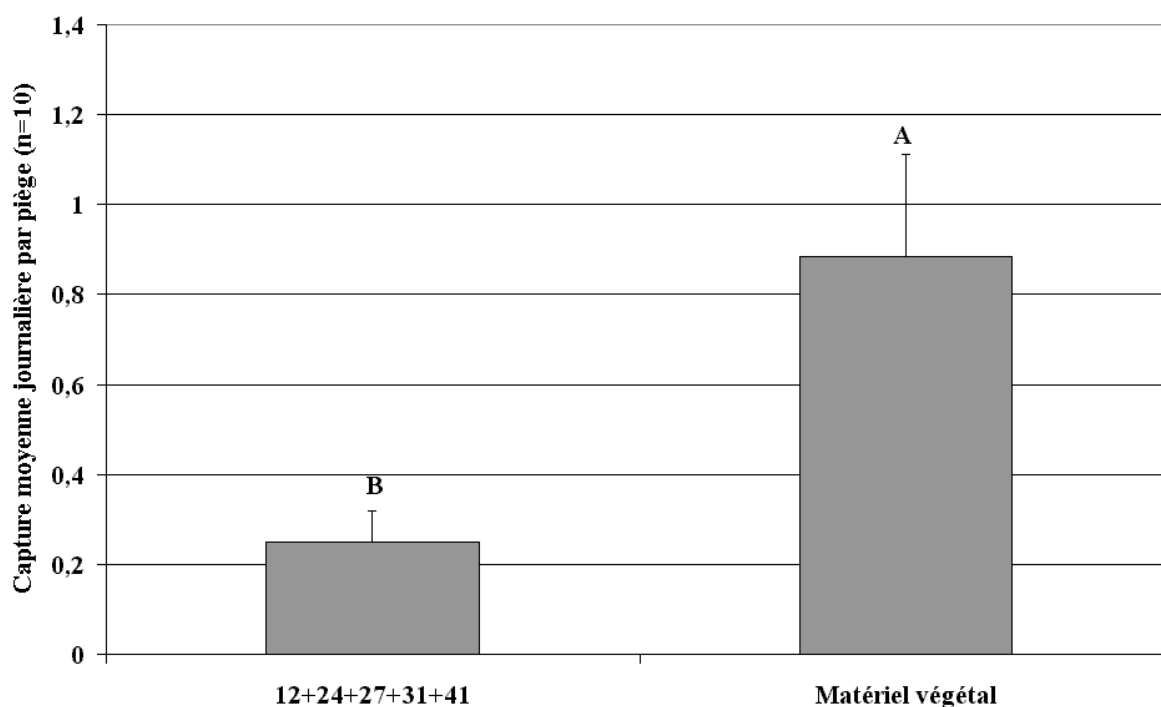
La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 46** : Effet des mélanges les plus efficaces en 2000 et celui de leurs associations en comparaison avec le matériel végétal (association des mélanges dans un diffuseur).



Associations dans les diffuseurs séparés (essai 8) : dans cet essai l'effet phérosynergique de l'association des mêmes mélanges (chacun dans un diffuseur séparé et tous les diffuseurs dans un piège) a été comparé à celui du matériel végétal avec un nombre plus important de répétitions en comparaison avec le dernier essai (10 *vis.* 4). La capture du matériel végétal a été significativement supérieure à l'association des mélanges (Figure 47). La comparaison entre les résultats de l'essai 1 et cet essai montre clairement qu'il n'y a pas d'effet additif entre les mélanges testés et, contrairement aux résultats de l'essai 7, l'association des mélanges n'a pas été compétitif avec le matériel végétal.



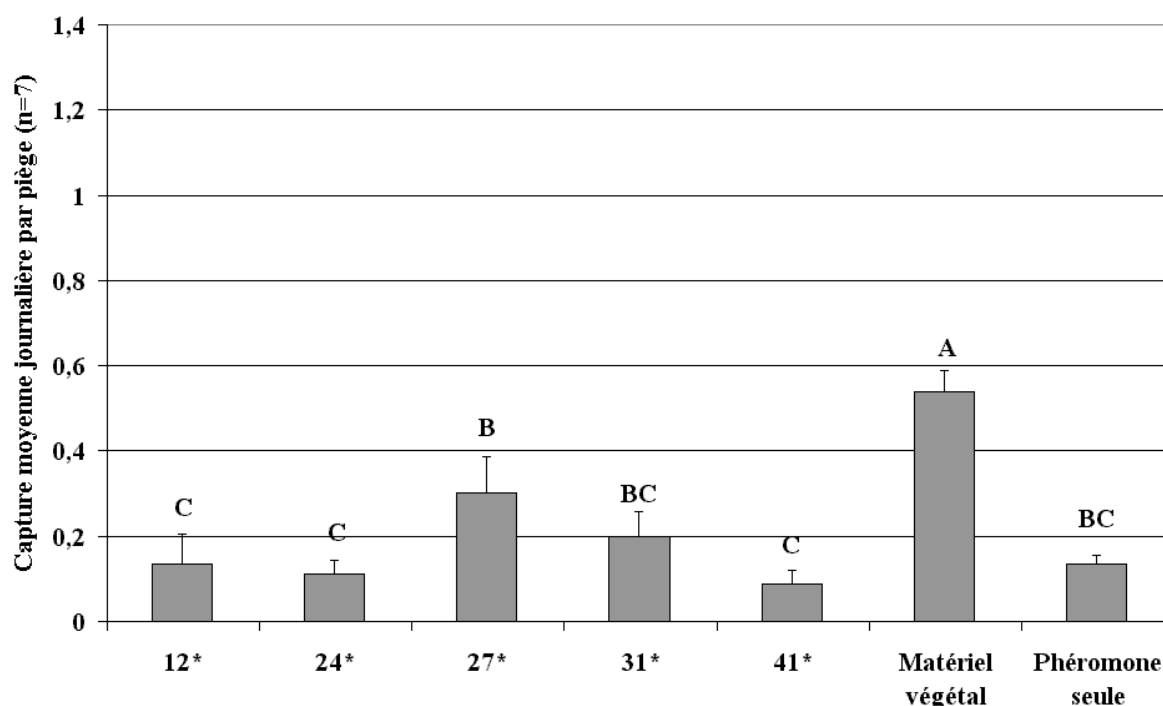
Le matériel végétal et le mélange synthétique ont été testés en association avec la phéromone.

La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 47** : Effet de l'association des mélanges les plus efficaces en 2000 en comparaison avec le matériel végétal (association des mélanges dans les diffuseurs séparés).

Effet de la fraction minoritaire des mélanges les plus efficaces en 2000 (essai 9) : l'effet phérosynergique de la fraction minoritaire (sans éthanol ni acétate d'éthyle) des mélanges les plus actifs en 2000 (12, 24, 27, 31, 41) a été comparé à celui de 1,2 kg de matériel végétal. La phéromone seule a été utilisée comme référence. La capture du matériel végétal a été significativement supérieure à celle avec des mélanges testés et de la phéromone seule. Il n'y a pas eu de différence significative entre la capture de la phéromone seule et les mélanges avec la phéromone (Figure 48).



Le matériel végétal et tous les mélanges synthétiques ont été testés en association avec la phéromone.

\*: sans éthanol ni l'acétate d'éthyle.

La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 48** : Effet de la fraction minoritaire des mélanges les plus efficaces en 2000 en comparaison avec le matériel végétal et la phéromone seule.

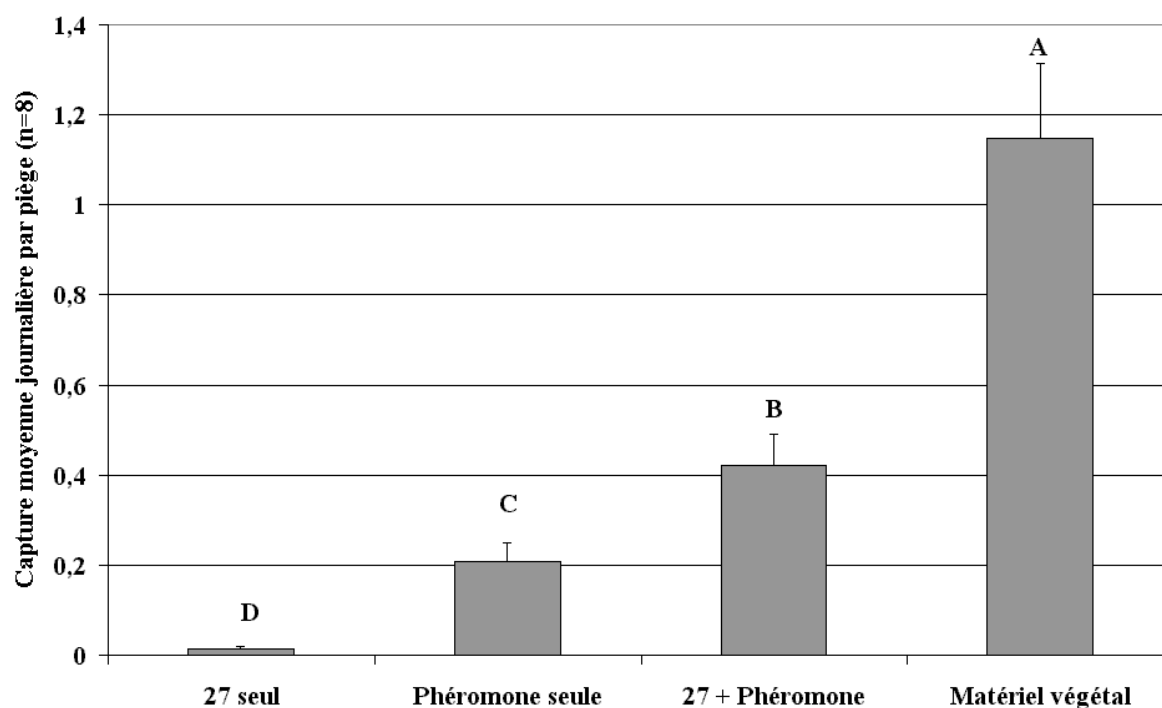
### 5.3.3. Activité du mélange 27 et de mélanges dérivés

#### 5.3.3.1. Effet phérosynergique du mélange 27 (essai 10)

L'effet du mélange 27 inférieur à celui du matériel végétal nous a conduit à réaliser un autre essai pour vérifier le caractère synergique du mélange 27 avec la phéromone en comparant les captures du mélange 27 seul, de la phéromone seule, des deux ensemble et du matériel végétal associé à la phéromone comme référence. L'effet phérosynergique du

mélange 27 a été mis en évidence même si cet effet n'a pas été compétitif avec celui du matériel végétal. Le mélange 27 avec la phéromone a capturé significativement plus de charançons que le mélange 27 seul ou la phéromone seule mais moins que le matériel végétal avec la phéromone (Figure 49). La capture par le mélange 27 et la phéromone dans cet essai a été significativement supérieure à la somme des captures par le mélange 27 seul et par la phéromone seule (test Student bilatéral,  $t = 2,939$ ,  $P = 0.004$ ). Le mélange 27 est toutefois moins attractif que le matériel végétal associé à la phéromone (2,7 fois plus faible) ce qui est contraire aux résultats obtenus en 2000 (Avand-Faghih, 2000).

L'attractivité relative, le ratio synergique et l'attractivité totale (selon Dowd & Bartelt, 1991) pour le mélange 27 sont respectivement 1,07, 1,90 et 2.02 dans cet essai. Ces valeurs pourront ultérieurement être utilisées pour comparer les propriétés phérosynergiques du mélange 27 à celles des autres mélanges testés dans les autres essais.



La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

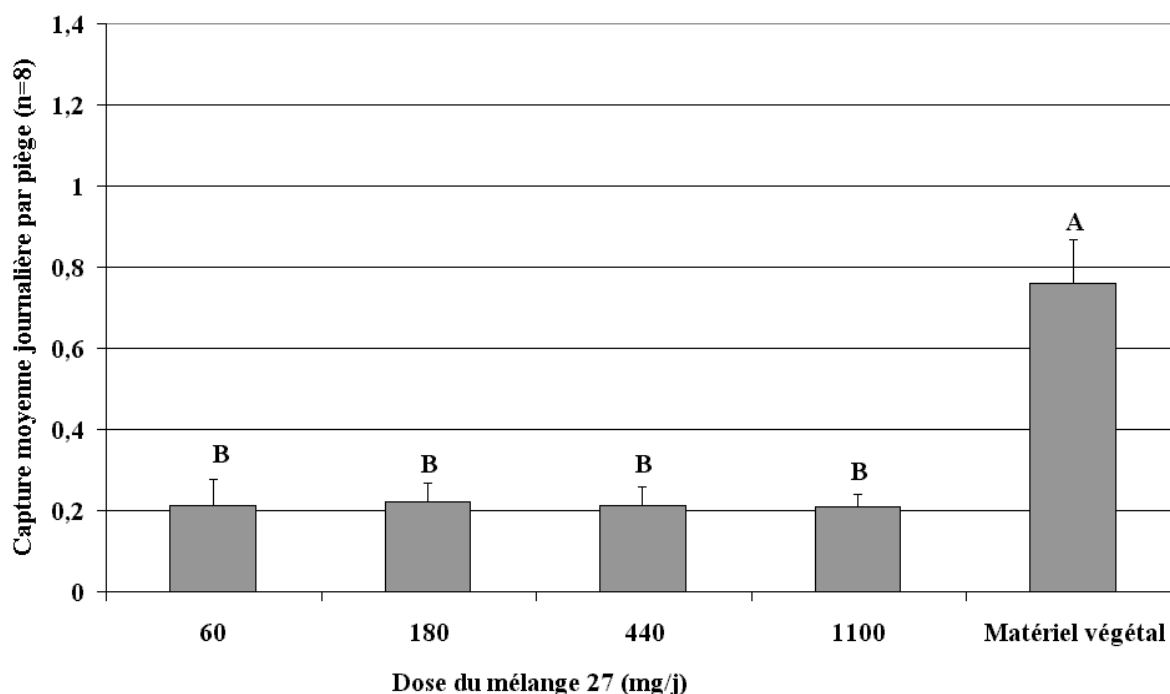
Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 49** : Effet phérosynergique du mélange 27 et son efficacité en comparaison avec le matériel végétal.

### 5.3.3.2. Effet dose-réponse chez le mélange 27 (essai 11)

Afin d'optimiser l'effet phérosynergique du mélange 27, la capture des pièges appâtés avec quatre doses de mélange 27 :  $1144 \pm 140$ ,  $443 \pm 39$ ,  $181 \pm 16$  et  $60 \pm 5$  mg/j (valeurs mesurées sur le terrain) a été comparée à celle du matériel végétal. Les taux de diffusion sur le terrain ont été supérieurs aux valeurs prévues à partir de l'étalonnage réalisé au laboratoire : ils augmentent trois fois en fonction de doublement de la taille du diffuseur ce qui était prévu.

La capture des pièges appâtés avec le matériel végétal a été significativement supérieure à celle des pièges appâtés avec toutes les doses du mélange 27, donnant des captures équivalentes (Figure 50).



Le matériel végétal et le mélange synthétique ont été testés en association avec la phéromone.

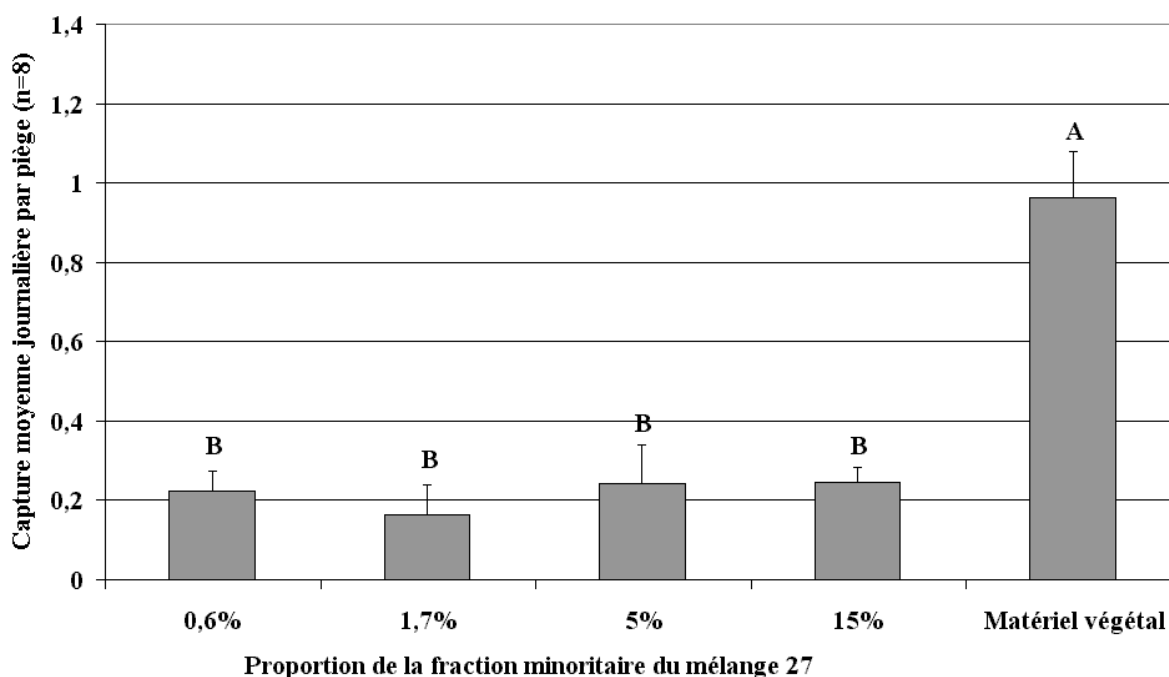
La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 50** : Effet de la dose du mélange 27 sur sa propriété phérosynergique.

### 5.3.3.3. Effet dose-réponse de la fraction minoritaire du mélange 27 (essai 12)

Dans cet essai, nous avons étudié l'effet d'une modification de la proportion de la fraction minoritaire du mélange 27 (5%) en le comparant à trois autres mélanges avec 0,6, 1,7 et 15% de fraction minoritaire et au matériel végétal comme référence. La capture des pièges appâtés avec le matériel végétal a été significativement supérieure à celle des pièges appâtés avec les mélanges synthétiques quelle que soit la proportion de fraction minoritaire et il n'y a pas de différence entre les captures des pièges avec ces mélanges synthétiques (Figure 51).



Le matériel végétal et le mélange synthétique ont été testés en association avec la phéromone.

La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

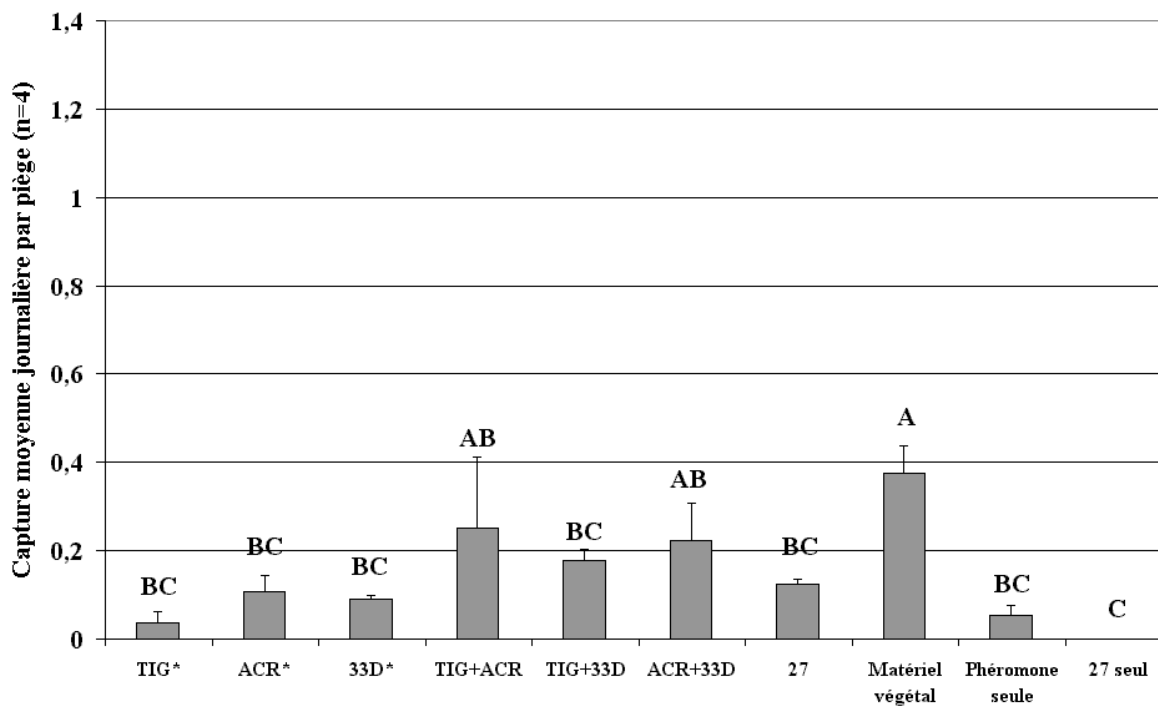
Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 51** : Effet de la proportion de la fraction minoritaire du mélange 27 (en %) sur sa propriété phérosynergique.

### 5.3.3.4. Effet des composés minoritaires du mélange 27 : (essais 13 et 14)

Deux essais ont été effectués pour vérifier l'effet des composés minoritaires du mélange 27. L'essai 13 a été effectué avec chaque composé seul et toutes les combinaisons binaires possibles, en conservant pour chaque composé la proportion contenue dans le mélange 27 (1,67%). L'effet phérosynergique de ces mélanges a été comparé à celui du matériel végétal. La phéromone seule et le mélange 27 seul ont été utilisés comme référence.

Il n'y a pas de différence significative entre les captures des pièges appâtés avec l'acrylate d'éthyle + tiglate d'éthyle, l'acrylate d'éthyle + 3,3-diméthylacrylate d'éthyle et le matériel végétal mais la capture des autres mélanges a été significativement inférieure à celle du matériel végétal (Figure 52). Les résultats montrent que la simplification du mélange n'a pas abouti à la perte de l'efficacité du mélange 27.



Le matériel végétal et tous les mélanges synthétiques ont été testés en association avec la phéromone sauf dans le cas indiqué. \*: TIG = Tiglate d'éthyle ; ACR = Acrylate d'éthyle ; 33D = 3,3-diméthylacrylate d'éthyle.

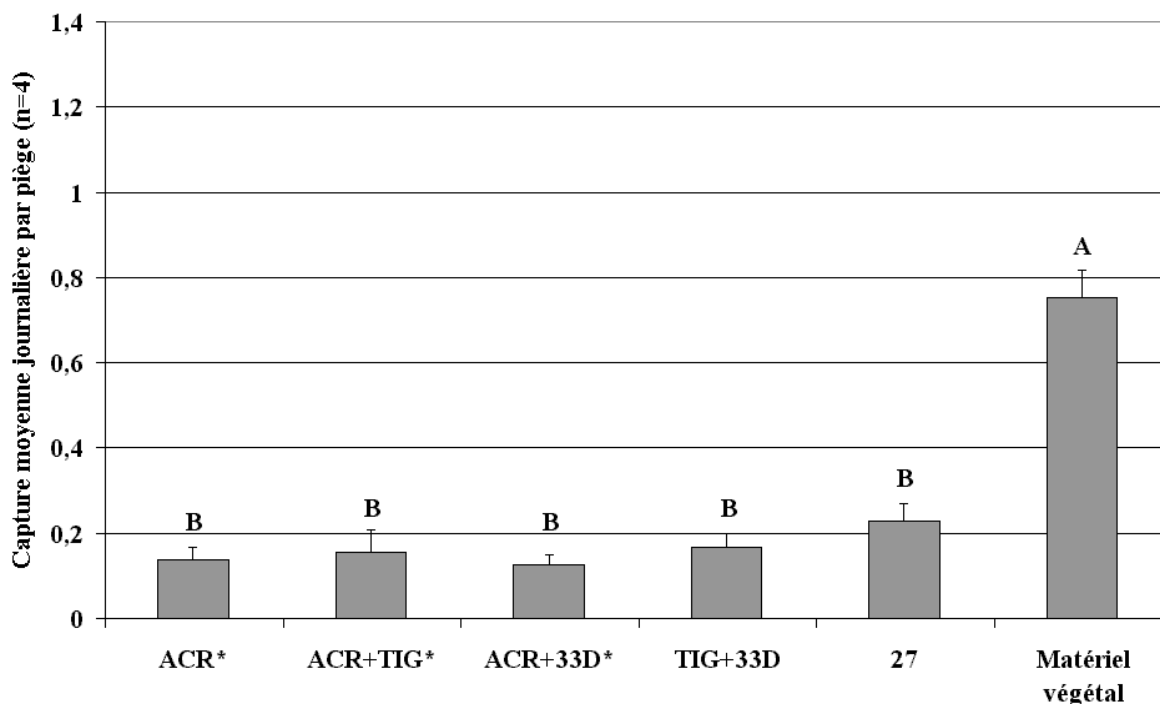
La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 52** : Effet des mélanges simplifiés issus du mélange 27 en comparaison avec le mélange 27, le matériel végétal, la phéromone et le mélange 27 seul.

L'essai 14 a été effectué avec un nombre réduit de mélanges de la fraction minoritaire simplifié par rapport au mélange 27 [4 mélanges : 1) acrylate d'éthyle ; 2) tiglate d'éthyle et acrylate d'éthyle ; 3) tiglate d'éthyle et 3,3-diméthylacrylate d'éthyle ; 4) acrylate d'éthyle et 3,3-diméthylacrylate d'éthyle] et en doublant les répétitions dans l'espace (8 blocs au lieu de 4 dans l'essai 13) pour avoir un système plus puissant permettant de montrer les effets de façon plus sûre. L'effet phérosynergique de ces mélanges a été comparé à ceux du mélange 27 et du matériel végétal.

La capture des pièges appâtés avec le matériel végétal a été significativement supérieure à celle des pièges appâtés avec les mélanges synthétiques quelle que soit la nature de la fraction minoritaire et il n'y a pas eu de différence entre les captures des pièges avec les mélanges synthétiques (Figure 53).



Le matériel végétal et tous les mélanges synthétiques ont été testés en association avec la phéromone.

\*: TIG = Tiglate d'éthyle ; ACR = Acrylate d'éthyle ; 33D = 3,3-diméthylacrylate d'éthyle.

La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

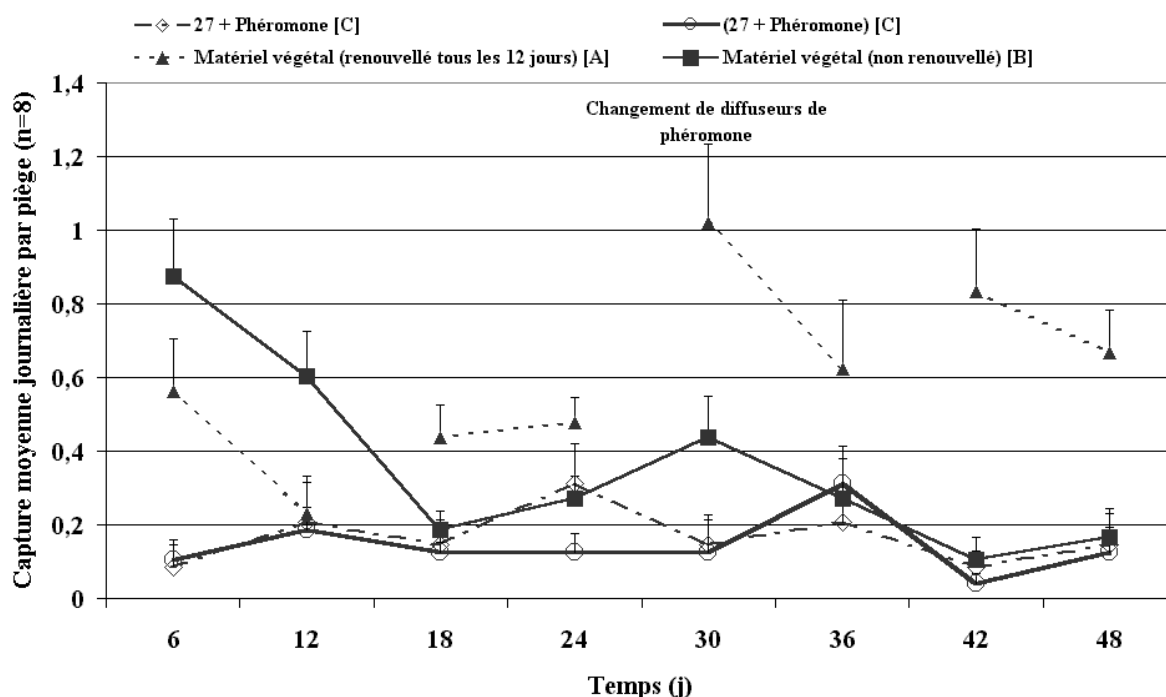
Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 53** : Effet des mélanges simplifiés issus du mélange 27 en comparaison avec le mélange 27 et le matériel végétal.

L'absence de différence entre les captures des pièges appâtés avec les mélanges synthétiques confirme les résultats de l'essai 13 et que l'acrylate d'éthyle seul ou la présence de deux composés minoritaires est suffisant pour avoir le même niveau de capture que par le mélange 27 tout entier. Mais la capture nettement moins importante des mélanges synthétiques en comparaison avec le matériel végétal (essai 14) est contraire aux résultats de l'essai 13 où il n'y avait pas eu de différence significative entre la capture des pièges appâtés avec acrylate d'éthyle plus tiglate d'éthyle ou acrylate d'éthyle plus 3,3-diméthylacrylate d'éthyle ou le matériel végétal.

### 5.3.3.5. Evolution comparée des effets du mélange 27 et du matériel végétal au cours du temps (essai 15)

L'évolution de la capture des pièges appâtés avec la phéromone plus le cœur de dattier, ce dernier renouvelé tous les 12 jours ou non, ou le mélange 27 a été étudiée en fonction du temps. Le mélange 27 a été émis selon deux modalités : seul dans le diffuseur standard (film plastique fourni par AgriSense), la phéromone étant émise par un second diffuseur, ou en mélange avec la phéromone pour étudier la possibilité d'employer un diffuseur unique dans les pièges pour émettre les deux odeurs.



Le matériel végétal et tous les mélanges synthétiques ont été testés en association avec la phéromone.

La barre associée à chaque point représente l'erreur type de la moyenne.

Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 54** : Effet du mélange 27 (avec la phéromone dans les diffuseurs séparés ou dans le même diffuseur) en comparaison avec le matériel végétal renouvelé ou non renouvelé.

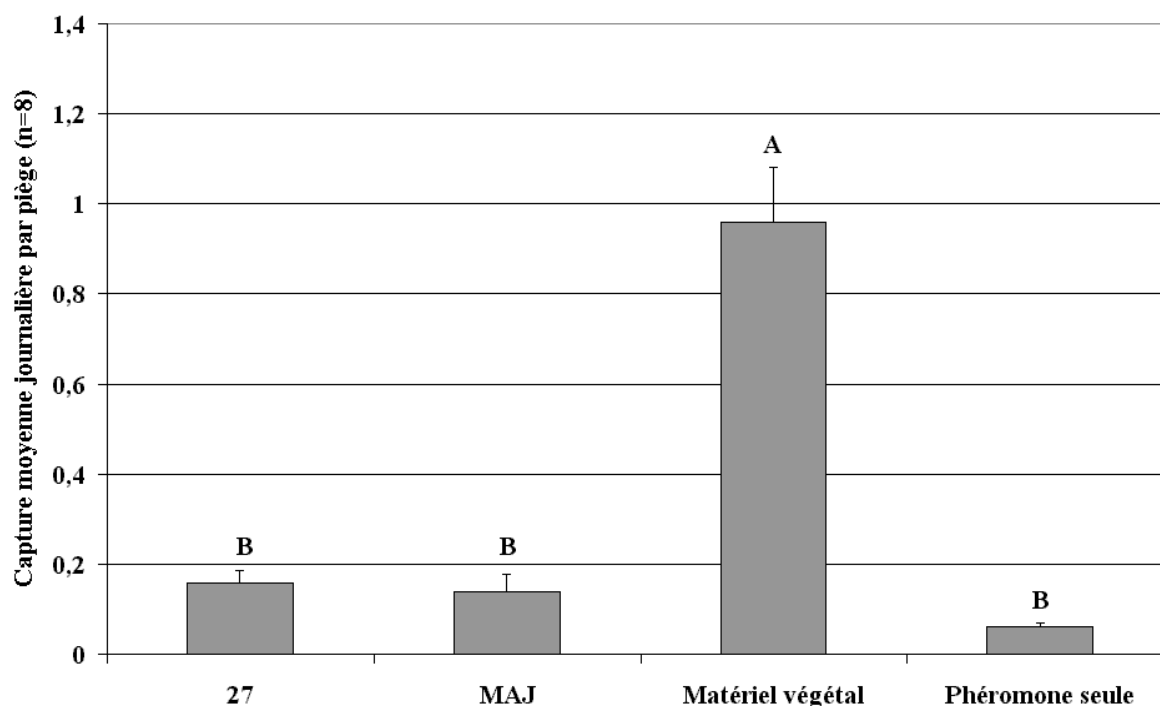
En moyenne sur les 48 j de l'essai, la capture des pièges appâtés avec le matériel végétal renouvelé tous les 12 jours a été significativement supérieure à celle des pièges avec le matériel végétal non renouvelé ou des mélanges synthétiques. Les captures des pièges appâtés avec le mélange 27 (diffuseurs uniques ou séparés pour la phéromone et le mélange 27) ont été significativement moins importantes que celle des pièges avec le matériel végétal non renouvelé. Les captures moyennes des pièges avec diffuseurs séparés ou uniques pour la phéromone et le mélange 27 ont été équivalentes (Figure 54).



La capture des pièges appâtés avec le matériel végétal non renouvelé a diminué en fonction du temps et elle est arrivée au même niveau que celles des mélanges synthétiques après 18 j. Ces résultats traduisent une diminution de l'effet phérosynergique du matériel végétal en fonction du temps.

### 5.3.3.6. Effet de la fraction majoritaire du mélange 27 (essai 16)

L'absence d'effet 'dose totale' (60 à 1150 mg/j ; essai 11), 'proportion de la fraction minoritaire' (0,6 à 15% ; essai 12) et 'composition de la fraction minoritaire' pour le mélange 27 (Essais 13 & 14) indique que les constituants minoritaires de ce mélange n'ont pas de rôle phérosynergique. L'effet observé dans l'essai 10 paraît donc reposer sur la fraction majoritaire (= mélange MAJ) constituée de EtOH & EtAc (50:50 v/v).



Pour valider ces hypothèses, nous avons comparé l'effet phérosynergique du mélange 27, du mélange MAJ et celui du matériel végétal. La phéromone seule a été utilisée comme référence.

Le matériel végétal et tous les mélanges synthétiques ont été testés en association avec la phéromone.

La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 55** : Effet du mélange 27 en comparaison avec MAJ, matériel végétal et la phéromone seule.

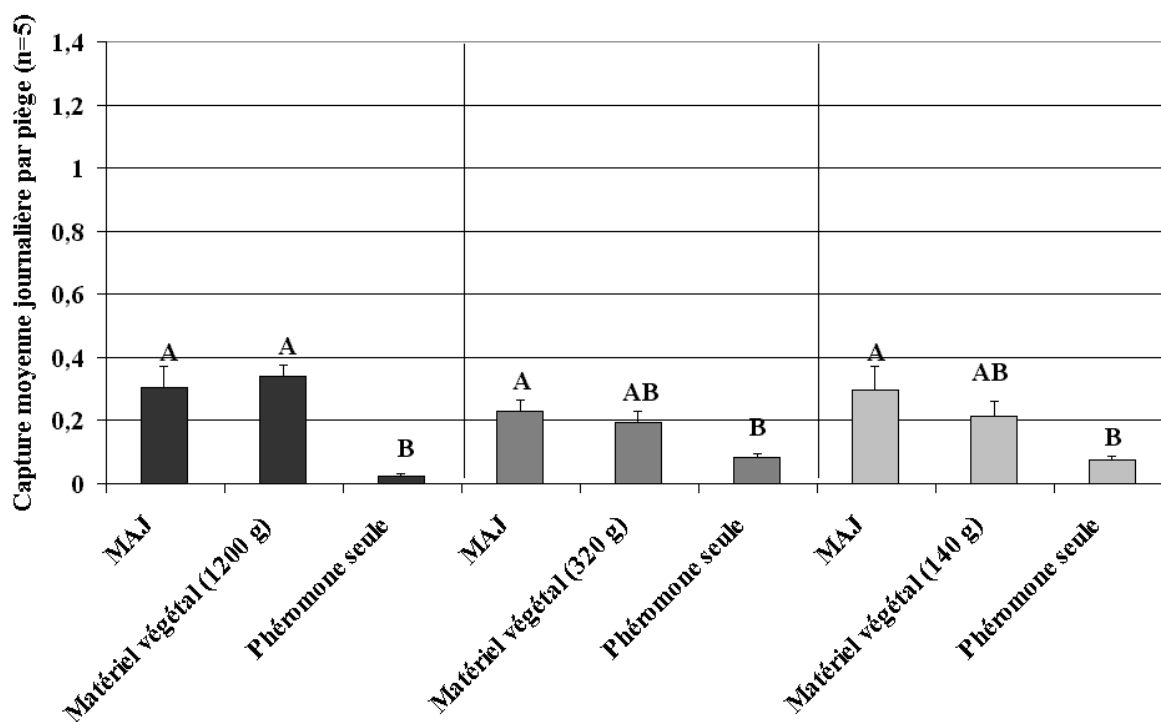
La capture des pièges appâtés avec le matériel végétal a été significativement supérieure à celle des pièges appâtés avec les mélanges 27 et MAJ associés à la phéromone ou la phéromone seule. Ces appâts conduisent à des captures statistiquement équivalentes (Figure 55). Ces résultats mettent en évidence l'absence de rôle de la fraction minoritaire du mélange 27.

#### **5.3.4. Activité du mélange MAJ**

##### ***5.3.4.1. Effet du mélange MAJ en comparaison avec les différentes quantités de matériel végétal (essais 17 et 18)***

Choix multiple sur un même site (essai 17) : l'effet du mélange MAJ ( $267 \pm 43$  mg/j) a été comparé à celui de  $1200 \pm 160$ ,  $360 \pm 40$  et  $160 \pm 30$  g de matériel végétal. La phéromone seule a été utilisée comme référence. L'effet phérosynergique du matériel végétal a diminué en fonction de sa quantité et la capture des pièges appâtés avec 1200 g de matériel végétal a été significativement supérieure à celle réalisée avec 360 ou 160 g de matériel végétal, équivalente et statistiquement identique à celle réalisée par la phéromone seule. Le mélange MAJ a permis de capturer un nombre moyen d'insectes statistiquement intermédiaire à ceux pris avec 1200 ou 360 g de matériel végétal et avec la phéromone seule (Figure 56, page suivante).

Choix binaire sur différents sites (essai 18) : Dans cet essai l'effet phérosynergique du mélange MAJ a été comparé à celui de trois quantités de matériel végétal ( $1200 \pm 120$ ,  $320 \pm 30$  et  $140 \pm 20$  g) sur trois sites éloignés. L'idée directrice à cette approche a été : 1) éviter les interactions éventuelles entre les appâts dans un essai de choix multiple ; 2) se rapprocher d'une situation agronomique standard avec un appât disponible et une alternative potentielle (MAJ comme substitut du matériel végétal). La phéromone seule a été utilisée comme référence dans tous les sites. Le mélange MAJ a été significativement compétitif avec les différentes quantités de matériel végétal confirmant les résultats de l'essai 17 (Figure 57, page suivante).



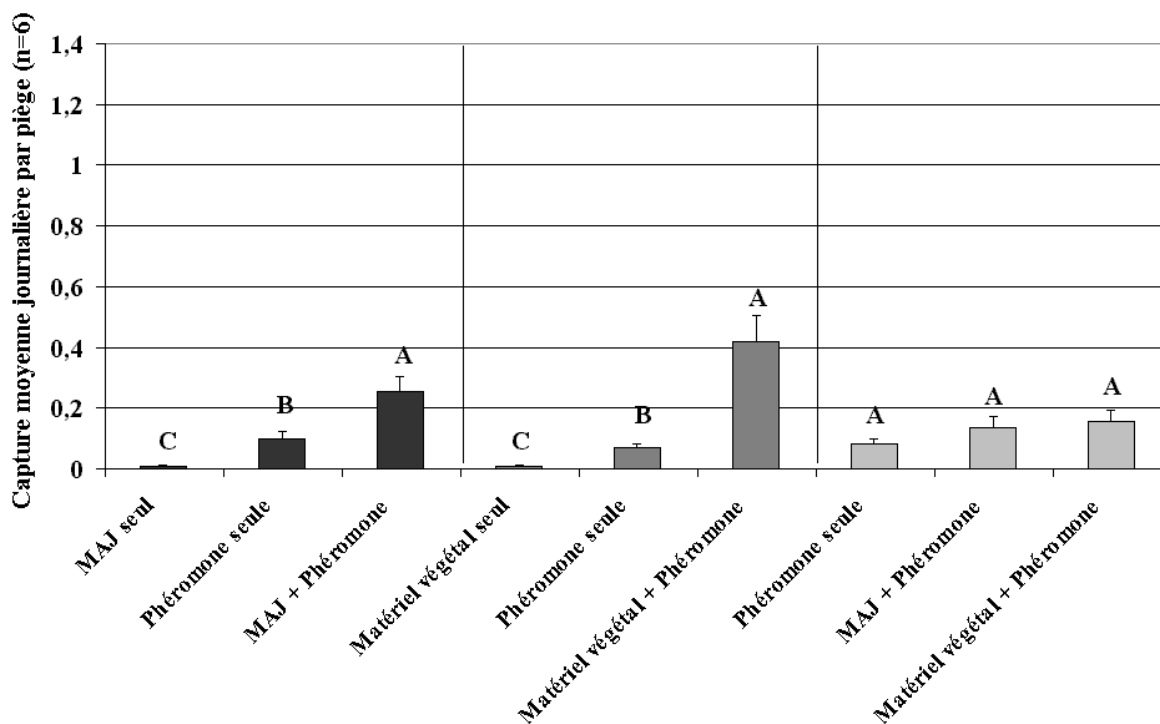
Le matériel végétal et le mélange synthétique ont été testés en association avec la phéromone.  
 La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.  
 Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figures 56 (haut) et 57 (bas) :** Effet du mélange MAJ en comparaison avec trois quantités de matériel végétal et la phéromone seule sur un même site (haut) ou 3 sites distincts (bas).

#### **5.3.4.2. Effet phérosynergique comparés du mélange MAJ et du matériel végétal (essai 19)**

Dans cet essai, effectué sur trois sites éloignés, l'effet phérosynergique du mélange MAJ et du matériel végétal ( $1200 \pm 140$  g) a été mis en évidence et leurs effets phérosynergiques ont été comparés l'un à l'autre.

Les captures par le mélange MAJ et le matériel végétal, associés à la phéromone, ont été significativement supérieures à celles obtenues par MAJ, le matériel végétal et la phéromone testés seuls et il n'y avait pas de différence significative entre l'effet phérosynergique du mélange MAJ et le matériel végétal (Figure 58).



La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.  
Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

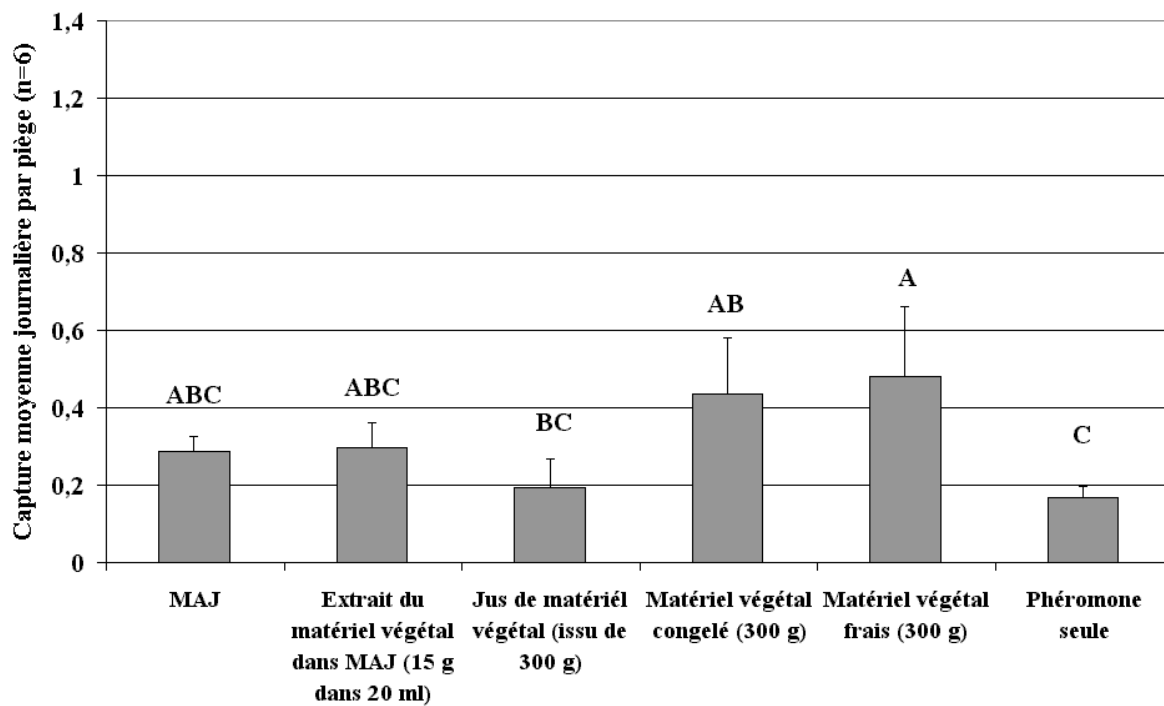
**Figure 58** : Effet phérosynergique du mélange MAJ, le matériel végétal, et tous les deux en comparaison.

### 5.3.5. Effet phérosynergique du matériel végétal sous différentes formes (essai 20)

L'effet phérosynergique de 300 g de matériel végétal sous différentes formes (frais, congelé, jus) a été comparé à celui du mélange MAJ et l'extrait du matériel végétal dans le mélange MAJ. La phéromone seule a été utilisée comme référence.

Il n'y a pas de différence significative entre les captures de pièges appâtés avec le matériel végétal frais ou congelé ce qui met en évidence que la congélation du matériel végétal ne modifie pas l'effet phérosynergique du matériel végétal. Mais la capture des pièges appâtés avec le jus de dattier a été significativement inférieure à celle du matériel végétal frais montrant le rôle de la matrice solide du matériel végétal sur son effet phérosynergique. Le mélange MAJ et l'extrait de matériel végétal dans MAJ ont montré un effet phérosynergique intermédiaire et la capture de l'extrait du matériel végétal dans MAJ n'a pas été supérieure à

celle du mélange MAJ seul. Il semble que, soit la quantité de matériel végétal utilisée pour faire cet extrait n'ait pas été suffisante, soit le(s) composé(s) responsable(s) de l'effet phérosynergique du matériel végétal n'a (ont) pas été extrait(s) par notre méthode (Figure 59).



Le matériel végétal et le mélange synthétique ont été testés en association avec la phéromone.

La barre associée à chaque colonne représente l'erreur type de la moyenne.

Les valeurs associées à une même lettre ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%).

**Figure 59** : Effet phérosynergique du mélange MAJ en comparaison avec le matériel végétal frais, congelé, sa phase liquide, son extrait dans MAJ et la phéromone seule.

## 5.4. Discussion

### 5.4.1. Criblage de l'effet phérosynergique chez les odeurs végétales

#### 5.4.1.1. Mélanges ou produits choisis à partir de données bibliographiques

Le mélange 16 (essai 1) contenait le butane-2,3-diol et l'acétoïne comme constituants minoritaires. Ces deux molécules ont été identifiées chez les plantes-hôtes de *R. palmarum* par [Rochat et al.](#) (2000a) et ce sont deux constituants minoritaires des mélanges synthétiques avec une propriété phérosynergique pour *R. palmarum* (mélanges G et H). Une co-localisation et une interaction au niveau des neurones olfactifs entre la phéromone et l'acétoïne ont été enregistrées chez *R. palmarum*. En parallèle, une réponse comportementale synergique au mélange phéromone-acétoïne, corrélée à des interactions entre ces deux molécules au niveau du système nerveux périphérique, a été mise en évidence dans un olfactomètre ([Saïd, 2003](#)). Ces molécules ont été identifiées également dans le cœur de dattier en quantités importantes à partir du premier jour jusqu'au 7<sup>e</sup> jour de fermentation (Tableau 5) lors des analyses effectuées en 2000. Elles font partie des constituants des mélanges MJ1, MJ2 et MJ2\*. Mais les mélanges 26, MJ1, MJ2, MJ2\* et G n'ont pas été compétitifs avec le matériel végétal dans les essais 1, 2 et 3. Les résultats montrent que ces deux molécules n'ont pas de rôle phérosynergique chez *R. ferrugineus* et cette espèce n'utilise pas les mêmes signaux chimiques que *R. palmarum* malgré leurs plantes-hôtes communes.

L'un des constituants minoritaires du mélange 35 a été la  $\gamma$ -nonanoïque lactone identifiée par [Gunawardena et al.](#) (1998) comme un produit volatil du cocotier sans réponse EAG considérable mais modérément actif au niveau comportemental dans un olfactomètre de type Y pour *R. ferrugineus*. Ce produit n'a été actif ni dans le criblage EAG (chapitre 2) ni dans le mélange 35 testé dans les essais 1 et 3.

Le propionate d'éthyle et l'acétate d'éthyle ont montré des effets phérosynergiques intéressants aux doses testées (138 et 209 mg/j respectivement), compétitifs avec 400 et même 1100 g de matériel végétal dans l'essai 4. La diffusion de l'acétate d'éthyle lors de nos essais a été inférieure à celles utilisées pour valider cette molécule comme phérosynergiste pour *R. cruentatus* ([Giblin-Davis et al., 1994](#)) mais la diffusion du propionate d'éthyle et de l'acétate d'éthyle a été supérieure à la dose testée chez *R. phoenicis* ([Gries et al., 1994a](#)). Chez *R. cruentatus*, l'acétate d'éthyle qui est le meilleur produit phérosynergiste parmi les molécules testées, n'a pas été statistiquement compétitif avec 1,5 kg de matériel végétal (même aux doses de 1843 et 852 mg/j ; [Giblin-Davis et al., 1994](#)). Chez cette espèce, l'efficacité de

l'acétate d'éthyle, du lactate d'éthyle (dose inconnue à cause de sa propriété hygroscopique) et du butyrate d'éthyle en comparaison avec le matériel végétal (1,5 et 0,5 kg du stipe haché de *Sabal palmetto*) a été à peu près équivalente à ce que nous avons trouvé dans l'essai 4 (aucun des produits n'a été statistiquement compétitif avec 1,5 kg de matériel végétal comme phérosynergiste de *R. cruentatus*). Par contre l'acétate d'éthyle à des doses fortes de 1843 et 482 mg/j et le lactate d'éthyle ont été compétitifs avec la faible quantité (0,5 kg) de stipe haché de *Sabal palmetto* (Giblin-Davis *et al.*, 1994). Chez *R. phoenicis*, le propionate d'éthyle à une dose de 30 mg/j n'a pas été statistiquement compétitif avec 1 kg de tissu de palmier même si la capture de la phéromone avec le propionate d'éthyle a été significativement supérieure à la capture des pièges avec la phéromone seule (Gries *et al.*, 1994a).

#### **5.4.1.2. Mélanges construits à partir de composés volatils identifiés dans l'odeur du cœur de dattier ou criblés par EAG**

Ils n'ont pas été compétitifs avec le matériel végétal dans les essais 1 (mélange MJ2\*), 2 (MJ1 et MJ2) et 3 (MJ1 sans éthanol ni l'acétate d'éthyle). En dépit de différences qualitatives et quantitatives entre les mélanges MJ1 et MJ2 (composition et dose émise), nous n'avons pas observé de différence de capture moyenne par les deux odeurs synthétiques. L'absence d'effet phérosynergique compétitif avec le matériel végétal chez le mélange MJ2\* n'est donc pas seulement causée par des proportions mal adaptées des constituants. Les captures faibles de ces mélanges en comparaison avec le cœur de dattier montrent clairement que des molécules non identifiées au cours de l'analyse effectuée en 2000, indispensables pour reproduire l'effet phérosynergique du matériel végétal, manquent dans ces mélanges reconstitués.

Le mélange EAG, élaboré à partir du criblage effectué par électroantennographie en 2000, n'a pas été compétitif avec le matériel végétal dans les essais 1 et 3. D'une part, le criblage EAG a été effectué à partir d'une gamme limitée de molécules et il est possible que des molécules ayant un rôle clef comme phérosynergistes n'aient pas été testées et d'autre part, comme le montrent plusieurs cas dans la bibliographie, un produit déclenchant une réponse électroantennographique ne déclenche pas forcément une réponse comportementale (attraction, phérosynergie...).

La fraction minoritaire du mélange G [phérosynergiste de *R. palmarum* (Rochat *et al.*, 2000)] n'a montré aucun effet phérosynergique à une dose de 29 mg/j dans l'essai 3. Ce mélange n'a jamais été compétitif avec le matériel végétal comme phérosynergiste de *R.*

*ferrugineus* dans les essais antérieurement effectués (Avand-Faghih, 1998 & 2000) ce qui montre la différence entre les signaux chimiques utilisés par ces espèces proches au niveau de la biologie et leurs plantes-hôtes.

Le gaz carbonique a montré un effet phérosynergique équivalent au mélange MAJ dans l'essai 5 à la dose testée. Bien que le total des captures soit très voisin lors des deux périodes de l'essai 5, le matériel végétal est apparu nettement plus efficace que la combinaison MAJ + CO<sub>2</sub> lors de la deuxième période alors que ces deux appâts avaient montré un effet équivalent lors de la première période. Les résultats obtenus pendant la deuxième période sont plus fiables compte tenu du mode de production du gaz carbonique permettant une émission à priori continue entre 10h00 et 22h00, période de mobilité des insectes (§ 4.3.3). Lors de la première période, l'émission de gaz carbonique dans la majorité des pièges a cessé en cours de journée à la suite de la cristallisation de l'acide citrique bouchant des bouteilles goutte-à-goutte. L'efficacité du gaz carbonique devra être revérifiée notamment avec des doses plus fortes et un système capable de produire du gaz carbonique pendant 24h.

A part l'acétate d'éthyle et le propionate d'éthyle aux doses élevées, aucun des mélanges testés n'a montré d'effet phérosynergique, ce qui indique que le(s) produit(s) responsable(s) d'un effet phérosynergique dans le cœur de dattier n'a(ont) pas été trouvé(s) et testé(s) sur le terrain ou que les mélanges testés n'ont pas été préparés selon une composition et/ou des proportions correspondant à celles des odeurs naturelles actives.

#### **5.4.2. Activité du mélange 27**

Le mélange 27 a présenté des degrés différents d'efficacité selon le protocole de l'essai et/ou selon le niveau de capture des pièges. Ce mélange a montré un effet phérosynergique compétitif avec le cœur de dattier en 2000 (Avand-Faghih, 2000) et en 2001 (les essais 7 et 13) et un effet phérosynergique moyen (essai 10) ou aucun effet (les essais 6, 11, 12, 13, 14, 15 et 16) en 2002. Les essais en 2000 et 2001 sont réalisés d'une part, avec un nombre important de traitements à comparer ( $\geq 10$  traitements) et d'autre part, avec peu de répétitions (4 blocs) en comparaison avec les essais de 2002 qui sont effectués avec un nombre plus limité de traitements mais plus de répétitions dans l'espace ( $\geq 8$  dans chaque bloc). D'ailleurs le niveau de capture enregistré en 2002 a été clairement supérieur à ceux relevés en 2000 et 2001. La mise en place simultanée de piégeage de masse de *R. ferrugineus* dans les palmeraies voisines avait causé une diminution de la population de l'insecte en 2001 et en conséquence le nombre de captures des pièges. Beaucoup de traitements, peu de répétitions, le



nombre faible de capture et en conséquence la diminution de la puissance des essais a abouti à l'effet observé du mélange 27 en 2000 et 2001. Les résultats obtenus en 2002 issus des essais mis en place avec moins de traitements et plus de répétitions et avec plus d'insectes capturés sont plus fiables.

L'effet phérosynergique du mélange 27 a bien été mis en évidence dans l'essai 10. Mais cet effet n'a pas été compétitif avec le cœur de dattier.

L'absence d'effet dose du mélange 27 dans la gamme testée (essai 11) pourrait indiquer qu'une très petite quantité du mélange est suffisante pour arriver au plateau de la courbe dose-réponse.

Les résultats des essais 9, 12, 13 et 14 montrent l'absence d'activité biologique de la fraction minoritaire du mélange 27 dans la gamme des proportions testées. Les essais 12, 13 et 14 ont bien mis en évidence l'absence de rôle phérosynergique de la fraction minoritaire du mélange 27 où la modification des doses du mélange 27 et des proportions de sa fraction minoritaire n'ont eu aucun effet sur le nombre d'insectes capturés. La capture obtenue par la fraction minoritaire du mélange 27, même avec une dose de 74 mg/j, n'a pas été compétitive avec le matériel végétal dans l'essai 9. Ce résultat a été confirmé par l'essai 16 où les captures par le mélange 27 et le mélange MAJ (sans fraction minoritaire de 27), un mélange très simple d'éthanol et d'acétate d'éthyle en proportions égales (en volume), ont été semblables. L'effet phérosynergique, mis en évidence dans les essais 7 et 10 est donc dû au mélange MAJ.

L'association des mélanges dans les essais 7 et 8 n'a abouti à aucun effet additif ou amélioration de l'effet phérosynergique. L'absence de différence significative entre la capture des pièges appâtés avec la phéromone seule et celle du matériel végétal dans l'essai 7 (effectué en 2001) a été due au niveau très faible des captures. Le nombre des insectes capturés par les pièges appâtés avec le mélange 27 a été supérieur à celui des pièges avec le cœur de dattier pendant cette expérience.

Nous n'avons pas utilisé les produits de la même origine pour faire ce mélange au cours du travail (4 ans). Le 3,3-diméthylacrylate d'éthyle utilisé en 2000 et en 2001 a été fourni par la société AEG-Chemie (98%) alors que nous avons utilisé du produit de la société Aldrich (98%) dans les années 2002 et 2003. Les impuretés du produit utilisé en 2000 ou 2001 pourraient éventuellement être responsables de l'effet phérosynergique observé avec le mélange 27. Cette hypothèse n'a pas pu être étudiée car aucun échantillon du lot utilisé en 2000 et 2001 n'a été conservé pour analyse. En dépit de sa lourdeur, il nous semble utile à

l'avenir de conserver des échantillons de chaque produit utilisé dans les essais biologiques à des fins de contrôle ultérieur le cas échéant.

#### 5.4.3. Effet phérosynergique du matériel végétal et du mélange MAJ

L'effet du nombre de traitements à comparer sur les résultats obtenus nous a conduit à la mise en place d'expériences de choix limités. C'est ainsi que nous avons effectué les essais 18 et 19 avec trois tests de trois traitements sur les sites éloignés. L'effet de la dose de matériel végétal sur sa propriété phérosynergique a été bien mis en évidence dans les essais 17 et 18 confirmant les résultats de l'essai effectué en 2000 (Avand-Faghih, 2000). Les quantités moins importantes de matériel végétal (360, 160 et 320, 140 dans les essais 17 et 18 respectivement) ont montré des effets différents selon le type de démarche. L'effet biologique de ces quantités est plus visible dans l'essai 18 en compétition avec le mélange MAJ et la phéromone seule comme référence, que dans l'essai 17 où toutes les quantités ont été en compétition dans un bloc. Autrement dit, il semble qu'il y ait une compétition en faveur du matériel végétal de la quantité la plus importante dans l'essai 17. Il est donc préférable d'éviter de comparer plusieurs appâts de nature semblable à la fois et sur le même site pour empêcher les interactions entre elles.

L'effet phérosynergique de l'extrait de 15 g de matériel végétal dans le mélange MAJ n'a pas été différent avec le mélange MAJ seul dans l'essai 20. D'autre part, le jus de matériel végétal (issu du 300 g) n'a montré aucun effet phérosynergique dans l'essai 20 alors que 300 g du cœur de dattier, soit frais soit congelé, a présenté un effet phérosynergique. Il semble que le produit responsable de l'effet phérosynergique soit lié à la phase solide et fibreuse du cœur de dattier. La congélation n'a pas modifié l'effet phérosynergique du cœur de dattier comme cela a été aussi montré dans la canne à sucre comme phérosynergiste du *R. cruentatus* (Giblin-Davis et al., 1994).

L'effet phérosynergique du mélange MAJ a été mis en évidence dans l'essai 19 où la capture du mélange MAJ avec la phéromone est significativement supérieure au mélange MAJ seul ou à la phéromone seule. Dans l'essai 17, le mélange MAJ a montré un effet moyen compétitif avec 160, 360 ou même 1200 g de matériel végétal. Mais la capture du mélange MAJ dans cet essai est à peu près deux fois inférieure à celle avec 1200 g de matériel végétal et elle n'est pas significativement différente avec la capture de la phéromone seule. Dans l'essai 18, où l'effet phérosynergique du mélange MAJ a été comparé à celui obtenu avec des quantités différentes de matériel végétal dans les sites expérimentaux séparés pour chaque

quantité, le mélange MAJ a été bien compétitif avec toutes les quantités du matériel végétal : 140, 320 et 1200 g. La capture du mélange MAJ qui est légèrement inférieure à celle de 1200 g de matériel végétal dépasse celle de 320 g et encore plus celle de 140 g de matériel végétal ce qui montre la domination logique du mélange MAJ en fonction de la diminution de la quantité de matériel végétal en compétition avec lui. Le niveau de capture dans les essais 18 et 19 n'a pas été aussi élevé que dans les essais effectués en 2002. Il est possible que le mélange MAJ ne présente pas d'effet phérosynergique aussi intéressant avec une grande quantité de matériel végétal dans les autres conditions (niveau de la population de l'insecte plus élevé). Cependant la simplicité, la facilité de préparation et le coût peu élevé de ce mélange offrent de grands avantages pour son application agronomique, comme phérosynergiste de *R. ferrugineus*, et surtout pour développer la méthode de piégeage de masse sur une grande échelle. Les diffuseurs en poche plastique (société AgriSense-BCS Ltd ; Royaume-Uni) peuvent fournir une diffusion d'une durée assez longue (environ 2 mois) de ce mélange sur le terrain, ce qui peut diminuer d'une façon considérable une grande partie de la main-d'œuvre d'entretien des pièges (préparation et renouvellement du matériel végétal). L'application agronomique du mélange MAJ peut donc être envisagée pour une campagne de piégeage de masse dans le cas de la mise en place d'un nombre important de pièges avec une main-d'œuvre limitée.

## Conclusions et Perspectives

Le cœur de dattier, comme celui d'autres palmiers-hôtes de *R. ferrugineus*, est la nourriture des adultes et des larves et le site d'oviposition des femelles. L'odeur de ce tissu est un signal chimique pour les adultes comme kairomone et elle a un effet synergique sur l'attraction par phéromone d'agrégation produite par les mâles.

Les résultats des analyses chimiques montrent que cette odeur est un mélange très complexe dont plus de 100 composants sont identifiés. Cependant, elle comprend des constituants de structures complexes difficiles à identifier qui n'ont pas permis de la caractériser complètement. Par ailleurs, la composition de cette odeur varie qualitativement et quantitativement au cours de la fermentation et l'on observe concomitamment en fonction de l'activité des micro-organismes une évolution de l'effet phérosynergique du matériel végétal en conditions naturelles. Cette complexité, dans un contexte de mélange, rend difficile la réalisation d'un échantillonnage représentatif de l'odeur : 1) un échantillonnage de courte durée par SPME aboutit à prélever des constituants minoritaires en quantité insuffisante pour les analyses ultérieures (problème qualitatif) ; 2) une collecte d'effluves de longue durée sur un polymère adsorbant ne représente pas la composition des constituants à un moment donné, utilisée comme signal chimique par insecte (problème quantitatif d'extraits). C'est ainsi que les mélanges préparés à partir de compositions de collectes d'odeurs de plantes-hôtes des charançons des palmiers (MJ1, MJ2, MJ2\*, G et H) ne sont pas efficaces sur le terrain.

Une grande partie des constituants identifiés des odeurs de plantes-hôtes de *Rhynchophorus* spp., sont des molécules omniprésentes ou très fréquentes dans tous les matériaux végétaux en fermentation ou dans 'l'odeur de feuilles vertes'. Certains de ces produits (hexanol, propionate d'éthyle, acétate de propyle, et lactate d'éthyle) déclenchent des réponses antennaires fortes enregistrées par la technique EAG. Mais les mélanges synthétiques contenant ces produits (mélange EAG par exemple) ne sont pas actifs ou ne présentent pas un effet phérosynergique compétitif avec le matériel végétal. L'effet observé de l'acétate d'éthyle et du propionate d'éthyle à des doses élevées chez *R. ferrugineus* (chapitre 5 ; essai 4) est comparable aux résultats obtenus chez *R. cruentatus* (Giblin-Davis et al., 1994) et *R. phoenicis* (Gries et al., 1994a) où ces produits ont montré des effets phérosynergiques limités comparables à ceux obtenus avec des quantités faibles de matériel végétal. L'inefficacité des mélanges synthétiques testés en compétition avec le cœur de dattier met en évidence, le

manque de produit(s) responsable(s) de l'effet phérosynergique, présent(s) dans ce matériel végétal. Le régime oligophagique de *R. ferrugineus*, inféodé aux palmiers, confirme que les produits 'ubiquistes' issus de la fermentation ne peuvent pas être considérés comme sémiochimiques suffisant pour caractériser et localiser la plante-hôte.

Les analyses CPG-EAG d'extraits contenant des quantités élevées d'une large gamme de produits, grâce à la collecte d'odeurs pendant des périodes longues, ont relevé l'activité antennaire de 10 produits dont seul l'anisole a été identifié. L'anisole est l'un des composés minoritaire du mélange 41 présentant un effet phérosynergique moyen dans les conditions de criblage effectué en 2000 sur le terrain (Avand-Faghih, 2000). Deux produits, disponibles dans tous les extraits obtenus au cours de l'évolution qualitative et/ou quantitative du cœur de dattier, ont déclenché des réponses EAG reproductibles. L'un de ces produits a été un composé minoritaire non détecté par le FID dans certains extraits et l'autre, un produit avec un temps de rétention élevé (23,25 mn). Dans la base de la bibliothèque de SM, ces molécules pourraient être respectivement la mégastigma-4,6Z,8Z-triène et le 3,5,7-triméthyl-2E,4E,6E,8E-undécatetraène. Les résultats d'analyses CPG-EAG ont mis en évidence d'une part, l'efficacité de cette technique pour un criblage rapide de produits actifs au niveau antennaire de *R. ferrugineus* et d'autre part, le rôle éventuel de composés minoritaires ou non identifiés dans les plantes-hôtes comme produit clé de l'effet phérosynergique.

*R. ferrugineus* est beaucoup moins mobile que *R. palmarum* pour lequel un outil de test comportemental (olfactomètre à quatre voies) a été mis au point. Son activité faible a été constatée dans les tests olfactométriques aussi bien que dans l'observation en conditions seminaturelles. Sa mobilité faible a mis en difficulté l'avancement optimal de travaux pour identifier les sémiochimiques à rôle phérosynergique chez cette espèce. D'ailleurs, le niveau de la capture chez *R. ferrugineus* est beaucoup plus faible que chez *R. palmarum*, ce qui nécessite la réalisation d'essais de piégeage sur le terrain pendant des durées plus longues et un nombre de répétitions plus important.

L'effet d'un produit ou d'un mélange dans les essais de piégeage sur le terrain est relatif. Il dépend des facteurs environnementaux surtout au niveau de la population d'insectes et de la méthodologie particulièrement la référence avec laquelle son effet est comparé. Ainsi le mélange MAJ (contenant l'éthanol et l'acétate d'éthyle à volume égal) a présenté un effet phérosynergique intéressant et compétitif avec différentes quantités de matériel végétal dans les conditions des essais 16, 17 et 18. L'acétate d'éthyle, l'un des composés de ce mélange, a aussi montré des effets phérosynergiques chez d'autres espèces comme *Metamasius hemip-*

*terus* et *R. cruentatus*. Ce mélange est simple, facile à préparer et avec un coût bas offrant de grands avantages pour l'utiliser comme phérosynergiste synthétique dans les campagnes de piégeage de masse :

1. Son application agronomique diminue la main-d'œuvre considérable pour préparer le matériel végétal et le renouveler dans des délais courts.

2. Le rejet de palmier dattier dont son cœur utilisé en Iran comme phérosynergiste, est la source traditionnelle de reproduction de cette plante et possède donc une valeur économique. L'utilisation du mélange MAJ au lieu du cœur de palmier dattier est donc particulièrement intéressante pour assurer un piégeage efficace de *R. ferrugineus* et préserver les rejets de dattiers.

3. Les campagnes de piégeage de masse sont souvent organisées par les établissements publics avec peu de ressources humaines pour garantir un entretien optimal des pièges. Ce sont souvent la quantité et la qualité du matériel végétal phérosynergique qui sont touchées et mal gérées à cause de la limitation du nombre de personnes alors que les résultats des travaux ont mis en évidence le rôle important, soit qualitativement soit quantitativement, du matériel végétal au niveau de la capture. Nos résultats montrent que la diffusion continue du mélange MAJ améliore l'efficacité du piégeage de masse en comparaison avec l'utilisation de faibles quantités de matériel végétal de mauvaise qualité.

L'efficacité du mélange MAJ pourra être améliorée à la suite de l'identification d'autres produits complémentaires responsables d'effet phérosynergique de plantes-hôtes de *R. ferrugineus*. Dans cette perspective, nous proposons de :

1. caractériser l'odeur de plantes-hôtes de *R. ferrugineus* à partir d'échantillons représentatifs.

2. concrétiser les résultats obtenus par CPG-EAG par les tests comportementaux.

3. étudier la raison de la faible mobilité de *R. ferrugineus* par des observations sur l'éthologie de cette espèce afin d'optimiser les conditions des tests olfactométriques au laboratoire.

## Références

- ABRAHAM V.A., FALERIO J.R., AL SHUAIBI M.A., PREM KUMAR T., 2000. A strategy to manage red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. on date palm *Phoenix dactylifera* L. – its successful implementation in Al-Hassa, Kingdom of Saudi Arabia. *Pestology*. 24, 23-30.
- ABRAHAM V.A., KOYA K.M.A., KURIAN C., 1975. Evaluation of seven insecticides for control of red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Fabr. *Journal of Plantation Crops*. 3, 71-72.
- ABRAHAM V.A., KURIAN C., 1974. *Chelisoches moris* F. (Forficulidae : Dermaptera), a predator on eggs and early instar grubs of the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* F. (Curculionidae: Coleoptera). *Journal of Plantation Crops*. 1, 147-152.
- ALLOU K., MORIN J.P., ROCHAT D., 2002. Amélioration du piégeage olfactif de *Oryctes monoceros* (Olivier), Coleoptera, Dynastidae, ravageur du cocotier et du palmier à huile en Côte d'Ivoire. *AFPP – Sixième Conférence Internationale sur les Ravageurs en Agriculture*, Montpellier, 4-5-6 décembre 2002. 295-302.
- AMAN N., KUROGI S., NAKAMURA M., GOTO H., 2000. Occurrence of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*, in Miyazaki Prefecture. *Proceedings of the Association for Plant Protection of Kyushu*. 46: 127-131.
- AVAND-FAGHIH A., 1996. The biology of red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. in Saravan region (Sistan & Balouchestan province, Iran). *Applied Entomology and Phytopathology*. 63, 61-89.
- AVAND-FAGHIH A., 1998. Research on the Control of red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. (Col. : Curculionidae) with synthetic attractants in Sistan & Blouchestan province (Iran). *A thesis submitted in partial fulfilment for the degree of M.Sc. in Agricultural Entomology*, Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Tehran, 162 pp.
- AVAND-FAGHIH A., 2000. Identification et Application Agronomique de Synergistes Végétaux de la Pheromone du Charançon *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) 1790. Mémoire de fin d'études présenté en vue de l'obtention du Diplôme d'Agronomie Approfondie, Institut National Agronomique Paris-Grignon, 23 pp.
- AVAND-FAGHIH A., GHARIB A.R., 1995. Study of biology and control of red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus* Oliv.) in Saravan, *Proceedings of the 12<sup>th</sup> Iranian Plant Protection Congress*. 193.
- AYYAR T.V.R., 1940. A hand book of economic entomology for South India. Government Press, Madras. 328-336. In : WATTANAPONGSIRI A., 1966.
- BANERJEE A., DANGAR T. K., 1995. *Pseudomonas aeruginosa*, a facultative pathogen of red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 11, 618-620.

- BARRANCO P., DE LA PEÑA J., CABELLO T., 1996. El picudo rojo de las palmeras, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier), nueva plaga en Europa. (Coleoptera, curculionidae). *Phytoma España*, 76, 36-40.
- BARTELT R.J., 1997. Calibration of a commercial solid-phase microextraction device for measuring headspace concentrations of organic volatiles. *Analytical Chemistry*, 69, 364-372.
- BARTELT R.J., DOWD P.F., PLATTNER R.D., WEISLEDER, D., 1990. Aggregation pheromone of driedfruit beetle, *Carpophilus hemipterus* wind-tunnel bioassay and identification of two novel tetraene hydrocarbons. *Journal of Chemical Ecology*. 16, 1015-1039.
- BARTELT R.J., SCHANER A.M., JACKSON L.L., 1988. Aggregation pheromones in *Drosophila borealis* and *Drosophila littoralis*. *Journal of Chemical Ecology*. 14, 1319-1327.
- BARTELT R.J., VETTER R.S., CARLSON D.G., PETROSKI R.J., BAKER T.C., 1995. Pheromone combination lures for *Carpophilus* (Coleoptera: Nitidulidae) species. *Journal of economic Entomology*. 88, 864-869.
- BENGTSSON M., BÄCKMAN A.C., LIBLIKAS I., RAMIREZ I., BORG-KARLSON A.K., ANSEBO L., ANDERSON P., LÖFQVIST J., WITZGALL P., 2001. Plant odor analysis of apple: antennal response of codling moth females to apple volatiles during phenological development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 3736-3741.
- BLUMBERG D., KEHAT M., GOLDENBERG S., BARTELT R.J., WILLIAMS R.N., 1993. Responses to synthetic aggregation pheromones, host-related volatiles, and their combinations by *Carpophilus* spp. (Coleoptera: Nitidulidae) in laboratory and field tests. *Environmental Entomology*. 22, 837-842.
- BOTTO-MAHAN C., CATTAN P.E., CANALS M., 2002. Field tests of carbon dioxide and conspecifics as baits for *Mepraia spinolai*, wild vector of Chagas disease. *Acta Tropica*. 82, 377-380.
- BOULIN B., ARREGUY-SAN MIGUEL B., DELMOND B., 2000. Nouvelles voies d'accès aux theaspiranes, mégastigma-5,7,9-trién-4-one et mégastigma-5,8-dién-4-one à partir du  $\gamma$ -pyronène. *Tetrahedron*. 56, 3927-3932.
- BUXTON P., 1920. Report on the failure of the date crop of Mesopotamia. In : LEPESME P. *et al.*, 1947.
- CHANG V.C.S., CURTIS G.A., OTA A.K., 1971. Insects. Hawaiian Sugar Planters Association Annual Report. 43-44.
- CHANG V.C.S., CURTIS, 1972. Pheromone production by the New Guinea sugarcane weevil. *Environmental Entomology*. 1, 476-481.
- CIRAD – GRET, Ministère des Affaires étrangères, 2002. Mémento de l'agronome. *Librairie du CIRAD, Librairie du GRET*, 986-994.
- COPELAND 1931. The cococnut. 3<sup>rd</sup> ed. MacMillan, Londres, 293 pp. In WATTANAPONGSIRI, 1966.



- DEBBRECHT F.J., 1985. Quantative and qualative analysis by gas chromatography. In : GROB R.L. (Ed.). *Modern Practice of Gas Chromatography*. 361-420.
- DICKENS J.C., 1989. Green leaf volatiles enhance aggregation pheromone of boll weevil, *Anthonomus grandis*. *Entmologia Experimentalis et Applicata*. 52, 191-203.
- DICKENS J.C., 1990. Specialized receptor neurons for pheromones and host plant odors in the boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae). *Chemical Senses*. 15, 311-331.
- DOWD P.F., BARTELT R.J., 1991. Host-derived volatiles as attractants and pheromone synergists for driedfruit beetle, *Carpophilus hemipterus*. *Journal of Chemical Ecology*. 17, 285-308.
- EL GARHY M.E., 1996. Field evaluation of the aggregation pheromone of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*, in Egypt. *Brighton Crop Protection Conference – Pests & Diseases*. 1056-1064.
- F.A.O., 1995. Report of the expert consultation on date palm pest problems and their control in the Near East. 22-26 April 1995, Al-Ain, United Arab Emirates, 58 pp.
- F.A.O., FAOSTAT Agriculture Data, <http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture>
- FALEIRO J.R., ABRAHAM V.A., AL-SHUAIBI M.A 1998. Role of pheromone trapping in the management of red palm weevil. *Indian Coconut Journal*. 29, 1-3.
- FALEIRO J.R., ABRAHAM V.A., BOUDI N., AL-SHUAIBI M.A., PREM KUMAR T., 2000. Field evaluation of red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. Pheromone (ferrugineol) lures. *Indian Journal of Entomology*. 62, 427-433.
- FALEIRO J.R., CHELLAPAN M., 1999. Attraction of red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. To ferrugineol based pheromone lures in coconut gardens. *Journal of Tropical Agriculture*. 37, 60-63.
- FALEIRO J.R., RANGNEKAR P.A., SATARKAR V.R., 2003. Age and fecundity of female red palm weevils *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Coleoptera: Rhynchophoridae) captured by pheromone traps in coconut plantations of India. *Crop Protection*. 22, 999-1002.
- FARAZMAND H., 1999. Host preference of red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv., on important varieties of date palm from Balouchistan, Iran. *A thesis submitted in partial fulfilment for the degree of M.SC. in Agricultural Entomology*, Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Tehran, 151 pp.
- FRASER A.M., MECHABER W.L., HILDEBRAND J.G., 2003. Electroantennographic and behavioral responses of the sphinx moth *Manduca sexta* to host plant headspace volatiles. *Journal of Chemical Ecology*. 29, 1813-1833.
- GHAZAVI M., AVAND-FAGHIH A., 2002. Isolation of two entomopathogenic fungi on red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Col., Curculionidae) in Iran. *Applied Entomology and Phytopathology*, 69, 44-45.

- GHOSH C.C., 1912. Life history of Indian insects. III. The rhinoceros beetle (*Oryctes rhinoceros*) and the red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus*). *Memoires of the Department of Agriculture of India*. 2, 190-217. In : WATTANAPONGSIRI A., 1966.
- GHOSH C.C., 1923. The palm beetles in Burma with notes on other pests. *Bulletin of the Department of Agriculture, Burma*. 190, 1-40. In : WATTANAPONGSIRI A., 1966.
- GHOSH C.C., 1940. Insect pests of Burma. *Rangoon, Superintendent of Government Printing and Stationery*. 216 pp. In : WATTANAPONGSIRI A., 1966.
- GIBLIN-DAVIS R.M., GRIES R., GRIES G., PEÑA-ROJAS E., PINZÓN I., PEÑA J.E., PEREZ A.L., PIERCE JR. H.D., OEHLSCHLAGER A.C., 1997. Aggregation pheromone of palm weevil, *Dynamis borassi*. *Journal of Chemical Ecology*. 23, 2287-2297.
- GIBLIN-DAVIS R.M., OEHLSCHLAGER A.C., PEREZ A., GRIES G., GRIES R., WEISSLING T.J., CHINCHILLA C.M., PEÑA J.E., HALLETT R.H., PIERCE JR. H.D., GONZALEZ L.M., 1996a. Chemical and behavioral ecology of palm weevils (Curculionidae: Rhynchophorinae). *Florida Entomologist*. 79, 153-167.
- GIBLIN-DAVIS R.M., PEÑA J.E., OEHLSCHLAGER A.C., PEREZ A.L., 1996b. Optimization of semiochemical-based trapping of *Metamasius hemipterus sericeus* (Olivier) (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Chemical Ecology*. 22, 1389-1410.
- GIBLIN-DAVIS R.M., WEISSLING T.J., OEHLSCHLAGER A.C., GONZALEZ L.M., 1994. Field response of *Rhynchophorus cruentatus* (Coleoptera : Curculionidae) to its aggregation pheromone and fermenting plant volatiles. *Florida Entomologist*. 77, 164-177
- GOONEWARDENA H.F., VELU M.S., 1958. The red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Ol. in Ceylon. I. Introduction, distribution, and life history. *Ceylon Coconut*. 9, 20. In : WATTANAPONGSIRI A., 1966.
- GOPINADHAN P.B., MOHANDAS N., VASUDEVAN NAIR K.P., 1990. Cytoplasmic polyhedrosis virus infecting red palm weevil of coconut. *Current Science*. 59, 577-580.
- GRIES G., GRIES R., PEREZ A.L., GONZALES L.M., PIERCE H.D. JR., OEHLSCHLAGER A.C., RHAINDS M., ZEBEYOU M., KOUAME B., 1994a. Ethyl propionate : synergistic kairomone for African palm weevil, *Rhynchophorus phoenicis* L. (Coleoptera : Curculionidae). *Journal of Chemical Ecology*. 20, 889-897.
- GRIES G., GRIES R., PEREZ A.L., OEHLSCHLAGER A.C., GONZALES L. M., PIERCE H.D. Jr., KOUDA-BONAFOS M., ZEBEYOU M., NANOU N., 1993. Aggregation pheromone of African palm weevil, *Rhynchophorus phoenicis* F. *Naturwissenschaften*, 80, 90-91.
- GRIES G., GRIES R., PEREZ A.L., OEHLSCHLAGER A.C., GONZALES L.M., PIERCE H.D. JR., ZEBEYOU M., KOUAME B., 1994b. Aggregation pheromone of the African rhinoceros beetle, *Oryctes monoceros* (Olivier) (Coleoptera: Scarabaeidae). *Zeitschrift für Naturforschung*. 49c, 363-366.

- GUNAWARDENA N.E., 1994a. Steam volatiles of coconut bark : chemical investigations and electroantennogram responses of the coconut pest, *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera : Curculionidae). *Journal of the National Science Council of Sri Lanka*. 22, 231-238.
- GUNAWARDENA N.E., 1994b. Terpenes as potential semiochemicals for the coconut pest, *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera : Curculionidae): an electroantennogram assay. *Journal of the National Science Council of Sri Lanka*. 22, 35-42.
- GUNAWARDENA N.E., GUNATILAKE R., 1993. Preliminary studies on a host attractant of the coconut pest. *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of the National Science Council of Sri Lanka*. 21, 93-101.
- GUNAWARDENA N.E., HERATH H.M.W.K.B., 1995. Enhancement of the activity of ferrugineol by *n*-pentanol in an attractant baited trap for the coconut pest, *Rhynchophorus ferrugineus* F. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of the National Science Council of Sri Lanka*, 23, 81-86.
- GUNAWARDENA N.E., KERN F., 1994. Electroantennogram response of the coconut pest, *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae) to alcohols. *Journal of the National Science Council of Sri Lanka*. 22, 25-33.
- GUNAWARDENA N.E., KERN F., JANSSEN E., MEEGODA C., SCHÄFER D., VOSTROWSKY O., BESTMANN H.J., 1998. Host attractants for red weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* : identification, electrophysiological activity, and laboratory bioassay. *Journal of Chemical Ecology*. 24, 425-437.
- HALLETT R.H., GRIES G., GRIES R., BORDEN J.H., 1993a. Aggregation pheromones of two Asian palm weevils, *Rhynchophorus ferrugineus* and *R. vulneratus*. *Naturwissenschaften*. 80, 328-331.
- HALLETT R.H., OEHLSCHLAGER A.C., GRIES G., ANGERILLI N.P.D., AL SHAREQI R.K., GASSOUMA M.S., BORDEN J.H., 1993b. Field testing of aggregation pheromones of two Asian palm weevils. *PORIM International Palm Oil Congress*, 20-25 Septembre 1993, Palm Oil Research Institute of Malaysia (PORIM).
- HALLETT R.H., OEHLSCLAGER A.C., BORDEN J.H., 1999. Pheromone trapping protocols for the Asian palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae). *International Journal of Pest management*. 45, 231-237.
- HALLETT R.H., PEREZ A.L., GRIES G., GRIES R., PIERCE JR. H.D., YUE J., OEHLSCHLAGER A.C., GONZALEZ L.M., BORDEN J.H., 1995. Aggregation pheromone of coconut rhinoceros beetle, *Oryctes rhinoceros* (L.) (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Chemical Ecology*. 21, 1549-1570.
- HAMBURGER M., BITTON S., NAKACHE J., 2002. Control of red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus*), (Coleoptera, Curculionidae) a new date palm pest in Israel. *2<sup>nd</sup> International Conference on the Alternative Control Methods Against Plant Pests And Diseases*, 4-7 March 2002, Lille, 175.

- HANOUNIK S.B., 1998. Steinernematids and Heterorhabditids as biological control agents for red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus* Oliv.). *Sultan Qaboos University Journal for Scientific Research - Agricultural Sciences*. 3, 95-102.
- HERNÁNDEZ J.V., CERDA H., JAFFÉ K., SÁNCHEZ P., 1992. Localización de hospedero, actividad diaria y optimización de las capturas mediante trampas inocuas del picudo del cocotero *Rhynchophorus palmarum* (L.). *Agronomía Tropical*. 42, 211-226.
- HOWARD F.W., 2001. The animal class Insecta and the plant family Palmae. In : HOWARD F.W., MOORE D., GIBLIN-DAVIS R.M., ABAD R.G., *Insects on palms*, 1-32. CABI Publishing.
- HUTSON J.C., 1933. The red weevil of coconut. *Ceylon Department of Agriculture. Leaflet*. 22. In : WATTANAPONGSIRI A., 1966.
- JAFFÉ K., SÁNCHEZ P., CERDA H., HERNÁNDEZ J.V., JAFFÉ R., URDANETA N., GUERRA G., MARTÍNEZ R., MIRAS B., 1993. Chemical ecology of the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae): Attraction to host plants and to a male-produced aggregation pheromone. *Journal of Chemical Ecology*. 19, 1703-1720.
- JAMES D.G., FAULDER R.J., VOGELE B., MOORE C.J., 2000. Pheromone-trapping of *Carpophilus* spp. (Coleoptera: Nitidulidae) in stone fruit orchards near Gosford, New South Wales: fauna, seasonality and effect of insecticides. *Australian Journal of Entomology*. 39, 310-315.
- JAMES D.G., VOGELE B., FAULDER R.J., BARTELT R.J., MOORE C.J., 2001. Pheromone-mediated mass trapping and population diversion as strategies for suppressing *Carpophilus* spp. (Coleoptera: Nitidulidae) in Australian stone fruit orchards. *Agricultural and Forest Entomology*. 3, 41-47.
- JAMES D.J., BARTELT R.J., MOORE C.J., 1996. Mass-trapping of *Carpophilus* spp. (Coleoptera: Nitidulidae) in stone fruit orchards using synthetic aggregation pheromones and a coattractant: development of a strategy for population suppression. *Journal of Chemical Ecology*. 22, 1541-1556.
- KEHAT M., 1999. Threat to date palms in Israel, Jordan and the Palestinian Authority by the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*. *Phytoparasitica*. 27, 107-108.
- KURIAN C., 1978. Diseases, pests and weeds in tropical crops. *John Wiley & Sons Ltd*. 410-412.
- LANDOLT P.J., HEATH R.R., MILLAR J.C., DAVIS-HERNANDEZ K.M., DUEBEN B.D., WARD K.E., 1994. Effects of host plant, *Gossypium hirsutum* L., on sexual attraction of cabbage looper moths, *Tricoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Chemical Ecology*. 20, 2959-2975.
- LANDOLT P.J., PHILLIPS T.W., 1997. Host plant influences on sex pheromone behavior of phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*. 42, 371-391.
- LEEFMANS S., 1920. De palm sunuitkerer (*Rhynchophorus ferrugineus* Oliv.). *Mededelingen van het Institute Voor Plantenziekten. Buitenzorg*. 43, 1-90. In : WATTANAPONGSIRI A., 1966.

- LEPESME P., GHESQUIÈRE J., BOURGOGNE J., CAIRASCHI E., PAULIAN R., VILLIERS A., 1947. Les insectes des palmiers. *Paul Lechevalier*, Paris, 614-917.
- LIGHT D.M., KNIGHT A.L., HENRICK C.A., RAJAPASKA D., LINGREN B., DICKENS J.C., REYNOLDS K.M., BUTTERY R.G., MERRILL G., ROITMAN J., CAMPBELL B.C., 2001. A pear-driven kairomone with pheromonal potency that attracts and and female codling moth, *Cydia pomonella* (L.). *Naturwissenschaften*. 88, 333-338.
- LIN H., PHELAN P.L., 1991a. Identification of food volatiles attractive to dusky sap beetle, *Carpophilus lugubris* (Coleoptera : Nitidulidae). *Journal of Chemical Ecology*. 17, 1273-1286.
- LIN H., PHELAN P.L., 1991b. Identification of food volatiles attractive to *Glischrochilus quadrisignatus* and *Glischrochilus fasciatus* (Coleoptera : Nitidulidae). *Journal of Chemical Ecology*. 17, 2469-2480.
- LIN H., PHELAN P.L., BARTELT R.J., 1992. Synergism between synthetic food odors and the aggregation pheromone for attracting *Carpophilus lugubris* in the field (Coleoptera : Nitidulidae). *Environmental Entomology*. 21, 156-159.
- MIZELL R.F. III, MIZELL R.F. IV, MIZELL R.A., 2002. Trolling : a novel trapping method for *Chrysops* spp. (Diptera : Tabanidae). *Florida Entomologist*. 85, 356-366.
- MORIN J.P., LUCCHINI F., DE ARAUJO J.C.A., FERREIRA J.M.S., FRAGA L.S., 1986. Le contrôle de *Rhynchophorus palmarum* par piégeage à l'aide de morceaux de palmier. *Oléagineux*. 41, 57-59.
- MORIN J.P., ROCHAT D., MALOSSE C., LETTERE M., DESMIER DE CHENON R., WIBWO H., DESCOINS C., 1996. Le 4-méthyl octanoate d'éthyle, composant principal de la phéromone mâle de *Oryctes rhinoceros* (L.) (Coleoptera, Dynastidae). *C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie*. 319, 595-602.
- MURALIDHARAN C.M., SODAGAR N.N., VAGHASIA U.R., 2000. Survey, distribution, extent of damage, field behaviour and biology of red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. on date groves of Kachchh (Gujarat). *Gujarat Agricultural University Research Journal*. 25, 9-14.
- MURPHY S.T., BRISCOE B.R., 1999. The red palm weevil as an alien invasive : biology and the prospects for biological control as a component of IPM. *Biocontrol News and Information*. 20, 35N-46N.
- MUSTAPARTA H., 1975. Responses of single olfactory cells in the pine weevil *Hylobius abietis* L. (Col.: Curculionidae). *Journal of Comparative Physiology*. 97, 271-290.
- MUTHURAMAN M., 1984. Trunk injection of undiluted insecticides – a method to control coconut red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Fab. *Indian Coconut Journal*. 15, 12-14.
- NAGAI T., 1981. Electroantennogram responses gradient on the antenna of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *Journal of Insect Physiology*. 27, 889-894.

- NAGAI T., STARRATT A.N., MCLEOD D.G.R., DRISCOLL G.R., 1977. Electroantennogram responses of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, to (Z)- and (E)-11-tetradecenyl acetates. *Journal of Insect Physiology*. 23, 591-597.
- NAGNAN P., CAIN A.H., ROCHAT D., 1992. Extraction et identification des composés volatils de la sève de palmier à huile fermentée (vin de palme) attractifs potentiels pour le charançon du palmier. *Oléagineux*. 47, 135-142.
- NIRULA K.K., 1956. Investigation on the pests of coconut palm. Investigation on the pests of coconut palm. Investigations on the pests of coconut palm. Pest IV, *Rhynchophorus ferrugineus* F. *Indian Coconut Journal*. 9, 229-247. In : WATTANAPONGSIRI A., 1966.
- NIRULA K.K., ANTHONY J., MENON K.P.V., 1953. The red palm weevil and its control. *Proceeding of the 40<sup>th</sup> Session Indian Science Congress*. 147-148. In : WATTANAPONGSIRI A., 1966.
- NOJIMA S., LINN C. JR., MORRIS B., ZHANG A., ROELOFS W., 2003. Identification of host fruit volatiles from hawthorn (*Crataegus* spp.) attractive to hawthorn-origin *Rhagoletis pomonella* flies. *Journal of Chemical Ecology*. 29, 321-336.
- OCHIENG S.A., PARK K.C., BAKER T.C., 2002. Host plant volatiles synergize responses of sex pheromone-specific olfactory receptor neurons in male *Helicoverpa zea*. *Journal of Comparative Physiology*. A. 188, 235-333.
- OEHLSCHLAGER A.C., CHINCHILLA C.M., GONZALEZ L.M., JIRON L.F., MEXZON R., MORGAN B., 1993. Development of a pheromone-based trapping system for *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: curculionidae). *Journal of Economic Entomology*. 86, 1381-1392.
- OEHLSCHLAGER A.C., PRIOR R.N.B., PEREZ A.L., GRIES R., GRIES G., PIERCE H.D.Jr., LAUP S., 1995. Structure, chirality, and field testing of a male-produced aggregation pheromone of Asian palm weevil *Rhynchophorus bilineatus* (Montr.) (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Chemical Ecology*. 21, 1619-1629.
- PAUL W.R.C., 1929. The control of red weevil (*Rhynchophorus ferrugineus* F.) in coconut palms. *Trop. Agriculturist*, 73, 131-135.
- PEREZ A.L., CAMPOS Y., CHINCHILLA, C.M., OEHLSCHLAGER A.C., GRIES G., GRIES R., GIBLIN-DAVIS R.M., CASTRILLO G., PEÑA J.E., DUNCAN R.E., GONZALEZ L.M., PIERCE JR. H.D., McDONALD R., ANDRADE R., 1997. Aggregation pheromones and host kairomones of west Indian sugarcane weevil, *Metamasius hemipterus sericeus*. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 869-888.
- PEREZ A.L., HALLETT R.H., GRIES R., GRIES G., OEHLSCHLAGER A.C., BORDEN J.H., 1996. Pheromone chirality of Asian palm weevils, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv.) and *R. vulneratus* (Panz.) (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Chemical Ecology*. 22, 357-368.
- PETER C., 1989. A note on the mites associated with the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. In Tamil Nadu. *Journal of Insect Science*. 2, 160-161.

- PHELAN P.L., LIN H., 1991. Chemical characterization of fruit and fungal volatiles attractive to dried-fruit beetle, *Carpophilus hemipterus* (L.) (Coleoptera: Nitidulidae). *Journal of Chemical Ecology*. 17, 1253-1272.
- PIERCE A.M., BORDEN J.H., OEHLSCHLAGER A.C., 1981. Olfactory response to beetle-produced volatiles and host-food attractants by *Oryzaephilus surinamensis* and *O. mercator*. *Canadian Journal of Zoology*. 59, 1980-1990.
- PIÑERO J.C., PROKOPY R.J., 2003. Field evaluation of plant odor and pheromonal combinations for attracting plum curculios. *Journal of chemical Ecology*. 29, 2735-2748.
- RAHALKAR G.W., HARWALKAR M.R., RANANANARE H.D., SHANTARAM K., AYENGAR A.R.G., 1974. Laboratory studies on radiation sterilization of the red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus* Oliv.) males. *Journal of Plantation Crops*. 1, 141-145.
- RAHALKAR G.W., HARWALKAR M.R., RANANAVARE H.O., 1975. Laboratory studies on sterilization of the male red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. *Proceedings of the symposium on the sterility principle for insect control jointly organized by the International Atomic Energy Agency and the Food and Agriculture Organization of the United Nations; Innsbruck, 22-26 July 1974*. 261-267.
- RAJAPAKSE C.N.K., GUNAWARDENA N.E., PERERA K.F.G., 1998-99. Pheromone baited trap for the management of red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* F. (Coleoptera: Curculionidae) population in coconut plantations. *Cocos*. 13, 54-65.
- RAMACHANDRAN C.P., 1991. Effects of gamma radiation on various stages of red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* F. *Journal of Nuclear Agriculture and Biology*. 20, 218-221.
- RAO P.N.S., REDDY Y.N., 1980. Description of a new nematode *Praecocilenchus ferruginophorus* n. sp., from weevil pests (Coleoptera) of coconut palms in south India. *Rivista di Parassitologia*. 41, 93-98.
- RAO P.V.S., SUBRAMANIAM T.R., ABRAHAM E.V., 1973. Control of the red palm weevil on coconut. *Journal of Plantation Crops*. 1, 26-27.
- ROCHAT D., 1987. Etude de la communication chimique chez un coléoptère Curculionidae : *Rhynchophorus palmarum* L. Mémoire présenté pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies en Ecophysiologie et Dynamique des Populations d'Invertébrés Terrestres et du Diplôme d'Ingénieur Agronome INA-PG. 29 pp.
- ROCHAT D., 1991. Ecologie chimique du charançon des palmiers, *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Mémoire présenté pour obtenir le titre de Docteur de de l'Université Paris VI en Sciences de la vie, Ecophysiologie et Dynamique des Populations d'Invertébrés Terrestres. 135 pp.

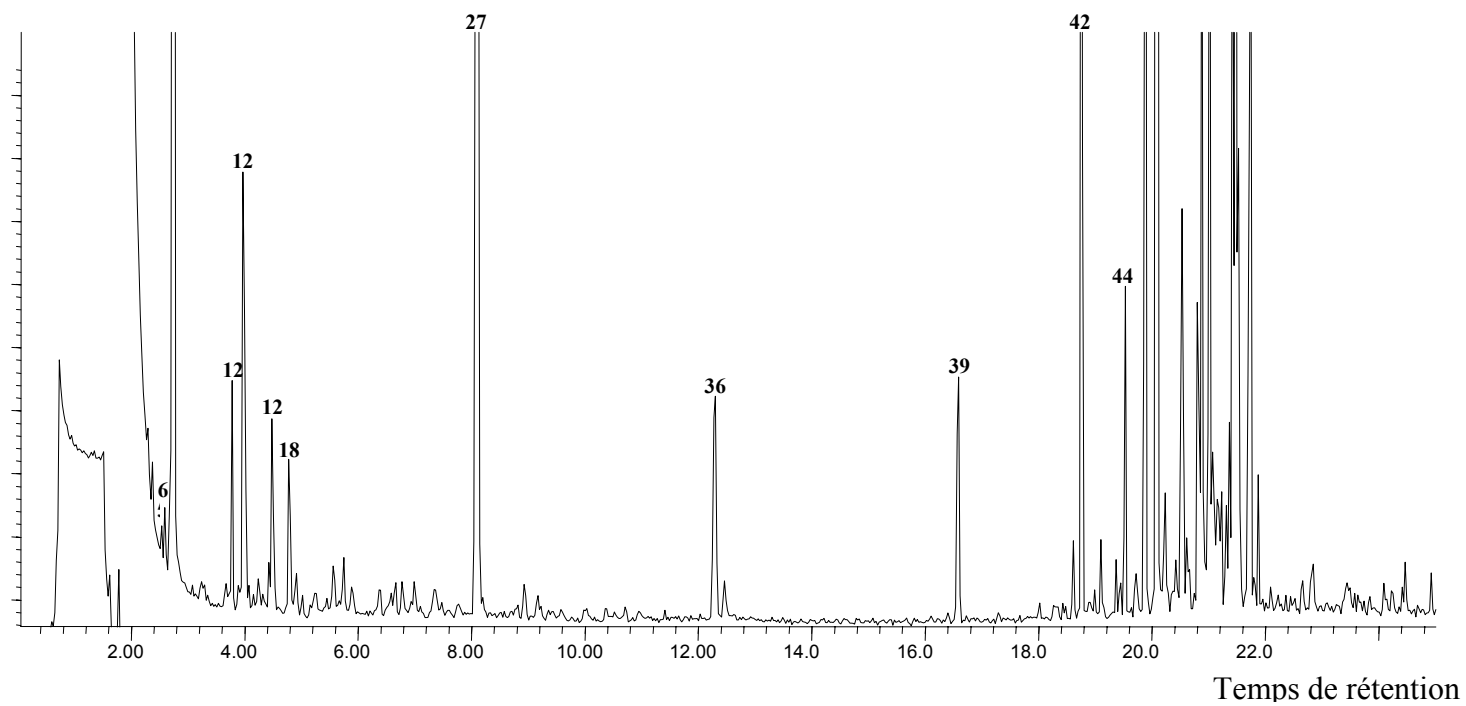
- ROCHAT D., AVAND-FAGHIIH A., 2000. Trapping of red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus*) in Iran with selective attractants. In : KLEEBERG H., ZEBITZ C.P.W. (Ed.), *Practice oriented results on use and production of neem-ingredients and pheromones*, 219-224. Trifolio-M GmbH, Sonnenstr. 22, D-35633 Lahnau. Allemagne.
- ROCHAT D., AVAND-FAGHIIH A., FARAZMAND H., MOHAMMADPOUR K., 2001. Effect of red palm weevil mass trapping with synthetic pheromone in traditional Iranian date palm groves. *Second Asia-Pacific Conference on Chemical Ecology, August 7-11 2001 (Penang, Malaysia)*. 50-51.
- ROCHAT D., AVAND-FAGHIIH A., MALOSSE C., EBRAHIMI A., 1998. Extraction, identification and application of the aggregation pheromone of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. (Col.: Curculionidae) in Saravan region. *Proceedings of the 13<sup>th</sup> Iranian Plant Protection Congress*. Vol. 1 Pests, 127.
- ROCHAT D., DESCOINS C., MALOSSE C., NAGNAN P., ZAGATTI P., AKAMOU F., MARIAU D., 1993a. Ecologie chimique des charançons des palmiers, *Rhynchophorus* spp. (Coleoptera). *Oléagineux*. 48, 225-236.
- ROCHAT D., GONZÁLEZ V. A., MARIAU D., VILLANUEVA G. A., ZAGATTI P., 1991a. Evidence for male-produced aggregation pheromone in American palm weevil, *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Chemical Ecology*. 17, 1221-1230.
- ROCHAT D., MALOSSE C., LETTERE M., DUCROT P.H., ZAGATTI P., RENO M., DESCOINS C. 1991b. Male-produced aggregation pheromone of the american palm weevil, *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae): collection, identification, electrophysiological activity, and laboratory bioassay. *Journal of Chemical Ecology*. 17, 2127-2141.
- ROCHAT D., MALOSSE C., LETTERE M., RAMIREZ-LUCAS P., EINHORN J., ZAGATTI P., 1993b. Identification of new pheromone-related compounds from volatiles produced by males of four Rhynchophorinae weevils (Coleoptera, Curculionidae). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris*. Série II. 316, 1737-1742.
- ROCHAT D., MOHAMMADPOUR K., MALOSSE C., AVAND-FAGHIIH A., LETTERE M., BEAUHAIRE J., MORIN J.P., PEZIER A., RENO M., ABDOLLAHI G.A., 2004. Male aggregation pheromone of date palm fruit stalk borer *Oryctes elegans*. *Journal of Chemical Ecology*. 30, 387-407.
- ROCHAT D., MORIN J.P., KAKUL T., BEAUDOIN-OLLIVIER L., PRIOR R., RENO M., MALOSSE I., STATHERS T., EMBUPA S., LAUP S., 2002. Activity of male pheromone of Melanesian rhinoceros beetle *Scapanes australis*. *Journal of Chemical Ecology*. 28, 479-500.
- ROCHAT D., NAGNAN-LE MEILLOUR P., ESTEBAN-DURAN J.R., MALOSSE C., PERTHUIS B., MORIN J.P., DESCOINS C., 2000a. Identification of pheromone synergists in American palm weevil, *Rhynchophorus palmarum*, and attraction of related *Dynamis borassi*. *Journal of Chemical Ecology*. 26, 155-187.



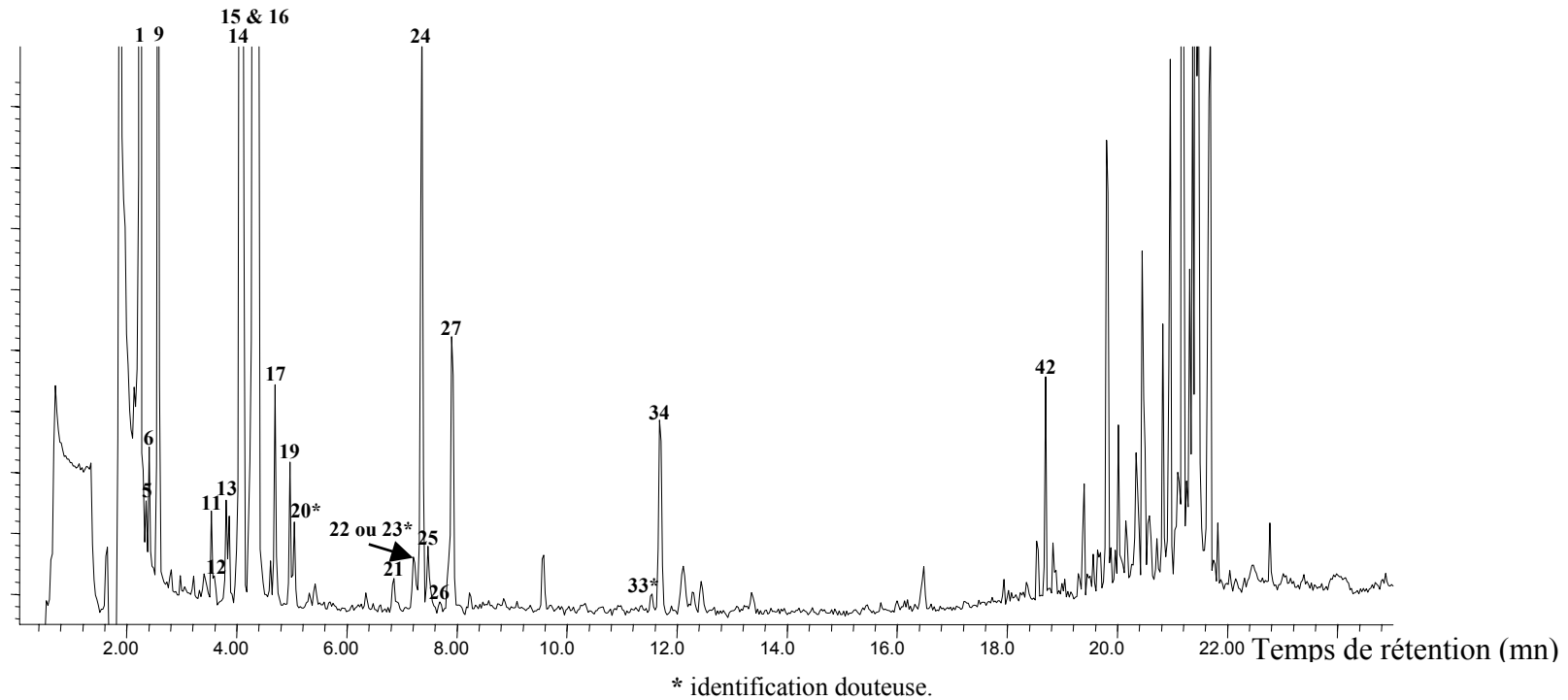
- ROCHAT D., RAMIREZ-LUCAS P., MALOSSE C., ALDANA R., KAKUL T., MORIN J.P., 2000b. Role of solid-phase microextraction in the identification of highly volatile pheromones of two Rhinoceros beetles *Scapanes australis* and *Strategus aloeus* (Coleoptera, Scarabaeidae, Dynastinae). *Journal of Chromatography A*. 885, 433-444.
- SAÏD I., 1999. Développement d'outils olfactométriques pour l'étude de la synergie "phéromone-kairomone" chez un coléoptère de grande taille : *Rhynchophorus palmarum* (L.). Mémoire présenté pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies de l'Université de Rennes I en Génétique Adaptation et Production Végétale. 25 pp.
- SAÏD I., 2003. Etude de la réponse synergique au signal 'phéromone-kairomone' chez le charançon du palmier *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera, Curculionidae) : approches olfactométrique et électrophysiologique. Mémoire présenté pour obtenir le titre de Docteur de l'ENSAR en Biologie et Agronomie 'Protection des cultures'. 117 pp.
- SAÏD I., TAUBAN D., RENO M., MORI K., ROCHAT D., 2003. Structure and function of the antennal sensilla of the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera, Curculionidae). *Journal of Insect Physiology*. 49, 857-872.
- SALAMA H.S., ABDEL AZIZ S.E., 2001. Distribution of the sensillae of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv.) (Coleoptera: Curculionidae). *Insect Science and its Application*. 21, 179-188.
- SALAMA H.S., ABD-ELGAWAD M., 2001. Isolation of heterorhabditid nematodes from palm tree planted areas and their implications in the red palm weevil control. *Journal of Pest Science*. 74, 43-45.
- SALAMA H.S., ABD-ELGAWAD M., 2002. Activity of heterorhabditid nematodes at high temperature and in combination with cytoplasmic polyhedrosis virus. *Journal of Pest Science*. 75, 78-80.
- SHARIF M., WAJIH I., 1983. Date palm pests and diseases in Pakistan. *Proceeding of the first symposium on the date palm in Saudi Arabia*. 440-450.
- SUDHARTO Ps, PURBA R.Y., ROCHAT D., MORIN J.P., 2001. Synergy between empty oil palm fruit bunches and synthetic aggregation pheromone (ethyl 4-methyloctanoate) for mass trapping of *Oryctes rhinoceros* beetles in the oil palm plantation in Indonesia. International Palm Oil Congress, Kuala Lumpur, August 20-23.
- THOMPSON R.T., 1992. Observations on the morphology and classification of weevils (Coleoptera, Curculionidea) with a key to major groups. *Journal of Natural History*. 26, 835-891.
- TILLES D.A., SJÖDIN K., NORDLANDER G., EIDMANN H.H., 1986. Synergism between ethanol and conifer host volatiles as attractants for the pine weevil, *Hylobius abietis* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology*. 79, 970-973.

- VET L.E.M., LENTEREN J.C.V., HEYMANS M., MEELIS E., 1983. An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. *Physiological Entomology*. 8, 97-106.
- VIADO G.D., BIGORNIA A.B., 1949. A biological study of the Asiatic palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Curculionidae, Coleoptera). *Philippines Agriculturist*. 33, 1-27. In : WATTANAPONGSIRI A., 1966.
- WALGENBACH C.A., BURKHOLDER W.E., CURTIS M.J., KHAN Z.A., 1987. Laboratory trapping studies with *Sitophilus zeamais* (Coleoptera : Curculionidae). *Journal of Economic Entomology*, 80, 763-767.
- WATTANAPONGSIRI A., 1966. A revision of the genera *Rhynchophorus* and *Dynamis* (Coleoptera : Curculionidae). *Department of Agriculture Science Bulletin*. 1, 328 pp.
- WEIßBECKER B., SCHÜTZ S., KLEIN A., HUMMEL H.E., 1997. Analysis of volatiles emitted by potato plants by means of a Colorado beetle electroantennographic detector. *Talanta*. 44, 2217-2224.
- WEYERSTAHL P., LICHA K., MARSCHALL H., 1994. Structure-odor correlation .20. Synthesis and olfactory properties of the irone-type homolog of megastigmatrien-3-one. *Liebigs Annalen Der Chemie*. 9, 917-920.
- WHITE N.D.G., SINHA R.N., JAYAS D.S., MUIR W.E., 1993. Movement of *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Cucujidae) through carbon dioxide gradients in stored wheat. *Journal of Economic entomology*. 86, 1846-1851.
- WHITE P.R., 1991. The electroantennogram response: effects of varying sensillum numbers and recording electrode position in a clubbed antenna. *Journal of Insect Physiology*. 37, 145-152.
- WHITE P.R., CHAMBERS J., WALTER C.M., WILKINS J.P.G., MILLAR J.G., 1989. Saw-toothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) collection, identification, and bioassay of attractive volatiles from beetles and oats. *Journal of Chemical Ecology*. 15, 999-1013.
- ZHANG Q.H., SCHLYTER F., BATTISTI A., BIRGERSSON G., ANDERSON P., 2003. Electrophysiological responses of *Thaumetopoea pityocampa* females to host volatiles : implications for host selection of active and inactive terpenes. *Journal of Pest Science*. 76, 103-107.
- ZHANG Q.H., SCHLYTER F., BIRGERSSON G., 2000. Bark volatiles from nonhost angiosperm trees of spruce bark beetle, *Ips typographus* (L.) (Coleoptera: Scolytidae): Chemical and electrophysiological analysis. *Chemoecology*. 10, 69-80.
- ZHU J., PARK K.C., BAKER T.C., 2003. Identification of odors from overripe mango that attract vinegar flies, *Drosophila melanogaster*. *Journal of Chemical Ecology*. 29, 899-909.
- ZILKOWSKI B.W., BARTELT R.J., BLUMBERG D., JAMES D.G., WEAVER D.K., 1999. Identification of host-related volatiles attractive to pineapple beetle *Carpophilus humeralis*. *Journal of Chemical Ecology*. 25, 229-252.

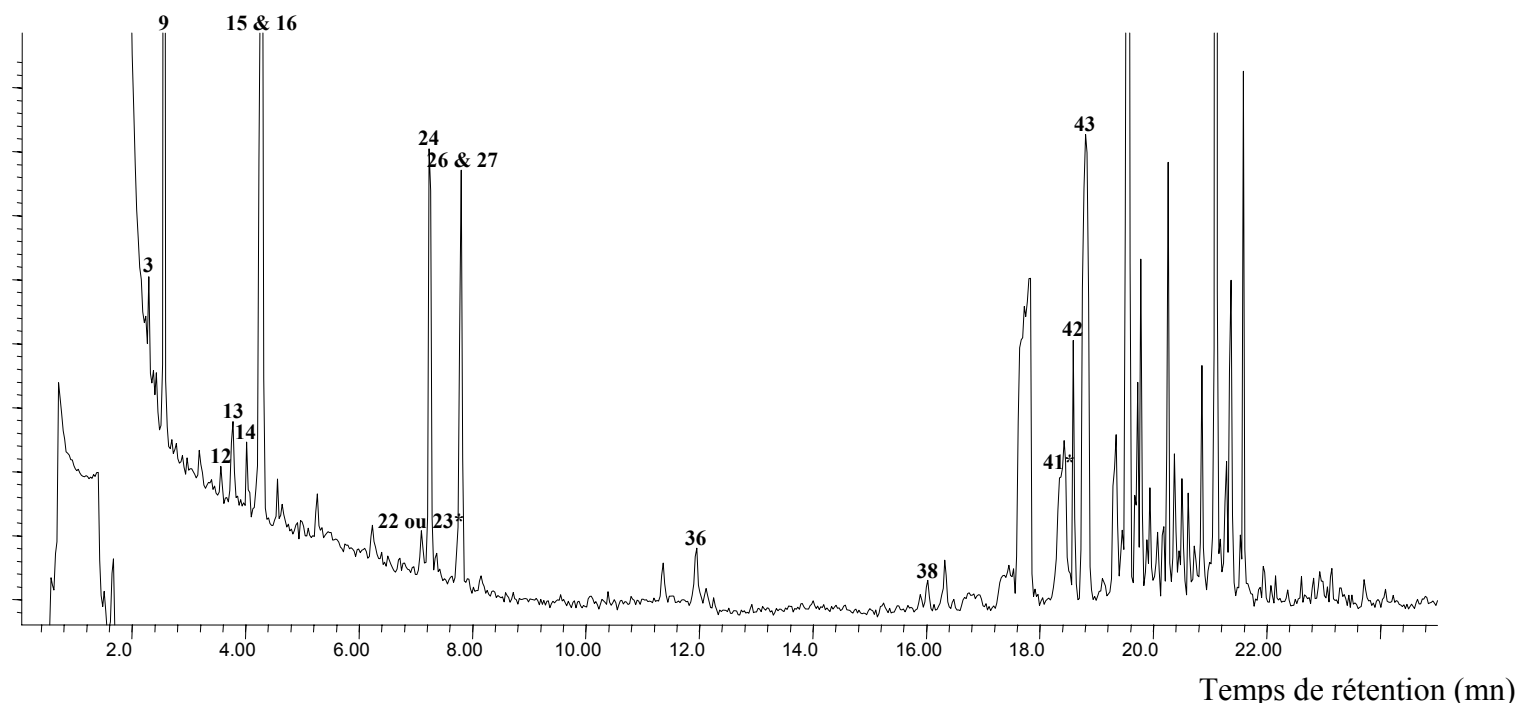
## **Annexe 1**



**Figure 5** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur frais de palmier dattier au cours de la fermentation (J0-4) et évalué par couplage CPG-EAG. L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 6.

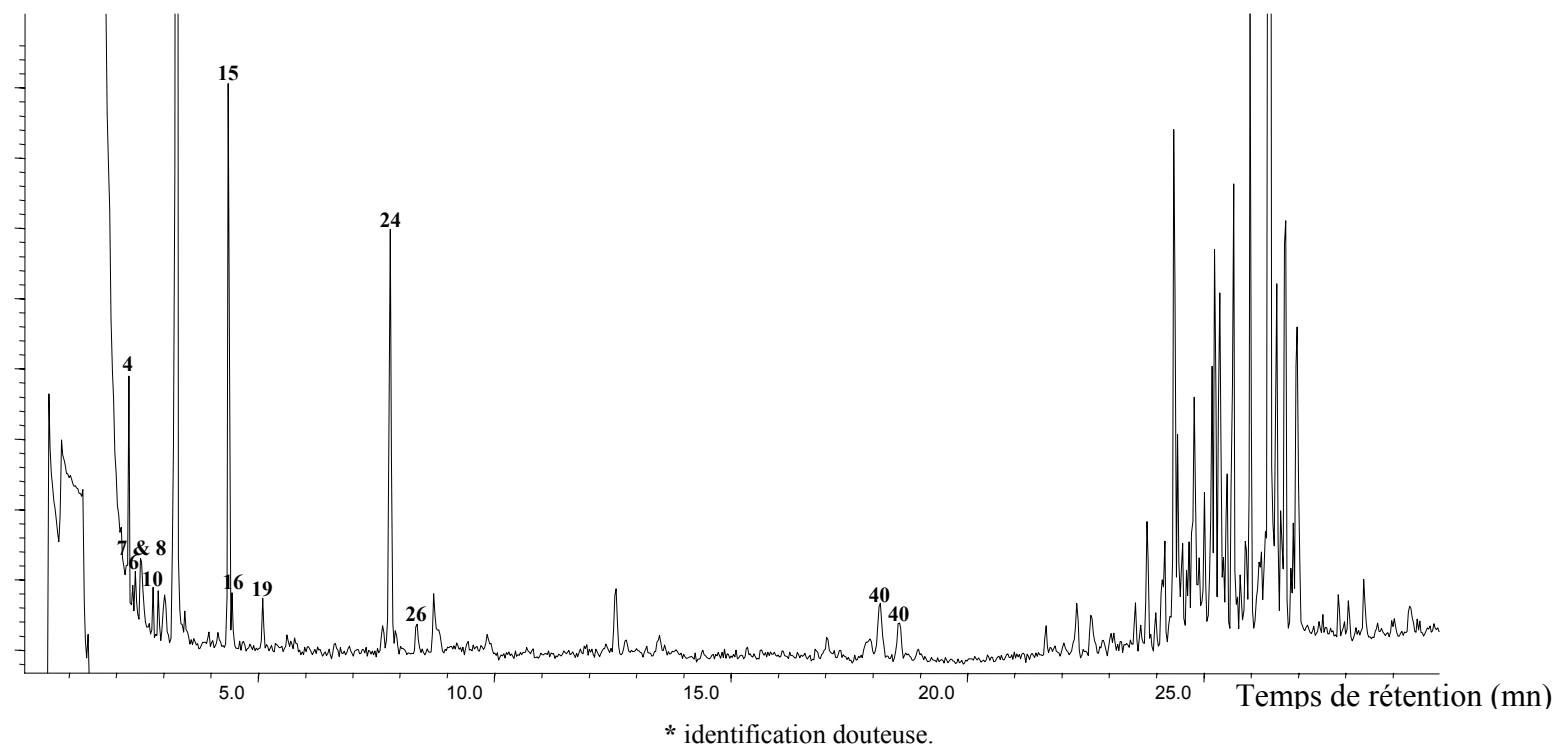


**Figure 6 :** Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur frais de palmier dattier au cours de la fermentation (J4-7) et évalué par couplage CPG-EAG. L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 6.

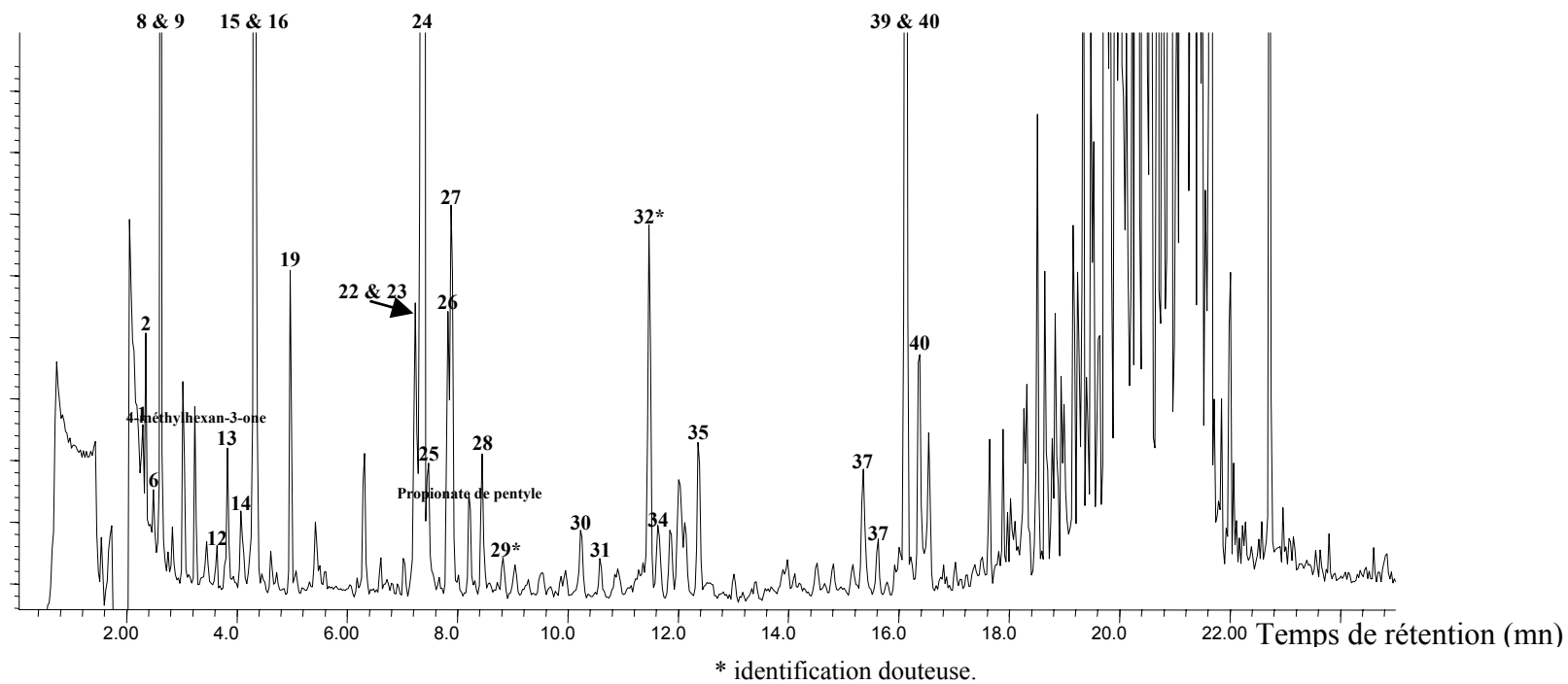


\* identification douteuse.

**Figure 7** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur frais de palmier dattier au cours de la fermentation (J7-10) et évalué par couplage CPG-EAG. L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 6.

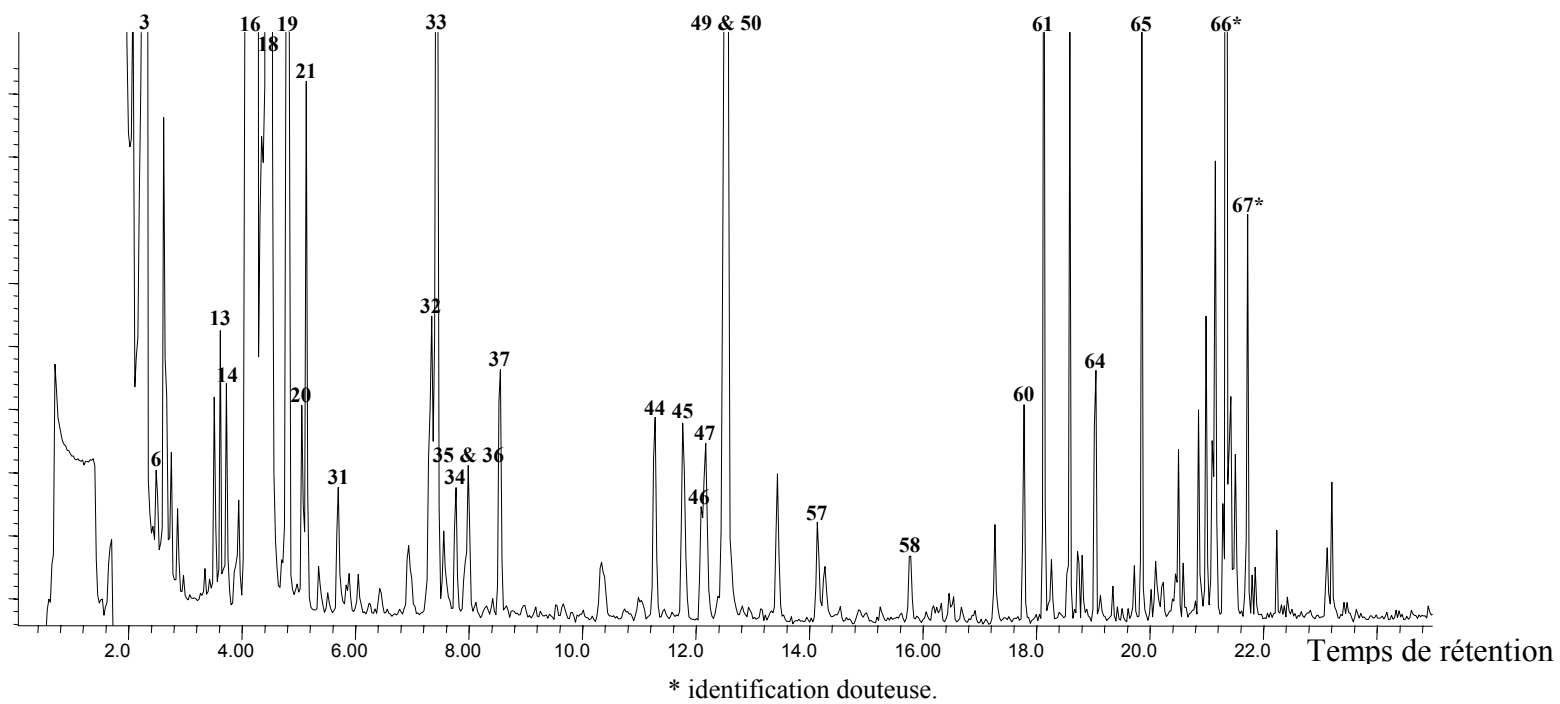


**Figure 8** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur frais de palmier dattier au cours de la fermentation (J10-14) et évalué par couplage CPG-EAG. L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 6.

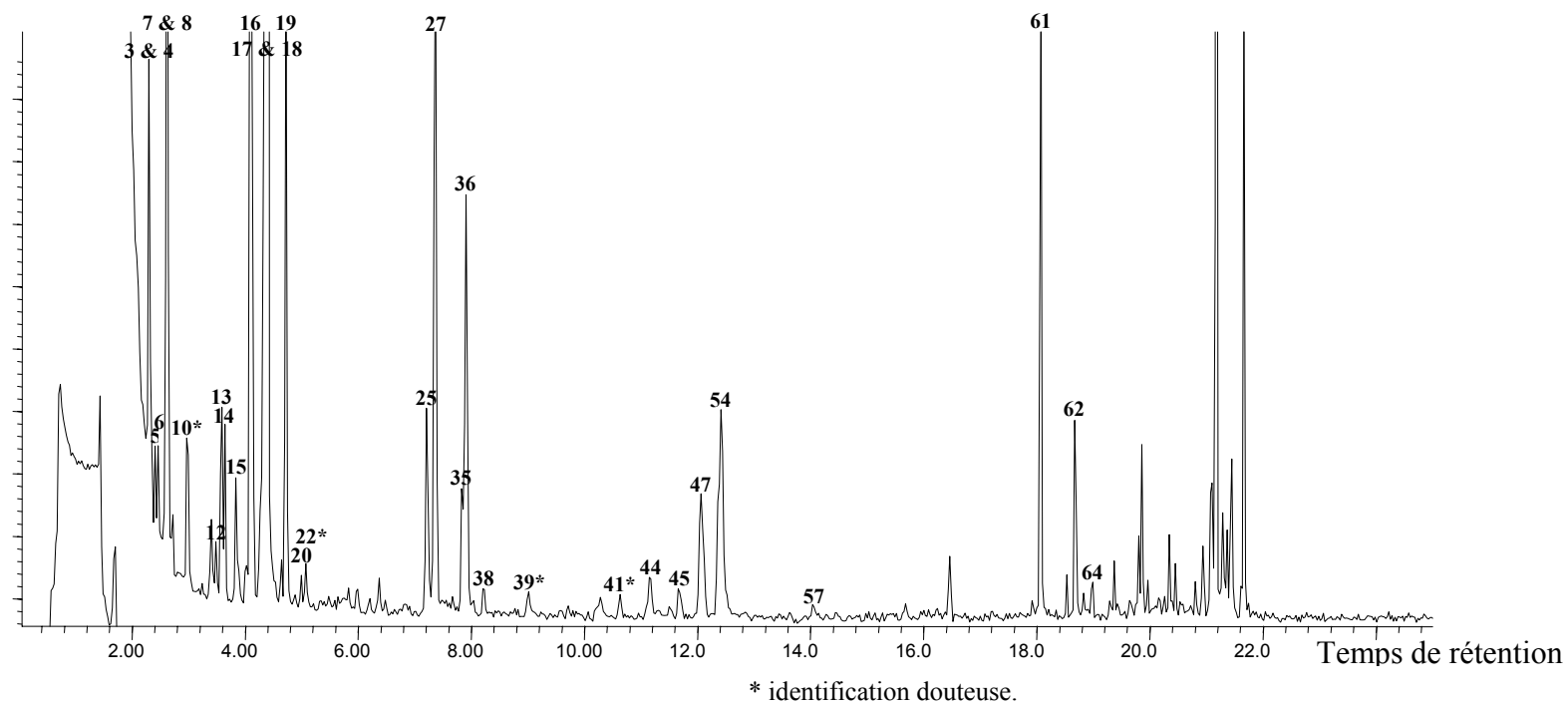


**Figure 9 :** Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur frais de palmier dattier au cours de la fermentation (J14-21) et évalué par couplage CPG-EAG. L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 6 sauf dans le cas où le nom des molécules est indiqué.

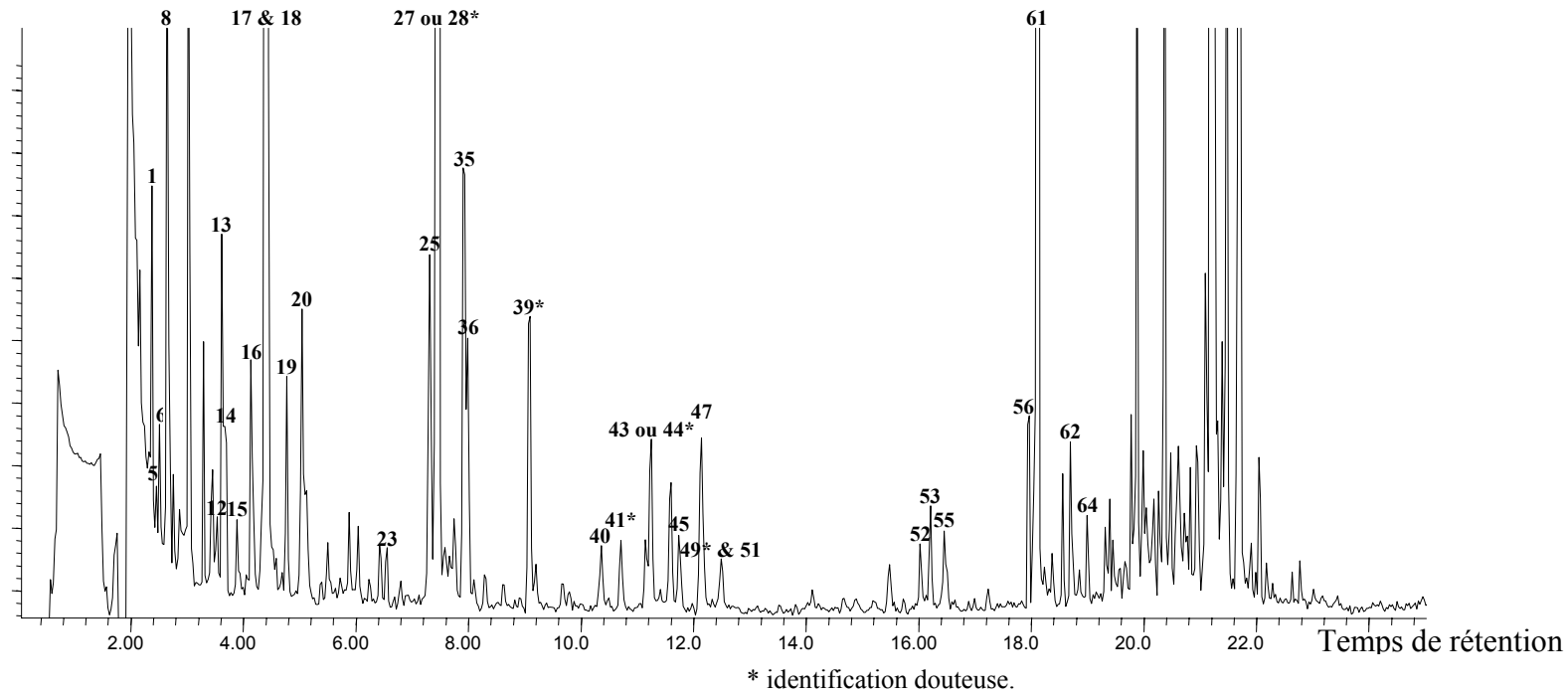




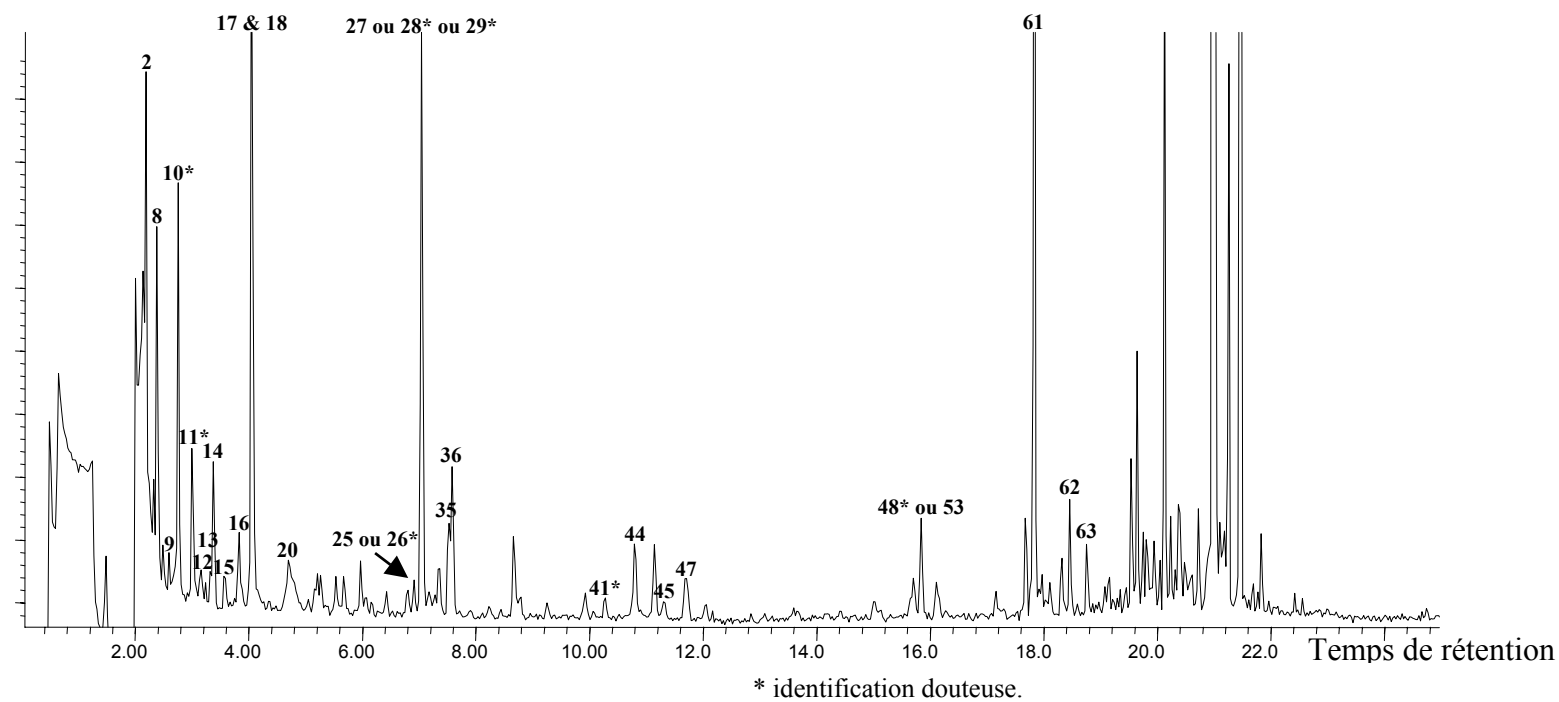
**Figure 10** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur congelé de palmier dattier au cours de la fermentation (J0-4) et évalué par couplage CPG-EAG. L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 7.



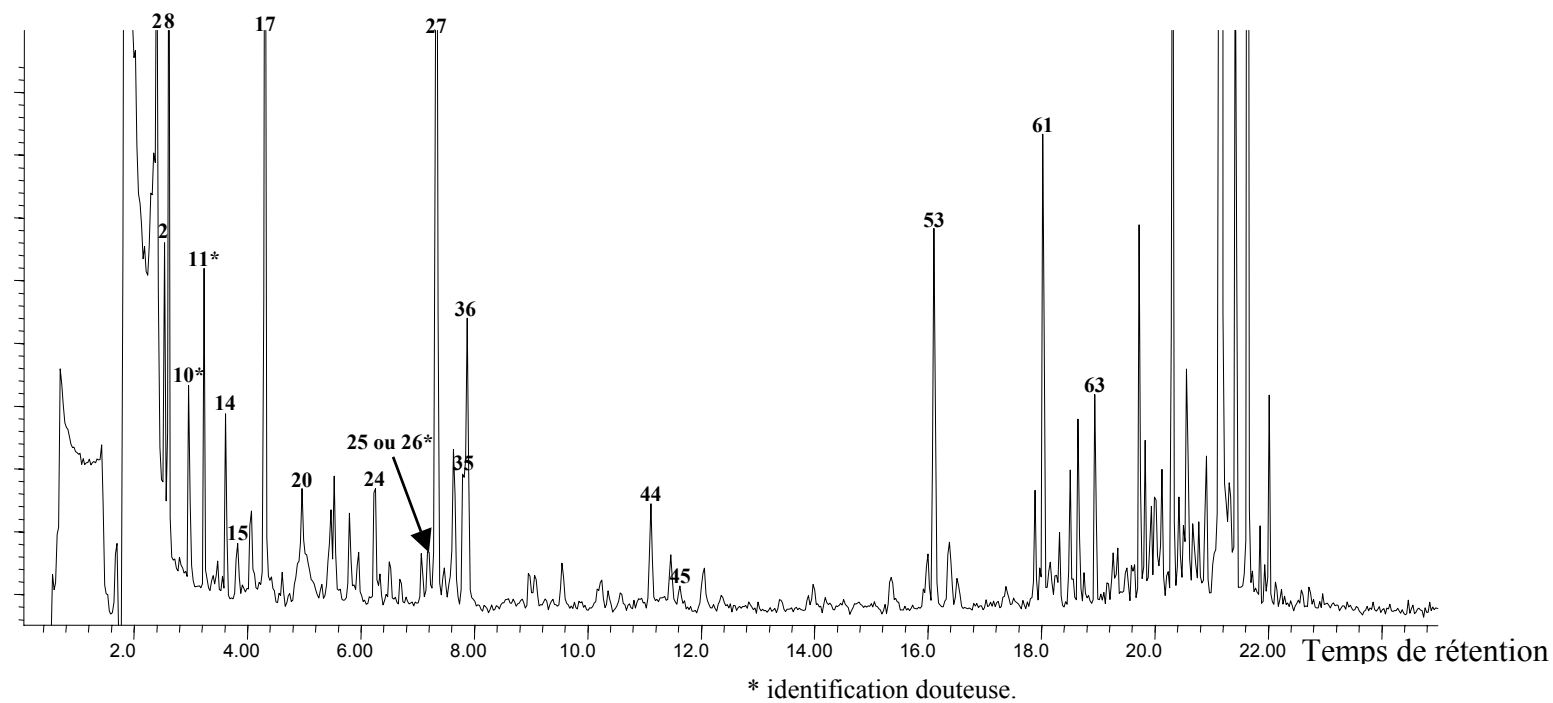
**Figure 11** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur congelé de palmier dattier au cours de la fermentation (J4-7). L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 7



**Figure 12 :** Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur congelé de palmier dattier au cours de la fermentation (J7-10). L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 7.



**Figure 13** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur congelé de palmier dattier au cours de la fermentation (J10-14) et évalué par couplage CPG-EAG. L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 7.



**Figure 14** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur congelé de palmier dattier au cours de la fermentation (J14-21). L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 7.

## **Annexe 2**

**Tableau 19** : Listes des composés des mélanges synthétiques utilisés dans les essais de terrain avec mention de leur origine et de leur pureté.

| Mélange                     | Produit                                   | Référence                  | Pureté (%)    | Année d'utilisation |
|-----------------------------|---|----------------------------|---------------|---------------------|
| <b>Fraction majoritaire</b> | Ethanol [absolu]                          | Bidestan Co. (Iran)        | ≥ 99,6        | 2001-2003           |
|                             | Acétate d'éthyle                          | Merck                      | ≥ 99          | 2001-2003           |
| <b>11</b>                   | Méthanol                                  | Carlo Erba                 | 99,9          | 2000                |
|                             | Propanol                                  | Merck                      | 99            | 2000                |
|                             | Isopropanol                               | Fluka-Garantie             | 99,5          | 2000                |
|                             | Isobutanol                                | Prolabo (Rhône Poulenc)    | technique     | 2000                |
| <b>12</b>                   | Butanol                                   | Prolabo (Rhône Poulenc)    | Pour analyses | 2000                |
|                             |   | Merck                      | ≥ 99,5        | 2003                |
|                             | 2-Méthylbutanol                           | Fluka                      | 98            | 2000                |
|                             |   | Fluka                      | ≥ 98          | 2003                |
|                             | Isopentanol (= 3-méthylbutanol)           | Prolabo (Rhône Poulenc)    | Pour analyses | 2000                |
|                             |   | Fluka                      | ≥ 98,5        | 2003                |
|                             | Pentanol                                  |                            |               | 2000                |
|                             |   | Merck                      | ≥ 98          | 2003                |
| <b>13</b>                   | <i>cis</i> -Hexén-3-ol                    |                            |               | 2000                |
|                             | <i>trans</i> -Hexén-2-ol                  | ORIL S.A., Paris           |               | 2000                |
|                             | Hexanol                                   | Aldrich                    | 98            | 2000                |
|                             | 2-Méthylhexan-3-ol                        | Aldrich-Chemie             | 98            | 2000                |
| <b>14</b>                   | Butan-2-ol                                | Touzart & Matignon         |               | 2000                |
|                             | Pentan-2-ol                               | Aldrich                    | 98            | 2000                |
|                             | Hexan-2-ol                                | Aldrich                    | 99            | 2000                |
|                             | Heptan-2-ol                               | Aldrich-Chemie             | 98            | 2000                |
| <b>15</b>                   | Heptanol                                  |                            |               | 2001                |
|                             | Octanol                                   |                            |               | 2001                |
|                             | 1-Octen-3-ol                              |                            |               | 2001                |
| <b>16</b>                   | 2,3-Butanediol                            |                            |               | 2001                |
|                             | Acétoïne                                  |                            |               | 2001                |
| <b>21</b>                   | Formate d'éthyle                          |                            |               | 2000                |
|                             | Isobutyrate d'éthyle                      | Merck                      | 98            | 2000                |
|                             | Butyrate d'éthyle                         | Aldrich                    | 99            | 2000                |
| <b>22</b>                   | (±)-2-Méthylbutyrate                      |                            |               | 2000                |
|                             | Isovalérate d'éthyle                      | Aldrich Chemical           | 98            | 2000                |
|                             | Valérate d'éthyle                         | Aldrich Chemical Co., Inc. | 99            | 2000                |
| <b>23</b>                   | Caprylate d'éthyle (= octanoate d'éthyle) | Aldrich Chemical Co., Inc. | 99            | 2000                |
|                             | Caproate d'éthyle                         | Sigma                      | 99            | 2000                |
|                             | Caprate d'éthyle                          |                            |               | 2000                |
| <b>24</b>                   | Acétate de méthyle                        | Merck - Schuchardt         | 99            | 2000                |
|                             |   | Merck                      | Pour analyses | 2003                |
|                             | Acétate de propyle                        | Aldrich-Chemie             | 99            | 2000 & 2003         |
|                             | Acétate d'isobutyle                       | Aldrich                    | 99            | 2000 & 2003         |
| <b>25</b>                   | Acétate d'isopropyle                      | Aldrich                    | 98            | 2000 & 2003         |
|                             | Acétate de butyle                         | Aldrich                    | 99            | 2000                |
|                             | Acétate d'isoamyle                        | Aldrich                    | 98            | 2000                |
|                             | Acétate d'amyle                           | Aldrich                    | 99            | 2000                |
| <b>26</b>                   | Propionate de méthyle                     | Janssen Chimica            | 98            | 2000                |
|                             | Propionate d'éthyle                       | Aldrich                    | 99            | 2000                |
|                             | Propionate de propyle                     | Merck - Schuchardt         | 99            | 2000                |
|                             | Propionate d'isobutyle                    | Merck - Schuchardt         | 98            | 2000                |

**Tableau 19 (suite) :** Listes des composés des mélanges synthétiques utilisés dans les essais de terrain avec mention de leur origine et de leur pureté.

| Mélange | Produit                             | Référence                  | Pureté (%) | Année d'utilisation |
|---------|-------------------------------------|----------------------------|------------|---------------------|
| 27      | Tiglate d'éthyle                    | Lancaster synthesis        | 98         | 2000                |
|         |                                     | Lancaster                  | 98         | 2002 & 2003         |
|         | 3,3-Diméthylacrylate d'éthyle       | AEГ-Chemie                 | 98         | 2000                |
|         |                                     | Aldrich                    | 98         | 2002 & 2003         |
|         | Acrylate d'éthyle                   | Aldrich                    | 99         | 2000, 2002 & 2003   |
| 28      | Acétate d'hexyle                    |                            |            | 2001                |
|         | Acétate de <i>cis</i> -3-hexényle   |                            |            | 2001                |
|         | Acétate de <i>trans</i> -2-hexényle |                            |            | 2001                |
| 29      | Acétate de vinyle [monomère]        | Touzart & Matignon?        |            | 2001                |
|         | Acétate d'allyle                    | Fluka                      | ≥98        | 2001                |
|         | <i>trans</i> -Crotonate d'éthyle    | Aldrich                    | 99         | 2001                |
| 2A      | ( <i>S</i> )-(-)-Lactate d'éthyle   | Aldrich-Chemie             | 98         | 2001                |
|         | ( <i>S</i> )-(-)-Lactate de méthyle | Aldrich                    | 98         | 2001                |
|         | 3-Hydroxybutyrate d'éthyle          | Aldrich-Chemie             | 99         | 2001                |
| 31      | Acide acétique                      | Aldrich Chemical Co., Inc. | 98 atom I  | 2000                |
|         |                                     | Prolabo                    | ≥ 99,5     | 2003                |
|         | Acide isobutyrique                  | Aldrich-Chemie             | 99         | 2003                |
|         | Acide propionique                   | Prolabo                    |            | 2000 & 2003         |
| 32      | Acide butyrique                     |                            |            | 2000                |
|         | Acide isovalérique                  | Aldrich                    | 99         | 2000                |
|         | Acide valérique                     | Aldrich                    | 99         | 2000                |
|         | Acide 2-méthylbutyrique             | Aldrich                    | 98         | 2000                |
| 33      | Acide hexanoïque (= caprylique)     | Aldrich-Chemie             | 99         | 2000                |
|         | Acide octanoïque (= caproïque)      | Aldrich Chemical Co., Ltd  | 99,5       | 2000                |
|         | Acide nonanoïque                    | Aldrich                    | 96         | 2000                |
|         | Acide décanoïque (= caprique)       | Aldrich-Chemie             | 99         | 2000                |
| 34      | Acide lactique                      | Prolabo<br>(Rhône Poulenc) |            | 2000                |
|         | Acide cyclohexanecarboxylique       | Fluka Chemika              | 95         | 2000                |
| 35      | γ-Nonanoic lactone                  | Aldrich                    | 97         | 2001 & 2003         |
|         |                                     | Fluka                      | ≥ 98       | 2001                |
|         | γ-Butyrolactone                     | Fluka                      | ≥ 99       | 2003                |
|         | γ-Caprolactone                      | Aldrich                    | 98         | 2001 & 2003         |
|         | γ-Valérolactone                     | Aldrich                    | 99         | 2001 & 2003         |
| 41      | Anisole                             | Aldrich                    | 99         | 2000 & 2003         |
|         | Vératrole                           | Aldrich                    | 99         | 2000 & 2003         |
|         | Phénol                              | Analar                     |            | 2000 & 2003         |



**Tableau 19 (suite) :** Listes des composés des mélanges synthétiques utilisés dans les essais de terrain avec mention de leur origine et de leur pureté.

| Mélange | Produit                                  | Référence               | Pureté (%) | Année d'utilisation |
|---------|--|-------------------------|------------|---------------------|
| 42      | Phényléthanone                           |                         |            |                     |
|         | 2-Phényléthanol                          | Sigma                   |            | 2000                |
|         | Acétate de 2-phényléthyle                | Aldrich                 | 99         | 2000                |
| 43      | 2- <i>n</i> -Amylfurane                  | Avocado                 | 98         | 2000 & 2003         |
|         | Cyclohexanecarboxylate d'éthyle          | A.C. Oehlschlager       |            | 2000                |
|         |  | Laboratoire             |            | 2003                |
|         | Cyclohexanone                            | Aldrich                 | 99         | 2000                |
|         |  | Aldrich                 | ≥99        | 2003                |
| 44      | 2-Méthoxy-4-vinylphénol                  | Aldrich                 | 98         | 2000                |
|         | Guaiacol (= 2-méthoxyphénol)             | Sigma                   |            | 2000                |
|         | 4-Méthylanisole                          | Aldrich                 | 99         | 2000                |
| 45      | Styrène                                  | Janssen Chemica         |            | 2001                |
|         |  | Aldrich                 | 99         | 2003                |
|         | Xylène (= xylol)<br>[mélange d'isomères] | Aldrich                 |            | 2001 & 2003         |
|         |  | Aldrich                 | 99         | 2001 & 2003         |
| 51      | Myrcène                                  |                         |            | 2000                |
|         | (+)- $\alpha$ -Pinène                    | AEG-Chemie KG           | 95         | 2000                |
|         | $\alpha$ -Terpinène                      | Aldrich                 | 89         | 2000                |
|         | Limonène                                 | Prolabo (Rhône Poulenc) |            | 2000                |
|         | $\alpha$ -Phellandrène                   | Aldrich                 |            | 2000                |
| 52      | Linalool                                 | Fluka Chemika           | 97         | 2000                |
|         | Epoxylinool (= oxyde de linalool)        | Fluka Chemika           | 97         | 2000                |
| 53      | Menthone                                 | Antoine Chiris, Paris   | technique  | 2001                |
|         | Menthol                                  | ACROS Organics          | 99         | 2001                |
| 54      | Acétate de bornyle                       |                         | ≥ 99       | 2001                |
|         | 1,8-Cinéole (= eucalyptol)               |                         |            | 2001                |
|         | $\alpha$ + $\beta$ -Thujone              | Fluka                   |            | 2001                |
| 61      | Butan-2-one                              | Merck                   | 99,5       | 2001                |
|         | Pentan-2-one                             | Aldrich                 | 99         | 2001                |
|         | Hexan-2-one                              | Aldrich                 | 98         | 2001                |
| 62      | Heptan-2-one                             | Aldrich                 | 98         | 2001                |
|         | Nonan-2-one                              | Aldrich                 | ≥ 99       | 2001                |
|         | Undécane-2-one                           | Aldrich-Chemie          | 99         | 2001                |
|         | Tridécane-2-one                          | Aldrich-Chemie          | 99         | 2001                |
| 63      | Octan-2-one                              | Aldrich Chemical Co.    | 98         | 2001                |
|         | Décane-2-one                             | Aldrich Chemical Co.    | 98         | 2001                |
|         | Dodécane-2-one                           | Fluka                   | ≥ 97       | 2001                |
| EAG     | Guaiacol (= 2-méthoxyphénol)             | Sigma                   |            | 2003                |
|         | Hexanol                                  | Aldrich                 | 98         | 2003                |
|         | Tiglate d'éthyle                         | Lancaster               | 98         | 2003                |
|         | Linalool                                 | Fluka                   | 97         | 2003                |
|         | (S)-(-)-Lactate d'éthyle                 | Aldrich-Chemie          | ≈ 98       | 2003                |
|         | Propionate d'éthyle                      | Aldrich                 | 99         | 2003                |

**Tableau 19 (suite) :** Listes des composés des mélanges synthétiques utilisés dans les essais de terrain avec mention de leur origine et de leur pureté.

| Mélange                                      | Produit                            | Référence                        | Pureté (%)                     | Année d'utilisation |
|--|------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| <b>MJ1</b>                                   | Isopentanol                        | Fluka                            | ≥ 98,5                         | 2002 & 2003         |
|  | 2,3-Butanediol [mélange (±)-meso]  | Aldrich                          | 98                             | 2002                |
|  | Butane-2,3-diol                    |                                  |                                | 2003                |
|  | Acétate d'isoamyle                 | Aldrich                          | 98                             | 2002 & 2003         |
|  | Acide acétique                     | Riedel de Haën<br>Rectapur TM    | 99,8<br>≥ 99,5                 | 2002<br>2003        |
|  | Phénol                             | Analar                           |                                | 2002 & 2003         |
|  | Guaïacol                           | Sigma                            |                                | 2002 & 2003         |
|  | 2-Nonanone                         | Aldrich                          | ≥ 99                           | 2002 & 2003         |
|  | Acétoïne                           | Fluka                            | ≥ 97                           | 2002 & 2003         |
| <b>MJ2*<br/>(2001) ;<br/>MJ2<br/>(2002)</b>  | 2-Méthylbutanol                    | Fluka                            | 98                             | 2001 & 2002         |
|  | Isopentanol                        | Fluka                            | 98,5                           | 2001 & 2002         |
|  | Butane-2,3-diol                    | Aldrich                          | 98                             | 2001                |
|  | Butane-2,3-diol [mélange (±)-meso] | Aldrich                          | 98                             | 2002                |
|  | Acétate de méthyle                 | Merck                            | 99                             | 2001 & 2002         |
|  | Acétate d'isoamyle                 | Aldrich                          | 98                             | 2001 & 2002         |
|  | Acide acétique                     | Prolabo<br>Riedel de Haën        | <br>99,8                       | 2001<br>2002        |
|  | Acide isobutyrique                 | ACROS ORGANICS<br>Aldrich-Chemie | 99<br>99                       | 2001<br>2002        |
|  | Acide isovalérique                 | Aldrich-Chemie                   | 99                             | 2001 & 2002         |
|  | Phénol                             | Analar                           |                                | 2001 & 2002         |
|  | Guaïacol                           | Sigma                            |                                | 2001 & 2002         |
|  | 2-Phényléthanol                    | Aldrich                          | 99                             | 2001                |
|  | Acétate de 2-phényléthyle          | Aldrich                          | 99                             | 2001 & 2002         |
|  | Acétoïne                           | Fluka                            | 97                             | 2001 & 2002         |
|  | <b>G</b>                           | Butane-2,3-diol                  |                                |                     |
| Octanoate d'éthyle                           |                                    | Fluka                            | ≥ 98                           | 2003                |
| Caprate d'éthyle                             |                                    | Aldrich                          | 99                             | 2003                |
| Tiglate d'éthyle                             |                                    | Lancaster                        | 98                             | 2003                |
| 3,3-Diméthylacrylate d'éthyle                |                                    | Aldrich                          | 98                             | 2003                |
| Phénol                                       |                                    | Analar                           |                                | 2003                |
| Guaïacol (= 2-méthoxyphénol)                 |                                    | Sigma                            |                                | 2003                |
| 2-Phényléthanol<br>(= alcool phénéthylrique) |                                    | Aldrich                          | 99                             | 2003                |
| Hexan-2-one                                  |                                    | ACROS Organics                   | 98                             | 2003                |
| Heptan-2-one                                 |                                    | Aldrich                          | 98                             | 2003                |
| Nonan-2-one                                  |                                    | Aldrich                          | 99                             | 2003                |
| Acétoïne                                     |                                    | Fluka                            | ≥ 97                           | 2003                |
| (R)-(-)- $\alpha$ -Phellandrène              |                                    | Fluka                            | 50 (somme des<br>enantiomères) | 2003                |
| Menthone                                     |                                    | Fluka                            | ≥ 97                           | 2003                |

**Tableau 19 (suite)** : Listes des composés des mélanges synthétiques utilisés dans les essais de terrain avec mention de leur origine et de leur pureté.

| Mélange | Produit                                     | Référence             | Pureté (%) | Année d'utilisation |
|---------|---|-----------------------|------------|---------------------|
| H       | Méthanol                                    | Carlo Erba            | 99,9       | 2000                |
|         | 2-Méthylbutanol                             | Aldrich               | 99         | 2000                |
|         | Isopentanol                                 | Fluka                 | 98,5       | 2000                |
|         | Butane-2,3-diol                             | Aldrich               | 98         | 2000                |
|         | Acétate de propyle                          | Aldrich-Chemie        | 99         | 2000                |
|         | Acétate d'isobutyle                         | Aldrich               | 99         | 2000                |
|         | Acétate d'isoamyle                          | Aldrich               | 98         | 2000                |
|         | Propionate d'éthyle                         | Aldrich               | 99         | 2000                |
|         | Propionate d'isobutyle                      | Merck - Schuchardt    | 98         | 2000                |
|         | Butyrate d'éthyle                           | Sigma                 |            | 2000                |
|         | Isovalérate d'éthyle                        | Sigma                 |            | 2000                |
|         | Octanoate d'éthyle                          | Aldrich Chemical Co.  | 99         | 2000                |
|         | Décanoate d'éthyle                          |                       |            | 2000                |
|         | Tiglate d'éthyle                            | Lancaster             | 98         | 2000                |
|         | 3,3-Diméthylacrylate d'éthyle               | AEG-Chemie            | 98         | 2000                |
|         | Acide acétique-d                            | Aldrich Chemical Co.  | 98atomD    | 2000                |
|         | Phénol                                      | Analar                |            | 2000                |
|         | Guaiacol (= 2-méthoxyphénol)                | Sigma                 |            | 2000                |
|         | 2-Phényléthanol<br>(= alcool phénéthylique) | Sigma                 |            | 2000                |
|         | Hexan-2-one                                 | Aldrich               | 98         | 2000                |
|         | Heptan-2-one                                | Aldrich               | 98         | 2000                |
|         | 2-Nonanone                                  | Aldrich               | 99         | 2000                |
|         | Acétoïne                                    | Fluka Chemika         | 97         | 2000                |
|         | Acétaldéhyde                                | Merck                 |            | 2000                |
|         | $\alpha$ -Phellandrène                      | Aldrich               |            | 2000                |
|         | Menthone                                    | Antoine Chiris, Paris | technique  | 2000                |

**Tableau 23** : Doses (mg/j) de phéromone ou de mélanges d'odeurs végétales synthétiques émises pendant les essais de terrain.

| N° de l'essai | Mélange             | Période 1 | Période 2 | Période 3 | Période 4 | Ensemble |
|---------------|---------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|
| <b>1</b>      | Phéromone           | 17±3      | 15±2      | 11±3      |           | 15±4     |
|               | 15                  | 464±20    | 331±151   | 269±155   |           | 357±141  |
|               | 16                  | 439±46    | 283±51    | 179±47    |           | 301±120  |
|               | 28                  | 476±54    | 276±16    | 185±12    |           | 338±128  |
|               | 29                  | 462±65    | 344±127   | 239±104   |           | 360±127  |
|               | 2A                  | 440±7     | 252±8     | 157±37    |           | 295±123  |
|               | 35                  | 402±32    | 244±16    | 188±80    |           | 278±105  |
|               | 45                  | 625±104   | 247±32    | 143±8     |           | 339±224  |
|               | 53                  | 453±32    | 283±38    | 166±1     |           | 313±124  |
|               | 54                  | 492±37    | 332±59    | 207±43    |           | 358±133  |
|               | 61                  | 469±44    | 439±238   | 169±60    |           | 362±173  |
|               | 62                  | 488±35    | 279±24    | 184±20    |           | 317±135  |
|               | 63                  | 501±21    | 473±265   | 286±155   |           | 428±175  |
|               | MJ2*                | 275±18    | 206±29    | 154±33    |           | 212±57   |
|               | EAG                 | 477±49    | 322±105   | 208±74    |           | 323±134  |
| <b>2</b>      | Phéromone           | 14±2      | 11±6      | •         |           | 13±5     |
|               | MJ1                 | 262±30    | 196±15    | •         |           | 231±41   |
|               | MJ2                 | 366±38    | 276±32    | •         |           | 324±58   |
| <b>3</b>      | Phéromone           | 13±2      | 9±1       |           |           | 11±2     |
|               | 35                  | 13±8      | 27±22     |           |           | 20±17    |
|               | 43                  | 53±5      | 47±4      |           |           | 50±5     |
|               | EAG                 | 45±6      | 34±6      |           |           | 40±8     |
|               | G                   | 25±5      | 34±12     |           |           | 29±10    |
|               | MJ1                 | 7±3       | 15±7      |           |           | 12±7     |
| <b>4</b>      | Phéromone           | •         | •         |           |           | 12±4     |
|               | Acétate d'éthyle    | 148±28    | 271±15    |           |           | 209±67   |
|               | Propionate d'éthyle | 83±17     | 192±35    |           |           | 138±62   |
|               | Butyrate d'éthyle   | 64±9      | 122±36    |           |           | 93±39    |
|               | Lactate d'éthyle    | 9±5       | 19±8      |           |           | 13±8     |
| <b>5</b>      | Phéromone           | 17±3      | 17±5      |           |           | 17±4     |
|               | MAJ                 | 526±97    | 303±38    |           |           | 425±136  |
| <b>6</b>      | Phéromone           | 13±1      | 10±1      |           |           | 11±2     |
|               | 12                  | 335±21    | 174±43    |           |           | 249±90   |
|               | 24                  | 367±32    | 179±15    |           |           | 273±100  |
|               | 27                  | 367±39    | 178±12    |           |           | 272±100  |
|               | 31                  | 294±25    | 164±13    |           |           | 229±69   |
|               | 41                  | 323±38    | 169±11    |           |           | 246±84   |
| <b>7</b>      | Phéromone           | 15±3      | 15±4      |           |           | 15±4     |
|               | 12                  | 397±16    | 274±18    |           |           | 335±68   |
|               | 24                  | 442±34    | 394±178   |           |           | 422±109  |
|               | 27                  | 385±19    | 436±174   |           |           | 411±118  |
|               | 31                  | 314±58    | 298±66    |           |           | 305±58   |
|               | 41                  | 378±30    | 344±119   |           |           | 359±88   |
|               | 12+24+27+31         | 403±28    | 276±17    |           |           | 339±71   |
|               | 12+24+27+41         | 404±34    | 292±27    |           |           | 356±66   |
|               | 12+24+31+41         | 439±67    | 355±95    |           |           | 397±89   |
|               | 12+27+31+41         | 454±86    | 347±97    |           |           | 401±101  |
|               | 24+27+31+41         | 376±48    | 304±23    |           |           | 340±52   |
|               | 12+24+27+31+41      | 376±58    | 343±124   |           |           | 360±91   |

**Tableau 23 (suite) :** Les doses (mg/j) estimées de phéromone ou de mélanges testés pendant les essais de terrain.

| N° de l'essai | Mélange               | Période 1 | Période 2 | Période 3    | Période 4 | Ensemble |
|---------------|-----------------------|-----------|-----------|--------------|-----------|----------|
| 8             | Phéromone             | •         | •         |              |           | 13±2     |
|               | 12                    | •         | •         |              |           | 256±27   |
|               | 24                    | •         | •         |              |           | 288±14   |
|               | 27                    | •         | •         |              |           | 281±21   |
|               | 31                    | •         | •         |              |           | 232±51   |
|               | 41                    | •         | •         |              |           | 263±24   |
| 9             | Phéromone             | 11±2      | 10±5      |              |           | 11±4     |
|               | 12                    | 43±36     | 43±25     |              |           | 43±30    |
|               | 24                    | 188±4     | 70±10     |              |           | 129±62   |
|               | 27                    | 114±40    | 45±7      |              |           | 79±45    |
|               | 31                    | 77±64     | 70±36     |              |           | 74±50    |
|               | 41                    | 27±7      | 22±3      |              |           | 25±6     |
| 10            | Phéromone             | 9±5       | 8±5       | 8±5          |           | 8±5      |
|               | 27                    | 242±32    | 317±30    | 242±15       |           | 267±44   |
| 11            | Phéromone             | 14±2      | 12±2      | 11±2         |           | 12±2     |
|               | 27 (dose élevée)      | 1144±140  | 1107±101  | 656±54       |           | 1058±332 |
|               | 27 (dose moyenne)     | 443±39    | 369±42    | 228±27       |           | 351±96   |
|               | 27 (dose faible)      | 181±16    | 132±9     | 70±4         |           | 127±47   |
|               | 27 (dose très faible) | 60±5      | 42±7      | 20±6         |           | 41±17    |
| 12            | Phéromone             | 16±3      | 11±3      | 14±3         |           | 13±4     |
|               | 27 (0.6% m○)          | 424±79    | 284±44    | 273±34       |           | 327±88   |
|               | 27 (1.7% m○)          | 386±40    | 302±28    | 267±30       |           | 318±60   |
|               | 27 (5% m○)            | 405±50    | 291±27    | 284±17       |           | 329±66   |
|               | 27 (15% m○)           | 449±47    | 308±18    | 300±43       |           | 352±79   |
| 13            | Phéromone             | 15±4      | 13±5      |              |           | 13±5     |
|               | TIG <sup>1</sup>      | 402±22    | 345±101   |              |           | 370±79   |
|               | ACR <sup>2</sup>      | 404±41    | 386±102   |              |           | 395±70   |
|               | 33D <sup>3</sup>      | 422±46    | 307±20    |              |           | 364±69   |
|               | TIG+ACR               | 398±11    | 310±6     |              |           | 354±48   |
|               | TIG+33D               | 414±23    | 308±4     |              |           | 361±59   |
|               | ACR+33D               | 403±56    | 302±18    |              |           | 352±66   |
|               | TIG+ACR+33D           | 419±14    | 409±120   |              |           | 413±85   |
|               | 27                    | 441±37    | 316±19    |              |           | 378±72   |
| 14            | Phéromone             | 18±2      | 13±2      | 12±3         | 13±2      | 14±3     |
|               | ACR                   | 376±28    | 358±34    | 222±16       | 232±60    | 297±80   |
|               | TIG+ACR               | 437±35    | 353±41    | 212±31       | 205±23    | 302±104  |
|               | ACR+33D               | 410±34    | 345±27    | 230±19       | 214±20    | 300±86   |
|               | TIG+33D               | 380±28    | 349±28    | 230±30       | 214±23    | 298±78   |
|               | 27                    | 410±36    | 328±35    | 225±25       | 206±21    | 298±89   |
| 15            | Phéromone■            | 13±2      | 11±2      | 10±1<br>16±2 | 12±2      | 12±3     |
|               | 27                    | 432±43    | 281±12    | 149±9        | 82±11     | 236±138  |
|               | 27 + Phéromone        | 427±51    | 287±27    | 157±22       | 93±30     | 241±134  |

**Tableau 23 (suite) :** Les doses (mg/j) estimées de phéromone ou de mélanges testés pendant les essais de terrain.

| N° de l'essai | Mélange                     | Période 1 | Période 2 | Période 3 | Période 4 | Ensemble |
|---------------|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|
| 16            | Phéromone                   | 10±3      | 6±1       | 6±1       |           | 7±3      |
|               | 27                          | 269±17    | 224±78    | 193±42    |           | 227±59   |
|               | MAJ                         | 275±33    | 206±35    | 178±11    |           | 220±50   |
| 17            | Phéromone                   | 10±1      | 10±2      |           |           | 10±2     |
|               | MAJ                         | 250±48    | 284±33    |           |           | 267±43   |
| 18            | Phéromone                   | 10±2      | 9±2       | 8±1       |           | 9±2      |
|               | MAJ                         | 246±37    | 328±54    | 303±32    |           | 293±54   |
| 19            | Phéromone                   | 19±3      | 14±3      | 13±3      |           | 15±4     |
|               | MAJ                         | 477±54    | 455±52    | 479±36    |           | 471±48   |
| 20            | Phéromone                   | 11±1      | 13±2      |           |           | 12±2     |
|               | MAJ                         | 318±22    | 298±28    |           |           | 308±26   |
|               | Extrait de dattier dans MAJ | 237±23    | 243±23    |           |           | 240±22   |

• La dose n'a pas été estimée pendant cette période

○ La fraction minoritaire

<sup>1</sup> Tiglate d'éthyle

<sup>2</sup> Acrylate d'éthyle

<sup>3</sup> 3,3-Diméthylacrylate d'éthyle

■ Les diffuseurs de phéromone ont été renouvelés au milieu de la 3<sup>ème</sup> période : la valeur en haut = la dose émise par les anciens diffuseurs ; la valeur en bas = la dose émise par les nouveaux diffuseurs.

## Liste des Figures

- Figure 1** : Les stades du cycle de développement de *Rhynchophorus ferrugineus*. .....6
- Figure 2** : Provinces de la culture de dattier en Iran et localisation géographique de la région infestée par *Rhynchophorus ferrugineus*. .....13
- Figure 3** : Lutte chimique contre *Rhynchophorus ferrugineus* par la méthode de fumigation au phosphore d'aluminium (Phostoxin). .....14
- Figure 4** : Dispositif de collecte d'effluves utilisé pour l'isolement des composés volatils émis par le palmier dattier en 2000 et 2002. ....35
- Figure 5** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur frais de palmier dattier au cours de la fermentation (J0-4) et évalué par couplage CPG-EAG. L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 6. .... Annexe 1, 151
- Figure 6** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur frais de palmier dattier au cours de la fermentation (J4-7) et évalué par couplage CPG-EAG. L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 6. .... Annexe 1, 152
- Figure 7** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur frais de palmier dattier au cours de la fermentation (J7-10) et évalué par couplage CPG-EAG. L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 6. .... Annexe 1, 153
- Figure 8** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur frais de palmier dattier au cours de la fermentation (J10-14) et évalué par couplage CPG-EAG. L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 6. .... Annexe 1, 154
- Figure 9** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur frais de palmier dattier au cours de la fermentation (J14-21) et évalué par couplage CPG-EAG. L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 6 sauf dans le cas où le nom des molécules est indiqué. .... Annexe 1, 155
- Figure 10** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur congelé de palmier dattier au cours de la fermentation (J0-4) et évalué par couplage CPG-EAG. L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 7. .... Annexe 1, 156
- Figure 11** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur congelé de palmier dattier au cours de la fermentation (J4-7). L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 7 ..... Annexe 1, 157
- Figure 12** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur congelé de palmier dattier au cours de la fermentation (J7-10). L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 7. .... Annexe 1, 158
- Figure 13** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur congelé de palmier dattier au cours de la fermentation (J10-14) et évalué par couplage CPG-EAG. L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 7. .... Annexe 1, 159

- Figure 14** : Chromatogramme des composés volatils extraits du cœur congelé de palmier dattier au cours de la fermentation (J14-21). L'identité des composés (pics numérotés) est donnée au Tableau 7. .... Annexe 1, 160
- Figure 15** : Evolution qualitative et quantitative de l'odeur du cœur de palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L., au cours de la fermentation d'après les échantillonnages SPME effectués en 2000. ....44
- Figure 16** : Evolution qualitative des composés de différentes familles chimiques au cours de la fermentation du cœur de palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L., d'après les échantillonnages SPME effectués en 2000. ....45
- Figure 17** : Evolution quantitative (en %) des composés des différentes familles chimiques au cours de la fermentation du cœur de palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L., d'après les échantillonnages SPME effectués en 2000. ....46
- Figure 18** : Différents types morphologiques d'antennes d'insectes et de répartition des sensilles : A : antenne filiforme de Lépidoptères ; ex. *Ostrinia nubilalis* (répartition linéaire des sensilles sur la longueur de l'antenne avec symétrie bilatérale dorso-ventrale) ; B : antenne en massue de Curculionidae ; ex. *Hylobius abietis* (répartition linéaire avec symétrie axiale) ; C : antenne lamelliforme de Scarabaeidae ; ex. *Melolontha* sp. (sans disposition linéaire ni symétrie) ; D : antenne en massue de Curculionidae Rhynchophorinae ; ex. *Rhynchophorus palmarum* (sans disposition linéaire et pseudo symétrie bilatérale) .....48
- Figure 19** : Cliché obtenu par microscopie électronique à balayage ( $\times 2.000$  ;  $2.850 \mu\text{m}^2$ ) montrant les différents types morphologiques de soies présentes sur la surface sensorielle de la massue antennaire de *Rhynchophorus ferrugineus*. ....53
- Figure 20** : Schéma illustrant le principe de l'enregistrement électroantennographique (EAG) à partir d'une antenne de *Rhynchophorus ferrugineus*. ....55
- Figure 21** : Face interne de l'antenne de *Rhynchophorus ferrugineus* : Sc : Scape ; F1 – F6 : segments funiculaires ; Ms : Massue ; D, C et V : Positions dorsale, centrale et ventrale de la surface de la massue retenues pour la prise des clichés par MEB et positionnement de l'électrode d'enregistrement des EAG. ....57
- Figure 22** : Structures cuticulaires de différents types sur la surface de la massue antennaire de *Rhynchophorus ferrugineus*. ....58
- Figure 23** : Groupement de structures cuticulaires cylindriques de type basiconique dans les petites cavités sur la surface de la massue antennaire de *Rhynchophorus ferrugineus*. ....60
- Figure 24** : Sensilles chaetiques sur la périphérie de chaque face de la massue de l'antenne de *Rhynchophorus ferrugineus*. ....60
- Figure 25** : Activité électroantennographique de 27 composés phéromonaux ou kairomonaux ( $10 \mu\text{g}$ ) chez *Rhynchophorus ferrugineus*. ....63
- Figure 26** : Profil des réponses EAG (à partir de 9 molécules et d'air) obtenues sur deux faces de la massue antennaire chez *Rhynchophorus ferrugineus* (positions et sexes confondus). ....64



|   |     |
|---|-----|
| <b>Figure 27</b> : Profil des réponses EAG obtenues par les enregistrements sur les différentes positions de la massue antennaire de 2 sexes de <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> . .....  | 65  |
| <b>Figure 28</b> : Profil des réponses EAG de <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> aux molécules et à l'air en fonction du temps. ....  | 66  |
| <b>Figure 29</b> : Réponses antennaires de <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> à six produits dans l'extrait du cœur frais de dattier (J0-4) obtenues par enregistrement CPG-EAG. ....   | 75  |
| <b>Figure 30</b> : Réponses antennaires de <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> à six produits dans l'extrait du cœur frais de dattier (J0-4) obtenues par enregistrement CPG-EAG. ....   | 76  |
| <b>Figure 31</b> : Spectres de masse de la mégastigma-4,6Z,8Z-triéne et du 3,5,7-triméthyl-2E,4E,6E,8E-undécatétraène (en bas) et de deux composés d'extraits de cœur de dattier actifs au niveau antennaire chez <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> et ayant des temps de rétention identiques (en haut). .... | 78  |
| <b>Figure 32</b> : Relations entre la dose d'anisole et de produit 6 et la réponse antennaire obtenue par couplage CPG-EAG chez <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> . ....   | 80  |
| <b>Figure 33</b> : Relation entre la dose de produit 9 et la réponse antennaire obtenue par couplage CPG-EAG chez <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> . ....   | 80  |
| <b>Figure 34</b> : Schéma de l'olfactomètre à deux puits. ....  | 85  |
| <b>Figure 35</b> : Schéma de l'olfactomètre à quatre voies (d'après Saïd, 2003). ....   | 87  |
| <b>Figure 36</b> : Activité des individus femelles de <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> au cours de la journée (moyenne de deux lots de 25 individus, chacun observé une journée). ....  | 95  |
| <b>Figure 37</b> : Activité des individus mâles de <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> au cours de la journée (moyenne de deux lots de 25 individus, chacun observé une journée). ....   | 95  |
| <b>Figure 38</b> : L'effet phérosynergique des mélanges synthétiques avec composés minoritaires testés sur le terrain en 2000 (Avand-Faghieh, 2000). ....   | 98  |
| <b>Figure 39</b> : Schéma du piège utilisé pour les essais de terrain. ....   | 99  |
| <b>Figure 40</b> : Effet de mélanges synthétiques variés à partir de données bibliographiques en comparaison avec le matériel végétal. ....   | 105 |
| <b>Figure 41</b> : Effet de mélanges synthétiques formulés à partir de l'analyse de headspace du cœur du dattier en comparaison avec le matériel végétal. ....  | 108 |
| <b>Figure 42</b> : Effet de la fraction minoritaire des mélanges les plus efficaces en 2000 ou dans les essais 1 et 2 en comparaison avec le matériel végétal et la phéromone seule. ....   | 109 |
| <b>Figure 43</b> : Effet des produits purs, présentés comme les phérosynergistes des charançons de palmiers dans la bibliographie en comparaison avec les deux quantités de matériel végétal et la phéromone seule. ....  | 110 |
| <b>Figure 44</b> : Effet de MAJ (EtOH + EtAc, 50:50), du gaz carbonique et de l'association des deux en comparaison avec le matériel végétal et la phéromone seule. ....  | 111 |
| <b>Figure 45</b> : Effet des mélanges les plus efficaces en 2000 en comparaison avec le matériel végétal. ....  | 112 |
| <b>Figure 46</b> : Effet des mélanges les plus efficaces en 2000 et celui de leurs associations en comparaison avec le matériel végétal (association des mélanges dans un diffuseur). ....  | 113 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>Figure 47</b> : Effet de l'association des mélanges les plus efficaces en 2000 en comparaison avec le matériel végétal (association des mélanges dans les diffuseurs séparés). .....   | 114 |
| <b>Figure 48</b> : Effet de la fraction minoritaire des mélanges les plus efficaces en 2000 en comparaison avec le matériel végétal et la phéromone seule. ....                           | 115 |
| <b>Figure 49</b> : Effet phérosynergique du mélange 27 et son efficacité en comparaison avec le matériel végétal. ....  | 116 |
| <b>Figure 50</b> : Effet de la dose du mélange 27 sur sa propriété phérosynergique. ....  | 117 |
| <b>Figure 51</b> : Effet de la proportion de la fraction minoritaire du mélange 27 (en %) sur sa propriété phérosynergique. ....  | 118 |
| <b>Figure 52</b> : Effet des mélanges simplifiés issus du mélange 27 en comparaison avec le mélange 27, le matériel végétal, la phéromone et le mélange 27 seul. ....                     | 119 |
| <b>Figure 53</b> : Effet des mélanges simplifiés issus du mélange 27 en comparaison avec le mélange 27 et le matériel végétal. ....   | 120 |
| <b>Figure 54</b> : Effet du mélange 27 (avec la phéromone dans les diffuseurs séparés ou dans le même diffuseur) en comparaison avec le matériel végétal renouvelé ou non renouvelé. .... | 121 |
| <b>Figure 55</b> : Effet du mélange 27 en comparaison avec MAJ, matériel végétal et la phéromone seule. ....  | 122 |
| <b>Figure 56</b> : Effet du mélange MAJ en comparaison avec trois quantités de matériel végétal et la phéromone seule sur un même site. ....  | 124 |
| <b>Figure 57</b> : Effet du mélange MAJ en comparaison avec trois quantités de matériel végétal et la phéromone seule sur 3 sites distincts. ....   | 124 |
| <b>Figure 58</b> : Effet phérosynergique du mélange MAJ, le matériel végétal, et tous les deux en comparaison. ....   | 125 |
| <b>Figure 59</b> : Effet phérosynergique du mélange MAJ en comparaison avec le matériel végétal frais, congelé, sa phase liquide, son extrait dans MAJ et la phéromone seule. ....        | 126 |

## Liste des Tableaux

|  |    |
|--|----|
| <b>Tableau 1</b> : Caractères biologiques du charançon rouge des palmiers, <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> , d'après la bibliographie. ....   | 8  |
| <b>Tableau 2</b> : Ennemis naturels du charançon rouge des palmiers, <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> , d'après les données bibliographiques. ....   | 15 |
| <b>Tableau 3</b> : Quelques protocoles de piégeage olfactif de <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> d'après la bibliographie. ....   | 17 |
| <b>Tableau 4</b> : Composés volatils des odeurs de matériaux végétaux issus des plantes-hôtes des charançons des palmiers décrits dans la bibliographie. ....  | 31 |
| <b>Tableau 5</b> : Pourcentage des composés volatils issus du cœur de dattier échantillonnés par SPME (sans considération de l'air des produits qui ne sont pas identifiés). ....  | 39 |
| <b>Tableau 6</b> : Liste des molécules identifiées par collecte d'effluves sur Supelpak™-2 dans l'odeur de cœur frais de stipe de palmier dattier au cours de la fermentation en 2002. ....  | 40 |
| <b>Tableau 7</b> : Liste des molécules identifiées par collecte d'effluves sur Supelpak™-2 dans l'odeur de cœur congelé de stipe de palmier dattier au cours de la fermentation en 2002. ....  | 41 |
| <b>Tableau 8</b> : Liste des produits utilisés pour les tests électroantennographiques avec leur origine et leur degré de pureté. ....   | 52 |
| <b>Tableau 9</b> : Densité (millier par mm <sup>2</sup> ; moyenne ± écart-type) des différents types de soies sur les différentes zones de la massue antennaire de deux sexes de <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> . ....                 | 59 |
| <b>Tableau 10</b> : Principaux éléments des analyses de variances réalisées sur la densités des différents types de soies sur les différentes zones de la massue de l'antenne chez <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> . ....               | 60 |
| <b>Tableau 11</b> : Composés de la solution synthétique testée sur l'antenne de <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> pour confirmer leurs identifications d'après les comparaisons entre les profils de CPG en couplage avec EAG ou SM. .... | 68 |
| <b>Tableau 12</b> : Nombres d'analyses et de réponses antennaires reproductibles obtenues par CPG-EAG chez <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> . ....   | 70 |
| <b>Tableau 13</b> : Temps de rétention des composés d'odeur du cœur de dattier actifs sur l'antenne de <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> par couplage CPG-EAG et amplitudes des EAG induits. ....   | 72 |
| <b>Tableau 14</b> : Choix proposés en olfactomètre à quatre voies aux adultes de <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> et nombre d'insectes testés. ....  | 86 |
| <b>Tableau 15</b> : Réponses de <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> à deux doses de phéromone synthétique (ferruginéol) en olfactomètre à deux puits. ....  | 88 |
| <b>Tableau 16</b> : Fréquentation relative des quatre voies de l'olfactomètre par <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> dans le test n°1 en fonction de la durée de l'observation. ....   | 89 |
| <b>Tableau 17</b> : Durées relatives de fréquentation des quatre voies par <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> . ....   | 90 |

|   |               |
|---|---------------|
| <b>Tableau 18</b> : Nombres (moyenne $\pm$ écart type) d'œufs jeunes et d'œufs mûrs dans l'appareil reproducteur des femelles de <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> collectées sur dattiers ou capturées par pièges olfactifs. .... | 91            |
| <b>Tableau 19</b> : Listes des composés des mélanges synthétiques utilisés dans les essais de terrain avec mention de leur origine et de leur pureté. ....  | Annexe 2, 162 |
| <b>Tableau 20</b> : Proportions (en % du volume) des constituants des mélanges MJ1, MJ2*, MJ2, G et H.....  | 98            |
| <b>Tableau 21</b> : Proportions (en % du total) de composés minoritaires des associations des mélanges 12, 24, 27, 31 et 41 testés dans l'essai 7. ....   | 101           |
| <b>Tableau 22</b> : Proportions (en % du total) de composés minoritaires des mélanges simplifiés issus du mélange 27 testés dans les essais 13 et 14. ....  | 101           |
| <b>Tableau 23</b> : Doses (mg/j) de phéromone ou de mélanges d'odeurs végétales synthétiques émises pendant les essais de terrain.....  | Annexe 2, 167 |
| <b>Tableau 24</b> : Date, durée, protocole et nombre d'insectes capturés pendant les essais de terrain.....   | 102           |
| <b>Tableau 25</b> : Principaux éléments des analyses de variances réalisées sur les résultats des essais de terrain (1 à 17 et 20).....   | 103           |
| <b>Tableau 26</b> : Principaux éléments des analyses de variances réalisées sur les résultats des essais de terrain (18 et 19). ....  | 104           |

**RÉSUMÉ :** Le charançon rouge des palmiers, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv.), est l'insecte ravageur le plus destructif des palmiers cultivés en Asie, Moyen-Orient et bassin méditerranéen. Le piégeage olfactif peut jouer un rôle important en lutte intégrée contre ce ravageur mais l'usage indispensable de matériel végétal comme synergiste de sa phéromone d'agrégation limite son efficacité et son essor en zone désertique. Afin de disposer d'un synergiste synthétique de la phéromone, nous avons criblé par piégeage de terrain en Iran l'effet synergique avec la phéromone de molécules identifiées dans : 1- l'odeur de stipe de dattier, la plante-hôte de *R. ferrugineus* au Moyen-Orient lors de ce travail et 2- d'autres plantes-hôtes de *Rhynchophorus* spp. et décrites dans la bibliographie ou de structure apparentée. Nous avons utilisé la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à la spectrométrie de masse pour identifier la composition d'odeurs de stipe de dattier isolées par collecte d'effluves. Les constituants potentiellement actifs sur le comportement de l'insecte ont été criblés par couplage CPG-électroantennographie (CPG-EAG) après une étude morphofonctionnelle de l'antenne par microscopie électronique à balayage et électroantennographie visant à vérifier s'il existait une régionalisation olfactive de la massue antennaire. Quatre types majoritaires de soies ont été identifiés, similaires à ceux décrits chez *Rhynchophorus palmarum*. Deux correspondent à des sensilles olfactives trichoïdes et basiconiques. La densité de sensilles basiconiques est plus élevée chez les femelles que chez les mâles et, chez les deux sexes, sur la face interne de la massue que sur la face externe. Les amplitudes des électroantennogrammes enregistrés à six molécules odorantes sont plus fortes à partir de la face interne de l'antenne que de la face externe mais le même profil de réponse a été obtenu que le branchement ait été réalisé en position, dorsale, centrale ou ventrale sur la massue. Au total, 109 molécules ont été identifiées dans les extraits d'odeur de dattier. Dix produits ont induit des électroantennogrammes reproductibles dans les analyses CPG-EAG dont un, l'anisole, a été identifié. L'effet phérosynergique de deux mélanges élaborés à partir des analyses d'odeurs de dattier, d'un mélange de molécules déclenchant des EAG de fortes amplitudes et de 21 mélanges bâtis à partir de 52 molécules issues de la bibliographie ont été étudiés. Parmi tous les mélanges testés sur le terrain, un mélange d'éthanol et d'acétate d'éthyle (50:50 v/v) à une dose de 300 mg/j a présenté un effet phérosynergique compétitif avec 0,35 kg de stipe de dattier et parfois avec 1,2 kg. Une variabilité importante de l'effet relatif entre ce mélange et le tissu de dattier a été observé au cours des trois saisons de travail. Aucun des mélanges plus complexes évalués n'a présenté d'effet notablement supérieur. L'activité antennaire de produits non identifiés dans l'odeur naturelle de dattier et l'absence d'effet phérosynergique des molécules testées, compétitif avec l'odeur naturelle, mettent en évidence le rôle important de composants de l'odeur du dattier non identifiés et/ou l'existence d'effets de mélange non évalués lors du présent travail. Le mélange d'éthanol et d'acétate d'éthyle, simple et bon marché, offre néanmoins une alternative intéressante pour améliorer le piégeage olfactif de *R. ferrugineus* dans la pratique, compte tenu du statut actuel de ce ravageur et de l'absence de meilleure alternative à l'usage d'appâts naturels.

**Mots clefs :** Coleoptera, Curculionidae, *Rhynchophorus ferrugineus*, dattier, phéromone, kairomone, synergie, piégeage olfactif, CPG, CPG-SM, EAG, CPG-EAG, MEB

**ABSTRACT:** The Red Palm Weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv.) is the most destructive insect pest of cultivated palms in Asia, Middle-East and Mediterranean basin. Semiochemical-based trapping can play an important role in the integrated management of this pest but the necessity of using plant material as a synergist of the aggregation pheromone has limited the efficacy and development of the trapping in desert areas. In order to use a synthetic pheromone synergist we screened by field trapping the synergistic effect of molecules identified: 1) in odours isolated from date palm stem, the host plant of *R. ferrugineus* in Middle-East ; 2) from other host plant of *Rhynchophorus* spp. described in the bibliography or with related structures. Coupled gas chromatography - mass spectrometry (GC-MS) was used to identify the components of the odours of date palm stem isolated by effluvia collection. Components of the odours of date palm stem putatively active on the insect's behaviour were screened by coupled gas chromatography-electroantennodetection (GC-EAG). A morphofunctional study of the antenna by scanning electronic microscopy (SEM) and electroantennography (EAG) was realised prior to GC-EAG to verify whether there is an olfactory regionalisation on the antennal club. Four major types of hairs were identified, same as described in *R. palmarum*. Two types of hairs correspond to trichoid and basiconic olfactory sensilla. Density of basiconic sensilla is higher on female than male antennal club and on internal than external face of the club in both sexes. EAG amplitudes to six molecules were higher when the recording electrode was connected onto the internal compared to the external face but the same response profile was obtained on dorsal, central or ventral positions of each club face. A total of 109 molecules were identified in odours from date palm. Ten molecules were antennally active by GC-EAG, of which anisole was identified. The pherosynergistic effects of two blends based on the analyses of odours from date palm, one blend of EAG active molecules and 21 blends based on 52 molecules reported from the literature were studied. Among all blends, a mixture of ethanol and ethyl acetate (50:50 in volume) emitted at 300 mg/d was as pherosynergistic as 0.35 and, sometimes, 1.2 kg of date palm stem. There was a strong variability of the relative effect of this blend with respect to the date palm tissue during three years of experiments. None of the more complex blends was more efficient. The antennal activity of the unidentified components of the natural odours and the absence of activity of the tested molecules show the important role of the unidentified components and/or the existence of mixture effects not evaluated during this research. The mixture of ethanol and ethyl acetate is a simple, cheap and interesting blend as an alternative for plant baits for *R. ferrugineus* trapping in the present situation where no alternative to the plant synergist is available.

**Key words :** Coleoptera, Curculionidae, *Rhynchophorus ferrugineus*, date palm, pheromone, kairomone, synergy, trapping, GC, GC-MS, EAG, GC-EAG, SEM

