



Biodiversité
Agriculture
Alimentation
Environnement
Terre
Eau



Université de Montpellier

École Doctorale GAIA

Candidature à l'Habilitation à Diriger des Recherches

Titre du mémoire :

Améliorer notre compréhension de la dynamique des populations des insectes ravageurs des cultures pour en faciliter la gestion agroécologique

Cas de la diversification des cultures pérennes tropicales

Régis Babin

CIRAD BIOS – UMR PHIM

Centre d'Excellence Africain pour le Changement Climatique, la Biodiversité et l'Agriculture Durable (CEA-CCBAD), Bingerville, Côte d'Ivoire



Remerciements

Mes remerciements vont d'abord à mes collègues et amis de longue date qui, bien que souvent éloignés géographiquement, ont toujours répondu présents lorsque j'avais besoin d'eux : Christian, Martijn, Fabienne, Thibaud un grand merci pour votre appui !

Je remercie également mes collègues d'unité et plus largement du Cirad et d'ailleurs qui se sont intéressés à mes travaux et avec qui il a été si agréable de collaborer : Claudie, Leïla, Jacques, Fabrice, Guillaume, Catherine, Pierre, Natacha, Bernard, Nicolas, Emmanuelle, Frédéric, Lorelei, Emilie, Paul-André, Bruno ...

Un grand merci aux responsables, aux chercheurs et au personnel d'appui des institutions qui m'ont accueilli. Toujours soucieux de mon intégration, ils ont facilité la mise en œuvre de mes travaux.

Mes remerciements vont également aux étudiants que j'ai encadrés et sans qui, évidemment, toutes mes « grandes » idées ne se seraient pas concrétisées ! Je pense notamment à Raymond, Yédé, Zéphirin, Abdelmutalab, Trizah, Gladys, Mukundi...

Merci enfin aux rapporteurs et aux membres du jury qui prendront de leur temps pour évaluer mon travail.

Je dédicace ce mémoire à ma famille qui est toujours là, à mes côtés.

Déclaration

Je déclare avoir respecté, dans la conception et la rédaction de ce mémoire d'HDR, les valeurs et principes d'intégrité scientifique destinés à garantir le caractère honnête et scientifiquement rigoureux de tout travail de recherche, visés à l'article L.211-2 du Code de la recherche et énoncés par la Charte nationale de déontologie des métiers de la recherche et la Charte d'intégrité scientifique de l'Université de Montpellier. Je m'engage à les promouvoir dans le cadre de mes activités futures d'encadrement de recherche.

Table des matières

1. Parcours et expérience professionnels.....	6
1.1. Curriculum vitae	6
1.2. Descriptif de carrière	8
1.2.1. Cursus universitaire.....	8
1.2.2. Premiers pas au CIRAD	8
1.2.3. Recrutement au CIRAD et affectation à l'IRAD de Nkolbisson au Cameroun.....	9
1.2.4. Retour au Cirad à Montpellier.....	9
1.2.5. Affectation à l'icipe, au Kenya	10
1.2.6. Affectation au CEA-CCBAD, en Côte d'Ivoire.....	10
1.3. Participation à des projets de recherche.....	11
1.4. Activités de formation	13
1.4.1. Encadrement d'étudiants ingénieurs, en DEA ou en Master.....	13
1.4.2. Encadrement de doctorants	15
1.5. Vie collective	17
1.5.1. Participation aux comités de thèse	17
1.5.2. Evaluation de la recherche	17
1.5.3. Expertise.....	18
1.5.4. Jurys de recrutement et jurys d'attribution de bourses.....	18
1.5.5. Contribution à la vie des équipes et laboratoires de recherche	18
1.5.6. Rédaction de fiches techniques et développement de sites Web.....	19
1.5.7. Associations, groupes et réseaux.....	19
1.6. Publications scientifiques	19
1.6.1. Publications dans les journaux à comité de lecture.....	19
1.6.2. Articles en cours de publication	23
1.6.3. Autres journaux	23
1.6.4. Chapitres d'ouvrages.....	23
1.6.5. Communications à congrès, conférences et ateliers.....	24
2. Synthèse des travaux scientifiques	30
2.1. Contexte général	30
2.1.1. Evolution de l'entomologie agricole	30
2.1.2. Le contexte de l'agroécologie	30
2.1.3. Contexte des travaux présentés	30

2.2. Objectifs de recherche et démarche scientifique	31
2.3. Modèles biologiques et systèmes de culture.....	31
2.3.1. Les mirides du cacaoyer dans les systèmes agroforestiers du Cameroun	31
2.3.2. Les insectes ravageurs du caféier arabica dans les hautes terres d'Afrique de l'Est	32
2.4. Activités de recherche.....	33
2.4.1. Développement et autres traits d'histoire de vie des insectes au laboratoire	33
2.4.2. Dynamique spatio-temporelle des populations aux champs	41
2.4.3. Vers la prévision du risque d'infestation par les insectes ravageurs.....	47
2.4.4. Développement de méthodes de lutte agroécologique.....	49
2.5. Conclusions et perspectives	52
3. Projet de recherche	55
3.1. Introduction.....	55
3.2. Présentation des concepts	55
3.3. Modèle biologique : les cochenilles (Hemiptera : Pseudococcidae) vectrices de la maladie du Cocoa swollen shoot virus dans les agroécosystèmes de cacaoyers en Côte d'Ivoire.....	57
3.3.1. Importance économique	57
3.3.2. Virus du swollen shoot et mode de vocation.....	59
3.3.3. Ecobiologie des cochenilles vectrices du swollen shoot.....	59
3.3.4. Les agroécosystèmes à base de cacaoyers en Côte d'Ivoire	62
3.4. Hypothèse de recherche et objectifs	63
3.5. Éléments de méthode	65
3.6. Partenariats envisagés	69
4. Conclusion générale	70
5. Références bibliographiques	72
6. Liste des tirés à part joints	76

1. Parcours et expérience professionnels

1.1. Curriculum vitae

Nationalité :	Française	
Date de naissance :	30/03/1974	
Situation familiale :	Marié, 2 enfants	
Adresse professionnelle :	CIRAD BIOS, UMR PHIM Direction Régionale du CIRAD pour l'Afrique de l'Ouest Université Félix Houphouët Boigny, Cocody, bâtiment IRD 01 BP 6483 – Abidjan, Côte d'Ivoire Téléphone : +225 07 79 61 74 50 Adresse électronique : regis.babin@cirad.fr	
Profession :	Cadre de recherche au Cirad, département BIOS, UMR PHIM (Plant Health Institute of Montpellier)	
Fonction :	Entomologiste cacao/cafè	
Compétences	Disciplines : Entomologie, écologie, agronomie, sciences de l'environnement Filières : Café, cacao, coton Thématiques : Eco-biologie des insectes, lutte intégrée contre les insectes ravageurs, écosystèmes cultivés tropicaux Activités : Expérimentation, gestion de la recherche, développement, encadrement d'étudiants, publications scientifiques	
Expertise pays :	Congo-Brazzaville, Cameroun (zone soudano-sahélienne et zone forestière), Kenya (région centrale), Côte d'Ivoire (sud)	
Principales qualifications :	Thèse de doctorat en biologie des populations et écologie, lutte intégrée contre les insectes ravageurs du café et du cacao en Afrique tropicale, gestion de laboratoire et encadrement d'étudiants	
Formation :	2009 Thèse de doctorat – Université Paul Valéry (Montpellier III) 1997 Diplôme d'Etude Approfondi (DEA) – Université de Tours 1996 Maîtrise de Biologie des Organismes – Université de Rennes I 1995 Licence de Biologie des Organismes – Université de Rennes I 1994 Diplôme d'Etudes Universitaires Générales (DEUG) – Université de Nantes 1992 Baccalauréat série D (Nantes)	

Expérience Professionnelle :

Depuis juillet 2019 : Entomologiste pour le CIRAD, en affectation au Centre d'Excellence Africain sur le Changement Climatique, la Biodiversité et l'Agriculture Durable (CEA-CCBAD) de l'Université Félix Houphouët Boigny, Bingerville, Côte d'Ivoire

De juin 2013 à juin 2019 : Entomologiste pour le CIRAD en affectation à International Centre of Insect Physiology and Ecology (icipe), Nairobi, Kenya.

- Responsable du projet et du laboratoire de recherche sur les insectes ravageurs du café à l'icipe
- PI pour le CIRAD des projets CHIESA, AFERIA, CVAS
- Encadrement d'étudiants en thèse et master
- Montage de projets (H2020-Paradigm, H2020-COFFEEPEST, LeapAgri-CSSV-WESTAF, BioInnovate)

Mes recherches portent principalement sur la biologie et l'écologie des insectes ravageurs du café en Afrique de l'est et sur le développement d'outils de gestion et de méthodes de lutte innovantes contre ces ravageurs.

De septembre 2010 à mai 2013 : Entomologiste à l'unité « Bioagresseurs : Analyse et Maitrise du Risque » du département BIOS du CIRAD.

- Fonctionnement de l'unité Bioagresseurs
- Valorisation de données d'observation
- Etude de génétique des populations avec un travail de biologie moléculaire
- Montage de projets de recherche (EuropAid-ASF4Food, CORAF-TradeOffs Cocoa, GKI-BREAD, ECOPHYTO-OptiSpa, ERAFRICA-MAPS).

De mai 2001 à août 2010 : Entomologiste pour le CIRAD en affectation à l'Institut de Recherche Agricole pour le Développement (IRAD) de Nkolbisson, Cameroun.

- Montage et gestion de projets de recherche
- Animation d'équipe et gestion de laboratoire
- Expérimentation de laboratoire et de terrain
- Encadrement d'étudiants en Master et thèse

Mes recherches ont porté principalement sur la biologie et l'écologie des mirides du cacaoyer, et le développement de méthodes de lutte contre ces ravageurs. Ces activités ont été financées par divers projets : FSP Régional-Cacao, ATPs SAFSE & OMEGA3, C2D Agroforesterie, CFC/ICCO/IPGRI phases I & II)

De décembre 1998 à mars 2000 : VSN pour le CIRAD au laboratoire d'entomologie de l'IRAD de Maroua, au Cameroun

Les activités menées concernaient principalement les insectes ravageurs du cotonnier et m'ont permis d'acquérir de l'expérience dans les domaines de l'élevage des insectes, des tests d'insecticides, de la lutte biologique, de la gestion d'une équipe.

De février à juillet 1997 : stage de DEA au laboratoire d'entomologie de l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD, ex-ORSTOM) de Pointe Noire (Congo).

Il s'agissait d'étudier au moyen d'un élevage au laboratoire la biologie d'un hyperparasitoïde de la cochenille du manioc.

Sur le web

<http://agents.cirad.fr/index.php/Regis+BABIN/infosagent>
https://www.researchgate.net/profile/Regis_Babin
<https://scholar.google.fr/citations?user=spX726YAAAAJ&hl=fr>
<https://barco.cirad.fr/>

1.2. Descriptif de carrière

1.2.1. Cursus universitaire

Passionné de la nature et fasciné par les insectes depuis mon plus jeune âge, j'ai suivi un cursus universitaire en biologie, d'abord en DEUG à l'Université de Nantes, puis en Licence et Maîtrise à l'Université de Rennes I, enfin en DEA, à l'Université de Tours. En 1996, alors en licence, je me rapproche de l'équipe du professeur Jean-Pierre Nénon, du laboratoire d'Ecobiologie des Insectes Parasitoïdes de l'Université de Rennes I. J'y effectue un court stage, pendant lequel j'assiste les étudiants en thèse dans leurs travaux en olfactométrie avec comme modèle biologique principal *Epidinocarsis lopezi* (De Santis) (Hymenoptera : Encyrtidae), parasitoïde de la cochenille du manioc *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (Homoptera : Pseudococcidae). Alors membre du Cercle Naturaliste des Etudiants de Rennes (CNER), je m'engage pendant l'été 1996 comme éco-volontaire sur une mission de protection des tortues marines en Guyane Française avec le WWF. Sur les plages du nord de la Guyane, je mène une étude du cortège d'insectes nécrophages impliqués dans le recyclage des cadavres de tortues luth, *Dermochelys coriacea* (Vandelli). En Maîtrise, pendant un deuxième stage au laboratoire d'Ecobiologie des Insectes Parasitoïdes, j'ai la chance de rencontrer Bruno le Rü, de l'IRD, qui me propose un sujet de stage de DEA dans son laboratoire à Pointe Noire, en République du Congo. Ce stage de 6 mois portera sur le potentiel reproducteur et les caractéristiques de la descendance d'un hyperparasitoïde gréginaire de la cochenille du manioc, *Chartocerus hyalipennis* Hayat (Hymenoptera : Signiphoridae). Le rapport de stage est agrémenté d'une revue bibliographique sur l'hyperparasitisme. J'obtiens mon DEA de Biologie des Populations, Génétique et Eco-éthologie, à Tours, sous la direction de Jacques Huignard en 1997.

1.2.2. Premiers pas au CIRAD

Je suis recruté comme volontaire du service national (VSN) au programme Coton du CIRAD-CA en décembre 1998 et affecté à l'Institut de Recherche Agricole pour le Développement (IRAD), à Maroua, dans l'extrême nord du Cameroun (zone sahélienne). Pendant 16 mois (décembre 2018 - mars 2000), j'assiste l'entomologiste du Cirad Samuel Nibouche dans ses travaux sur la lutte intégrée contre les insectes ravageurs du cotonnier. Je participe aux recherches pour l'amélioration de la lutte contre l'aleurode *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera : Aleyrodidae), le puceron *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera : Aphididae) et la noctuelle *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera : Noctuidae). Ces travaux concernent principalement la lutte chimique raisonnée, la lutte variétale et l'étude des ennemis naturels.

Plus précisément, je participe aux essais de screening de matières actives insecticides en parcelles expérimentales et aux mesures de la sensibilité de ces ravageurs à certaines molécules au laboratoire. Je participe également à des essais variétaux pour *B. tabaci* et *A. gossypii*. L'étude des ennemis naturels consiste à évaluer par la méthode de l'exclusion l'efficacité des prédateurs généralistes (principalement Coccinellidae, Syrphidae et Chrysopidae) et des parasitoïdes dans la limitation des populations d'*A. gossypii*, et à l'étude de la dynamique des populations de ces ennemis naturels au sein de systèmes de culture associant le cotonnier à plusieurs autres cultures. Le parasitoïde *Aphelinus albipodus* Hayat & Fatima (Hymenoptera : Aphelinidae) est de loin l'espèce majoritaire dans les émergences des momies d'*A. gossypii* collectées dans les parcelles expérimentales. Je concentre alors mes activités sur l'élevage et l'étude de la biologie de ce parasitoïde au laboratoire. De manière générale, je contribue ainsi à l'entretien des élevages au laboratoire, à la mise en place des dispositifs en parcelles expérimentales et au laboratoire, à la collecte et à l'analyse des données, à la rédaction des rapports, des communications et des publications scientifiques.

1.2.3. Recrutement au CIRAD et affectation à l'IRAD de Nkolbisson au Cameroun

Je suis recruté en CDI au programme cacao du CIRAD-CP en février 2001 et suis affecté en mai 2001 à l'Institut de Recherche Agricole pour le Développement (IRAD) de Nkolbisson, à proximité de Yaoundé, dans la zone forestière du Cameroun. J'y occupe un poste au laboratoire d'entomologie, où je travaille en appui aux chercheurs de l'IRAD, principalement Jean-Michel Mpé et Luc Dibog. À mon arrivée, je m'attelle à relancer les activités de recherche en entomologie au sein du laboratoire : j'entreprends la rénovation de la collection entomologique du laboratoire, j'aménage une chambre climatique et recrute deux techniciens. J'intègre divers projets en cours à l'IRAD et contribue à la rédaction de nouveaux projets, qui me permettent de mener des activités de recherche dont l'objectif général est le développement d'un programme de lutte intégrée contre le miride du cacaoyer, *Sahlbergella singularis* Hagl. (Hemiptera : Miridae). Ainsi, je m'intéresse à la biologie de cette espèce au laboratoire et à son écologie en plantations de cacaoyers. Je mets au point une méthode d'élevage qui me permet de décrire les paramètres démographiques de l'espèce. J'étudie les mécanismes de résistance du cacaoyer aux piqûres de mirides et mène des tests de résistance au laboratoire et en parcelles expérimentales. En milieu réel, j'étudie les plantes hôtes alternatives des mirides et leurs ennemis naturels. Je m'intéresse également à la dynamique des populations de l'insecte et aux facteurs agroécologiques qui l'influencent. Je mène également des essais du piège Brocap®, une technologie développée par le CIRAD pour la lutte contre le scolyte des baies de café, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera : Scolytidae). Mon séjour à l'IRAD de Nkolbisson s'achève en septembre 2010. Ces 9 années passées à l'IRAD de Nkolbisson me permettent d'acquérir des compétences sur la gestion d'un laboratoire et de son équipe, sur l'encadrement d'étudiants en Master et en thèse, sur la recherche de terrain en contact avec les petits planteurs, sur la valorisation des résultats de recherche sous forme de publications scientifiques et de communications à des conférences. Les résultats obtenus au cours de mes recherches sur la biologie et l'écologie des mirides du cacaoyer font l'objet de ma thèse de doctorat, que j'obtiens en novembre 2009, avec la mention très honorable et les félicitations du Jury.

1.2.4. Retour au Cirad à Montpellier

En septembre 2010, je suis affecté à Montpellier. J'intègre les bureaux de l'équipe de l'UR 31 « Bioagresseurs de Pérennes » situés sur le campus Lavalette du Cirad (pôle Agropolis), à laquelle j'appartiens depuis sa création en 2005. Dans ce cadre, je poursuis certains travaux engagés au Cameroun, notamment l'animation et la construction de projets sur le cacao,

l'encadrement d'étudiants en thèse et la valorisation des données collectées. J'engage également des travaux en biologie moléculaire. Plus précisément, je développe une banque de marqueurs microsatellites pour le miride *S. singularis* dans le but d'étudier la diversité génétique des populations de cette espèce au Cameroun. Je participe à la vie collective de l'équipe « Bioagresseurs » et particulièrement à la programmation scientifique et à l'animation transversale de la nouvelle UPR 106 « Bioagresseurs : Analyse et Maîtrise du Risque » issue de la fusion l'UPR 31 et de l'UPR 50 « Acridologie », et qui voit le jour en 2011. Ce séjour de trois années à Montpellier a aussi pour objectif de construire une nouvelle affectation outre-mer. En accord avec le programme scientifique et partenarial de mon unité, je concentre mes activités sur un modèle-phare de l'unité, le scolyte *H. hampei*, qui est le principal insecte ravageur du café à l'échelle mondiale. Un élevage du ravageur est mis sur pied au laboratoire de l'unité qui, entre temps, a déménagé sur le campus international de Baillarguet. Je prospecte de nouveaux partenaires, principalement en Afrique de l'est et développe des projets de recherche ciblant les insectes ravageurs du café dans cette région. Notamment, je prends contact avec les chercheurs d'International Centre of Insect Physiology and Ecology (icipe), au Kenya, qui s'impose rapidement comme un partenaire incontournable, pouvant accueillir dans de bonnes conditions un programme de recherche sur les insectes ravageurs du café en Afrique de l'est.

1.2.5. Affectation à l'icipe, au Kenya

Je suis affecté à l'icipe au Kenya en Juin 2013. À mon arrivée, mes activités de recherche s'intègrent à plusieurs projets comprenant des composantes sur les maladies et ravageurs du café. Je prends la tête du laboratoire des insectes du café, recrute des étudiants, et engage des observations sur le terrain, en particulier sur les pentes du Kilimandjaro, en Tanzanie, et du massif des Aberdares, au Kenya. Je m'intéresse principalement à trois insectes ravageurs du café arabica, parmi les plus importants en Afrique de l'est : le scolyte *H. hampei*, les punaises *Antestia*, *Antestiopsis* spp. (Hemiptera : Pentatomidae), et le foreur blanc du café, *Monochamus leuconotus* (Pascoe) (Coleoptera : Cerambycidae). Des élevages sont mis en place au laboratoire et l'étude de la thermobiologie de ces ravageurs est entreprise, dans le but de modéliser l'impact de la température sur leur démographie et de prédire leur distribution dans différentes conditions de température. En parallèle, l'évaluation des populations est menée sur le café en milieu paysan, le long de transects délimités sur des gradients d'altitude. Les systèmes de production sont caractérisés pour différents facteurs (ombrage, microclimat, phénologie du café) de manière à identifier les facteurs agroécologiques impliqués dans les dynamiques de populations. Des inventaires des ennemis naturels de ces ravageurs sont également entrepris par la collecte de baies et de bois de café sur les sites d'étude. Une autre composante importante de mon travail à l'icipe est la mise au point d'un système de piégeage pour la punaise du café *Antestiopsis thunbergii* (Gmelin). Une étudiante en thèse est recrutée pour étudier l'écologie chimique du ravageur, en collaboration avec la plateforme « Behavioural and Chemical Ecology Department » de l'icipe. Des essais de pièges attractifs pour la lutte contre ce ravageur sont actuellement en cours à l'icipe. Enfin, je suis impliqué dans des projets de développement pour lesquels je conduis avec mon équipe des formations auprès des petits planteurs de la région.

1.2.6. Affectation au CEA-CCBAD, en Côte d'Ivoire

En juillet 2019, je suis affecté au Centre d'Excellence Africain pour le Changement Climatique, la Biodiversité et l'Agriculture durable (CEA-CCBAD), rattaché à l'Université Félix Houphouët Boigny (UFHB), localisé à Bingerville, à proximité d'Abidjan. Ma principale

mission est de contribuer au développement d'un programme de recherche et développement pour améliorer la lutte contre la maladie du Cocoa swollen shoot virus (CSSV). Le swollen shoot est une maladie vectorielle transmise par les cochenilles farineuses (Hemiptera : Pseudococcidae) et je dois m'intéresser à la diversité, à la biologie et à l'écologie du groupe en Côte d'Ivoire. Peu de temps après mon arrivée, je prends la coordination du projet BarCo « Utilisation de barrières végétales et biocontrôle des cochenilles farineuses pour enrayer la progression du Cocoa Swollen Shoot Virus en Côte d'Ivoire » et je suis chargé avec mon homologue de l'UFHB d'animer la composante « swollen shoot » du projet Cocoa4Future « Durabilité des systèmes de production et dynamiques nouvelles du secteur cacaoyer », financé par l'Union Européenne (programme DeSIRA) et l'AFD. Ce sont ces fonctions que j'occupe encore aujourd'hui en Côte d'Ivoire.

1.3. Participation à des projets de recherche

Je présente ici la liste des projets qui ont financé mes activités de recherche et développement depuis mon recrutement au Cirad en 2000. Le montage de projet est une activité qui occupe une part importante de mon temps de travail, mais je ne présenterai ici que les projets financés, et non ceux qui n'ont pas obtenu de financement.

2001-2002. Projet de rénovation et de valorisation de la collection d'insectes du laboratoire d'entomologie de l'IRAD de Nkolbisson. Financement du Service de Coopération et d'Action Culturelle (SCAC) de l'Ambassade de France au Cameroun. 10 k€. Activités principales : aménagement d'une salle dédiée, remise en état des boîtes de collection, inventaire et numérisation de la collection.

1998-2004. CFC/ICCO/IPGRI project: Cocoa Germplasm Utilization and Conservation, a Global Approach. Financement par Common Fund for Commodities (CFC), 80 k€ pour le Cameroun. Activités principales : Recherche : screening variétal pour la résistance du cacaoyer aux mirides et étude des mécanismes biologiques de la résistance.

2004-2005. Actions incitatives du Pôle de Compétence en Partenariat (PCP) Grand-Sud Cameroun. Financement par le Cirad. Activités principales : Recherche : lutte intégrée contre le scolyte des baies de café et essais du piège Brocap©.

2003-2006. Projet FSP Régional : Mise au Point de Systèmes de Cacaoculture Compétitifs et Durables en Afrique. Financement par le Fond de Solidarité Prioritaire (FSP 2000-137) du MAE français, 80 k€ pour la composante IPM au Cameroun. Activités principales : Recherche : bio-écologie des mirides du cacaoyer et lutte intégrée, caractérisation des systèmes de production.

2007. Projet ATP CARESYS : Caractérisation et évaluation des performances agro-écologiques de systèmes de culture plurispécifiques en zone tropicale humide. Financement Actions Thématisques Programmées (ATP) du Cirad, 2 k€ pour les activités sur les mirides. Activités principales : Recherche : rôle de l'ombrage dans la dynamique des populations des mirides du cacaoyer.

2006-2009. Projet REPARAC : Renforcement des partenariats dans la recherche agronomique au Cameroun. PRP cacao : Contribution à la diversification et à la gestion durable des systèmes de culture à base de cacaoyers. Financement par le MAE français, 55 k€ pour la composante

IPM au Cameroun. Activités principales : Recherche : bio-écologie des mirides du cacaoyer, ennemis naturels et lutte intégrée.

2004-2010. CFC/ICCO/Bioversity International Project: Cocoa Productivity and Quality Improvement: a Participatory Approach. Financement par Common Fund for Commodities (CFC), 160 k€ pour le Cameroun. Activités principales : Recherche : screening variétal pour la résistance du cacaoyer aux mirides, étude des mécanismes biologiques de la résistance.

2007-2010. USDA Project: Cocoa Breeding in Cameroon. Financement USDA, 7,5 k€ pour la composante mirides du cacaoyer. Activités principales : Recherche : screening variétal pour la résistance du cacaoyer aux mirides, étude des mécanismes biologiques de la résistance.

2009-2012. Projet ATP OMEGA3 : Optimisation des mécanismes écologiques de gestion des bio-Agresseurs pour une Amélioration durable de la productivité des Agrosystèmes. Financement Actions Thématiques Programmées (ATP) du Cirad, 7,5 k€ pour les activités sur les mirides. Activités principales : Recherche : dynamique spatio-temporelle des mirides du cacaoyer dans des systèmes de polyculture.

2012-2015. Projet ATP SAFSE : Recherche de compromis entre productions et services écosystémiques fournis par les systèmes agroforestiers. Financement Actions Thématiques Programmées (ATP) de l'AIRD, 15 k€ pour les activités sur les maladies et ravageurs du café en Afrique de l'Est. Activités principales : Recherche : impact des systèmes agroforestiers sur les parasitoïdes du scolyte des baies du café.

2012-2015. Projet AFS4Food : Enhancing food security and well-being of rural African households through improved synergy between Agro-Forestry Systems and Food-crops. Financement EuropAid via l'Union Africaine (AURG/031/2012), 10 k€ pour les activités sur les maladies et ravageurs du café en Afrique de l'Est. Activités principales : Recherche : systèmes agroforestiers et bioagresseurs du café.

2012-2015. Projet CHIESA : Climate Change Impacts on Ecosystem Services and Food Security in Eastern Africa. Financement du Ministère des Affaires Etrangères de Finlande, 300 k€ pour les activités sur les maladies et ravageurs du café en Afrique de l'Est. Activités principales : Cycle de développement au laboratoire et dynamique des populations en milieu réel de trois de principaux insectes ravageurs du café.

2016-2018. Projet AFERIA : Adaptation for Ecosystem Resilience in Africa. Financement du Ministère des Affaires Etrangères de Finlande, 30 k€ pour les activités sur les maladies et ravageurs du café en Afrique de l'Est. Activités principales : Seconde phase du projet CHIESA dédiée à la communication des résultats, à la formation des petits planteurs, à la démonstration du piège Brocap©.

2017-2020. Projet CVAS : Coffee Value Addition Support. Financement de l'Agence Française de Développement, 230 k€ pour les activités sur les maladies et ravageurs du café. Activités principales : Caractérisation des systèmes de production, dynamique des populations, impact du paysage.

2018-2020. Projet APPI : African Pollinator-Plant Interactions. Financement de la Fondation JRS pour la Biodiversité, 300 k€. Activités principales : Recherche : impact des pratiques agricoles sur la diversité et la distribution des principales interactions pollinisateurs-plantes.

2018-2020. Projet BARCO : Utilisation de barrières végétales et biocontrôle des cochenilles farineuses pour enrayer la progression du Cocoa Swollen Shoot Virus dans la cacaoyère ivoirienne. Financement du C2D via le Fonds Compétitif pour l’Innovation Agricole Durable (FCIAD) de Côte d’Ivoire, 130 k€. Activités principales : Coordination ; Recherche : dynamique des populations des cochenilles, inventaire ennemis naturels, caractérisation des effets-barrières.

2020-2025. Projet Cocoa4Future : Durabilité des systèmes de production et dynamiques nouvelles du secteur cacaoyer. Financement de l’Union Européenne via le programme DeSIRA, 7 M€ dont environ 700 k€ pour les activités sur les bioagresseurs. Activités principales : Co-leader de WP ; Recherche : Diversité du swollen shoot et de l’entomofaune associée, élevage et thermobiologie au laboratoire, dynamique des populations, écologie du paysage, modélisation, développement d’outils d’aide à la décision.

1.4. Activités de formation

La formation des étudiants en entomologie a toujours été l’une de mes priorités lors de mes différentes affectations. Si je n’ai pas eu la chance de contribuer aux cours de l’enseignement supérieur, j’ai pu encadrer de nombreux étudiants pendant leur stage d’ingénieur, de Master ou pendant leur doctorat. Je dresse ici la liste de ces étudiants et propose une courte analyse du devenir des doctorants. Je présente par ailleurs une liste des formations professionnelles auxquelles j’ai contribué.

1.4.1. Encadrement d’étudiants ingénieurs, en DEA ou en Master

Emmanuel Siegfried Biyong. 2003. Diplôme d’Ingénieur Agronome, Faculté d’Agronomie et des Sciences Agricoles (FASA), Université de Dschang, Cameroun. Recherche de plantes hôtes alternatives des mirides du cacaoyer et mise au point d’une méthode d’élevage en laboratoire de l’espèce *Sahlbergella singularis* Hagl.

Nyrris Sandza. 2003. Diplôme d’Ingénieur Agronome, Faculté d’Agronomie et des Sciences Agricoles (FASA), Université de Dschang, Cameroun. *Epicampoptera marantica* Tams (Lepidoptera : Drepanidae) : Un ravageur du cafier. Méthode d’élevage, étude biologique et recherche d’ennemis naturels.

Roger Fouda. 2004. Diplôme d’Ingénieur Agronome, Faculté d’Agronomie et des Sciences Agricoles (FASA), Université de Dschang, Cameroun. Mise au point d’une technique d’élevage au laboratoire des mirides du cacaoyer de l’espèce *Sahlbergella singularis* Hagl. (Hemiptera : Miridae).

Francis Batomen. 2005. Diplôme d’Ingénieur d’Application de la Statistique, Institut sous Régional de Statistique et d’Economie Appliquée (ISSEA), Yaoundé, Cameroun. Conception, implantation et mise en œuvre de la base de données du projet FSP-Régional IPM Cameroun.

Raymond Joseph Mahob. 2005. DEA de Biologie Animale, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I, Cameroun. Evaluation de l’attaque et de l’infestation des cerises de cafier Robusta (*Coffea canephora var. Robusta*) par *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera : Scolytidae) dans le groupement Foreke-Dschang, province de l’Ouest du Cameroun.

M. Yede. 2005. DEA de Biologie Animale, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I, Cameroun. Influence des facteurs agro-écologiques sur la dynamique des populations du miride du cacaoyer *Sahlbergella singularis* Hagl. 1895 (Hemiptera : Miridae), dans la province du Centre au Cameroun.

Loudine Bessong à Beyeck. 2006. Diplôme d'Ingénieur d'Application de la Statistique, Institut sous Régional de Statistique et d'Economie Appliquée (ISSEA), Yaoundé, Cameroun. Évolution temporelle des organes de fructification et des fruits attaqués du cacaoyer, à différentes échelles géographiques d'observation.

Justin Kameni. 2006. Diplôme d'Ingénieur d'Application de la Statistique, Institut sous Régional de Statistique et d'Economie Appliquée (ISSEA), Yaoundé, Cameroun. Etude de quelques facteurs explicatifs de la production cacaoyère.

Marie Madeleine Soppi Koum. 2008. Diplôme d'Ingénieur Agronome, Faculté d'Agronomie et des Sciences Agricoles (FASA), Université de Dschang, Cameroun. Impact de la densité en plantation sur la pression parasitaire dans une agroforêt cacaoyère.

Elizabeth Wairimu Kagema. 2014. Master of Science in Strategic Management (M2), Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology (JKUAT), Kenya. IPM in coffee agroforestry systems of the Murang'a region in Kenya: impact of neighbor trees on coffee pests and their natural enemies.

Abdelmutalab Gesmalla Ahmed. 2015. Master of Science in Research Methods (M2), Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology (JKUAT), Kenya. Impact of temperature and other agroecological factors on the bioecology of Antestia bugs, *Antestiopsis orbitalis* (Hemiptera: Pentatomidae) on *Coffea arabica* L.

Esther Museo. 2015. Bachelor Internship, Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology (JKUAT), Kenya.

James Maina Gichuhi. 2015. Master of Science in Applied Agricultural Entomology (M2), School of Biological Studies, University of Nairobi, Kenya. Rearing method and life history of laboratory bred African coffee white stem borer, *Monochamus leuconotus* (Pascoe) (Coleoptera: Cerambycidae).

Molly Obong'. 2018. Master of Science in Climate Change Adaptation (M2), University of Nairobi, Kenya. Assessing the potential of sustainable coffee production by small-holder farmers in a changing climate in Murang'a County, Kenya

Ibrahim Ojebowa. 2021. Master 2 de Biodiversité et Valorisation des Écosystèmes, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire. Impact des plantes barrières sur les modes de dispersion et la distribution spatiale des principales espèces de cochenilles vectrices de la maladie du cocoa swollen shoot virus (CSSV) en Côte d'Ivoire.

Siaka Kamara. 2021. Master 2 de Biodiversité et Valorisation des Écosystèmes, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire. Caractérisation de l'entomofaune associée à la maladie du cocoa swollen shoot virus (CSSV) en Côte d'Ivoire.

Chloé Cailleaud. 2021. IUT Génie Biologique, Université Toulouse III – Paul Sabatier, France. Impact de la température sur la vécction de la maladie virale du swollen shoot du cacaoyer (Badnavirus) par *Planococcus citri* (Hemiptera : Pseudococcidae) et sur l'expression des symptômes de la maladie.

1.4.2. Encadrement de doctorants

Encadrement de doctorants en tant que superviseur

Raymond Joseph Mahob. 2013. Diplôme de Doctorat en Biologie des Organismes Animaux, Université de Yaoundé I, Cameroun. Pesticides de la filière cacao et essais de lutte intégrée contre *Sahlbergella singularis* Haglund 1895 (Hemiptera : Miridae), principal bio-agresseur du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) au Cameroun. *Superviseur principal*

Yede. 2016. Diplôme de Doctorat en Biologie des Organismes Animaux, Université de Yaoundé I, Cameroun. Diversité des peuplements des hémiptères dans les cacaoyères de la région du Centre Cameroun : impact économique et essai de lutte biologique. *Superviseur principal*

Abdelmutalab Gesmalla Ahmed Azrag. 2019. PhD in Entomology, Faculty of Natural and Agricultural Sciences, University of Pretoria, Afrique du Sud. Future distribution and life history traits of three major insect pests of Arabic coffee (*Coffea arabica* L.) in East Africa: risk assessment in light of global warming. *Superviseur principal*

Teresiah Nyambura Njihia. 2019. PhD in Plant Health Science and Management, Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology (JKUAT), Kenya. Host plant odors and pheromones of antestia bugs, *Antestiopsis thunbergii* (Heteroptera: Pentatomidae) and their potential in management of the pest in coffee plantations. *Superviseur principal*

Gladys Jebiwot Mosomtai. 2021 (en cours). PhD in Environmental Science, College of Agriculture, Engineering and Science, University of KwaZulu-Natal, Afrique du Sud. Epidemiology of coffee pathosystem in the smallholder context on the Aberdare range, Kenya: modelling the impact of agroecological factors for coffee key pests and diseases' dynamic prediction. *Membre de l'équipe de supervision*

Mukundi Mukundamago. 2022 (en cours). PhD in Entomology, University of the Western Cape, Afrique du Sud. Predicting the spatio-temporal distribution of common plant-pollinator interactions in two contrasted and changing agricultural landscapes of the Eastern Afromontane Biodiversity Hotspots in Kenya: the Aberdare range and the Taita Hills. *Membre de l'équipe de supervision*

Autres types d'appuis aux doctorants

Cynthia Gidoin. 2013. Thèse de doctorat, Ecole Doctorale SIBAGHE, Montpellier SupAgro, France. Relations entre structure du peuplement végétal et bioagresseurs dans les agroforêts à cacaoyers. Application à trois bioagresseurs du cacaoyer : la moniliose au Costa Rica, la pourriture brune et les mirides au Cameroun. *Appui à la collecte et à l'analyse des données et à la rédaction d'articles scientifiques*

Zéphirin Tadu. 2016. Thèse de doctorat, Département de Biologie et Physiologie Animales, Université Yaoundé 1, Cameroun. Organisation spatiale des communautés de fourmis arboricoles tropicales : rôle structurant et importance du comportement prédateur. *Appui à la collecte et à l'analyse des données et à la rédaction d'articles scientifiques*

Theresa Ines Liebig. 2017. PhD en Horticulture, Faculté des Sciences Naturelles, Université Gottfried Wilhelm Leibniz de Hanovre, Allemagne. Abundance of pests and diseases in Arabica coffee production systems in Uganda - ecological mechanisms and spatial analysis in the face of climate change. *Appui à la rédaction d'articles scientifiques*

Devenir et distinctions des doctorants encadrés

A la suite de leur thèse, les trois étudiants camerounais que j'ai encadrés lors de mon affectation à l'IRAD de Nkolbisson au Cameroun, Raymond Mahob, M. Yédé et Zéphirin Tadu, ont été recrutés au département de Biologie et de Physiologie Animales de la faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, où ils occupent des postes de chargés de cours. Zéphirin Tadu et Yédé sont membres de l'équipe du Professeur Champlain Djieto-Lordon, au laboratoire de Zoologie, alors que Raymond Mahob travaille avec le Professeur Charles Felix Bilong-Bilong au laboratoire de Parasitologie et Ecologie. Abdelmutalab G. A. Azrag a été recruté comme entomologiste sur projet à l'icipe (CDD), tout en occupant un poste de maître de conférence dans son université d'origine, l'Université de Gezira, au Soudan. La doctorante Teresiah Nyambura Njihia occupe un poste d'enseignante à temps partiel à Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology (JKUAT), à Nairobi, au Kenya. Bien qu'un poste de maître de conférence lui ait été proposé dans l'intérieur du pays, elle est restée à JKUAT à la recherche d'opportunités de postdoc à l'étranger.

A noter qu'en 2018, Teresiah a obtenu le premier prix d'excellence décerné par le conseil d'administration de l'icipe, pour le meilleur article publié par un étudiant de l'icipe¹. Cette même année, l'étudiante avait obtenu une bourse du programme Mawazo², une institution engagée dans l'appui aux jeunes femmes dans la recherche en Afrique.

Gladys Jebiwot Mosomtai a obtenu une bourse du programme L'Oréal-UNESCO pour les Femmes et la Science 2018, pour son projet de thèse sur le café au Kenya³. Après de nombreuses interviews sur divers médias pendant lesquelles elle a communiqué sur les contraintes qui pèsent sur la culture du café en Afrique de l'est, Gladys a été sélectionnée en 2020 comme Ambassadrice du « Next Einstein Forum », un programme d'appui aux jeunes chercheurs en Afrique⁴.

Formations professionnelles

J'ai participé à plusieurs formations professionnelles de courte durée destinées à un public varié :

¹ <http://www.icipe.org/news/awards-and-recognition/icipe-governing-council-awards-2018>

² <http://mawazoinstitute.org/phd-scholars/>

³ https://www.opinion-internationale.com/2018/12/14/dcouvrez-les-laureates-du-prix-for-women-in-science-africa-loreal-unesco-aujourd'hui-gladys-mosomtai-kenya_56685.html

⁴ <https://nef.org/fr/ambassador/gladys-mosomtai/>

- Novembre 2008, puis mai 2010 : organisation et animation de formations d'une semaine de chercheurs et étudiants Camerounais en Biométrie, organisée par le CIRAD et l'IRAD à Yaoundé.
- Septembre 2009 : formation d'une quinzaine d'étudiants, chercheurs et employés de compagnies privées à la reconnaissance, à la biologie et à l'écologie des mirides du cacaoyer du genre *Helopeltis* en Asie, au cours d'un atelier de 4 jours, organisé par l'Université de Nong Lam, Hô Chi Minh-ville, Vietnam (financement par la compagnie Mars Inc.)
- Mars 2015 : organisation et animation d'une formation d'une semaine en statistiques spatiales sur R destinée aux chercheurs et étudiants de l'icipe, au Kenya, avec l'intervention de plusieurs chercheurs spécialistes de mon unité au CIRAD.
- Octobre 2016 : deux formations d'une journée sur les maladies et ravageurs du cafetier, la première destinée aux agronomes de la fondation Kahawatu au Burundi, et la deuxième aux agronomes de Rwacof, compagnie d'exportation de café au Rwanda. Formations organisées par le CIRAD à la demande de la fondation Kahawatu.
- Février à juin 2017 : organisation de formations des planteurs de café de la région de Murang'a, près de Nairobi, dans le cadre du projet AFERIA « Adaptation for Ecosystem Resilience in Africa ». Plus de 1000 planteurs formés à la reconnaissance des insectes ravageurs du café en Afrique de l'Est.
- Septembre 2020 : formation d'une semaine sur la maladie du swollen shoot, les cochenilles vectrices et les bonnes pratiques de replantation d'une cacaoyère, à destination des planteurs des coopératives partenaires du projet BarCo (Barrières Cochenilles), dans la région de Soubré en Côte d'Ivoire. Près de 300 planteurs formés.

1.5. Vie collective

1.5.1. Participation aux comités de thèse

Anicet Gbèblonoudo Dassou. 2014. Thèse de doctorat, Ecole Doctorale SIBAGHE, Montpellier SupAgro, France. Effet de la diversité des cultures sur les réseaux trophiques des arthropodes et la régulation du charançon du bananier par les prédateurs généralistes dans les systèmes pluri-spécifiques à base de plantain.

Morguen Atiama. 2016. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences et Technologies, Université de la Réunion. Bioécologie et diversité génétique d'*Orthops palus* (Heteroptera, Miridae), ravageur du manguier à La Réunion.

1.5.2. Evaluation de la recherche

J'ai été relecteur pour 27 articles soumis à des journaux scientifiques internationaux, plus précisément *Bulletin of Entomological Research* (5 articles), *Agroforestry Systems* (5 articles), *International Journal of Tropical Insect Science* (5 articles), *Agronomy* (1 article), *Annals of Applied Biology* (1 article), *Frontiers in Ecology and Evolution* (1 article), *Environmental Entomology* (1 article), *Pest Management Science* (1 article), *Zoology and Ecology* (1 article),

Journal of Entomology and Nematology (1 article), *Journal of Applied Entomology* (1 article), *Fruits* (1 article), *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology* (1 article), *Acarologia* (1 article) et *Arthropod-plant Interactions* (1 article).

1.5.3. Expertise

Septembre 2009 – Mission d’appui à la filière cacao au Vietnam pour la gestion des mirides du cacaoyer du genre *Helopeltis*. Expertise effectuée à la demande de la société Mars Inc.

Août 2016 – Mission pour la société OLAM, dans sa ferme Milano, à Barreiras, au Brésil, pour une expertise sur la mineuse du café *Leucoptera coffeella*.

Octobre 2013 - Mission d’appui à la fondation Kahawatu au Rwanda et au Burundi, pour une expertise sur les bioagresseurs du café et la formation des agronomes partenaires.

1.5.4. Jurys de recrutement et jurys d’attribution de bourses

Le 22 août 2011, j’ai pris part au jury de recrutement pour le poste 1710 « chercheur en entomologie spécialisé en biologie des populations et écologie des insectes ravageurs » à pourvoir à mon unité de recherche au CIRAD.

En novembre 2018, j’ai été sollicité pour la sélection des lauréats de l’initiative « AWARD Pan-African Fellowship » (African Women In Agriculture Research and Development), une initiative de l’ICRAF (World Agroforestry Center) ayant pour objectif de renforcer les compétences et le leadership des femmes dans le domaine de la recherche agricole⁵.

J’ai été récemment sollicité pour donner mon appréciation d’expert sur un projet de thèse dans le cadre de l’appel d’offre « allocations doctorales 2021 » de ED ABIES (AgroParisTech).

1.5.5. Contribution à la vie des équipes et laboratoires de recherche

J’ai contribué de façon significative à la vie scientifique de mon unité de recherche au CIRAD. Par exemple, depuis juin 2018, je suis l’administrateur de la dataverse de mon unité. Dataverse est un entrepôt de données scientifique en ligne permettant le dépôt et la consultation de données. En tant qu’administrateur, j’ai la charge d’attribuer des droits aux différents utilisateurs, en particulier aux chercheurs de mon unité qui souhaitent déposer ou consulter des bases de données. Je contribue également à la mise en forme et à la correction des données avant leur dépôt.

De façon générale, j’ai pris des responsabilités dans les laboratoires d’entomologie dans lesquels j’étais affecté de façon à en améliorer le fonctionnement. A l’IRAD au Cameroun d’abord, puis à l’icipe au Kenya, et maintenant au CEA-CCBAD en Côte d’Ivoire, je m’efforce d’équiper le laboratoire, de recruter du personnel et de veiller au bon fonctionnement des activités.

Ces laboratoires sont aussi d’excellents outils de communication et de formation et nous y avons régulièrement accueilli un public divers : chercheurs d’autres institutions, employés du secteur privé, mais aussi groupes scolaires et élèves en stage d’insertion professionnels (niveau 3^{ème}).

⁵ <https://awardfellowships.org/>

1.5.6. Rédaction de fiches techniques et développement de sites Web

Babin R. (2018) *Planococcus citri* (Hemiptera : Pseudococcidae). Technical sheet produced as part of the collective expertise commissioned by FAO, LOA N°325120, CIRAD, Montpellier, France, 27 p.

Babin R., Oro Z.F., N'Guessan P.W., Tahi G.M. (2020) Itinéraire de replantation d'une cacaoyère détruite par la maladie du swollen shoot. Fiche technique produite dans le cadre du projet BarCo « Barrières cochenilles », CIRAD, Abidjan, 4 p.

<https://barco.cirad.fr/produits/fiche-technique-sur-le-swollen-shoot>

Site web du projet BarCo « Utilisation de barrières végétales et biocontrôle des cochenilles farineuses pour enrayer la progression du Cocoa Swollen Shoot Virus dans la cacaoyère ivoirienne », accessible en suivant le lien : <https://barco.cirad.fr/>

1.5.7. Associations, groupes et réseaux

Je suis membre actif de l'AAIS (African Association of Insect Sciences) depuis l'année 2019. Par ailleurs, je suis actif sur certains réseaux dédiés à la recherche sur les bioagresseurs tels que BioInsecte (groupe Renater), le réseau PIC (Protection Intégrée des Cultures) de l'INRAE, le GdR Invasions Biologiques, ou le réseau PESTNET.

1.6. Publications scientifiques

1.6.1. Publications dans les journaux à comité de lecture

Je présente ici la liste des articles publiés depuis le début de ma carrière au CIRAD par ordre chronologique inverse. Les noms soulignés dans les listes d'auteurs sont les étudiants de Master ou les doctorants que j'ai encadrés.

32. Mosomtai G., Odindi J., Abdel-Rahman E., **Babin R.**, Pinard F., Mutanga O., Tonnang H.E., David G. & Landmann T. (2020) Landscape fragmentation in coffee agroecological subzones in central Kenya: a multiscale remote sensing approach. *Journal of Applied Remote Sensing*, 14, 044513. **IF = 1,36**
31. Azrag A.G.A., Yusuf A.A., Pirk C.W.W., Niassy S., Guandaru E.K., David G. & **Babin R.** (2020) Modelling the effect of temperature on the biology and demographic parameters of the African coffee white stem borer, *Monochamus leuconotus* (Pascoe) (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Thermal Biology*, 89, 102534. **IF = 2,36**
30. Azrag A.G.A., Yusuf A.A., Pirk C.W.W., Niassy S., Mbugua K.K. & **Babin R.** (2020) Temperature-dependent development and survival of immature stages of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). *Bulletin of Entomological Research*, 110, 207-218. **IF = 1,81**
29. Mahob R.J., Feudjio Thiomela R., Dibog L., **Babin R.**, Fotso Toguem Y.G., Mahot H., Baleba L., Owona Dongo P.A. & Bilong Bilong C.F. (2019) Field evaluation of the impact of *Sahlbergella singularis* Haglund infestations on the productivity of different

Theobroma cacao L. genotypes in the Southern Cameroon. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 126, 203-210. **IF = 1,53**

28. Tadu Z., **Babin R.**, Aléné D.C., Yede, Messop-Youbi E.B., Wouter D. & Djéto-Lordon C. (2019) Ant assemblage structure on cocoa trees in smallholder farms in the Centre Region of Cameroon. *African Journal of Ecology*, 57, 512-522. **IF = 0,71**
27. Azrag A.G.A., Pirk C.W.W., Yusuf A.A., Pinard F., Niassy S., Mosomtai G. & **Babin R.** (2018) Prediction of insect pest distribution as influenced by elevation: Combining field observations and temperature-dependent development models for the coffee stink bug, *Antestiopsis thunbergii* (Gmelin). *PLOS One*, 13, e0199569. **IF = 2,74 (ISI)**
26. Bagny Beilhe L., Piou C., Tadu Z. & **Babin R.** (2018) Identifying ant-mirid spatial interactions to improve biological control in cacao-based agroforestry system. *Environmental Entomology*, 47, 551-558. **IF = 1,59**
25. Liebig T., **Babin R.**, Ribeyre F., Läderach P., van Asten P., Poehling H.M., Jassogne L., Cilas C. & Avelino J. (2018) Local and regional drivers of the African coffee white stem borer (*Monochamus leuconotus*) in Uganda. *Agricultural and Forest Entomology*, 20, 514-522. **IF = 1,88**
24. Mahob R.J., Nsoga Etam P.B., Dibog L., **Babin R.**, Valtery Voula A., Begoude D., Fotso Toguem Y.G., Baleba L., Owona Ndongo P.A. & Bilong Bilong C.F. (2018) Assessment of the effect of cocoa mosquito mirid true bug, *Helopeltis* sp. (Hemiptera: Miridae) on the cocoa (*Theobroma cacao* L.) production in Cameroon (Central Africa). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12, 1865-1875.
23. Njihia T.N., Torto B., Murungi L.K., Irungu J., Mwenda D.M. & **Babin R.** (2018) Ripe coffee berry volatiles repel second instar nymphs of Antestia bugs (Heteroptera: Pentatomidae: *Antestiopsis thunbergii*). *Chemoecology*, 28, 91-100. **IF = 2,05**
22. Azrag A.G.A., Murungi L.K., Tonnang H.E.Z., Mwenda D. & **Babin R.** (2017) Temperature-dependent models of development and survival of an insect pest of African tropical highlands, the coffee antestia bug *Antestiopsis thunbergii* (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Thermal Biology*, 70, 27-36. **IF = 2,36**
21. Gichuhi J.M., Ndegwa P.N., Mugo H.M., Guandaru E.K. & **Babin R.** (2017) Rearing method and developmental biology of the African coffee white stem borer, *Monochamus leuconotus* (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Economic Entomology*, 110, 1120-1126. **IF = 1,94**
20. Njihia T.N., Torto B., Murungi L.K., Irungu J., Mwenda D.M. & **Babin R.** (2017) Identification of kairomones of second instar nymphs of the variegated coffee bug *Antestiopsis thunbergii* (Heteroptera: Pentatomidae). *Chemoecology*, 27, 239-248. **IF = 2,05**
19. Ahmed A.G., Murungi L.K. & **Babin R.** (2016) Developmental biology and demographic parameters of antestia bug *Antestiopsis thunbergii* (Hemiptera: Pentatomidae), on *Coffea arabica* (Rubiaceae) at different constant temperatures. *International Journal of Tropical Insect Science*, 36, 119-127. **IF = 0,54**

18. **Mahob R.J.**, Baleba L., **Yede**, Dibog L., Cilas C., Bilong C.F.B. & **Babin R.** (2015) Spatial distribution of *Sahlbergella singularis* Hagl. (Hemiptera: Miridae) populations and their damage in unshaded young cacao-based agroforestry systems. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 5, 121-131.
17. **Gidoin C.**, **Babin R.**, Bagny Beilhe L., Cilas C., ten Hoopen G.M. & Ngo Bieng M.A. (2014) Tree spatial structure, host composition and resource availability influence mirid density or black pod prevalence in cacao agroforests in Cameroon. *PLOS One*, 9, e109405. **IF = 2,74 (ISI)**
16. **Mahob R.J.**, Ndoumbe-Nkeng M., Hoopen G.M.t., Dibog L., Nyasse S., Rutherford M., Mbenoun M., **Babin R.**, Mbang J.A.A., **Yede** & Bilong C.F.B. (2014) Pesticides use in cocoa sector in Cameroon: characterization of supply source, nature of actives ingredients, fashion and reasons for their utilization. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8, 1976-1989.
15. **Tadu Z.**, Djéto-Lordon C., **Yede**, Messop Youbi E.B., Fomena A. & **Babin R.** (2014) Ant diversity in different cocoa agroforest habitats in the Centre Region of Cameroon. *African Entomology*, 22, 388-404. **IF = 0,65**
14. **Tadu Z.**, Djéto-Lordon C., **Yede**, Youbi E.M., Aléné C.D., Fomena A. & **Babin R.** (2014) Ant mosaics in cocoa agroforestry systems of Southern Cameroon: influence of shade on the occurrence and spatial distribution of dominant ants. *Agroforestry Systems*, 88, 1067-1079. **IF = 1,97**
13. **Tadu Z.**, Djéto-Lordon C., **Babin R.**, **Yede**, Messop-Youbi E.B. & Fomena A. (2013) Influence of insecticide treatment on ant diversity in tropical agroforestry system: Some aspect of the recolonization process. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 5, 832-844.
12. **Babin R.**, Fenouillet C., Legavre T., Blondin L., Calatayud C., Risterucci A.-M. & Chapuis M.-P. (2012) Isolation and characterization of twelve polymorphic microsatellite loci for the cocoa mirid bug *Sahlbergella singularis*. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 4412-4417. **IF = 4,56**
11. Mbang J.A.A., Mounjouenpou P., **Mahob R.J.**, Amougou M.M., Bedimo J.M., Nyasse S., Dibog L., Nomo L.B., Tchouamo I.R. & **Babin R.** (2012) Evaluation of the impact of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on the population dynamics of the coffee cherry (*Coffea canephora*) borer beetle, *Hypothenemus hampei*. *African Crop Science Journal*, 20, 443-451.
10. **Yede**, **Babin R.**, Djieto-Lordon C., Cilas C., Dibog L., **Mahob R.** & Bilong C.F.B. (2012) True bug (Heteroptera) impact on cocoa fruit mortality and productivity. *Journal of Economic Entomology*, 105, 1285-1292. **IF = 1,94**
9. Amang a Mbang J., Mounjouenpou P., **Babin R.**, Cilas C., Tchouamo I., Dibog L. & Nyasse S. (2011) Tentative prediction of cocoa yield (*Theobroma cacao* L.) in farmer field in Cameroon. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 1, 43-49.

8. **Babin R.**, Anikwe J.C., Dibog L. & Lumaret J.P. (2011) Effects of cocoa tree phenology and canopy microclimate on the performance of the mirid bug *Sahlbergella singularis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 141, 25-34. **IF = 1,70**
7. **Mahob R.J., Babin R.**, ten Hoopen G.M., Dibog L., Yede, Hall D.R. & Bilong Bilong C.F. (2011) Field evaluation of synthetic sex pheromone traps for the cocoa mirid *Sahlbergella singularis* (Hemiptera: Miridae). *Pest Management Science*, 67, 672-676. **IF = 3,75**
6. **Babin R.**, ten Hoopen G.M., Cilas C., Enjalric F., Yede, Gendre P. & Lumaret J.P. (2010) Impact of shade on the spatial distribution of *Sahlbergella singularis* in traditional cocoa agroforests. *Agricultural and Forest Entomology*, 12, 69-79. **IF = 1,88**
5. Argout X., Fouet O., Wincker P., Gramacho K., Legavre T., Sabau X., Risterucci A.M., Da Silva C., Cascardo J., Allegre M., Kuhn D., Verica J., Courtois B., Loor G., **Babin R.**, Sounigo O., Ducamp M., Guiltinan M.J., Ruiz M., Alemanno L., Machado R. & Phillips (2008) Towards the understanding of the cocoa transcriptome: Production and analysis of an exhaustive dataset of ESTs of *Theobroma cacao* L. generated from various tissues and under various conditions. *Bmc Genomics*, 9, 512. **IF = 3,59**
4. **Babin R.**, Bisseleua H., Dibog L. & Lumaret J.C. (2008) Rearing method and life-table data for the cocoa mirid bug *Sahlbergella singularis* Haglund (Hemiptera : Miridae). *Journal of Applied Entomology*, 132, 366-374. **IF = 2,21**
3. Dibog L., **Babin R.**, Amang a Mbang J., Decazy B., Nyassé S., Cilas C. & Eskes A. (2008) Effect of genotype of cocoa (*Theobroma cacao*) on attractiveness to the mirid *Sahlbergella singularis* (Hemiptera: Miridae) in the laboratory. *Pest Management Science*, 64, 977-980. **IF = 3,75**
2. Nibouche S., Gozé E., **Babin R.**, Beyo J. & Brévault T. (2007) Modeling *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) damages on cotton. *Environmental entomology*, 36, 151-156. **IF = 1,59**
1. Nibouche S., **Babin R.**, Beyo J. & Gozé E. (2004) Within-plant distribution of cotton boll-infesting Lepidoptera: application to sampling. *Environmental entomology*, 33, 1458-1464. **IF = 1,59**

Récapitulatif des facteurs d'impact

Facteur d'impact entre 2 et 4,56 :	11 publications
Facteur d'impact entre 1 et 1,99 :	12 publications
Facteur d'impact inférieur à 1 :	3 publications
Sans facteur d'impact :	6 publications

1.6.2. Articles en cours de publication

Ratnadass A., Avelino J., Fernandes P., Letourmy P., **Babin R.**, Deberdt P., Deguine J.-P., Grechi I., Naudin K., Rhino B., DeClerck F., Kadi Kadi H.A., Mahob R., Rabary B., Rafaraso L.S., Lescourret F., Van Den Berg J. Synergies and tradeoffs in natural regulation of crop pests and diseases under plant species diversification. *Crop Protection*, accepted with major revisions.

Mosomtai G., Azrag A.G.A., Babin R., Abdel-Rahman E.M., Odindi J., Mutanga O., Tonnang H.E.Z., Landmann T., David G. Functional land cover scale for two insect pests with contrasted dispersal strategies, the Antestia bugs (*Antestiopsis thunbergii* and *A. facetoides*) and the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in a fragmented coffee-based landscape in Central Kenya. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, submitted.

Njihia T.N., Torto B., Murungi L.K., Mwenda D.M., Khrimian A., Babin R. Identification and field evaluation of methyl-2E,4E,6Z-decatrinoate, a male-produced aggregation pheromone for the control of the coffee Antestia bug, *Antestiopsis thunbergii* (Heteroptera: Pentatomidae), in preparation

Azrag A.G.A., Babin R., et al. Integrating temperature-dependent development and oviposition models for predicting the potential distribution and population growth of coffee berry borer *Hypothenemus hampei* Ferrari, in preparation

Mosomtai G., Babin R., et al._Linking landscape-scale effect on microclimate and its implication on coffee pest abundance in coffee system of central Kenya, in preparation

1.6.3. Autres journaux

Babin R., Sounigo O., Dibog L. & Nyassé S. (2004) Field tests for antixenosis and tolerance of cocoa towards mirids. *Ingenic Newsletter*, 9, 45-50.

Fretey J. & **Babin R.** (1998) Arthropod succession in leatherback turtle carrion and implications for determination of the postmortem interval. *Marine Turtle Newsletter* 80: 4-7.

1.6.4. Chapitres d'ouvrages

Babin R. (2018) Pest management in organic cacao. In: *Handbook of Pest Management in Organic Farming* (eds. Vacante V & Kreiter S). CAB International, pp. 502-518.

Babin R., Mbondji Mbondji P., Mendesil E., Mugo H.M., Lee J.-H., Serracin M., Rukazambuga N.D.T.M. & Miller T.A. (2018) The antestia bug complex in Africa and Asia. In: *Invasive stink bugs and related species (Pentatomidae). Biology, higher systematics, semiochemistry, and management* (ed. McPherson JE). CRC Press - Taylor and Francis Group, pp. 465-493.

Bagny L., **Babin R.** & Ten Hoopen G.M. (2018) Insect pests affecting cacao. In: *Achieving sustainable cultivation of cocoa* (ed. Umaharan P). Burleigh Dodds Science Publishing Cambridge, Royaume-Uni, pp. 303-326.

Cilas C., Goebel F.-R., **Babin R.** & Avelino J. (2016) Tropical Crop Pests and Diseases in a Climate Change Setting—A Few Examples. In: Climate Change and Agriculture Worldwide (ed. Torquebiau E). Springer Netherlands, pp. 73-82.

Cilas C., Goebel R., **Babin R.** & Avelino J. (2015) Bioagresseurs des cultures tropicales face au changement climatique: quelques exemples. In: Changement climatique et agricultures du monde (ed. Torquebiau E.), Quae, Versaille, pp. 75-83.

Babin R., Mpe J.-M., Dibog L., Amang a Mbang J., Nyassé S. & Eskes A. (2006) Activities carried out to evaluate cocoa resistance to mirids (*Sahlbergella singularis*) at IRAD, Cameroon. In: Global approaches to cocoa germplasm utilization and conservation: Final report of the CDC/CCO/IPGRI project on "Cocoa germplasm utilization and conservation: A global approach" (1998-2004) (ed. Eskes Albertus EY). CFC Amsterdam, pp. p. 162-169.

1.6.5. Communications à congrès, conférences et ateliers

45. Azrag A.G.A., Pirk C., Yusuf A., Niassy S. & **Babin R.** (2017) Predicting the impact of temperature increase on the distribution of the variegated coffee bug, *Antestiopsis thunbergii* over an elevation gradient. In: 22nd Meeting and Conference of the African Association of Insect Scientists (AAIS), 23-26 October 2017, Wad Medani, Sudan.
44. **Babin R.**, Azrag A.G.A., Gichuhi J.M. & Guandaru E.K. (2017) Bioecology of a major pest of Arabica coffee in Eastern Africa highlands, the African coffee white stem borer, *Monochamus leuconotus* (Coleoptera: Cerambycidae). In: 22nd Meeting and Conference of the African Association of Insect Scientists (AAIS), 23-26 October 2017, Wad Medani, Sudan.
43. Njihia T.N., Torto B., Murungi L.K., Irungu J., Mwenda D.M. & **Babin R.** (2017) Allomonal effects of ripe coffee berries odors in antestia bugs, *Antestiopsis thunbergii* (Heteroptera: Pentatomidae): Implication for the pest management. In: 22nd Meeting and Conference of the African Association of Insect Scientists (AAIS), 23-26 October 2017, Wad Medani, Sudan.
42. Ahmed A.G., Mwenda D. & **Babin R.** (2016) Climate warming impact on the future distribution of the coffee Antestia bug, *Antestiopsis thunbergii*, in the Kilimanjaro region, Tanzania [Abstract]. In: 26th International Conference on Coffee Science (ASIC). ASIC, Kunming, China.
41. Njihia T., Torto B., Murungi L., Irungu J., Mwenda D. & **Babin R.** (2016) Pheromones of the coffee Antestia bug, *Antestiopsis thunbergii* and their potential application in the management of the pest [Abstract]. In: 26th International Conference on Coffee Science (ed. ASIC). ASIC, Kunming, China.
40. Njihia T., Torto B., Murungi L.K., Irungu J., Mwenda D. & **Babin R.** (2016) Volatile compounds from coffee berries elicit responses in the coffee stink bug, *Antestiopsis thunbergii* (Heteroptera: Pentatomidae). In: 16th Workshop on sustainable horticultural production in the tropics. Horticultural Association of Kenya Chuka, Kenya.

39. **Gidoin C., Babin R.**, Bagny Beilhe L., Barbu C., Gosme M., Jeuffroy M.H., Bieng M.A.N., Valantin-Morison M. & Hoopen G.M.t. (2015) Multi-scale studies of the relationships between cropping structure and pest and disease regulation services. In. Proceedings of the 5th International Symposium for Farming Systems Design (FSD5), 7-10 September 2015, Montpellier, France, pp. 445-446.
38. Amang A Mbang J., Mounjouenpou P., **Babin R.**, Cilas C., Tchouamo I., Dibog L. & Nyassé S. (2012) Tentative prediction of cocoa yield (*Theobroma cacao* L.) in farmer's field in Cameroon [Abstract]. In: 17th International Cocoa Research Conference (ed. Copal). Copal Yaoundé, Cameroon.
37. **Babin R.**, Bonnot F., Mahob R., Yédé, Bagny Beilhe L., ten Hoopen G.M., Sounigo O. & Bourgoing R. (2012) Does cocoa-fruit intercropping impact infestation, by the cocoa mirid bug *Sahlbergella singularis* (Hemiptera: Miridae)? In: 17th International cocoa research Conference (ed. Copal). Copal Yaoundé, Cameroon, p. Abstract.
36. **Babin R.**, Piou C., Yédé, Tadu Z., Mahob R., ten Hoopen G.M., Bagny Beilhe L. & Djéto-Lordon C. (2012) Spatial relationships between dominant ants and the cocoa mirid *Sahlbergella singularis* in traditional cocoa-based agroforestry systems. In: 17th International Cocoa Research Conference (ed. Copal). Copal Yaoundé, Cameroon, p. [Abstract].
35. Bagny Beilhe L., Mahob R., Hall D.R., ten Hoopen G.M. & **Babin R.** (2012) Field optimization of pheromone traps for monitoring and controlling cocoa mirids, *Sahlbergella singularis* In: 17th International Cocoa Research Conference (ed. Copal). Copal Yaoundé, Cameroon, p. Abstract.
34. Mahob R.J., **Babin R.**, Ten Hoopen G.M., Sounigo O., Dibog L., Bourgoing R., Yede, Cilas C. & Bilong Bilong C.F. (2012) Spatial distribution of *Sahlbergella singularis* Hagl. (Hemiptera: Miridae) populations and damage in unshaded young cocoa-based agroforestry systems in Cameroon. In: 17th International Cocoa Research Conference (ed. COPAL). COPAL Yaoundé, Cameroon, p. Abstract.
33. Mahob R.J., Dibog L., Ten Hoopen G.M., Nyassé S., Ndoumbè-Nkeng M., Bilong Bilong C.F., **Babin R.**, Mbenoun M., Amang A Mbang J., Badjeck P.I., Yede & Rutherford M. (2012) Pesticide use in cocoa sector in Cameroon: characterization of supply source, nature, fashion and reasons for their utilization. In: 17th International Cocoa Research Conference (ed. Copal). Copal Yaoundé, Cameroon, p. [Abstract].
32. Tadu Z., Djéto-Lordon C., **Babin R.**, Alene C.D., Yédé, Messop Youbi E. & Fomena A. (2012) Spatial distribution of arboreal ant (Hymenoptera: Formicidae) in traditional cocoa agroforestry systems. In: 17th International Cocoa Research Conference (ed. Copal). Copal Yaoundé, Cameroon, p. Abstract.
31. ten Hoopen G.M., **Babin R.**, Mahob R., Yede, Sounigo O., Bourgoing R., Petchayo S. & Techou Z. (2012) Dispersal and distribution of *Phytophthora megakarya* in young unshaded cacao plantations. In: 17th International Cocoa Research Conference (ed. Copal). Copal Yaoundé, Cameroon, p. Abstract.

30. Yede, ten Hoopen G.M., Djéto-Lordon C., **Babin R.**, Tadu Z., Mahob R., Nana W. & Bilong Bilong C.F. (2012) The possible role of *Oecophylla longinoda* (Latreille) and *Tetramorium aculeatum* (Mayr) in biological control of cocoa mirids in Cameroon. In: 17th International Cocoa Research Conference (ed. Copal). Copal Yaoundé, Cameroun, p. Abstract.
29. Anikwe J.C., Omoloye A.A., Okelana F.A. & **Babin R.** (2010) Novel rearing technique, developmental biology, fecundity and morphometrics of the brown cocoa mirid *Sahlbergella singularis* Hagl. in Nigeria In: 16th International Cocoa Research Conference (ed. COPAL) Bali, Indonesia, pp. 1103-1111.
28. **Babin R.**, Dibog L., Anikwe J.C. & Lumaret J.-P. (2010) Variations of the fecundity of a rearing population of the cocoa mirid *Sahlbergella singularis* Hagl. (Hemiptera: Miridae) in relation with cocoa tree phenology and canopy microclimatic conditions. In: 16th International Cocoa Research Conference (ed. COPAL) Bali, Indonesia, pp. 1127-1133.
27. **Babin R.**, Dibog L. & Bisalleua D.B.H. (2006) Description et évaluation d'une nouvelle méthode d'élevage, et éléments de biologie de *Sahlbergella singularis* Hagl. (Hemiptera : Miridae), principal ravageur du cacaoyer au Cameroun. In: 15th International Cocoa Research Conference (ed. COPAL) San Jose, Costa Rica, pp. 1297-1303.
26. **Babin R.**, Cilas C., Bisalleua H., Amang A Mbang J., Dibog L. & Nyassé S. (2006) Frequency and spatial distribution in farms of *Sahlbergella singularis* Hagl. (Hemiptera: Miridae), the main pest of cocoa in Cameroon. In: 15th International Cocoa Research Conference (ed. COPAL) San Jose, Costa Rica, pp. 1095-1102.
25. **Babin R.**, ten Hoopen G.M., Cilas C., Enjalric F., Yede, Gendre P. & Lumaret J.-P. (2010) Spatial distribution of the cocoa mirid *Sahlbergella singularis* Hagl. (Hemiptera: Miridae) in relation with shade, in traditional cocoa agroforestry systems. In: 16 International Cocoa Research Conference (ed. COPAL) Bali, Indonesia, pp. 743-749.
24. Davrieux F., **Babin R.**, Assemat S., Rouzière A., Reynes M., Bastide P. & Petithuguenin P. (2010) Dry heat treatment: an alternative to methyl bromide use in cocoa warehouse moth control. In: 15th International Cocoa Research Conference (ed. COPAL) San Jose, Costa Rica.
23. Ndoumbè-Nkeng M., Njacheun-Njanzoua G., **Babin R.**, Cilas C. & Nyassé S. (2010) Influence des facteurs climatiques sur la pourriture brune des fruits du cacaoyer, due à *Phytophthora megakarya*, dans la province du Centre au Cameroun. In: Proceedings of the 15th International Cocoa Research Conference, (ed. COPAL) San Jose, Costa Rica.
22. Sounigo O., Efombagn B., Lemainque A., Pavek S., Fouet O., Nsouga Amougou F., Yede, **Babin R.**, Ten Hoopen G.M., Courtois B. & Lanaud C. (2010) Association mapping on cocoa: a way to identify functional SSR markers linked to yield, tolerance to black pod and mirids assessed in Cameroon and develop a marker assisted breeding programme. In: 16th International Cocoa Research Conference (ed. COPAL) Bali, Indonesia, pp. 153-158.

21. Tadu Z., Djéto-Lordon C., Fomena A., **Babin R.**, Mahiane G. & Yede (2010) Diversity and mosaic structure of ant (Hymenoptera: Formicidae) communities in traditional cocoa agroforestry systems in southern Cameroon. In: 16th International Cocoa Research Conference (ed. COPAL) Bali, Indonesia, pp. 1153-1160.
20. Ten Hoopen G.M., Sounigo O., **Babin R.**, Yede, Dikwe G. & Cilas C. (2010) Spatial and temporal analysis of a *Phytophthora megakarya* epidemic in a plantation in the Centre region of Cameroon. In: 16th International Cocoa Research Conference (ed. COPAL) Bali, Indonesia, pp. 683-687.
19. Yede, **Babin R.**, Djéto-Lordon C., Bilong C.F., Maldès J.-M. & Mahob R. (2010) Abondance et diversité des peuplements d'hémiptères des cacaoyères de la région du centre du Cameroun. In: 16th International Cocoa Research Conference (ed. COPAL) Bali, Indonesia, pp. 1161-1166.
18. Yede, **Babin R.**, Djéto-Lordon C., Cilas C., Dibog L., Mahob R. & Bilong C.F. (2010) Impact des insectes piqueurs de cabosses sur la production du cacaoyer dans la région Centre du Cameroun. In: 16th International Cocoa Research Conference (ed. COPAL) Bali, Indonesia, pp. 1167-1171.
17. Mahob R.J., Dibog L., Bilong C.F.B., **Babin R.**, Downham M.C.A., Yédé & Ten Hoopen G.M. (2009) Evaluation of the attractiveness of female sex pheromone formulations towards cocoa Mirids (*Sahlbergella singularis* Hagl. and *Distantiella theobroma* (Dist.), Heteroptera: Miridae) at the IRAD-Nkoemvone research station: Field-trapping experiments. In: Annual Conference of Bioscience, 3-5 December 2009, Yaoundé, Cameroun.
16. Argout X., Fouet O., Wincker P., Gramacho K.P., Legavre T., Sabau X., Risterucci A.-M., Da Silva C., Loor Solorzano R.G., Cascardo J.C., Courtois B., Kuhn D.N., Schnell R.J., **Babin R.**, Sounigo O., Ducamp M., Verica J., Guiltinan M.J., Alemanno L., Machado R., Phillips W., Maximova S.N. & Lanaud C. (2008) A first step in the understanding of the cocoa transcriptome: Analysis of an exhaustive dataset of ESTs on *Theobroma cacao* generated from various tissues and under various conditions. In: Abstracts of Plant and Animal Genomes XVIth Conference, 12-16 January 2008, San Diego, USA.
15. Snoeck D., Jagoret P., **Babin R.**, Fosu K.Y., Afrifa A., Bekou K., Daramola A., Assiri A.A. & Battini J.-L. (2007) Contribution to the improvement of cocoa-based agroforestry systems in Central and Western Africa. In: Second International Symposium on Multi-Strata Agroforestry Systems with Perennial Crops: Making Ecosystem Services Count for Farmers, Consumers and the Environment, CATIE, 17-21 September 2007, Turrialba, Costa Rica.
14. Lanaud C., Fouet O., Gramacho K.P., Argout X., Legavre T., Sabau X., Risterucci A.-M., Wincker P., Da Silva C., Loor Solorzano R.G., Cascardo J.C., Courtois B., Kuhn D.N., Schnell R.J., **Babin R.**, Sounigo O., Ducamp M., Deberdt P., Verica J., Guiltinan M.J., Alemanno L., Machado R., Philips W., Maximova S.N., Rosenquist E., Gilmour M. & Glaszmann J.-C. (2007) A large EST resource for *Theobroma cacao* L. In: Abstracts of Plant and Animal Genomes XVth Conference, 13-17 January 2007, San Diego, USA.

13. **Mahob R., Babin R.** & Dibog L. (2006) Test des pièges Brocap au Cameroun, pour améliorer la lutte contre le scolyte des baies du cafetier, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera : Scolytidae). In: Atelier de Présentation des Résultats des Opérations de Recherche Participative du PCP Grand-Sud Cameroun, 21-23 février 2006, Yaoundé, Cameroun.
12. Amang a Mbang J., Dibog L., **Babin R.**, Missoup A.D. & Mbenoum M. (2005) Evaluation of influence of fungus *Beauveria bassiana* in the dynamic of populations of *Hypothenemus hampei* (Ferrari), pest of coffee berry borer in Cameroon. In: Journées scientifiques de la Recherche Agricole, La Recherche Agricole au Service des Acteurs du Monde Rural, IRAD, 25-28 juillet 2005, Yaoundé, Cameroun.
11. **Babin R.**, Sounigo O., Dibog L., Nyassé S. & Eskes A. (2005) Assessment of antixenosis and tolerance of cocoa (*Theobroma cacao* L.) towards mirids *Sahlbergella singularis* Hagl. (Homoptera : Miridae). In: Septième Conférence Internationale sur les Ravageurs en Agriculture, AFPP, 26-27 octobre 2005, Montpellier, France.
10. **Babin R.**, Dibog L. & Bisseyeu H. (2005) Mise au point d'une méthode d'élevage de *Sahlbergella singularis* Hagl. (Hemiptera : Miridae) au laboratoire. Résultats préliminaires des travaux menés au Cameroun. In: Proceedings of the 14th International Cocoa Research Conference, COPAL, 13-18 octobre 2003, Accra, Ghana.
9. **Babin R.**, Sounigo O., Dibog L., Nyassé S. & Eskes A. (2005) Assessment of antixenosis and tolerance of cocoa (*Theobroma cacao* L.) towards mirids *Sahlbergella singularis* Hagl. (Homoptera : Miridae). In: Journées scientifiques de la Recherche Agricole, La Recherche Agricole au Service des Acteurs du Monde Rural, IRAD, 25-28 juillet 2005, Yaoundé, Cameroun.
8. Dibog L., **Babin R.**, Amang a Mbang J. & Decazy B. (2005) Effect of genotype on cocoa (*Theobroma cacao* L.) attractiveness towards mirids. In: Journées scientifiques de la Recherche Agricole, La Recherche Agricole au Service des Acteurs du Monde Rural, IRAD, 25-28 juillet 2005, Yaoundé, Cameroun.
7. **Babin R.**, Dibog L., Bisseyeu H., Mpe J.-M., Amang a Mbang J. & Onana C. (2004) Cocoa productivity and quality improvement, a participatory approach: results from studies on cocoa attractiveness, antixenosis, antibiosis and tolerance towards mirids in Cameroon. In: Closing Workshop of the CFC/ICCO/IPGRI Project, Germplasm Improvement: Global and Participatory Approaches, 28 mars-3 avril 2004, Reading, Royaume-Uni.
6. Nibouche S., **Babin R.**, Beyo J. & Escalon L. (2002) Sensibilité aux organophosphorés et aux carbamates chez le puceron *Aphis gossypii* Glover et l'aleurode *Bemisia tabaci* (Gennadius) au Nord Cameroun. In: Atelier sur la Résistance des Insectes aux Insecticides en Afrique de l'Ouest et du Centre, 6-7 mars 2002, Maroua, Cameroun.
5. **Babin R.**, Beyo J., Fesneau A., Nibouche S. & Konje Nsuh C. (2000) Sensibilité aux organophosphorés chez le puceron *Aphis gossypii* Glover au Nord Cameroun. In: Réunion Phytosanitaire CORAF, 22-25 février 2000, Lomé, Togo.

4. Nibouche S., **Babin R.**, Beyo J. & Konje Nsuh C. (2000) Résistance variétale du cotonnier à *Aphis gossypii* Glover : résultats obtenus au Cameroun en 1999. In: Actes des Journées Coton du CIRAD-CA, 17-21 juillet 2000, Montpellier, France.
3. **Babin R.**, Beyo J., De Chazeaux R., Nibouche S. & Konje Nsuh C. (1999) Mise au point de tests de sensibilité aux organophosphorés chez le puceron *Aphis gossypii* Glover et l'aleurode *Bemisia tabaci* Gennadius. In: Actes des Journées Coton du CIRAD-CA, 19-23 juillet 1999, Montpellier, France.
2. Beyo J., Nibouche S., **Babin R.** & Gozé E. (1999) Echantillonnage intra-plant des Chenilles carpophages du cotonnier. In: Cinquième Conférence Internationale sur les Ravageurs en Agriculture, ANPP, 7-9 décembre 1999, Paris, France.
1. Nibouche S., **Babin R.**, Barvec F., Beyo J., De Chazeaux R. & Konje Nsuh C. (1999) Quantification du rôle des aphidiphages dans les fluctuations des populations d'*Aphis gossypii* Glover au Nord-Cameroun. In: Actes des Journées Coton du CIRAD-CA, 19-23 juillet 1999, Montpellier, France.

2. Synthèse des travaux scientifiques

2.1. Contexte général

2.1.1. Evolution de l'entomologie agricole

L'entomologie agricole n'est pas une science nouvelle, mais elle a profondément évolué au fil des décennies, conjointement au développement de l'agriculture et aux progrès de la recherche scientifique. Aujourd'hui, le problème des insectes ravageurs des cultures est loin d'être résolu et l'entomologie agricole est plus que jamais une science d'actualité. Le développement des surfaces cultivées au détriment des espaces naturels et l'intensification agricole s'accompagnent de pertes économiques dues aux insectes ravageurs toujours croissantes. De même, les échanges mondiaux de produits agricoles et l'évolution du climat favorisent l'émergence d'espèces nouvelles qui profitent de ressources abondantes pour proliférer. La prise de conscience des méfaits de l'agriculture intensive sur la santé humaine et l'environnement, notamment par son recours systématique à l'agrochimie, amène le secteur agricole à repenser les modes et pratiques de culture. Ainsi, les stratégies de lutte contre les insectes ravageurs évoluent-elles constamment vers des pratiques plus écologiques.

2.1.2. Le contexte de l'agroécologie

De plus en plus de ces nouvelles pratiques de gestion des bioagresseurs reposent sur un constat simple : les insectes qui s'attaquent en masse à nos cultures sont également présents dans la nature mais ils n'y pullulent pas, ou alors de façon ponctuelle et localisée. Ce constat qui s'applique aussi bien à d'autres contraintes telles que l'appauvrissement des sols ou la baisse des ressources en eau est le moteur de l'agroécologie, la science qui applique les principes de l'écologie aux sciences agricoles. L'agroécologie est aussi un ensemble de pratiques agricoles qui tendent à s'inspirer de la nature pour produire mieux. Dans ce contexte, la lutte contre un insecte ravageur ne se limite plus à sa destruction par divers moyens mais consiste également en l'aménagement de systèmes de culture moins sujets aux attaques d'insectes. L'entomologie agricole voit son champ de recherche et d'action démultiplié puisqu'il ne s'agit plus de connaître l'insecte seul et les moyens de le supprimer, mais d'étudier l'insecte dans son environnement biotique et abiotique, et les facteurs et mécanismes qui régulent ses populations dans la nature. A ce titre, l'entomologie agricole doit s'intégrer comme une composante essentielle de programmes de recherche pluridisciplinaires visant à améliorer la résilience des systèmes agricoles.

2.1.3. Contexte des travaux présentés

Les travaux de recherche dont je propose ici la synthèse s'inscrivent bien dans la démarche scientifique de l'agroécologie. Ils ont en effet pour objectif général de mieux connaître la biologie et l'écologie des insectes ravageurs pour identifier les leviers naturels de régulation qui pourraient être utiles à la lutte. Le choix des modèles biologiques sur lesquels j'ai travaillé a été largement dicté par le programme scientifique de mon équipe de recherche au Cirad, spécialisée sur les bioagresseurs des cultures pérennes tropicales, mais aussi par les attentes des partenaires qui m'accueillaient à l'étranger et les projets qui finançaient mes travaux. Ma démarche scientifique ne s'est pas opposée aux objectifs plus finalisés de la recherche au CIRAD car j'ai pu travailler régulièrement en milieu réel, avec et pour les agriculteurs,

bénéficiant par-là de leur expérience et de leurs avis, qui m'ont parfois aidé à réorienter mes travaux.

2.2. Objectifs de recherche et démarche scientifique

L'objectif général de mon travail est de développer des outils et méthodes de lutte agroécologiques contre les insectes ravageurs, basés sur une meilleure connaissance de leur biologie et de leur écologie.

Plus spécifiquement, il s'agit de :

- Améliorer notre compréhension de la dynamique des populations des insectes ravageurs par la caractérisation des mécanismes biologiques et des facteurs agroécologiques impliqués ;
- Développer et tester des outils et méthodes de lutte innovants basés sur ces connaissances pour la gestion agroécologique des insectes ravageurs.

Pour atteindre ces objectifs, je conduis des observations sur des individus et des populations d'insectes en milieu réel et en milieu contrôlé. Une part importante de mes recherches consiste à caractériser le milieu de vie des insectes, ce qui m'amène fréquemment à sortir du domaine de l'entomologie. L'objectif finalisé de mes travaux étant la gestion des insectes ravageurs, je m'intéresse aux méthodes de lutte innovantes et au développement d'outils d'aide à la décision basés sur les connaissances acquises.

2.3. Modèles biologiques et systèmes de culture

2.3.1. Les mirides du cacaoyer dans les systèmes agroforestiers du Cameroun

Les mirides (Heteroptera : Miridae) sont les principaux insectes ravageurs du cacaoyer, *Theobroma cacao* L. (Malvales : Malvaceae) en Afrique. *Sahlbergella singularis* Hagl. est l'espèce majoritaire au Cameroun, mais d'autres espèces telles que *Distantiella theobroma* Dist., *Bryocoropsis laticollis* Schum. et plusieurs espèces du genre *Helopeltis* sont également présentes (figure 1). Parmi les insectes piqueurs-suceurs qui s'attaquent au cacaoyer, les mirides sont sans conteste les plus dangereux puisqu'ils s'attaquent non seulement aux fruits, appelés cabosses, mais également à l'appareil végétatif, entraînant la destruction du feuillage, qui s'aggrave avec le temps de l'accumulation de chancres qui fragilisent les arbres et les rendent improductifs.

Au Cameroun, le cacaoyer est généralement cultivé au sein de systèmes agroforestiers complexes. Au moment de l'installation de la plantation, les grands arbres de forêt sont souvent laissés sur pied et les planteurs ajoutent des arbres fruitiers, sources à la fois d'ombrage et de revenus complémentaires. Ces pratiques conduisent à des agroécosystèmes diversifiés tant d'un point de vue structurel, que climatique et biologique. Dans ces systèmes, les populations de mirides cohabitent avec de nombreuses autres espèces, et connaissent des variations importantes d'effectifs, à la fois dans le temps et dans l'espace.

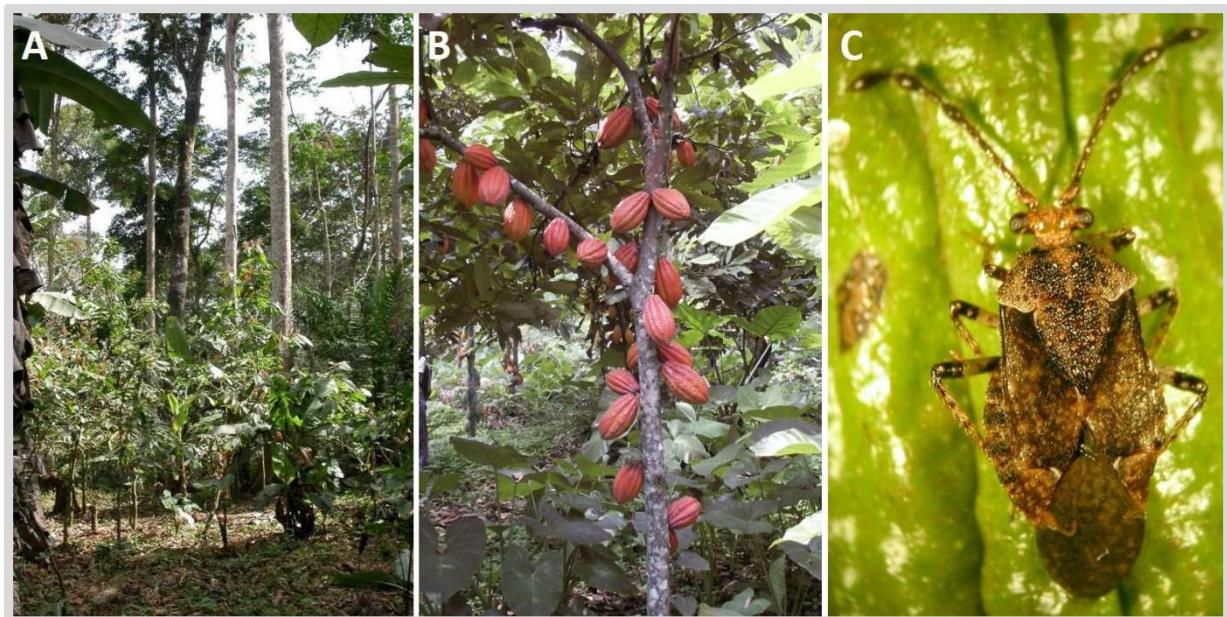


Figure 1 : (A) Système agroforestier à base de cacaoyer au Cameroun ; (B) cacaoyer en production, les fruits produits directement sur les branches et le tronc sont appelés cabosse ; (C) adulte femelle du miride *Sahlbergella singularis*, l'adulte mesure environ 10 mm et se confond avec l'écorce du cacaoyer.

2.3.2. Les insectes ravageurs du caféier arabica dans les hautes terres d'Afrique de l'Est

Le caféier Arabica, *Coffea arabica* L., est l'hôte de nombreuses espèces d'insectes dont certaines provoquent des pertes économiques importantes. Nous nous sommes intéressés à trois espèces en particulier, qui sont souvent considérées comme les principaux insectes ravageurs du caféier en Afrique de l'est : le scolyte des baies, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae), la punaise *Antestia*, *Antestiopsis thunbergii* (Gmelin) (Heteroptera : Pentatomidae) et le foreur blanc des tiges *Monochamus leuconotus* (Pascoe) (Coleoptera : Cerambycidae) (figure 2). Le scolyte des baies est le ravageur du caféier le plus important à l'échelle mondiale, provoquant des pertes économiques estimées à plusieurs centaines de millions d'euros chaque année. Cosmopolite et prolifique, il se nourrit aux dépens des grains à l'intérieur de la baie de café. Les punaises *Antestia* s'attaquent à toute les parties aériennes de la plante, des bourgeons aux jeunes pousses, et des fleurs aux fruits à différents stades de développement, provoquant des désordres de croissance et la chute des fruits. Par ailleurs, les lésions dues aux piqûres faciliteraient l'infection des baies par une bactérie responsable d'un défaut grave de qualité du café, connu sous le nom de « goût de pomme de terre ». Ce défaut nuit gravement à l'exportation du café dans la région des Grands Lacs notamment. Enfin, le longicorne *M. leuconotus* se nourrit du bois des troncs et branches du caféier, au sein desquels il creuse des galeries qui fragilisent les arbres. Les tout jeunes stades larvaires de ce longicorne se nourrissent aux dépens des parties tendres de l'écorce, détruisant les tissus de l'appareil conducteur de sève. Les dégâts s'accumulent sur les caféiers qui deviennent progressivement improductifs.

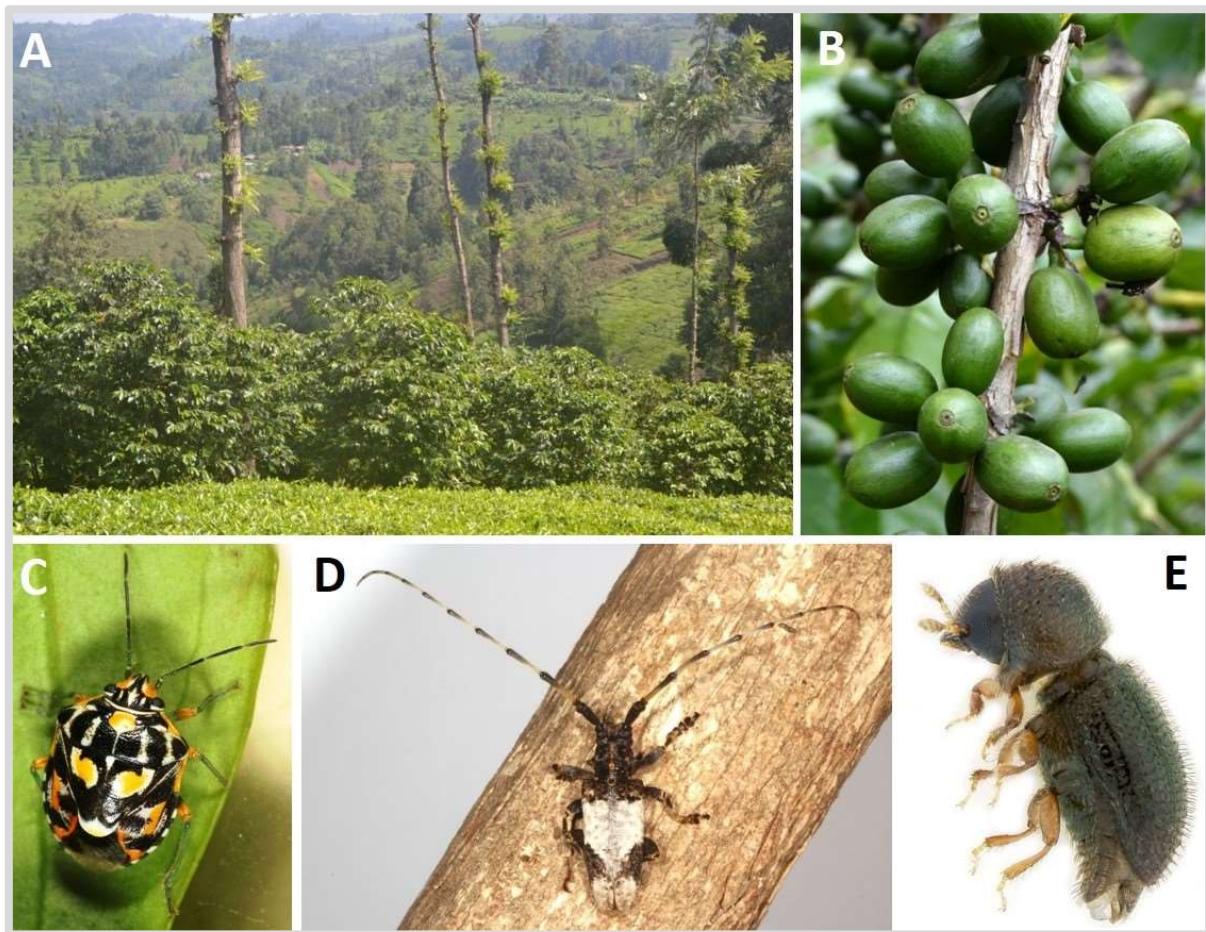


Figure 2 : (A) Système de culture du cafier de la chaîne montagneuse des Aberdares au Kenya, avec au premier plan, une plantation de thé, au second plan, une plantation de café Arabica et au troisième plan une haie de *Grevillea robusta* A.Cunn. ex R.Br., utilisée pour délimiter les parcelles ; (B) baies de café en cours de maturation ; (C) adulte femelle de la punaise *Antestia*, *Antestiopsis thunbergii* ; (D) adulte mâle du foreur blanc des tiges, *Monochamus leuconotus* ; (E) adulte femelle du scolyte des baies, *Hypothenemus hampei*.

En Afrique de l'est, le cafier Arabica est généralement cultivé sur les hauts plateaux et sur les pentes des montagnes, entre 1000 et 2000 m d'altitude environ. Les plantations sont conduites en plein soleil ou sous la forme de systèmes agroforestiers plus ou moins diversifiés. L'ombrage est en effet recommandé, en particulier à basse altitude où le climat plus chaud et sec doit être tempéré. Sur les pentes des montagnes, les conditions climatiques, en particulier la température, varient rapidement sur de courtes distances. Ainsi, l'altitude impacte-t-elle fortement, mais de façon contrastée, la distribution des trois espèces d'insectes ravageurs que nous avons étudiées.

2.4. Activités de recherche

2.4.1. Développement et autres traits d'histoire de vie des insectes au laboratoire

Elevage

L'élevage est un préalable important à l'étude des insectes ravageurs. Il a pour but de produire une population d'insectes relativement homogène génétiquement et dont l'histoire est connue. Cette population fournit les individus qui seront utilisés pour étudier la biologie de l'insecte ou pour mener des études pour le développement de méthode de lutte (screening variétal et d'ennemis naturels ou écologie chimique). Dans le cadre de nos activités de recherche, l'élevage des insectes a toujours été une première étape. Ainsi, des élevages au laboratoire ont été mis en œuvre pour chacune des espèces que nous avons étudiées. Les méthodes employées ont été développées en fonction des caractéristiques biologiques de chaque espèce et sur la base des connaissances déjà acquises sur le sujet. Mais le contexte matériel de mise en œuvre de l'élevage a également orienté ces méthodes, notamment la qualité du laboratoire d'accueil et la disponibilité en ressources pour l'alimentation et la reproduction.

L'élevage de *S. singularis* est rendu indispensable par le fait que la collecte des mirides en plantation est aléatoire. Les densités de populations sont généralement faibles et le comportement cryptique de l'espèce la rend difficile à détecter. Par ailleurs, les densités de populations sont très faibles à certaines périodes de l'année et les collectes sont alors totalement infructueuses. Aussi, l'élevage de *S. singularis* a été l'une des premières activités que nous avons menées au laboratoire d'entomologie de l'IRAD de Nkolbisson. La méthode qui a été développée comprend deux phases distinctes : 1) une phase de croissance des larves, de maturation sexuelle et d'accouplement des adultes, maintenus sur des cabosses coupées et des branchettes de cacaoyer dans une cellule climatique, et 2) une phase de ponte et de maturation des œufs sur des cabosses laissées sur l'arbre et enfermée dans des manchons de voile de moustiquaire. Cette méthode nous a permis d'élever pour la première fois *S. singularis* pendant 15 générations successives, soit environ deux années, pendant lesquelles l'élevage a fourni suffisamment d'individus pour l'expérimentation⁶.

La connaissance de la biologie de *M. leuconotus* est encore lacunaire, la plupart des études ayant porté sur la dynamique des populations au champ. L'élevage s'est révélé une contrainte majeure : la méthode utilisée consistait à conserver au laboratoire des tronçons de cafiers infestés jusqu'à l'émergence des adultes. Outre les coûts importants liés à la collecte et au stockage de ce matériel, cette méthode ne permettait pas l'observation du développement des larves, qui se développaient à l'intérieur du bois. Notre principal travail a consisté à développer un milieu artificiel pour l'élevage des larves et une méthode permettant la ponte et la maturation des œufs jusqu'à l'émergence des jeunes larves. La recette du milieu artificiel a été développée à partir d'un milieu utilisé pour l'élevage du foreur de la tige du maïs, *Busseola fusca* Fuller (Lepidoptera : Noctuidae), auquel a été ajouté une poudre d'écorce de cafier de façon à en améliorer l'acceptation par *M. leuconotus*. Par ailleurs, des segments de tiges de cafier ont été utilisés pour la ponte. Les œufs insérés sous l'écorce par la femelle se sont montrés sensibles au desséchement des tiges et le problème a été résolu en plongeant l'extrémité inférieure de la tige dans du sable humide et en couvrant sa partie supérieure de paraffine. Cette méthode nous a permis de maintenir une population d'élevage pendant trois années, durée correspondant à deux générations chez cette espèce, dont le cycle de développement complet peut durer jusqu'à deux années dans la nature⁷.

⁶ **Babin R.**, Bisseyeu H., Dibog L. & Lumaret J.C. (2008) Rearing method and life-table data for the cocoa mirid bug *Sahlbergella singularis* Haglund (Hemiptera : Miridae). *Journal of Applied Entomology*, 132, 366-374.

⁷ **Gichuhi J.M.**, Ndegwa P.N., Mugo H.M., Guandaru E.K. & **Babin R.** (2017) Rearing method and developmental biology of the African coffee white stem borer, *Monochamus leuconotus* (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Economic Entomology*, 110, 1120-1126.

Les deux autres insectes ravageurs du café étudiés, *H. hampei* et *A. thunbergii*, ont également été élevés au laboratoire de l'icipe. L'élevage de routine de ces deux espèces n'a pas posé de problème majeur puisqu'il a pu s'effectuer sur des baies vertes de café, qui étaient disponibles toute l'année dans la région de Nairobi. Toutefois, les méthodes ont été adaptées pour faciliter l'observation des individus maintenus dans des conditions spécifiques. Par exemple, pour *H. hampei*, les œufs extraits des baies de café ont été maintenus sur des disques de papier filtre, et les larves positionnées sur des grains de café fraîchement extraits des baies et emballés dans du papier aluminium pour observer quotidiennement leur développement⁸.

Cycle de développement

Pour chaque insecte ravageur que nous avons étudié, nous nous sommes efforcés de décrire au mieux ses traits d'histoire de vie, en particulier son cycle de développement (voir encadré 1). Pour la plupart, cette information existait dans la littérature. Mais nous l'avons adaptée à nos conditions d'élevage et complétée quand c'était nécessaire. Par exemple, dans le cas de *M. leuconotus*, la méthode d'élevage développée nous a permis d'apporter de nouvelles informations sur le temps d'incubation (temps nécessaire au développement de l'œuf), le temps de maturation sexuelle, les comportements de reproduction et de ponte⁷.

Encadré 1 : traits d'histoire de vie - La dynamique d'une population d'insectes est déterminée par l'expression, dans des conditions données, de traits de vie propres aux individus qui composent cette population. Ces traits de vie comprennent un certain nombre de composantes comportementales propres à l'alimentation, à la compétition, à la dispersion et à la reproduction, mais aussi des composantes démographiques comme la survie, la durée de développement, la durée de vie, la fécondité. Le cycle de développement des insectes se caractérise par la succession d'étapes bien distinctes, comprenant différents stades de développement (œuf, stades larvaires, stade nymphal, imago) et de maturation (sclérisation, maturation sexuelle). Généralement, les traits de vie s'expriment de façon différente à chacune de ces étapes.

Le cycle de développement de *M. leuconotus* présenté sur la figure 3 a été obtenu dans des conditions de laboratoire en élevant les larves sur un milieu artificiel. Cette méthode a entraîné une accélération du développement larvaire et un raccourcissement de la durée globale du cycle à 11 mois en moyenne (de 6 à 15 mois), alors qu'il était estimé à 18 à 24 mois dans la nature. Le suivi journalier du développement de chaque individu a également montré l'existence de deux populations de larves distinctes, l'une à cycle court et l'autre à cycle long, avec pour cette dernière la possibilité d'un stade larvaire supplémentaire. Ces résultats pourraient expliquer la saisonnalité des émergences des adultes dans la nature qui semblent déclenchées par les pluies. Dans notre zone d'étude, le climat présente deux saisons des pluies espacées de 6 mois environ. Les émergences des adultes ont lieu chaque année au début de chaque saison des pluies, ce qui suggère effectivement l'existence de deux populations vivant en mélange, l'une avec un cycle court de 18 mois et l'autre avec un cycle long de 24 mois.

⁸ Azrag A.G.A., Yusuf A.A., Pirk C.W.W., Niassy S., Mbugua K.K. & Babin R. (2020) Temperature-dependent development and survival of immature stages of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). *Bulletin of Entomological Research*, 110, 207-218.

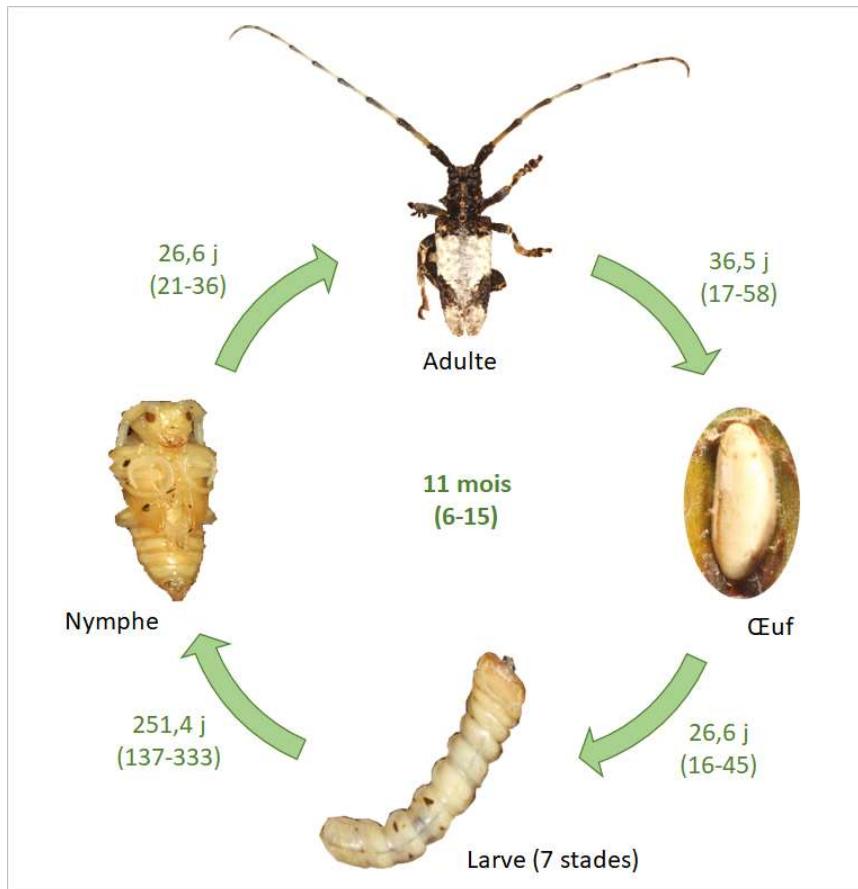


Figure 3 : Cycle de développement du foreur blanc des tiges de café, *Monochamus leuconotus*, élevé sur milieu artificiel au laboratoire des insectes du café de l'icipe, Nairobi, Kenya⁷.

Paramètres démographiques

La capacité de croissance d'une population d'insectes peut être déterminée par le calcul de paramètres démographiques liés à la survie et à la fécondité des individus qui la composent. La méthode employée est l'analyse des tables de vie, qui consiste à suivre la survie et la production de descendants femelles d'un échantillon d'individus femelles d'une population. Parmi ces paramètres, le taux intrinsèque d'accroissement naturel (r_m) est probablement le plus couramment employé pour caractériser la capacité de croissance d'une population⁹ (voir encadré 2). Mais il existe d'autres paramètres tels que le taux de reproduction net (R_0), qui est défini comme le nombre moyen de femelles reproductrices produites par une femelle, le temps de génération (T_c) et le temps de doublement de la population (T_d).

⁹Birch L.C. (1948) The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *Journal of Animal Ecology*, 17, 15-26.

Le tableau 1 présente une synthèse des résultats que nous avons obtenus pour ces paramètres, calculés pour chacune des espèces étudiées^{10,11,12}.

Encadré 2 : capacité de développement et potentiel biotique - La compréhension de la dynamique des populations d'un insecte ravageur passe par l'étude du développement de l'insecte en tant qu'individu. Comme tout être vivant, un insecte possède une capacité intrinsèque de développement déterminée par son patrimoine génétique. Dans les conditions optimales de développement, cette capacité s'exprime totalement et l'insecte atteint alors son potentiel maximal de développement, appelé généralement potentiel biotique. Dès 1948, Birch⁹ propose d'évaluer ce potentiel par le calcul d'un paramètre standard, le taux intrinsèque d'accroissement, qu'il définit comme le taux de croissance par individu d'une population se développant dans des conditions physiques déterminées au sein d'un environnement aux ressources illimitées, où la compétition pour l'espace ou la nourriture est absente. Cette population connaît une croissance exponentielle. Dans la nature, ces conditions de développement sont rarement réunies sur de vastes surfaces ou durant de longues périodes, ce qui explique en partie les variations des populations de ravageurs observées.

Tableau 1 : Paramètres démographiques des espèces étudiées obtenus par l'analyse des tables de vie à température donnée, avec r_m : taux intrinsèque d'accroissement naturel, R_0 : taux de reproduction net, T_c : temps de génération moyen (en jours), T_d : temps de doublement de la population (en jours). La température choisie est celle pour laquelle r_m atteint sa valeur maximale. Le taux d'humidité relative se situe généralement entre 70 et 80% et la photopériode est proche de 12L/12D.

Modèles biologiques	<i>Sahlbergella singularis</i>	<i>Antestiopsis thunbergii</i> [*]	<i>Monochamus leuconotus</i> [*]	<i>Hypothenemus hampei</i> [*]
Température (°C)	22,1 **	22,0 ***	26,0 ***	26,0 ***
r_m	0,046	0,029	0,008	0,069
R_0	18,8	20,2	11,8	38,0
T_c	64,0	103,8	308,6	52,8
T_d	15,1	24,1	87,9	10,1

*Valeurs des paramètres obtenues à partir de simulations (voir section thermobiologie)

** Température fluctuante, *** Température constante

¹⁰ Babin R., Anikwe J.C., Dibog L. & Lumaret J.P. (2011) Effects of cocoa tree phenology and canopy microclimate on the performance of the mirid bug *Sahlbergella singularis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 141, 25-34.

¹¹ Azrag A.G.A., Murungi L.K., Tonnang H.E.Z., Mwenda D. & Babin R. (2017) Temperature-dependent models of development and survival of an insect pest of African tropical highlands, the coffee antestia bug *Antestiopsis thunbergii* (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Thermal Biology*, 70, 27-36.

¹² Azrag A.G.A., Yusuf A.A., Pirk C.W.W., Niassy S., Guandaru E.K., David G. & Babin R. (2020) Modelling the effect of temperature on the biology and demographic parameters of the African coffee white stem borer, *Monochamus leuconotus* (Pascoe) (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Thermal Biology*, 89, 102534.

Ces résultats montrent des capacités de croissance des populations d'élevage variables entre ces espèces. La valeur de r_m la plus élevée a été obtenue pour *H. hampei*. Elle s'explique par une capacité reproductive plus élevée et un temps de génération plus court, qui traduit un cycle de développement plus rapide que pour les autres espèces. Chez *M. leuconotus*, la capacité de croissance de la population d'élevage est près de dix fois moins élevée. Elle est liée à des capacités reproductive relativement faibles et à un cycle de développement plus long. Cet écart important traduit des parcours évolutifs différents : bien que ces deux espèces de coléoptères partagent aujourd'hui le même habitat (les plantations de cafiers), elles se sont adaptées à deux ressources alimentaires dont les qualités nutritives contrastent fortement, d'un côté la baie de café en cours de maturation et de l'autre le bois du cafier. Les deux autres espèces sont des hémiptères dont les modes d'alimentation diffèrent peu. La différence observée dans la capacité de croissance des populations d'élevage s'explique principalement par un temps de génération plus long chez *A. thunbergii*, dont le cycle de développement est plus long que chez *S. singularis*.

Thermobiologie et modélisation

Nous nous sommes intéressés à la thermobiologie des trois espèces d'insectes ravageurs du café *H. hampei*, *M. leuconotus* et *A. thunbergii*, c'est-à-dire à l'effet de la température sur leur développement^{13, 14, 15}. Pour ce faire, nous avons conduit des analyses de table de vie à différentes températures constantes (généralement 7 températures, entre 15 et 35°C en fonction des espèces) et développé des modèles pour caractériser l'impact de la température sur plusieurs paramètres tels que le taux de développement (l'inverse du temps de développement) et la survie pour les stades immatures, la fécondité des femelles et la sénescence des adultes (inverse de la longévité). Ces modèles nous ont permis de calculer des paramètres de température standards tels que les seuils de température ou le degré jour de croissance (voir encadré 3).

La figure 4 présente les modèles ajustés aux données de développement embryonnaire des trois espèces en fonction de la température. La relation entre le taux de développement et la température est généralement ajustée à une fonction linéaire pour les températures basses et moyennes combinée à une fonction non linéaire pour les températures les plus élevées, en l'occurrence le modèle de Logan¹⁶, très souvent utilisé chez les insectes.

¹³ Azrag A.G.A., Murungi L.K., Tonnang H.E.Z., Mwenda D. & Babin R. (2017) Temperature-dependent models of development and survival of an insect pest of African tropical highlands, the coffee antestia bug *Antestiopsis thunbergii* (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Thermal Biology*, 70, 27-36.

¹⁴ Azrag A.G.A., Yusuf A.A., Pirk C.W.W., Niassy S., Guandaru E.K., David G. & Babin R. (2020) Modelling the effect of temperature on the biology and demographic parameters of the African coffee white stem borer, *Monochamus leuconotus* (Pascoe) (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Thermal Biology*, 89, 102534.

¹⁵ Azrag A.G.A., Yusuf A.A., Pirk C.W.W., Niassy S., Mbugua K.K. & Babin R. (2020) Temperature-dependent development and survival of immature stages of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). *Bulletin of Entomological Research*, 110, 207-218.

¹⁶ Logan J.A., Wollkind D.J., Hoyt SC & Tanigoshi L.K. (1976) An analytic model for description of temperature dependent rate phenomena in Arthropods. *Environmental Entomology*, 5, 1133-1140.

Encadré 3 : modéliser l'effet de la température sur le développement

Les insectes sont des animaux à sang froid dont le développement et l'activité dépendent des conditions de température dans lesquelles ils se trouvent. La température est ainsi le principal facteur déterminant la dynamique des populations d'insectes. Par conséquent, il est primordial de caractériser l'impact de ce facteur sur le développement et cela est généralement réalisé par l'ajustement de modèles à des observations à températures constantes au laboratoire. Ces modèles sont utiles car ils permettent le calcul de paramètres spécifiques tels que les seuils de température et le degré jour de croissance (constante k). La température minimale et la température maximale de développement constituent la fenêtre de températures dans laquelle le développement de l'insecte est possible. Le degré jour de croissance est l'accumulation de chaleur quotidienne nécessaire au passage d'un stade de développement au suivant. Les modèles permettent également l'estimation des températures optimales pour la survie, le développement et la fécondité. Enfin, il est possible de modéliser l'effet de la température sur les paramètres démographiques des populations, comme le taux intrinsèque d'accroissement naturel, ce qui permet la simulation de ces paramètres pour des températures non étudiées.

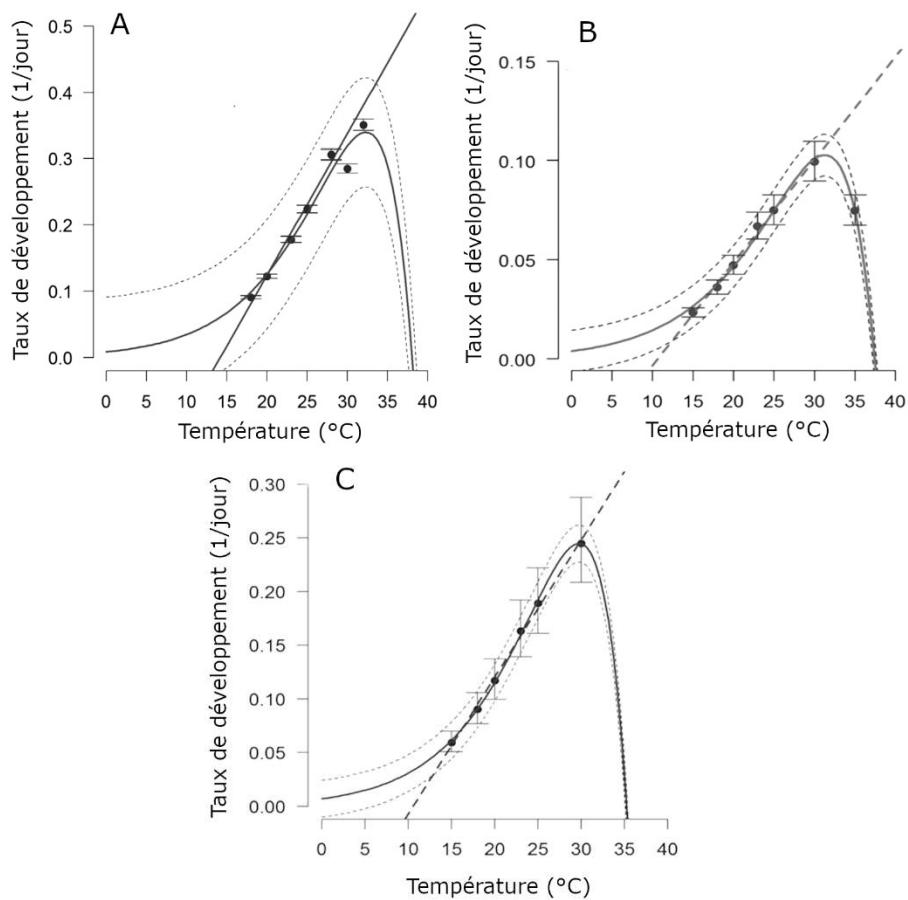


Figure 4 : Modèles (linéaires et Logan) ajustés aux taux de développement (inverse du temps de développement) de l'œuf en fonction de la température de trois espèces d'insectes ravageurs du caféier en Afrique de l'est, A : *Antestiopsis thunbergii*, B : *Monochamus leuconotus* et C : *Hypothenemus hampei*.

Le tableau 2 présente les seuils de températures et les degrés jour de croissance pour les deux espèces de coléoptères *H. hampei* et *M. leuconotus*. Les résultats montrent des différences marquées entre les exigences de température des deux espèces, en particulier pour les stades larvaires et nymphaux. Chez la larve d'*H. hampei*, la gamme des températures de développement s'étale de 13,1 à 34,4 °C, soit une fenêtre d'environ 21°C, conforme aux données obtenues chez de nombreux insectes. En revanche, la larve de *M. leuconotus* se développe dans une gamme de températures plus importante, allant de 10 à 40,6°C, soit une fenêtre de plus de 30°C. Ces résultats dénotent une capacité de développement dans des conditions de températures plus variées chez *M. leuconotus* que chez *H. hampei*, ce qui est en accord avec les observations de dynamique des populations aux champs (voir la section sur la dynamique des populations aux champs). Quant aux degrés jour de croissance, ils sont près de 20 fois plus élevés pour *M. leuconotus* que pour *H. hampei*, ce qui s'explique en grande partie par la durée de développement beaucoup plus longue pour la première espèce.

Tableau 2 : Exigences de température pour le développement des stades immatures de deux insectes ravageurs du caféier en Afrique de l'est, le scolyte des baies *Hypothenemus hampei* et le foreur blanc des tiges *Monochamus leuconotus*.

		Température minimum (°C)	Température maximum (°C)	Degré jour de croissance
<i>Hypothenemus hampei</i>	Œuf	10,5	35,2	78,1
	Larve	13,1	34,4	188,7
	Nymphe	15,0	33,9	36,5
<i>Monochamus leuconotus</i>	Œuf	10,7	37,4	192,3
	Larve	10,0	40,6	3333,3
	Nymphe	11,5	41,0	322,6

Les données de survie et de fécondité des individus femelles à 7 températures constantes permettent également de modéliser l'impact de la température sur les paramètres démographiques de nos populations d'élevage. Ces modèles sont de bons outils pour prévoir les capacités de développement des populations en fonction de la température. Il est en effet possible de simuler le taux intrinsèque d'accroissement naturel (r_m) ou le temps de génération (T_c) par exemple, pour une large gamme de températures et ainsi de prédire la capacité de développement d'une population à une température donnée.

La figure 5 présente les variations du r_m en fonction de la température pour *A. thunbergii* et *M. leuconotus*. Les courbes montrent des différences marquées qui témoignent de préférences de température contrastées entre ces deux espèces. Par exemple, la valeur de r_m maximale qui permet d'identifier la température optimale de croissance est obtenue à environ 22°C pour *A. thunbergii* et 26°C pour *M. leuconotus*. On note également une gamme de températures pour lesquels le r_m est supérieur à 0, qui indique une croissance positive de la population, nettement plus importante chez *M. leuconotus* que chez *A. thunbergii*. Ces résultats traduisent chez *A. thunbergii* une préférence marquée pour des habitats où la température est plus faible, résultats qui sont en accord avec nos observations de la distribution de ces espèces dans les plantations

de café Arabica de Tanzanie et du Kenya (voir la section suivante sur la dynamique des populations aux champs).

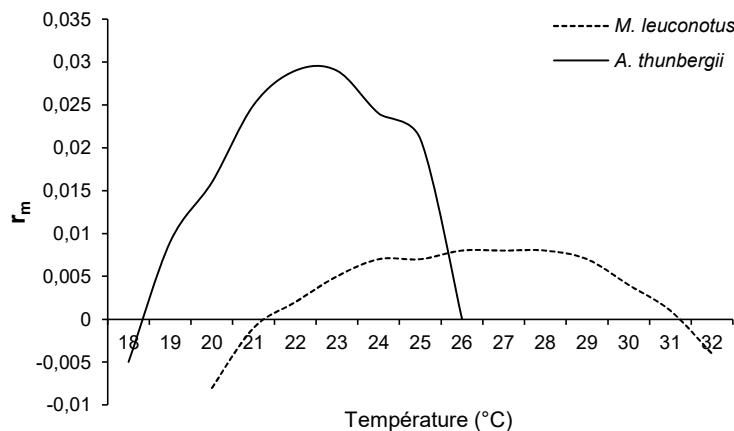


Figure 5 : Variations du taux intrinsèque d'accroissement naturel (r_m) en fonction de la température chez deux espèces d'insectes ravageurs du cafier en Afrique de l'Est, *Monochamus leuconotus* et *Antestiopsis thunbergii*.

2.4.2. Dynamique spatio-temporelle des populations aux champs

Variations saisonnières et distribution spatiale des populations

La connaissance de la dynamique des populations d'un insecte ravageur est essentielle à toute stratégie de lutte réfléchie (voir encadré 4). Aussi, pour chacun des modèles biologiques que nous avons étudiés, nous avons décrit les variations temporelles et spatiales des populations en milieu réel¹⁷. Pour y parvenir, nous avons mené des comptages d'individus sur les plantes, des observations des dégâts occasionnés aux cultures, ou nous avons employé des méthodes de capture comme le piégeage, pour évaluer au mieux les populations.

La figure 6 représente les variations saisonnières sur deux années des deux espèces de punaises Antestia majoritaires sur le café en Afrique de l'est, *Antestiopsis thunbergii* et *A. facetoides*. Les données de comptage ont montré que les populations des deux espèces s'accroissent progressivement à partir de janvier pour atteindre un premier pic en avril, puis un deuxième en juillet et décroître jusqu'en décembre. On note que ce pic est nettement moins visible chez l'espèce *A. thunbergii*, dont les effectifs ont été généralement plus faibles que ceux d'*A. facetoides*.

¹⁷ Babin R., ten Hoopen G.M., Cilas C., Enjalric F., Yede, Gendre P. & Lumaret J.P. (2010) Impact of shade on the spatial distribution of *Sahlbergella singularis* in traditional cocoa agroforests. *Agricultural and Forest Entomology*, 12, 69-79.

Encadré 4 : dynamique des populations

L'entomologie agricole s'intéresse moins souvent aux insectes en tant qu'individus qu'aux populations d'insectes, puisqu'il s'agit au final de réduire l'impact de ces populations sur les cultures. Par population, nous entendons ici un ensemble d'individus occupant un espace donné (par exemple une parcelle agricole ou un paysage), pendant une période donnée (par exemple une saison ou une année). Dans la nature, les populations d'insectes connaissent des variations importantes dans le temps et dans l'espace. La composante de l'écologie qui s'intéresse à ces variations et à leurs causes est généralement désignée sous le terme de dynamique des populations. En principe, il est primordial de bien connaître la dynamique des populations d'un insecte ravageur sur une culture, car c'est cette connaissance qui détermine la nécessité de mettre en œuvre la lutte, à quel moment intervenir et selon quelle méthode.

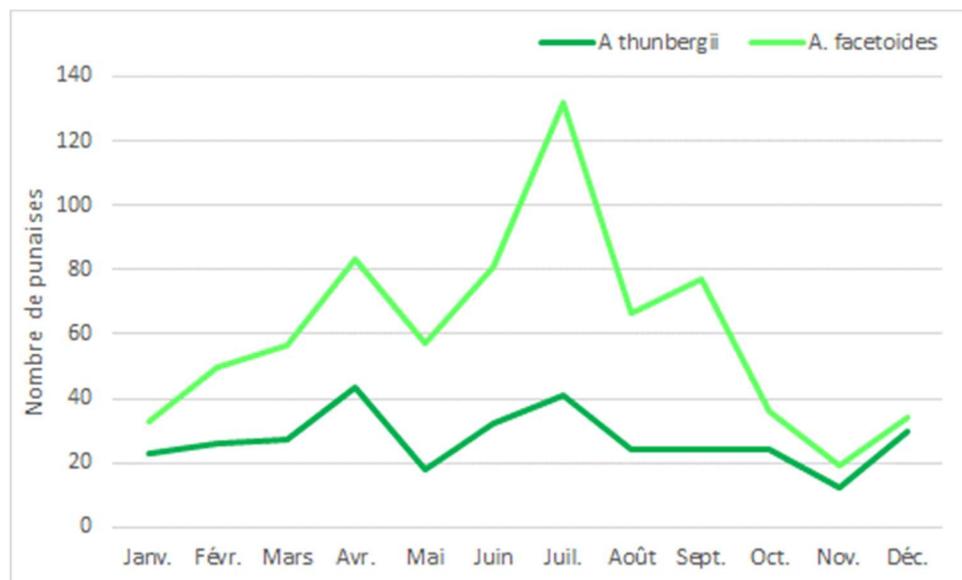


Figure 6 : Variations saisonnières des populations de punaises *Antestia*, *Antestiopsis thunbergii* et *A. facetoides*, dans la région de Murang'a au Kenya. La variable représentée est le nombre de punaises dénombrées chaque mois de juillet 2016 à juin 2018 (moyenne mensuelle des effectifs de deux années successives), sur 450 cafiers localisés dans 30 plantations différentes.

La figure 7 présente la distribution spatiale des populations du scolyte *Hypothenemus hampei* et de son principal parasitoïde dans la région, *Prorops nasuta* Waterston (Hymenoptera : Bethylidae), dans une parcelle d'environ un quart d'hectare de cafiers. Les populations ont été évaluées à 5 dates différentes par le comptage des baies infestées. Les cartes montrent que la distribution du ravageur n'est pas homogène dans la parcelle, les populations semblant s'agréger dans la partie basse de la carte. Les populations de parasitoïdes sont restées relativement faibles et généralement localisées dans les zones de la plantation les plus infestées par le scolyte.

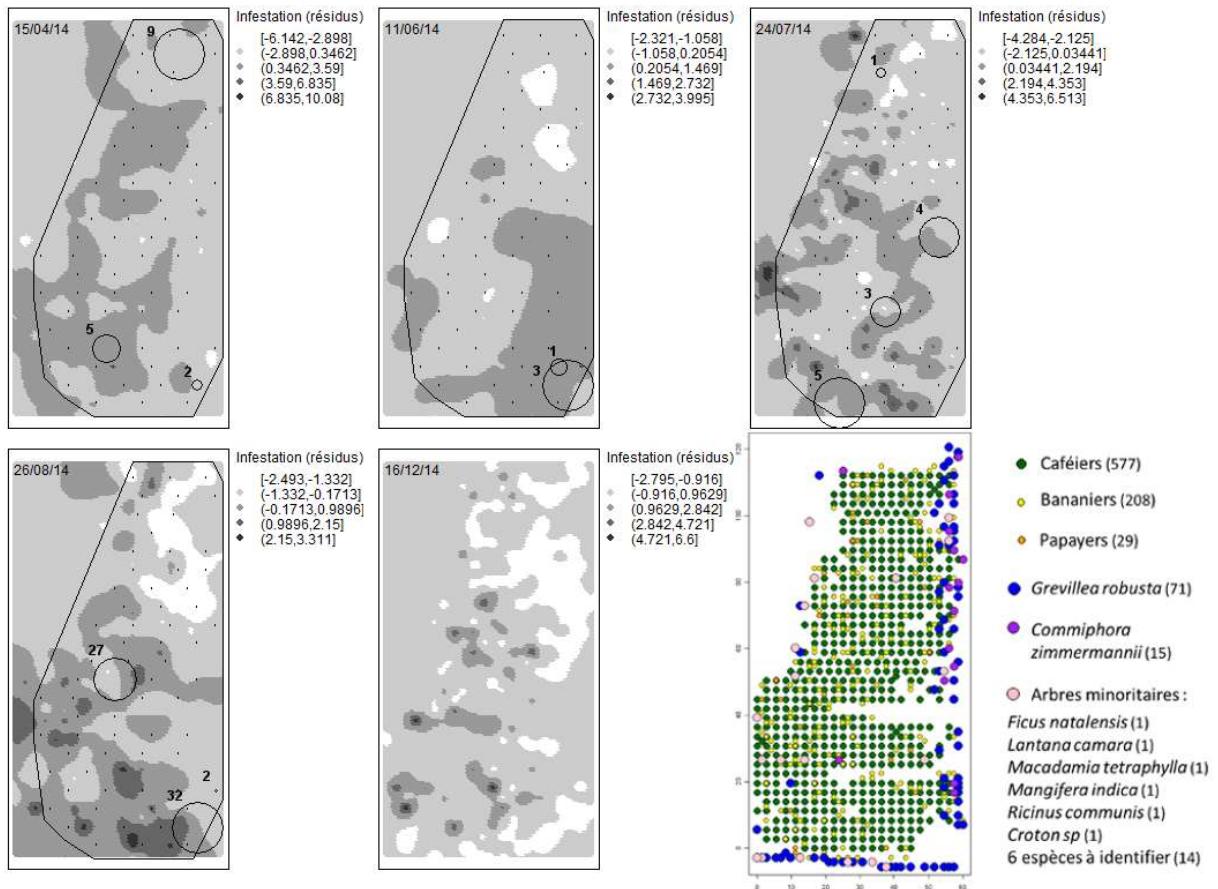


Figure 7 : Cartes d'une parcelle agroforestière de caféiers de la région de Murang'a, au Kenya, incluant en bas à droite, la position des caféiers, des bananiers et des différents arbres associés, et 5 cartes de krigage montrant la distribution spatiale de l'infestation par le scolyte des baies et, superposée et matérialisée par des cercles noirs de dimension proportionnelle à l'effectif, la position des collectes du parasitoïde majoritaire *Prorops nasuta*. Pour le scolyte, la variable représentée est la valeur des résidus de la régression des baies infestées par le nombre total de baies par caféier. Pour le parasitoïde, la variable présentée est l'effectif par caféier.

Mécanismes et facteurs agroécologiques

Nous nous sommes également intéressés aux facteurs et mécanismes impliqués dans les variations d'effectifs des insectes ravageurs sur les cultures (voir encadré 5). Dans les systèmes agroforestiers de cacaoyers du Cameroun, les populations du miride *Sahlbergella singularis* connaissent de fortes variations dans le temps et dans l'espace. Nous avons pu montrer que les variations saisonnières des populations de mirides étaient en grande partie dues à des variations de fécondité des femelles adultes, la fécondité étant elle-même fortement influencée par la phénologie des cacaoyers et le microclimat (en particulier, l'humidité relative et la température)¹⁸. Nous avons proposé l'hypothèse que la période de croissance des cabosses sur lesquelles la femelle se nourrit permet la croissance des populations, car les femelles s'alimentent de tissus végétaux plus riches et sont donc plus fécondes. De plus, un microclimat trop sec est néfaste aux mirides qui craignent la dessiccation.

¹⁸ Babin R., Anikwe J.C., Dibog L. & Lumaret J.P. (2011) Effects of cocoa tree phenology and canopy microclimate on the performance of the mirid bug *Sahlbergella singularis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 141, 25-34.

Encadré 5 : mécanismes et facteurs agroécologiques

Sur une culture, la dynamique de population d'un insecte ravageur est influencée par de nombreux facteurs agroécologiques qui agissent sur l'expression des traits de vie des individus tout au long de leur existence. On distingue généralement deux grands groupes de facteurs agroécologiques, qui varient en fonction de l'échelle spatiale considérée : à l'échelle d'une parcelle agricole par exemple, les facteurs abiotiques comprennent notamment le microclimat (en particulier la température), le sol, la topographie, alors que les facteurs biotiques comprennent la plante hôte (phénologie et physiologie), les ennemis naturels, la compétition intra ou interspécifique. Les pratiques des agriculteurs sont également des facteurs à prendre en compte, surtout si elles sont destinées à lutter contre le ravageur. Des processus complexes sont à l'œuvre et il est très utile de bien les comprendre, car ils sont autant de leviers qui peuvent être maniés pour limiter les proliférations de ravageurs néfastes aux cultures. Une bonne connaissance de ces processus permet également de mieux prévoir les infestations, par le développement d'outils de prévision faisant généralement appel à la modélisation.

Nous avons également démontré que dans ces agroécosystèmes, les populations de mirides sont fortement agrégées sur quelques dizaines de cacaoyers localisés dans les zones ensoleillées des plantations, c'est-à-dire dans les zones où la canopée des arbres d'ombrage est interrompue¹⁹. Ce résultat va à l'encontre des préférences écologiques de l'espèce *S. singularis* qui est une espèce aux mœurs cryptiques, n'étant active qu'aux heures fraîches de la journée et craignant les écarts importants de température et d'humidité relative. L'hypothèse que nous avons émise est que les cacaoyers plus exposés aux rayons lumineux ont un développement végétatif plus important, qui permet aux populations de mirides de se développer, même en absence de cabosse sur les arbres.

Plus tard, nous nous sommes intéressés à l'impact des communautés de fourmis sur les populations de mirides. Les fourmis forment une composante très importante des agroécosystèmes à base de cacaoyers du Cameroun. La biodiversité de ces systèmes, en particulier végétale, offrent une large variété d'habitats et de ressources à des dizaines d'espèces de fourmis, dont les colonies comptent parfois des centaines de milliers d'individus²⁰. Ces communautés, souvent appelées mosaïques, s'activent de façon organisée, dans l'espace et dans le temps, en fonction des habitudes de nidification de chaque espèce (certaines espèces sont terricoles, d'autres arboricoles, d'autres encore sont nomades) et de recherche de nourriture (certaines espèces sont diurnes, d'autres crépusculaires ou nocturnes, certaines chassent au sol et d'autres dans les arbres, certaines élèvent des hémiptères, d'autres sont exclusivement prédatrices). Mais leur distribution est également fortement affectée par les interactions qu'elles entretiennent entre espèces, voire même entre colonies d'une même espèce.

Certaines espèces dominantes, comme les oecophylles ou les crematogaster, modèlent les mosaïques en excluant certaines espèces de leur territoire de chasse et en acceptant de cohabiter

¹⁹ Babin R., ten Hoopen G.M., Cilas C., Enjalric F., Yede, Gendre P. & Lumaret J.P. (2010) Impact of shade on the spatial distribution of *Sahlbergella singularis* in traditional cocoa agroforests. *Agricultural and Forest Entomology*, 12, 69-79.

²⁰ Tadu Z., Djiéto-Lordon C., Yede, Messop Youbi E.B., Fomena A. & Babin R. (2014) Ant diversity in different cocoa agroforest habitats in the Centre Region of Cameroon. *African Entomology*, 22, 388-404.

avec d'autres espèces, aux mœurs différentes²¹ (figure 8). En plus d'élever des hémiptères, ces espèces dominantes sont généralement des prédateurs généralistes qui régulent les insectes phytophages comme les mirides par exemple. Bien connaître les mosaïques de fourmis, au point de pouvoir les modifier pour favoriser la présence d'espèces utiles, présente donc un grand intérêt pour la lutte contre les insectes ravageurs.

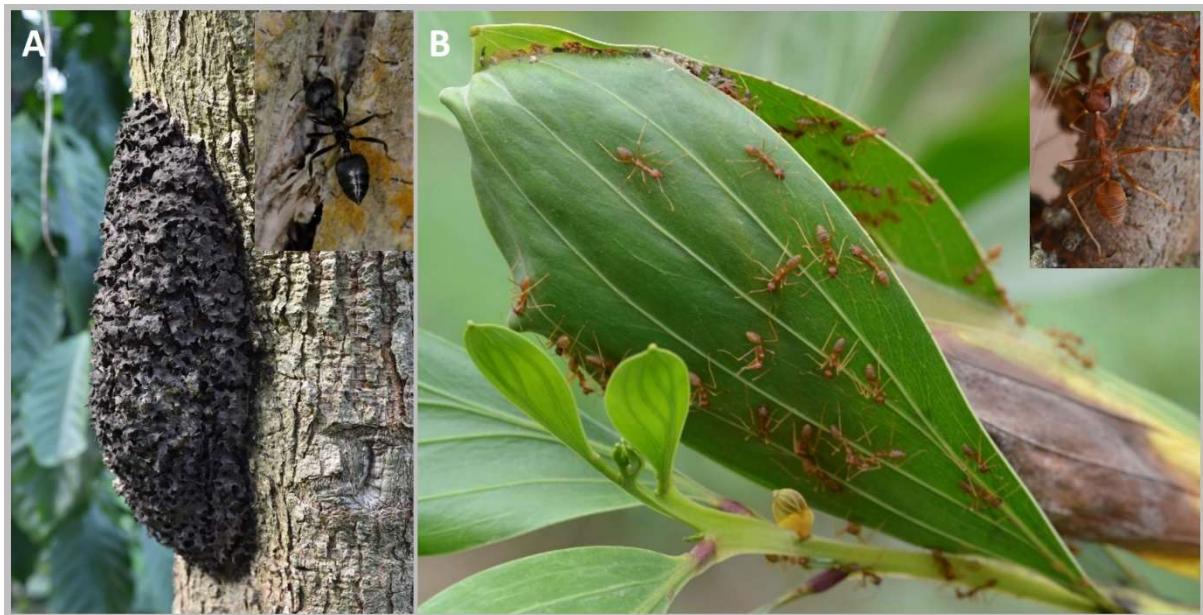


Figure 8 : Images de fourmis dominantes dans les plantations de cacaoyers de Côte d'Ivoire, avec A : Nid en carton de *Crematogaster* sp. sur le tronc d'un arbre d'ombrage et B : nid d'*Oecophylla longinoda*, tissé entre les feuilles d'un *Acacia auriculiformis*.

La figure 9 présente la distribution spatiale d'une population du miride *S. singularis* et de trois espèces de fourmis communément rencontrées dans les systèmes agroforestiers de cacaoyers du Cameroun. Elle montre que dans cette parcelle, les mirides ne se trouvent pas sur les cacaoyers occupés par les espèces *Cataulacus guineensis* Smith, F. et *Oecophylla longinoda* (Latreille). En revanche, la présence de *Polyrhachis decemdentata* André ne semble pas déranger les mirides, puisque leur distribution se chevauche par endroits. Les résultats que nous avons obtenus suggèrent qu'en favorisant la présence de certaines espèces de fourmis, en particulier des espèces prédatrices dominantes, il est possible d'améliorer la régulation naturelle des mirides²².

En Afrique de l'Est, le relief des hauts plateaux permet l'étude des dynamiques de populations d'insectes ravageurs de diverses cultures tropicales sur des pentes plus ou moins abruptes. Par exemple, sur le mont Kilimandjaro en Tanzanie ou les pentes du massif des Aberdares au Kenya, les zones cultivées se trouvent à une altitude variant de quelques centaines de mètres à plus de 2000 mètres. Comme nous l'avons évoqué précédemment, la température est le facteur le plus important du développement des insectes et c'est aussi un facteur étroitement corrélé à

²¹ Tadu Z., Babin R., Aléné D.C., Yede, Messop-Youbi E.B., Wouter D. & Djéto-Lordon C. (2019) Ant assemblage structure on cocoa trees in smallholder farms in the Centre Region of Cameroon. *African Journal of Ecology*, 57, 512-522.

²² Bagny Beilhe L., Piou C., Tadu Z. & Babin R. (2018) Identifying ant-mirid spatial interactions to improve biological control in cacao-based agroforestry system. *Environmental Entomology*, 47, 551-558.

l'altitude. Cette dernière est ainsi un facteur agroécologique clé de la distribution des insectes. Sur ces terrains, il est possible de décrire la dynamique des populations d'espèces tropicales dans des conditions de température très variables, dont les valeurs extrêmes dépassent généralement les seuils thermiques de développement des insectes, dont nous avons déjà parlé plus haut.

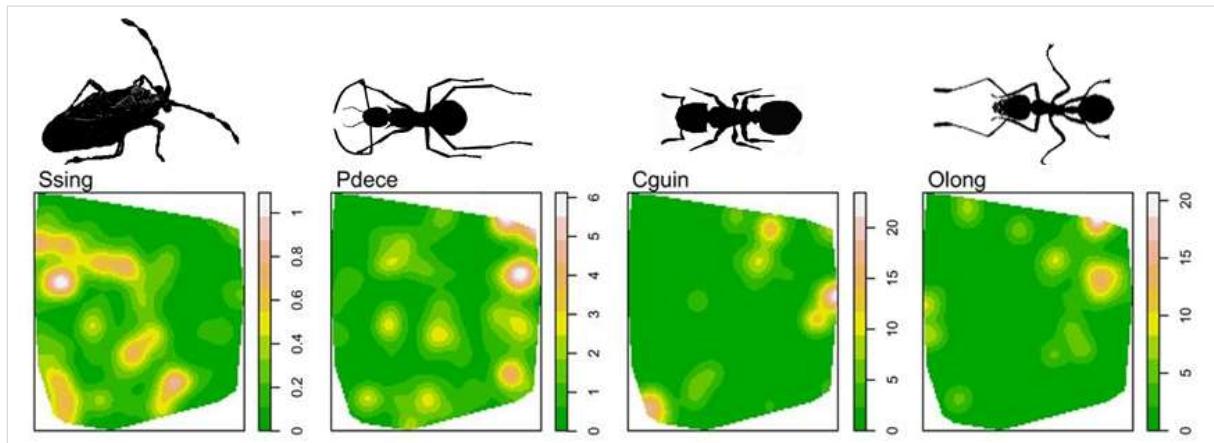


Figure 9 : Cartes de distribution spatiale d'une population du miride *Sahlbergella singularis* (Ssing) et de trois espèces de fourmis, *Polyrhachis decemdentata* (Pdece), *Cataulacus guineensis* (Cguin) et *Oecophylla longinoda* (Olong), dénombrées sur un bloc de 100 cacaoyers dans une plantation au Cameroun.

Prenons pour exemple les trois espèces d'insectes ravageurs auxquelles nous nous sommes intéressés sur le café au Kenya et en Tanzanie. La figure 10 présente la relation entre les populations de ces insectes et l'altitude, et l'indice de surface foliaire (LAI), qui mesure la surface foliaire de la canopée des arbres d'ombrage par rapport à la surface du sol de la plantation. Nous avons utilisé le LAI pour mesurer l'ombrage des plantations ; plus le LAI est élevé, plus l'ombrage est dense. La figure montre que l'altitude impacte de façon opposée le scolyte *H. hampei* et les punaises *A. thunbergii*, les densités de scolyte étant négativement corrélées avec l'altitude, alors que celles des punaises sont positivement corrélées avec l'altitude. En revanche, l'altitude ne semble pas impacter les populations du foreur *M. leuconotus*, qui sont par contre affectées par l'ombrage : plus le LAI est élevé (ombrage fort) moins les dégâts du foreur sont importants dans les plantations.

Les mécanismes démographiques impliqués dans ces dynamiques s'expliquent en grande partie par les études de thermobiologie que nous avons menées au laboratoire (voir § 5.4.1.4.). La punaise *A. thunbergii* possède un optimum de température de développement plus bas que le scolyte *H. hampei* ou le foreur *M. leuconotus*, ce qui explique qu'elle puisse proliférer à des altitudes plus élevées que les autres espèces. Quant à *M. leuconotus*, il présente une fenêtre de températures pour le développement plus large et ses populations sont peu affectées par l'altitude, du moins dans la gamme d'altitudes de l'étude. Il est en revanche plus sensible à l'ombrage et une hypothèse pourrait être que ses larves xylophages se développent plus vite dans le tronc des cafiers exposés au soleil. Les mécanismes impliqués sont encore à étudier, mais nos résultats suggèrent que l'ombrage des cafiers pourrait être un moyen de réguler les populations de ce ravageur.

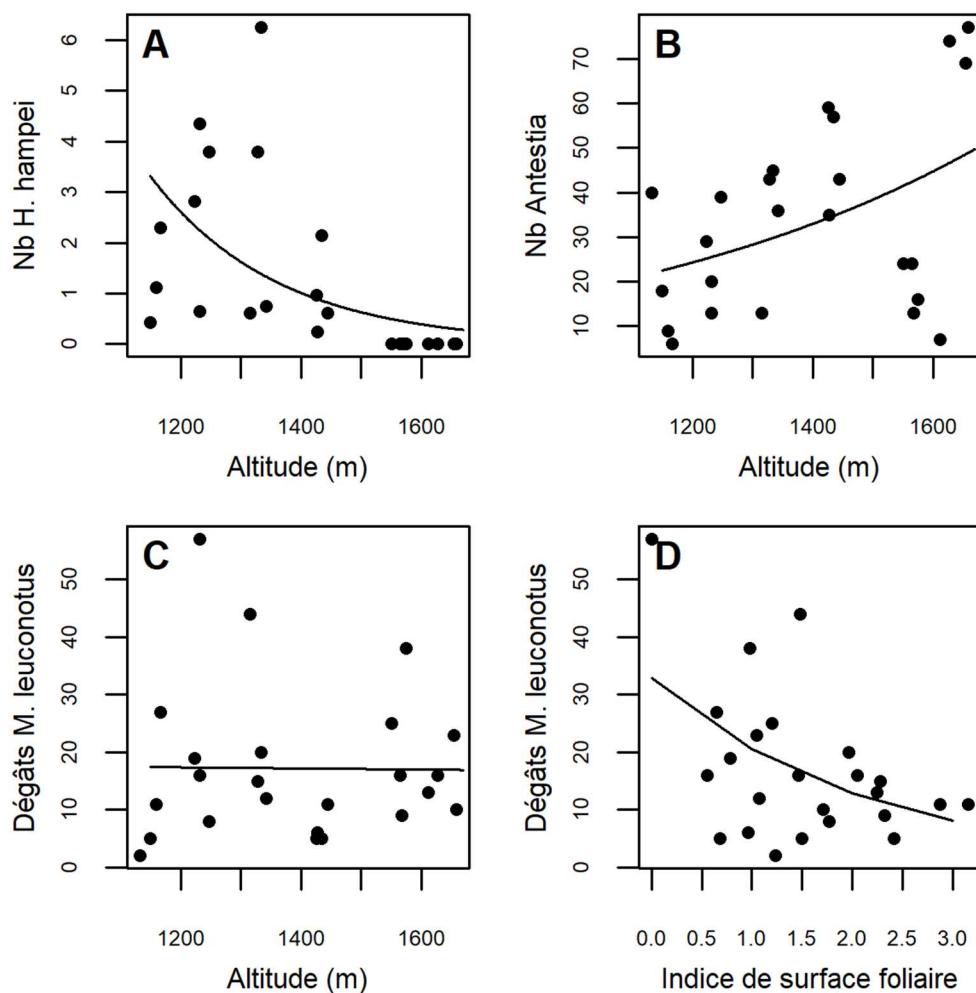


Figure 10 : Impact de l'altitude sur les populations de : A) le scolyte des baies, *Hypothenemus hampei*, B) la punaise *Antestiopsis thunbergii* et C) le foreur blanc des tiges *Monochamus leuconotus* (évaluées par l'observation des dégâts). D) Relation entre les populations de *M. leuconotus* et l'indice de surface foliaire (LAI) dans la plantation.

2.4.3. Vers la prévision du risque d'infestation par les insectes ravageurs

Si les processus démographiques impliqués dans la dynamique des populations d'une espèce d'insecte ravageur sont relativement stables dans le temps et dans l'espace, il n'en va pas de même des facteurs agroécologiques dont l'effet sur les populations change constamment. Aussi, pour qu'elle soit effective, la caractérisation des variations spatio-temporelles des populations doit s'appuyer sur des mesures répétées dans le temps et l'espace. Ces mesures sont généralement couteuses ; l'épidémiosurveillance est un domaine de la recherche qui vise à en améliorer les performances. Une autre stratégie consiste à prédire les niveaux de populations par le biais de la modélisation^{23,24} (voir encadré 6). C'est par cette approche que, forts des

²³ Sutherst R.W., Maywald G.F., Kriticos D. (2007) CLIMEX version 3 user's guide. Australia: CSIRO. Preprint. <https://www.hearne.software/getattachment/0343c9d5-999f-4880-b9b2-1c3ee908fo8/Climex-User-Guide.aspx>.

²⁴ Phillips S.J. (2005) A brief tutorial on Maxent. AT&T research. Preprint, https://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/Maxent_tutorial2017.pdf.

connaissances acquises sur la thermobiologie des insectes étudiés, nous nous sommes intéressés aux effets que pourrait avoir le réchauffement climatique sur leur distribution sur les pentes des reliefs d'Afrique de l'Est²⁵.

Encadré 6 : modèles de prédiction du risque d'infestation

La distribution et l'abondance des populations d'insectes ravageurs peuvent être prédictées par l'usage de modèles bioclimatiques tels que Climex²³ ou MaxEnt²⁴. Ces modèles utilisent des points d'occurrence de l'insecte pour prédire, sur la base de variables bioclimatiques, sa distribution sur une vaste zone géographique, par exemple une région ou un continent. D'autres modèles en revanche utilisent une approche déductive en intégrant les connaissances de la démographie de l'espèce étudiée. Le logiciel ILCYM²⁶ (Insect Life Cycle Modeling) utilise cette approche et permet par l'utilisation de données de température de caractériser la distribution du risque d'infestation par un insecte ravageur à des échelles géographiques plus réduites, telles que le paysage voire l'agrosystème.

Nous avons utilisé les modèles de développement basés sur la température et les paramètres démographiques calculés sur les populations d'élevage au laboratoire pour prédire la capacité de développement d'une population soumise à un régime de température connu sur une période de temps donnée. Ces capacités de développement ont été converties en risque d'infestation par le calcul de différents indices qui décrivent la capacité d'un insecte ravageur à s'établir et à se multiplier sur une culture. L'un de ces indices est l'indice de risque d'établissement (ERI)²⁶. Basé sur la survie, il évalue la capacité d'une population à s'établir dans une zone particulière en fonction de la température.

La figure 11 présente conjointement : 1) les cartes de distribution des populations de la punaise *A. thunbergii* évaluées par des comptages en juin 2014 et janvier 2015 le long d'un gradient d'altitude sur les pentes du mont Kilimandjaro, et 2) les cartes de distribution de l'indice de risque d'établissement (ERI), calculé à partir des paramètres démographiques d'une population d'élevage au laboratoire. La zone délimitée mesure environ 20 km² ($L = 10$ km, $l = 2$ km) et présente un fort gradient d'altitude allant de 1000 à 1700 m (de bas en haut de la figure). Le café Arabica est la culture principale de la zone. Les données de température utilisées pour le calcul de l'ERI actuel ont été enregistrées à l'aide de data loggers de janvier à décembre 2013 (signalés par des points jaunes sur la carte) et les données de température de l'année 2055 ont été extraites de la base de données en ligne Africlim (version 3.0)²⁷, en choisissant un scénario de réchauffement modéré, le RCP 4.5 de l'IPCC-AR5 (5^{ème} rapport du GIEC)²⁸.

²⁵ Azrag A.G.A., Pirk C.W.W., Yusuf A.A., Pinard F., Niassy S., Mosomtai G. & Babin R. (2018) Prediction of insect pest distribution as influenced by elevation: Combining field observations and temperature-dependent development models for the coffee stink bug, *Antestiopsis thunbergii* (Gmelin). *PLOS One*, 13, e0199569.

²⁶ Tonnang E.Z.H., Juarez H., Carhuapoma P., Gonzales J.C., Mendoza D., Sporleder M., Simon R. & Kroschel J. (2013) ILCYM - Insect Life Cycle Modeling. A software package for developing temperature-based insect phenology models with applications for local, regional and global analysis of insect population and mapping, Lima, Peru.

²⁷ Platts P.J., Omeny P.A., Marchant R. (2015) AFRICLIM: high-resolution climate projections for ecological applications in Africa. *African Journal of Ecology*, 53, 103-108.

²⁸ Thomson A.M., Calvin K.V., Smith S.J., Kyle G.P., Volke A., Patel P., et al. (2011) RCP4. 5: a pathway for stabilization of radiative forcing by 2100. *Climate Change*, 109, 77-94.

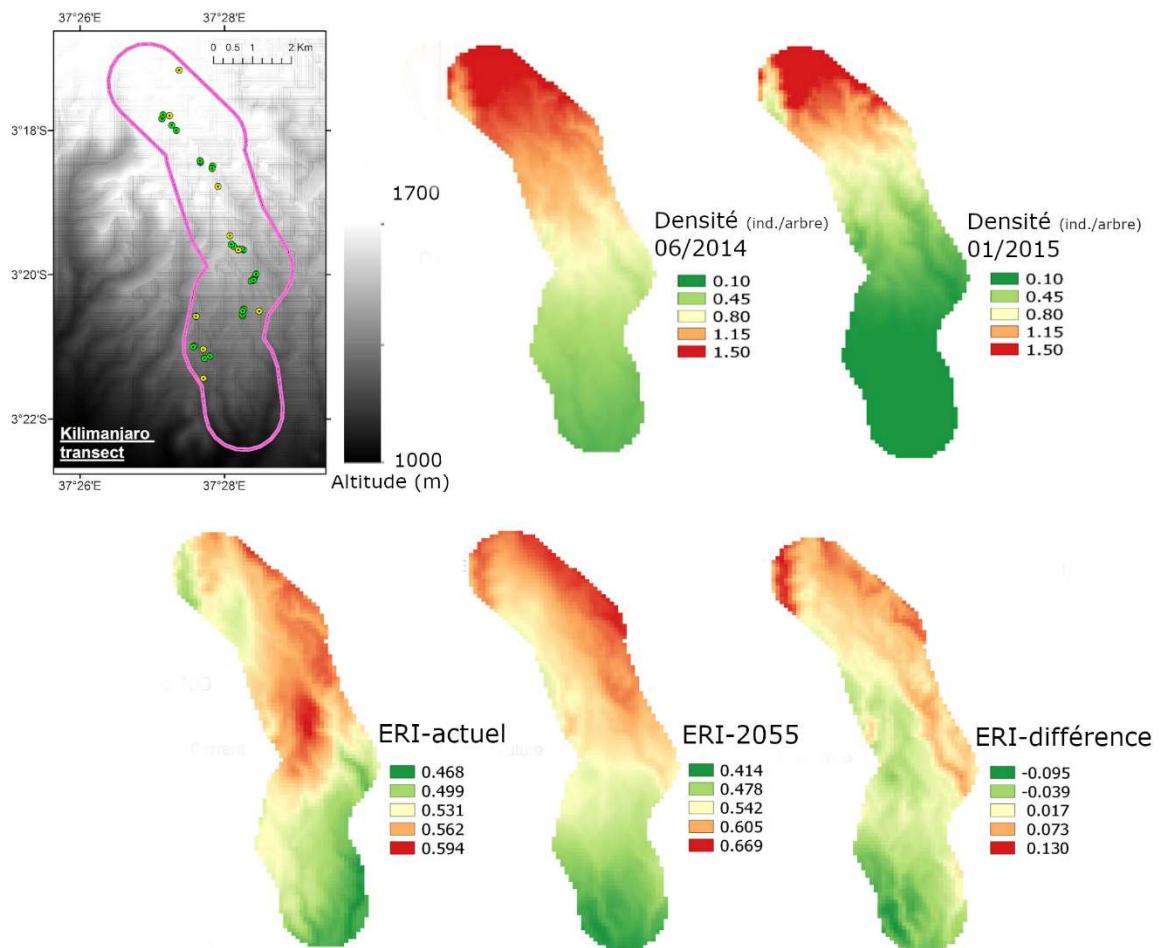


Figure 11 : Cartes de distribution des densités de punaises *Antestiopsis thunbergii* (nombre d'individus/caféier) mesurées en juin 2014 et janvier 2015, et de l'indice de risque d'établissement (ERI) calculé avec les températures actuelles (ERI-actuel) et les prévisions de température pour l'année 2055 (ERI-2055), le long d'un gradient d'altitude (1000-1700 m) sur les pentes du Kilimandjaro, Tanzanie.

La figure montre que l'indice de risque d'établissement (ERI) d'*A. thunbergii* est assez bien corrélé avec les populations réelles : les densités de population sont plus élevées en altitude et tendent à diminuer régulièrement lorsque l'altitude décroît. Il en va de même pour l'ERI qui est plus élevé dans les zones les plus élevées du gradient et diminue conjointement à l'altitude. La prévision pour 2055 est une augmentation du risque d'établissement pour les mêmes zones et une diminution du risque pour les zones les plus basses. Ce type d'information peut aider à la préparation de la lutte contre cet important ravageur du café d'altitude.

2.4.4. Développement de méthodes de lutte agroécologique

Dans la présente section, nous allons nous attarder sur des travaux ayant contribué de façon plus directe à la lutte. Ces travaux avaient toujours pour objectif le développement de moyens de lutte pour remplacer la lutte chimique, qui présente encore aujourd'hui trop peu d'alternatives sur des cultures comme le cacaoyer et le caféier. Plus concrètement, nous avons contribué aux programmes de sélection variétale du cacaoyer pour la lutte contre les mirides, à l'identification et à l'évaluation d'ennemis naturels des ravageurs, comme les hyménoptères parasitoïdes et les champignons entomopathogènes, et au développement de la lutte

sémiochimique. C'est sur ce dernier aspect de nos travaux, qui est le plus abouti en terme de publications, que nous porterons l'accent dans les paragraphes suivants. La lutte sémiochimique est définie comme un moyen de lutte qui valorise les composés chimiques impliqués dans les interactions entre insectes ou entre plantes et insectes. La composante de l'écologie qui s'intéresse à ces interactions est l'écologie chimique.

Essais de pièges attractifs

Au Cameroun, nous avons mené des essais visant à évaluer des pièges attractifs existants, comme le piège BROCAP® pour le scolyte *Hypothenemus hampei*, ou en cours de développement, comme un piège à phéromones sexuelles pour le miride du cacaoyer, *Sahlbergella singularis*. Le piège BROCAP® a été mis au point par le CIRAD dans les années 2000 au Salvador et a été testé dans plusieurs pays d'Amérique latine, des Caraïbes²⁹ et plus récemment d'Asie. Il fait depuis partie d'un programme de lutte intégrée contre *H. hampei* recommandé par le CIRAD qui a prouvé son efficacité en Amérique latine. Ce programme comprend trois composantes principales : bonnes pratiques d'entretien de la plantation (taille des cafiers et des arbres d'ombrage et nettoyage régulier de la plantation), la récolte sanitaire (élimination de toutes les baies de café restant sur les arbres après la récolte) et le piégeage. Le piège est un système à ailettes et entonnoir, comprenant un diffuseur contenant un mélange d'alcool (éthanol et méthanol) (figure 12). Ce mélange est une kairomone qui simule l'odeur des baies de café mûres qui sont recherchées par les femelles pour la ponte. La couleur rouge du piège est également attractive puisque c'est la couleur des baies de café mûres. Le piégeage du scolyte vise surtout à détruire les populations de femelles qui survivent dans les baies résiduelles après la récolte, afin de limiter les infestations à la saison suivante. Notre travail a consisté à tester le piège dans les conditions agroécologiques de culture du cafier dans l'ouest du Cameroun. Dans la région de Dschang, les pièges ont montré une efficacité incontestable en termes de réduction de l'infestation. En effet, comparés à ceux des parcelles témoins, les taux d'attaque des baies mûres des parcelles accueillant les pièges ont présenté une baisse significative pour chacune des plantations, de 63,5% en moyenne, avec un maximum s'élevant à 71,4%³⁰.

Les phéromones sexuelles du miride du cacaoyer *S. singularis* ont été identifiées puis synthétisées au début des années 2000³¹. Plusieurs essais ont par la suite été menés au Ghana visant à identifier les mélanges les plus attractifs (mélanges de monoesters et de diesters) et les modèles de pièges les plus efficaces. Au Cameroun, notre travail a consisté à tester 5 mélanges attractifs différents et deux modèles de pièges, un piège rectangulaire et un piège delta®³². C'est le premier modèle de piège qui s'est avéré le plus efficace à capturer les mâles de *S. singularis* (figure 12). Les mélanges de monoesters et de diesters se sont toujours révélés plus attractifs, quel que soit le dosage, que les composés testés seuls, suggérant un effet synergique.

²⁹ Dufour B.P. & Frérot B. (2008) Optimization of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Col., Scolytidae), mass trapping with an attractant mixture. *Journal of Applied Entomology*, 132, 591-600.

³⁰ Mahob R., Babin R. & Dibog L. (2006) Test des pièges Brocap au Cameroun, pour améliorer la lutte contre le scolyte des baies du cafier, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera : Scolytidae). In : Atelier de présentation des résultats des opérations de recherche participative, 21-23 février 2006, PCP-Grand Sud Cameroun, Yaoundé, Cameroun.

³¹ Sarfo J.E., Campbell C.A.M. & Hall D.R. (2018) Design and placement of synthetic sex pheromone traps for cacao mirids in Ghana. *International Journal of Tropical Insect Science*, 38, 122-131.

³² Mahob R.J., Babin R., ten Hoopen G.M., Dibog L., Yede, Hall D.R. & Bilong Bilong C.F. (2011) Field evaluation of synthetic sex pheromone traps for the cocoa mirid *Sahlbergella singularis* (Hemiptera: Miridae). *Pest Management Science*, 67, 672-676.



Figure 12 : Essais de pièges attractifs au Cameroun, avec A : piège BROCAP® pour la lutte contre le scolyte des baies, *Hypothenemus hampei* et B : piège rectangulaire contenant une phéromone sexuelle pour la lutte contre le miride du cacaoyer *Sahlbergella singularis*.

Mise au point d'un système de piégeage pour les punaises Antestia du café

Notre séjour à l'icipe au Kenya, nous a donné l'opportunité d'étudier l'écologie chimique de la punaise *Antestiopsis thunbergii*. L'icipe est en effet doté d'une plateforme dédiée à cette discipline de renommée internationale. Le travail de notre équipe a consisté à détecter, identifier, puis tester au moyen d'essais de piégeage au champ, des composés chimiques volatiles valorisables dans le cadre d'un programme de lutte sémiochimique contre *A. thunbergii*^{33,34,35}. Pour y parvenir, notre équipe a mené des études d'olfactométrie, pour détecter l'existence de composés volatiles actifs chez la plante hôte ou les congénères, des captures d'odeurs dont les composés chimiques ont été identifiés à l'aide d'un appareil GC-MS (Chromatographie en phase gazeuse-Spectrométrie de masse), et des études d'électroantennographie pour valider l'activité stimulante des composés au niveau des antennes des punaises (figure 13).

Dans un premier temps, ces travaux nous ont permis d'identifier un ensemble de composés volatiles attractifs provenant des baies vertes (baies non mûres) de café, dont le mélange forme une kairomone, autrement dit une odeur émise par la plante et utilisée par la punaise pour localiser sa source d'alimentation. Cette kairomone est composée principalement de trois composés : l'anisole, le méthyl-3-éthyl-4-méthylpentanoate et la (5S,7S)-conophthorine³³.

³³ Njihia T.N., Torto B., Murungi L.K., Irungu J., Mwenda D.M. & Babin R. (2017) Identification of kairomones of second instar nymphs of the variegated coffee bug *Antestiopsis thunbergii* (Heteroptera: Pentatomidae). *Chemoecology*, 27, 239-248.

³⁴ Njihia T.N., Torto B., Murungi L.K., Irungu J., Mwenda D.M. & Babin R. (2018) Ripe coffee berry volatiles repel second instar nymphs of Antestia bugs (Heteroptera: Pentatomidae: *Antestiopsis thunbergii*). *Chemoecology*, 28, 91-100.

³⁵ Njihia T., Torto B., Murungi L., Irungu J., Mwenda D. & Babin R. (2016) Pheromones of the coffee Antestia bug, *Antestiopsis thunbergii* and their potential application in the management of the pest [Abstract]. In: 26th International Conference on Coffee Science (ed. ASIC). ASIC, Kunming, China.

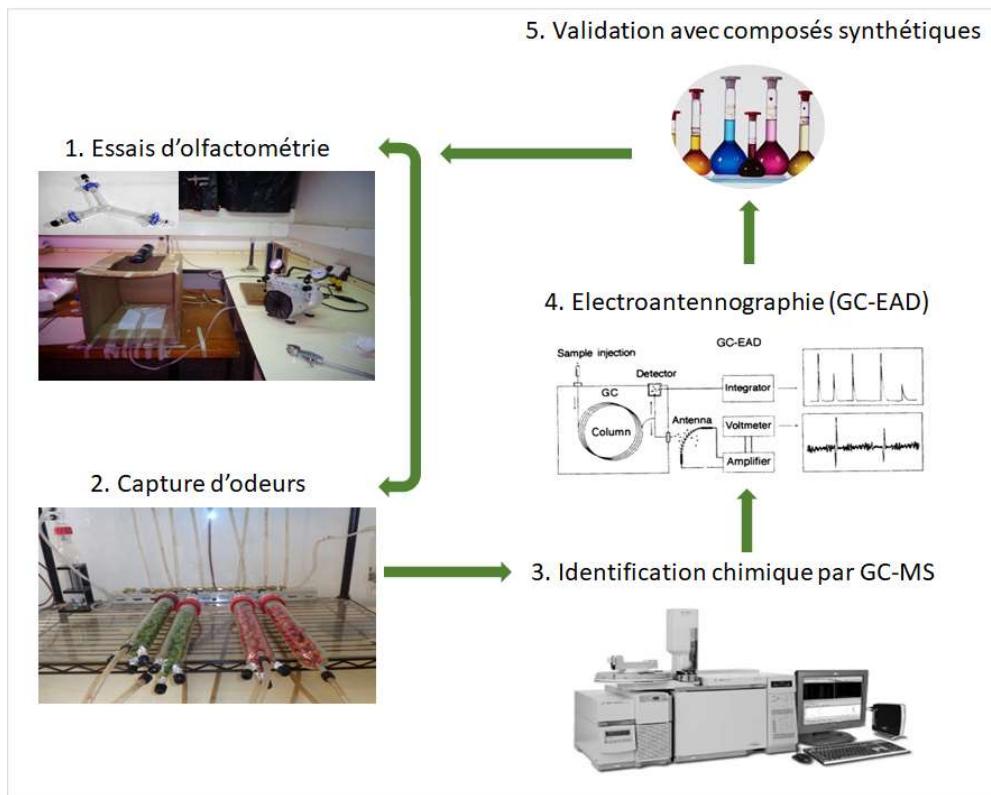


Figure 13 : Les grandes étapes de l'identification de molécules volatiles bioactives chez l'espèce *A. thunbergii*, à l'icipe, Kenya.

Une autre étude a montré au contraire l'existence de composés répulsifs sur les baies jaunes et rouges (baies mûres)³⁴. Ces résultats sont en accord avec les préférences alimentaires des punaises, qui ne se développent que sur les baies vertes. C'est d'ailleurs pendant la période de croissance des baies sur les cafiers que les punaises sont les plus nombreuses dans les plantations.

Une autre série d'expérimentations utilisant les mêmes outils a permis à l'équipe d'identifier la phéromone d'alarme et la phéromone sexuelle d'*A. thunbergii* (publication des résultats en cours). Cette dernière, composée principalement d'esters connus chez d'autres punaises Pentatomidae, est émise par le mâle et attire les deux sexes³⁵. Comme chez de nombreuses punaises, la phéromone sexuelle est en réalité une phéromone d'agrégation qui est émise par le mâle et qui attire à la fois les mâles et les femelles sexuellement matures sur les sites de reproduction, de façon à faciliter les accouplements. Des essais en plantation de cette phéromone, en association avec un piège commercialisé pour d'autres punaises, le piège pyramide, a donné des résultats encourageants.

2.5. Conclusions et perspectives

Du suivi d'individus en conditions contrôlées de laboratoire à l'observation des populations dans leur habitat, notre travail a amélioré notre compréhension des mécanismes et facteurs impliqués dans la dynamique des populations d'insectes ravageurs majeurs du café et du cacao. La description des traits d'histoire de vie au moyen d'élevages et l'analyse des tables de vie nous ont permis d'évaluer les capacités de croissance de nos populations d'élevage par le calcul de paramètres démographiques standards, tels que le taux intrinsèque d'accroissement naturel.

Le développement de modèles de développement basés sur la température nous ont conduit à évaluer les exigences de température des espèces étudiées, en particulier les seuils de température pour le développement et les degrés jour de croissance. L'impact de la température sur les paramètres démographiques de nos populations d'élevage a également été modélisé, rendant possible la prévision de la capacité de croissance des populations en fonction de la température. Les variations saisonnières des populations et leur distribution à l'échelle de la parcelle et du paysage ont été décrites au moyen d'évaluation des populations en milieu réel. L'impact sur la distribution des populations de certains facteurs agroécologiques majeurs tels que l'ombrage, l'altitude ou les communautés de fourmis, a été caractérisé. Enfin, nous nous sommes intéressés à la prévision du risque d'infestation d'une culture par un ravageur basé sur la température. Des indices de risque ont été calculés et cartographiés à partir des paramètres démographiques d'une population d'élevage et de données de température enregistrées au moyen de data loggers déployés en plantations ou obtenues à partir de bases de données disponibles en ligne.

De façon générale, l'étude de la démographie des insectes ravageurs au laboratoire a montré un grand intérêt pour la compréhension de la dynamique des populations dans leur habitat. Par exemple, les modèles de développement basés sur la température nous ont permis de conclure que les distributions contrastées des insectes ravageurs du café sur les pentes des montagnes d'Afrique de l'Est sont basées sur des exigences et des préférences de température différentes. A ce titre, la distribution du risque d'infestation par l'espèce *A. thunbergii* que nous avons simulée à partir des modèles s'est avérée en accord avec la distribution réelle des populations. Ces résultats renforcent l'intérêt d'une telle approche pour la prévision du risque d'infestation d'une culture par un insecte ravageur, et son application dans le contexte du réchauffement climatique a été souligné. L'étude en milieu réel de l'impact de certains facteurs agroécologiques sur les populations, comme par exemple l'impact de l'ombrage ou des communautés de fourmis sur les populations de mirides du cacaoyer, ont en outre apporté des pistes sérieuses pour la régulation naturelle de ces ravageurs.

Si la température est un facteur crucial du développement des insectes, de nombreux autres facteurs sont impliqués dans la dynamique des populations. Nous avons décrit l'impact de certains d'entre eux sur la distribution des populations de ravageurs dans cette synthèse. Mais la prévision du risque à différentes échelles, du paysage à la parcelle, dont nous avons présenté une ébauche, doit impérativement prendre en compte l'ensemble de ces facteurs. En guise de perspective, il convient d'adopter une approche de modélisation holistique permettant d'intégrer un vaste ensemble de connaissances et de données bioécologiques hétérogènes, allant de données de développement au laboratoire à des données d'interactions avec d'autres composantes biotiques de l'agrosystème, telles que la plante hôte ou les peuplements de fourmis, par exemple. Ce travail est rendu possible par des approches de type inférence bayésienne³⁶ associées à de nouveaux outils tels que les réseaux de neurones artificiels par exemple.

Le deuxième volet de notre synthèse concerne les travaux que nous avons menés pour développer des méthodes de lutte agroécologiques contre les insectes ravageurs. Nous avons pris pour exemple la lutte sémiochimique, pour laquelle nous avons contribué au développement de pièges attractifs à différents stades de maturation : le piège BROCAP® déjà commercialisé en Amérique latine pour la lutte contre *H. hampei* mais dont l'efficacité était à prouver en Afrique, un piège à phéromone pour *S. singularis* dont la phéromone sexuelle a été

³⁶ Lindgren F. & Rue H. (2015) Bayesian Spatial Modelling with R-INLA. *Journal of Statistical Software*, 63, 1–25.

identifiée mais dont le mode de déploiement et l'efficacité en plantation étaient encore à l'étude, et enfin le piège attractif pour *A. thunbergii* pour lequel tout restait à faire. Cette dernière étude a fait l'objet d'une thèse que nous avons encadrée. Dans cette synthèse, nous avons abordé la méthode utilisée pour identifier des composés volatiles bioactifs, méthodes empruntées à l'étude de l'écologie chimique des insectes. Nous avons également rapporté quelques résultats prometteurs pour le développement du piège. Les perspectives de ce travail sont tracées puisqu'un projet de finalisation du piège, le projet TAB « Trapping system for Antestia bugs » a obtenu un financement dans le cadre de l'appel à propositions « soutien à l'innovation et à la maturation de projets de recherche », de la SATT AxLR et de l'I-SITE-MUSE. La mise en œuvre de ce projet qui fait intervenir un partenaire privé en plus du CIRAD et de l'icipe devrait permettre la finalisation d'un cocktail attractif (mélange phéromone et kairomone) et des essais à grande échelle dans différents pays de la région d'Afrique de l'Est.

3. Projet de recherche

La diversification végétale comme moyen de lutte contre le Cocoa swollen shoot virus en Côte d'Ivoire par la régulation naturelle des cochenilles (Hemiptera : Pseudococcidae) vectrices de la maladie.

3.1. Introduction

Le projet que je présente ici s'inscrit dans les missions qui m'ont été confiées par mon unité de recherche en juillet 2019, lors de mon affectation à l'Université Félix Houphouët Boigny (UFHB), à Abidjan, en Côte d'Ivoire. L'une de ces missions est le développement d'un programme de recherche pour la lutte contre la maladie du swollen shoot du cacaoyer, une maladie virale dont les vecteurs sont des cochenilles farineuses (Pseudococcidae). Les grandes lignes du présent projet ont constitué une proposition de recherche qui a été intégrée à une proposition plus importante du CIRAD, le projet Cocoa4Future « Durabilité des systèmes de production et dynamiques nouvelles du secteur cacaoyer ». En décembre 2019, ce projet a obtenu un financement de 7 M€ dans le cadre du programme européen DeSIRA (Development Smart Innovation through Research in Agriculture), dont environ 700 000 € ont été accordés aux activités de recherche sur la maladie du swollen shoot et ses cochenilles vectrices. J'ai été chargé de coordonner ces activités en binôme avec ma collègue de l'UFHB, le Dr. Mauricette Ouali N'Goran.

3.2. Présentation des concepts

Le rôle joué par la biodiversité pour la sécurité alimentaire et une agriculture plus durable n'est plus à démontrer (FAO, 2019). Aujourd'hui, la diversification végétale des cultures est souvent considérée comme la pierre angulaire de l'agroécologie (Altieri, 2002). Dans bien des cas, la diversification végétale fournit des services écosystémiques, équilibrant les agroécosystèmes, les rendant plus résistants aux contraintes exogènes et donc plus durables. Il est connu que l'association de plantes à une culture améliore la régulation naturelle des insectes ravageurs, limitant les pullulations qui rendent souvent indispensable l'usage des insecticides (Risch et al., 1983 ; Ratnadass et al., 2012). Les mécanismes impliqués dans la régulation sont autant de leviers à manipuler pour mettre en œuvre des systèmes agricoles moins dépendants des intrants chimiques et plus respectueux de l'environnement et de la santé humaine. Mais ces mécanismes sont complexes et les méconnaître peut conduire à des effets contraires aux effets escomptés. Pour les mobiliser de façon optimale, nous devons bien en comprendre les différentes composantes.

Les mécanismes de régulation d'un insecte ravageur par la diversification végétale peuvent être représentés par une série de rouages dont le premier élément est une caractéristique de la plante (figure 14). Une fonction est attribuée à cette caractéristique que l'on nomme « trait fonctionnel » en écologie, par exemple, la capacité d'un arbre à ombrager une culture, ou d'une plante nectarifère à attirer les insectes (Cornelissen et al., 2003). Le dernier rouage du mécanisme est un trait d'histoire de vie de l'insecte ravageur, par exemple son développement, conditionné par sa survie, mais aussi ses comportements d'alimentation, de dispersion ou de reproduction. Ces traits de vie déterminent les performances de l'insecte et sa capacité à se multiplier dans l'agroécosystème. Les rouages de début et de fin du mécanisme peuvent être en

contact si le trait fonctionnel de la plante affecte directement le trait de vie de l'insecte. Un premier exemple de mécanisme direct est illustré par l'hypothèse de concentration de la ressource, qui assume qu'un insecte ravageur est plus abondant si sa plante hôte est cultivée en monoculture et à forte densité (Andow, 1991). Une plante associée à une culture occupe ainsi un espace qui n'est plus occupé par la plante-hôte du ravageur. Son comportement d'alimentation en est perturbé ce qui nuit à son développement. Un autre exemple est l'effet barrière : la plante par l'espace qu'elle occupe peut gêner le vol d'un insecte et ainsi perturber son comportement de dispersion ou de recherche du partenaire sexuel et ainsi réduire son succès reproducteur (Hook and Fereres, 2006).

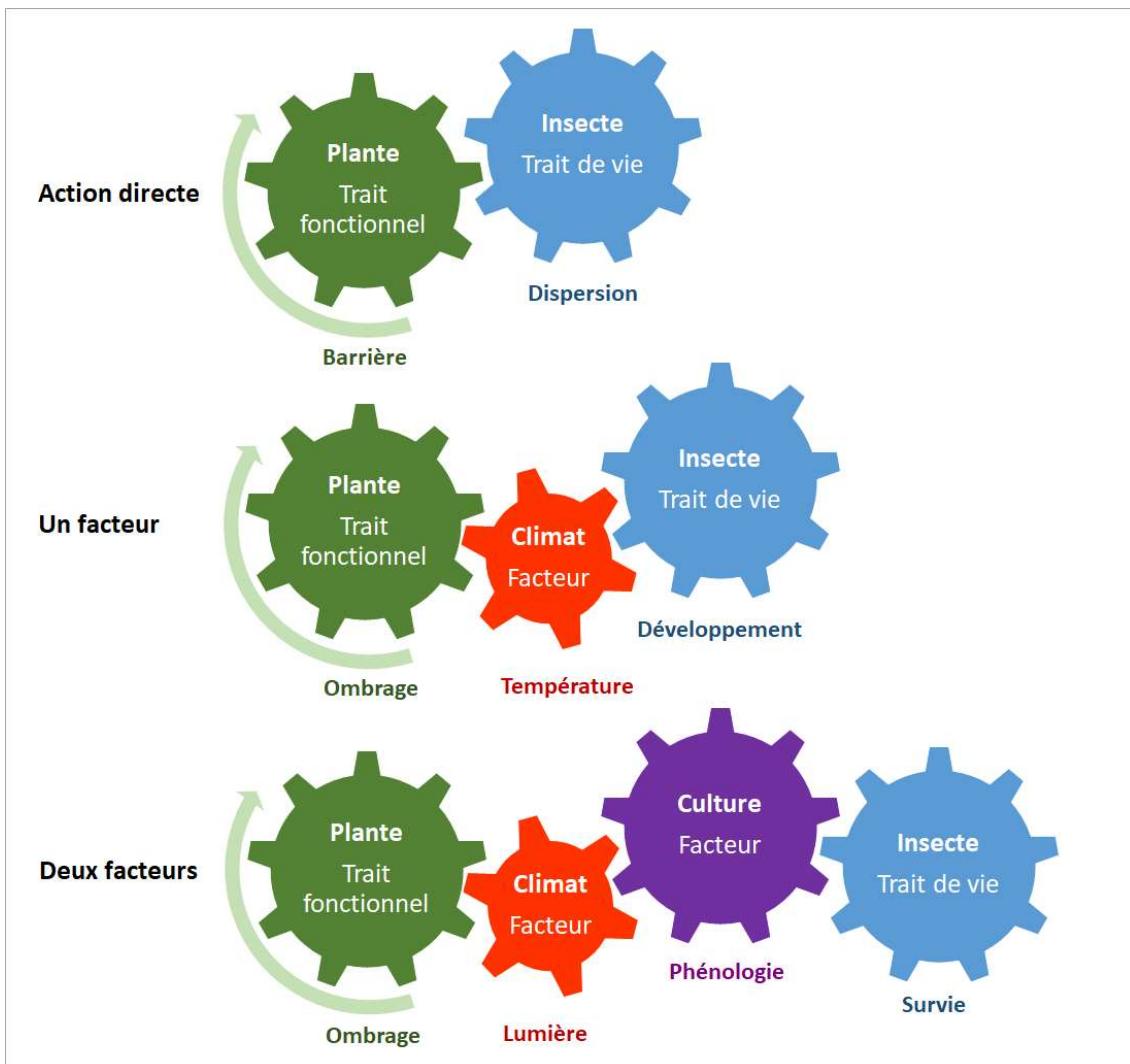


Figure 14 : Schéma conceptuel illustrant différents degrés de complexité des processus de régulation des insectes ravageurs par la diversification végétale et donnant quelques exemples des mécanismes et facteurs impliqués.

Dans la plupart des cas, un ou plusieurs rouages s'ajoutent au mécanisme. Ces rouages sont autant de facteurs qui peuvent être biotiques, lorsqu'ils impliquent une interaction entre êtres vivants, ou abiotiques s'il s'agit de facteurs physico-chimiques propres à l'agroécosystème. Un premier exemple de facteur abiotique est le climat. Un arbre d'ombrage associé à une culture modifie le microclimat en faisant baisser la température par exemple, ce qui peut ralentir le

développement d'un insecte ravageur (Pumariño et al., 2015). A ce mécanisme peut s'ajouter une quatrième composante biotique cette fois, la plante hôte : l'arbre associé à la culture réduit la lumière parvenant à la plante, modifiant ainsi son fonctionnement physiologique et sa teneur en azote par exemple, ce qui peut affecter la survie de l'insecte qui s'en nourrit (Sileshi et al., 2008). Un autre exemple de mécanisme indirect de régulation au sein des agroécosystèmes est lié aux interactions trophiques impliquant les insectes ravageurs et leurs ennemis naturels. Une plante associée à une culture peut être une source directe d'alimentation pour un ennemi naturel d'un insecte ravageur. Par exemple, une plante nectarifère apporte aux insectes parasitoïdes le sucre nécessaire à leur activité et favorise ainsi leur multiplication au détriment de l'insecte ravageur (Bostanian et al., 2004). Une plante peut également héberger les proies phytophages de prédateurs généralistes, comme les coccinelles par exemple, qui voient ainsi leur ressource alimentaire se diversifier et leur chance de survie augmenter (Shanker et al., 2018). Enfin la plante peut héberger un ennemi naturel parce qu'elle constitue un site de nidification (cas des fourmis arboricoles par exemple) ou simplement un lieu où s'abriter lorsque la culture principale ne le permet pas (Macfadyen and Muller, 2013).

La complexité du processus de régulation vient non seulement du nombre de composantes qui le constituent, mais également du fait que chacune de ses composantes biotiques agit elle-même sous l'influence de plusieurs facteurs biotiques et abiotiques. Par exemple, la présence d'un ennemi naturel peut être favorisée par l'association d'arbres à fleurs, mais leur activité réduite par la modification du microclimat ou la compétition, voire la prédation intra-guilde (Finke and Denno, 2003). Le mécanisme de régulation se complique encore davantage si la composante spatio-temporelle est prise en compte. Les traits fonctionnels des plantes et les traits de vie des insectes s'expriment de façon différente en fonction de leur phénologie et de leur milieu de vie, même à petite échelle. Ainsi, il est primordial d'adopter une approche holistique, prenant en compte les cycles biologiques, les dynamiques de populations et l'agroécosystème dans son ensemble. Enfin, un agroécosystème ne peut être considéré comme un milieu isolé. Il fonctionne sous l'influence de facteurs abiotiques, comme le sol ou le climat, dont les causes et les effets dépassent largement l'espace qu'il occupe. Par ailleurs, il interagit avec son environnement proche de par les mouvements migratoires, volontaires ou non, des êtres vivants qui le composent. C'est pourquoi l'échelle du paysage doit, elle aussi, être prise en compte pour mieux comprendre ces mécanismes de régulation (Veres et al., 2013).

3.3. Modèle biologique : les cochenilles (Hemiptera : Pseudococcidae) vectrices de la maladie du Cocoa swollen shoot virus dans les agroécosystèmes de cacaoyers en Côte d'Ivoire

3.3.1. Importance économique

La Côte d'Ivoire est le premier pays producteur mondial de cacao depuis le milieu des années 1970. La filière fait vivre plusieurs millions de personnes dont environ 800 000 producteurs, et contribue à près de 70% des revenus d'exportation du pays (Douet and Mieu, 2016). Il est difficile d'évaluer la surface cultivée de cacaoyers en Côte d'Ivoire car elle est en constante progression ; cette progression se fait généralement au détriment de la forêt, y compris dans les zones protégées dites de forêt classée (Lauginie, 2007).

Notre projet de recherche s'intéresse aux cochenilles vectrices de la maladie du cacaoyer généralement connue sous sa dénomination anglaise de Cocoa swollen shoot virus (en français, virus des pousses gonflées du cacaoyer). Cette maladie virale est endémique de l'Afrique de

l'ouest où elle menace la cacaoculture au Togo, au Nigeria, en Sierra Leone, et surtout au Ghana et en Côte d'Ivoire, ces deux derniers pays produisant à eux-seuls près de 70% du cacao mondial (Andres et al., 2017). Décrise pour la première fois au Ghana en 1936, elle connaît depuis le début des années 2000 une recrudescence en Côte d'Ivoire, qui fait qu'aujourd'hui 300 000 ha de verger seraient touchés, répartis dans la plupart des zones de production du pays (Aka et al., 2020). Les principaux symptômes de la maladie sont un gonflement des rameaux et des racines et une chlorose des feuilles, dont les nervures se colorent de rouge, symptôme particulièrement visible sur les jeunes feuilles (figure 15). Les cabosses apparaissent également plus rondes et les fèves qu'elles contiennent sont malformées. Ces dégâts entraînent une perte de productivité importante et la mort des arbres en 3 à 5 ans (Kouakou et al., 2011).



Figure 15 : Images illustrant les principaux symptômes et les dégâts occasionnés par la maladie du cocoa swollen shoot virus. A : apparition de taches rouges autour des nervures des jeunes feuilles, B : gonflement des rameaux (ici un gourmand), C : déformation des cabosses qui prennent une forme arrondie, D : les cacaoyers atteints meurent en quelques années.

Pour faire face, le gouvernement de Côte d'Ivoire a débloqué en 2018 un budget d'environ 60 M€ pour l'arrachage et la replantation, qui restent aujourd'hui la seule méthode de lutte jugée efficace pour enrayer la progression de la maladie (Aka et al., 2020).

3.3.2. Virus du swollen shoot et mode de vécion

Au moins une dizaine d'espèces de virus de la famille des Caulimoviridae et du genre *Badnavirus* seraient responsables des symptômes plus ou moins graves de la maladie du swollen shoot du cacaoyer (Muller et al., 2018). Ces virus n'étant observés qu'en Afrique de l'ouest, et non en Amérique latine la région d'origine du cacaoyer, il est probable qu'ils aient été transmis au cacaoyer à partir de plantes hôtes sauvages, de la famille des Malvaceae notamment, présentes dans le milieu naturel (Muller et al., 2018). Dans les organes infectés de la plante, le virus est surtout présent dans les cellules compagnes du phloème ce qui suggère que seuls les insectes piqueurs-suceurs s'alimentant aux dépens du phloème (mais pas exclusivement) seraient vecteurs (Jacquot et al., 1999). Des tests de transmission réalisés sur divers groupes d'insectes piqueurs-suceurs ont montré que seules les cochenilles farineuses (Hemiptera : Pseudococcidae) sont vectrices de ces virus (Box, 1945 ; Posnette and Strickland, 1948). Ces dernières s'alimentent en effet de sève élaborée qu'elles aspirent en perforant de leurs stylets les vaisseaux du phloème (Obok et al., 2018). Il a été montré que la transmission pouvait également avoir lieu lors du bouturage (Posnette and Strickland, 1948).

Le mode de vécion du swollen shoot par les cochenilles est de type semi-persistant : le virus est non circulant, c'est-à-dire qu'il reste confiné aux stylets de l'insecte et ne pénètre pas ses tissus (Posnette and Robertson, 1950). Le virus n'est donc pas multipliant, c'est-à-dire qu'il ne peut pas se développer dans le corps des cochenilles et il ne peut pas non plus être transmis par la femelle à sa descendance. Le virus est évacué au moment des mues qui permettent le développement de l'insecte. Une étude de Roivainen (1976) montre que les chances de transmission du virus sont d'autant plus élevées que la période d'acquisition du virus par la cochenille lors de l'alimentation sur une plante infectée est longue. Le taux de transmission maximum est obtenu à la suite d'une période d'acquisition de 16 heures. Cette étude montre également que la durée de latence est quasiment nulle : une cochenille peut inoculer le virus moins d'une heure après l'acquisition. Par ailleurs, la période de rétention, pendant laquelle la cochenille est infectieuse est relativement courte. Des tests d'inoculation ont montré qu'une cochenille infectieuse ne peut pas infecter plus de deux plantes (Roivainen, 1976). Une période de rétention maximale de 2 jours a toutefois été obtenue par cet auteur en gardant les cochenilles sans alimentation.

3.3.3. Ecobiologie des cochenilles vectrices du swollen shoot

Espèces impliquées

On dénombre environ 16 espèces de cochenilles vectrices du swollen shoot en Afrique de l'ouest (Wetten et al., 2016) et 8 en Côte d'Ivoire (N'Guessan et al, 2019). Dans ce pays, les espèces les plus abondantes sur le cacaoyer sont *Formicococcus njalensis* (Laing) et *Planococcus citri* (Risso) qui représentent plus de 75% des individus observés (N'Guessan et al, 2019) (figure 16). *F. njalensis* est de loin l'espèce la plus abondante dans les plantations adultes. Il s'agit d'une espèce forestière qui prolifère dans les plantations fermées et ombragées (Strickland, 1951a). Au contraire, *P. citri* préfère les climats plus secs et s'installe facilement dans les jeunes plantations ouvertes où elle semble bénéficier d'un micro-climat plus sec et chaud (N'Guessan et al, 2019). Les autres espèces de cochenilles vectrices en Côte d'Ivoire sont moins fréquentes sur le cacaoyer. Il s'agit de *Ferrisia virgata* (Cockerell), *Pseudococcus longispinus* (Targioni Tozzetti), *Planococcus kenyae* (Le Pelley), *Phenacoccus hargreavesi* (Laing), *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) et *Maconellicoccus hirsutus* (Green). Récemment, une neuvième espèce de cochenilles farineuses a été décrite pour la première fois sur le cacaoyer

en Côte d'Ivoire, *Pseudococcus jackbeardsleyi*, mais sa capacité à transmettre le virus du swollen shoot n'a pas encore été démontrée (N'Guessan et al, 2014). La plupart des espèces citées sont cosmopolites et polyphages. Seules *F. njalensis*, *P. kenyae* et *P. hargreavesi* ont une distribution exclusivement africaine (García Morales et al., 2016).

Dynamique spatio-temporelle du complexe cochenilles-virus

Des observations des symptômes de la maladie du swollen shoot indiquent que sa propagation dans une plantation se fait de deux manières distinctes : la propagation radiale, c'est-à-dire une progression continue à partir de la bordure d'un foyer existant, et la propagation par sauts qui engendre de nouveaux foyers à une distance plus ou moins grande d'un foyer existant. Aussi, de nouveaux foyers apparaissent parfois dans une plantation sans qu'aucun foyer ne soit présent dans la zone. Ces deux modes de dispersion s'expliquent par les mouvements des populations des cochenilles (Cornwell, 1958).

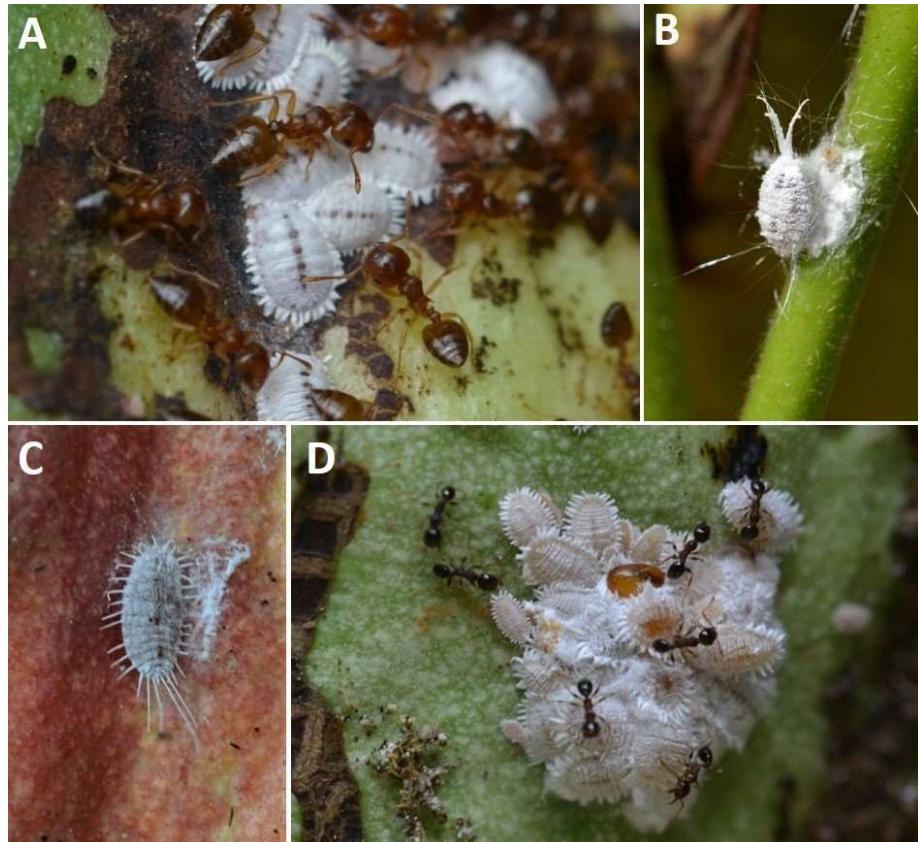


Figure 16 : Les espèces de cochenilles farineuses (Hemiptera : Pseudococcidae) vectrices du Cocoa swollen shoot virus les plus couramment observées dans les plantations de cacaoyers en Côte d'Ivoire. A : *Formicococcus njalensis* (Laing), B : *Ferrisia virgata* (Cockerell), C : *Pseudococcus longispinus* (Targioni Tozzetti) et D : *Planococcus citri* (Risso). Notez les interactions avec les fourmis.

Comparées à celles observées sur d'autres plantes, les densités de populations des cochenilles farineuses sur le cacaoyer restent généralement faibles, avec une moyenne d'environ 70 individus par cacaoyer (Strickland, 1951a). Une étude menée au Ghana a montré que les trois quarts des populations de *F. njalensis* sont présents sur les jeunes pousses dans la frondaison, le reste de la population se répartissant entre les cabosses, l'écorce des branches et du tronc, les

feuilles et les gourmands (Strickland, 1951a). Chez *Formicococcus njalensis* et la plupart des autres espèces, le 1^{er} stade larvaire, dit « crawler » est de loin le plus mobile et semble avoir pour vocation de s'éloigner de la colonie établie pour en former un nouvelle. S'ils sont dérangés, les stades larvaires plus âgés et les jeunes adultes peuvent se déplacer lentement et sur de courtes distances (Strickland, 1951a).

Ainsi, la progression radiale d'un foyer de maladie est-elle principalement liée à la migration des crawlers d'un cacaoyer à son voisin, parfois par le sol, mais surtout par les frondaisons des arbres qui très généralement s'entrecroisent dans les cacaoyères adultes (Cornwell, 1958). Dans des conditions où la ressource alimentaire est suffisante et stable, la température semble être le principal facteur qui influence les mouvements de migrations des crawlers. Au Ghana, Cornwell (1958) a montré que les mouvements migratoires se déclenchent lorsque la température atteint 23,5°C et que cette activité est maximale au milieu de l'après-midi. Les stades larvaires plus âgés et les adultes peuvent être transportés sur un cacaoyer, ou d'un cacaoyer à l'autre par les fourmis, en particulier du genre *Crematogaster*.

La progression par sauts d'un foyer de maladie, quant à elle, semble surtout liée aux mouvements aériens des cochenilles qui peuvent être entraînées par le vent sur de plus ou moins longues distances (Strickland, 1950 ; Cornwell, 1960). Les stades les plus âgés de l'espèce *P. citri* semblent sensibles aux vents soutenus qui peut les décrocher des branches de cacaoyer et les entraîner latéralement sur une dizaine de mètres. Dans un milieu ouvert où les vents sont plus violents la distance parcourue peut dépasser 100 m (Cornwell, 1960). Chez *P. citri*, la cire cotonneuse des ovisacs est particulièrement abondante et pourrait participer à la dispersion des œufs et jeunes stades par le vent (Strickland, 1951a). D'autres espèces comme *Ferrisia virgata* développe très tôt de long filaments cireux à l'extrémité de l'abdomen qui facilitent leur dispersion par le vent (Strickland, 1951a) (figure 16). Il semble que les vents soutenus de l'harmattan en saison sèche soient particulièrement propices à la dispersion des cochenilles (Cornwell, 1960). Toutes les cochenilles vectrices du swollen shoot sont polyphages et la présence de leurs plantes hôtes dans l'environnement des plantations a certainement un rôle important sur leur dynamique. Le fait que certaines de ces plantes hôtes soient également des réservoirs du virus du swollen shoot, comme c'est le cas de Malvacées telles que le kapokier, *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn., les kolatiers, *Cola* spp., ou *Bombax buonopozense* P. Beauv., pourrait expliquer l'émergence de la maladie loin de tout foyer préexistant.

Relations avec les fourmis

Dans les cacaoyères, comme dans la plupart des écosystèmes tropicaux, les fourmis occupent une place importante, tant par leur biomasse que par les fonctions qu'elles occupent au sein des communautés. Au Ghana, Strickland (1951b) montre que près de 60% des communautés de fourmis (Hymenoptera : Formicidae) des cacaoyères sont associées aux cochenilles vectrices du swollen shoot, ce qui représente environ 70 espèces de fourmis différentes. Les autres espèces sont soit associées à d'autres hémiptères soit uniquement prédatrices. Ces associations sont des trophobioses : en échange du miellat qu'elles produisent, les fourmis protègent les cochenilles des conditions climatiques extrêmes, en particulier des rayons directs du soleil et des pluies violentes, et de leurs ennemis naturels. Pour cela, elles les couvrent généralement de fines constructions de terre ou de carton (Strickland, 1951b). Dans les cacaoyères du Ghana, *Oecophylla longinoda* (Latreille) (Formicinae) est l'espèce dominante. Sur le cacaoyer, cette espèce est plutôt inféodées aux cochenilles de la famille des Stictococcidae qui ne sont pas vectrices du swollen shoot. Le genre *Crematogaster* Lund (Myrmicinae) est le genre dominant et comporte les principales espèces inféodées aux

Pseudococcidae. Les relations dominant-dominé qui équilibrent les communautés de fourmis présentent un intérêt pour la régulation naturelle des cochenilles vectrices.

Ennemis naturels

Les interactions fortes qu'entretiennent les cochenilles avec les fourmis constituent certainement le principal facteur expliquant le fait que ces cochenilles sont relativement préservées de leurs ennemis naturels. Ainsi, le taux de parasitisme des cochenilles farineuses par des hyménoptères parasitoïdes est très faible dans les cacaoyères. Strickland (1951b) l'estime à moins de 3% pour l'ensemble des espèces de parasitoïdes dans une étude menée au Ghana. Les espèces impliquées sont pourtant relativement nombreuses, puisque Strickland (1951a) en rapporte 13 pour la seule cochenille *F. njalensis*. Au Ghana, Ackonor (2002) rapporte que l'espèce *Aenasius abengouroui* (Risbec) (Hymenoptera : Encyrtidae) est la plus commune et est responsable du parasitisme de 4,6% des cochenilles collectées. Les prédateurs les plus importants des cochenilles vectrices sont les cécidomyies (Diptera : Cecidomyiidae), dont les larves s'alimentent en aspirant le contenu de leur proie. L'espèce observée le plus souvent au Ghana est *Coccodiplosis coffeae* Barnes (Ackonor, 2002). Les larves et adultes de coccinelles (Coleoptera : Coccinellidae) sont également des prédateurs des cochenilles vectrices. *Platynaspis*, *Hyperaspis* et *Scymnus* sont des genres cités du Ghana (Strickland, 1951a ; Ackonor, 2002).

3.3.4. Les agroécosystèmes à base de cacaoyers en Côte d'Ivoire

Le cacaoyer est une plante originaire de l'Amérique du Sud et elle a été introduite en Côte d'Ivoire à la fin du 19^{ème} siècle (Bardin, 1937). Le cacaoyer est aujourd'hui cultivé dans la majeure partie de la zone forestière de Côte d'Ivoire, qui représente grossièrement la moitié sud du pays. La pluviométrie de la zone de production est située entre 1200 et 1700 mm par an et la température moyenne annuelle est relativement homogène entre 25 et 27°C (Eldin, 1951). La végétation naturelle est la forêt dense humide, qui se décompose du nord au sud en forêt mésophile, forêt dense ombrophile et forêt dense hyperombrophile (Lauginie, 2007 ; Konaté and Kampmann, 2010). La forêt d'origine a été fortement dégradée par des pratiques agricoles itinérantes et l'installation de cultures de rente, à tel point qu'elle a aujourd'hui totalement disparu dans la majorité de la zone, où elle est remplacée par de vastes surfaces de friches et de cultures (Lauginie, 2007).

L'histoire de la culture du cacaoyer en Côte d'Ivoire fait qu'aujourd'hui la zone de production peut être divisée en trois parties : i) la zone ancienne de production, encore appelée 1^{ère} boucle du cacao située à l'est et au sud-est du pays et caractérisée par des plantations vieillissantes qui sont progressivement remplacées par d'autres cultures ; ii) la zone intermédiaire localisée au centre-ouest et caractérisée par une cacaoculture stagnante, tant d'un point de la production que des surfaces cultivées ; iii) la nouvelle zone de production, encore appelée nouvelle boucle du cacao, localisée au sud-ouest et à l'ouest du pays, qui connaît depuis les années 80 une forte expansion (Assiri et al., 2009).

Les principales caractéristiques agronomiques des cacaoyères ivoiriennes peuvent être résumées ainsi (Assiri et al., 2009) :

- Les plantations sont majoritairement des exploitations familiales dont les surfaces moyennes oscillent entre 2 et 10 ha en fonction des zones (moyenne globale d'environ 6 ha).

- Environ 60% des plantations sont âgées de 10 à 30 ans, c'est-à-dire qu'elles sont en pleine production ; cependant le rendement moyen reste faible avec 395 kg/ha (une plantation en milieu paysan peut produire 2000 kg/ha contre 3000 kg/ha pour une plantation en station de recherche).
- Près de 80% des plantations ont été installées après avoir défriché la forêt et plus de la moitié des plantations sont installées à partir de semis directs de graines (sans pépinières) provenant de plantations environnantes (peu d'utilisation de variétés améliorées)
- 36% des plantations sont cultivées en cacao pur de plein soleil, contre 44% avec un ombrage faible à léger (< 10 arbre/ha) et 20% avec un ombrage moyen à fort.
- Près de la moitié des plantations ne sont pas traitées à l'aide d'insecticides et très peu reçoivent de l'engrais.

D'une histoire riche de près d'un siècle, doublée d'un contexte environnemental contrasté, sont nés des systèmes de cacaoculture dont la variété est encore accentuée par des pratiques agricoles hétérogènes, souvent éloignées des recommandations de la recherche. Il n'en reste pas moins que les systèmes de monoculture de cacao sont aujourd'hui très majoritaires en Côte d'Ivoire et dominent les paysages agricoles de certaines régions sur des milliers d'hectares de plantations continues. Ces systèmes peu diversifiés sont aujourd'hui pointés du doigt, car ils seraient en partie responsables de la résurgence et de l'expansion de la maladie du swollen shoot depuis le début des années 2000. La maladie, lorsqu'elle apparaît dans une zone, trouve en effet peu d'obstacles à sa progression dans les plantations et d'une plantation à une autre. Par ailleurs, le réchauffement climatique, amplifié en Côte d'Ivoire par la déforestation, pourrait être favorable à ses vecteurs, en particulier à l'espèce *P. citri* qui prolifère dans les plantations au micro-climat chaud et sec.

Aussi, le présent projet se propose de promouvoir la diversification végétale des plantations pour en améliorer la durabilité. La maladie du swollen shoot en est la cible principale car elle est une menace à court terme, qui nécessite une action rapide, basée sur une connaissance accrue de la biologie et de l'écologie du virus et de ses cochenilles vectrices. Mais apporter de la diversité à une plantation, c'est aussi pour le planteur s'assurer des revenus plus variés et mieux répartis sur l'année ; c'est bénéficier d'agrosystèmes plus équilibrés et moins sensibles aux contraintes phytosanitaires ; c'est contribuer au maintien de la biodiversité dont les bénéfices pour l'homme ne sont plus à démontrer.

3.4. Hypothèse de recherche et objectifs

Notre principale hypothèse de recherche est qu'en adoptant des pratiques raisonnées de diversification végétale, les planteurs de cacao de Côte d'Ivoire peuvent limiter le risque d'infection de leur cacaoyer par le swollen shoot en améliorant la régulation naturelle des cochenilles vectrices par la création de conditions moins favorables à leur survie et à leur développement.

La figure 17 schématise les processus de régulation que nous allons explorer. Nous considérerons le complexe du swollen shoot comme composé de trois groupes biologiques distincts : les virus, les peuplements de cochenilles vectrices et les communautés de fourmis. Ces groupes interagissent directement et étroitement au sein du complexe. Ce dernier sera étudié au sein de l'agroécosystème à base de cacaoyer, lui-même considéré au sein de son environnement, c'est-à-dire les paysages agricoles et les conditions pédoclimatiques qui

l'accueillent. L'étude du complexe du swollen shoot sera donc conduite à trois échelles spatiales distinctes : le cacaoyer, la parcelle et le paysage.

Notre projet s'intéressera particulièrement aux effets directs de la diversité végétale sur le complexe du swollen shoot à l'échelle de la parcelle et du paysage. Nous étudierons également les effets indirects de la diversité végétale, en particulier le rôle du microclimat et des ennemis naturels des cochenilles sur le complexe du swollen shoot.

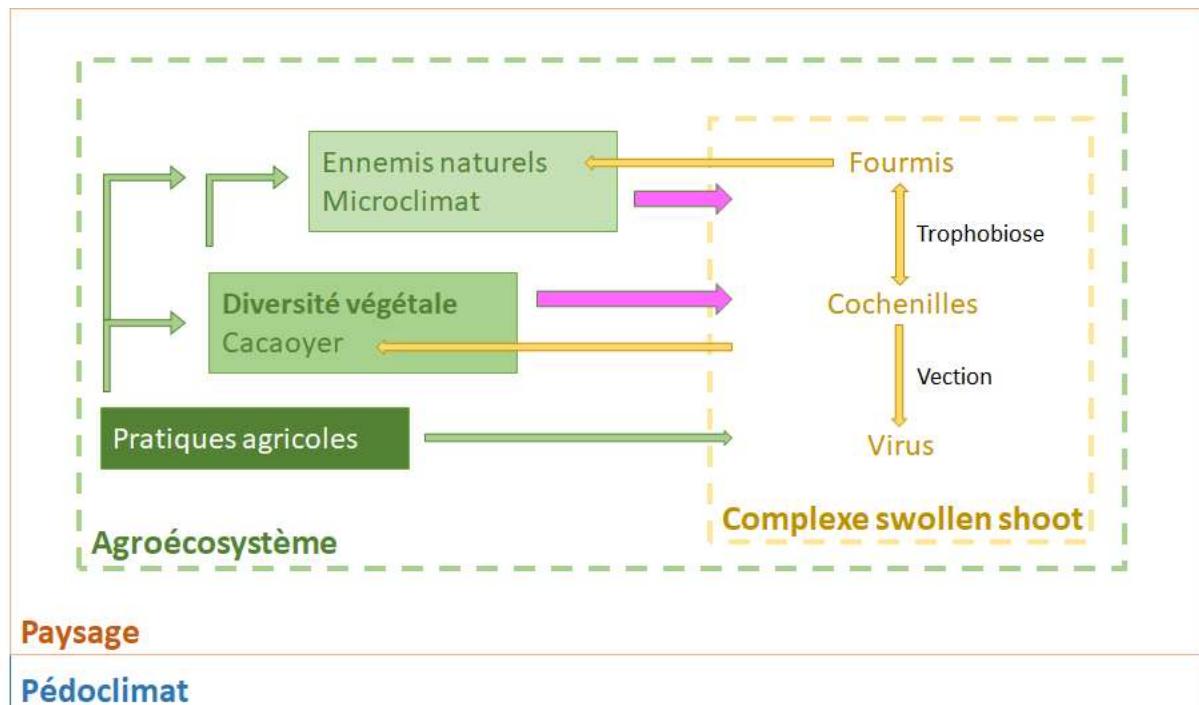


Figure 17 : représentation schématique des processus de régulation du complexe du swollen shoot par la diversification végétale. Les flèches roses signalent les mécanismes que notre projet étudiera de façon plus approfondie.

Objectifs

L'objectif général de notre projet est d'apporter aux planteurs de cacao une solution durable basée sur la diversification végétale pour enrayer la propagation de la maladie du swollen shoot dans les cacaoyères de Côte d'Ivoire.

Plus spécifiquement, il s'agit de :

- Caractériser l'effet de la diversité du couvert végétal à l'échelle du paysage sur le complexe du swollen shoot, avec un accent sur la diversité du virus et des réseaux trophiques impliquant les cochenilles vectrices (plantes hôtes, peuplements de cochenilles, communautés de fourmis et ennemis naturels).
- Caractériser l'impact du climat sur le développement des cochenilles vectrices, leur capacité de vection et l'expression des symptômes de la maladie sur le cacaoyer. En

accent sera porté sur les deux espèces de cochenilles majoritaires en Côte d'Ivoire, *Formicococcus njalensis* et *Planococcus citri*.

- Caractériser l'impact de la structure et de la composition d'agroécosystèmes à base de cacaoyer plus ou moins diversifiés sur la dynamique spatio-temporelle du complexe du swollen shoot à l'échelle de la parcelle.
- Evaluer une méthode de lutte contre la maladie du swollen shoot basée sur la diversification végétale : la plantation de haies autour des cacaoyères faisant office de barrières végétales perturbant la dispersion des cochenilles vectrices.
- Développer un outil d'aide à la décision à destination des planteurs pour protéger leurs plantations de la maladie du swollen shoot par la diversification végétale.

3.5. Éléments de méthode

Nous déclinons ici les objectifs spécifiques en activités, en donnant pour chacune d'entre elle, un court descriptif, quelques éléments de méthode et les livrables attendus.

Activité 1 : Impact des paysages agricoles sur l'occurrence et la diversité du virus, des cochenilles vectrices et de l'entomofaune utile associée

Descriptif - Le climat, le sol, le relief, la végétation, l'usage des terres et le degré d'intensification agricole sont autant de variables paysagères qui impactent potentiellement la maladie et ses vecteurs. Cette activité a pour principal objectif de déterminer les composantes paysagères impliquées dans l'émergence de foyers d'infection par la maladie (fragmentation, disponibilité en habitat et ressources alimentaires, l'abondance et l'efficacité des fourmis et ennemis naturels associés). Faisant appel à l'écologie du paysage, elle couvrira l'ensemble de la zone de production ivoirienne et caractérisera la diversité du virus et des cochenilles vectrices, le degré d'intensification, la diversité végétale et les réseaux trophiques allant des plantes hôtes alternatives aux ennemis naturels des cochenilles, notamment.

Méthodologie - Nous mènerons des observations ponctuelles et des collectes de virus et d'insectes sur un vaste réseau de plantations sélectionnées suivant la diversité des paysages agricoles qui les accueillent. Différentes variables seront mesurées à l'échelle du paysage par télédétection, avec comme points centraux les plantations sélectionnées. Une fois extraits des images satellites, les éléments paysagers pourront être quantifiés à partir de variables paysagères. Des indices de composition et de diversité pourront par exemple être calculés à partir de modules SIG dédiés à l'écologie du paysage. Ces indices donneront une information quantitative sur le degré d'intensification des plantations de cacaoyers et ainsi permettront de choisir des sites d'observation représentatifs de la diversité des paysages. Les souches de virus et insectes collectés seront identifiés morphologiquement et par barcoding et l'outil de métabarcoding sera également utilisé pour la caractérisation des réseaux trophiques et l'estimation des taux de parasitisme et de prédation. Les éléments paysagers influençant la distribution des cochenilles et de la maladie pourront être identifiés par la modélisation, en utilisant la méthode du "data learning" par exemple.

Activité 1 - livrables attendus :

- Validation des images satellites pour caractériser le paysage Ivoirien et l'historique de la localisation des foyers de swollen shoot
- Différentes bases de données inventoriant les souches du swollen shoot, les espèces de cochenilles potentiellement vectrices, l'entomofaune associée (fourmis, ennemis naturels), les plantes hôtes alternatives
- Des cartes de distribution de la maladie et de ses vecteurs
- Une liste d'ennemis naturels potentiellement utilisables en lutte biologique contre les cochenilles vectrices
- Une liste hiérarchisée de variables paysagères impliquées dans l'occurrence des cochenilles vectrices et l'émergence de foyers de maladie

Activité 2 : Impact du climat sur le développement des cochenilles vectrices du swollen shoot, leurs capacités de vécion et l'expression des symptômes de la maladie

Descriptif - Cette activité devra développer des modèles de prévision d'expression de la maladie basés sur les variables climatiques, principalement la température et l'humidité relative. Nous nous intéresserons à la fois à l'impact de ces variables sur le développement des principales espèces de cochenilles vectrices et sur leur capacité de vécion, mais également sur le développement du virus et de son impact sur la plante. Les modèles développés contribueront à une meilleure compréhension de l'épidémiologie de la maladie et au développement d'outils d'évaluation du risque d'infection en fonction du climat ou microclimat.

Méthodologie - Cette activité se déroulera principalement au laboratoire, à la fois au Cirad à Montpellier et à l'université Félix Houphouët Boigny à Abidjan. Au CEA-CCBAD (Centre d'Excellence Africain sur le Changement Climatique, la Biodiversité et l'Agriculture Durable) de l'UFHB, les deux principales espèces de cochenilles vectrices, *Formicococcus njalensis* et *Planococcus citri* seront élevées à 7 températures constantes au sein de chambres climatiques. Une analyse des tables de vie des insectes fournira les paramètres démographiques qui seront ensuite utilisés pour modéliser l'effet de la température sur le développement. A l'UMR PHIM (Plant Health Institute of Montpellier), de jeunes plants de cacaoyers sensibles à la maladie du swollen shoot seront inoculés artificiellement par le virus et maintenus à température constante dans des chambres climatiques. Il sera ainsi possible d'étudier l'impact de la température sur l'expression de la maladie. Par ailleurs, l'impact de la température sur les capacités de vécion par la cochenille *Planococcus citri* (l'un des principaux vecteurs en Côte d'Ivoire) sera également étudiée à l'UMR PHIM.

Activité 2 - livrables attendus :

- Des connaissances sur les traits de vie des cochenilles vectrices du CSSV, cycle de développement, paramètres démographiques, reproduction, comportements
- Des méthodes d'élevage des cochenilles
- Des modèles de développement des cochenilles en fonction de la température et les normes thermiques associées à ces modèles
- Des connaissances sur les mécanismes de vécion de la maladie par les cochenilles
- Des modèles d'expression de la maladie du CSSV en fonction de la température

Activité 3 : Impact des conditions parcellaires sur les dynamiques spatio-temporelles du complexe du swollen shoot

Descriptif - Cette activité devra construire un outil (modèle) de prévision du risque de propagation des foyers de swollen shoot, centré sur les dynamiques spatio-temporelles de la maladie, des cochenilles vectrices et de l'entomofaune associée. Il nous faudra donc décrire ces dynamiques dans des systèmes de cacaoculture plus ou moins diversifiés et identifier les facteurs agroécologiques impliqués dans cette dynamique. Ces systèmes seront caractérisés pour certains facteurs biophysiques (pédo climat, microclimat, diversité et structure de la végétation, communautés de fourmis) et des variables liées aux pratiques culturales seront également caractérisées (densité de plantation, taille, ombrage). En comprenant mieux l'impact de ces facteurs sur l'expansion de la maladie du swollen shoot, nous serons en mesure d'identifier des leviers de régulation qui pourront être la base de méthodes de lutte innovantes.

Méthodologie - Les observations se dérouleront dans un réseau d'une trentaine de plantations sélectionnées 1) parce qu'elles hébergent un foyer de swollen shoot et 2) pour leur intérêt agroécologique (diversité des conditions de culture). La sélection s'appuiera sur les résultats des autres activités du projet. Les éléments végétaux composants les plantations, c'est-à-dire les cacaoyers et les plantes associées seront cartographiés par télédétection et par des mesures de terrain. Il sera ainsi possible, par des observations régulières, de caractériser à l'échelle de la plantation la distribution spatiale des symptômes de la maladie et des populations de cochenilles vectrices et son évolution dans le temps. Des indices de structure pourront être utilisés pour déterminer si la distribution de certains éléments composants la parcelle favorise ou freine la dispersion spatiale des cochenilles. L'ombrage sera mesuré au moyen de photographies hémisphériques et le microclimat par l'utilisation de data loggers. Les communautés de fourmis seront également caractérisées et cartographiées de façon à mieux comprendre les interactions qu'elles entretiennent avec les cochenilles vectrices. Des outils de modélisation spatiale seront utilisés.

Activité 3 - livrables attendus :

- Un jeu de cartes de plantation présentant certains facteurs agroécologiques
- Des modèles et cartes de distribution spatiale de la maladie du swollen shoot et des populations de cochenilles vectrices
- La liste hiérarchisée des facteurs agroécologiques impliqués dans la dynamique spatio-temporelle de la maladie et de ses cochenilles vectrices
- Une liste de leviers d'action pour la lutte agroécologique contre la maladie du swollen shoot.
- Un modèle permettant d'évaluer l'extension potentielle d'un foyer en fonction des conditions parcellaires et de l'environnement proche de la parcelle.

Activité 4 : Évaluation en plantations paysannes de l'efficacité des plantes barrières comme moyen de limiter la propagation de la maladie du swollen shoot

Descriptif - En Côte d'Ivoire, les cacaoyers sont souvent plantés sur de vastes surfaces ininterrompues bien que composées d'une multitude de parcelles paysannes différentes. Ces systèmes seraient propices à l'expansion de la maladie du swollen shoot car ils n'offrent aucune barrière à sa progression. Une méthode pour limiter ce phénomène est de planter des haies entre les parcelles. Les barrières végétales ont montré une certaine efficacité lors de l'installation de

jeunes parcelles au Togo (Oro et al, 2012) et sur des parcelles adultes au Ghana (Andres et al, 2017). Cette activité a donc pour objectif de tester les barrières végétales dans les conditions de la Côte d'Ivoire. Nous nous attacherons à mieux comprendre les mécanismes impliqués dans les effets barrières en nous intéressant particulièrement aux modes de dispersion des cochenilles et à l'entomofaune utile hébergée par les plantes barrières.

Méthodologie - Cette activité sera conduite au sein d'un réseau de parcelles entourées de haies, mis en place en 2019 au sein de foyers de swollen shoot en milieu paysan. Des barrières de cafiers (*Coffea canephora*) et d'*Acacia auriculiformis* ont été mises en place autour de jeunes plantations. Des observations régulières permettront de caractériser la dynamique spatio-temporelle de la maladie, des principales cochenilles vectrices et de l'entomofaune associée (fourmis et ennemis naturels) de part et d'autre des barrières et sur les barrières elles-mêmes. Ces observations seront complétées par des collectes d'insectes par fauchage de la végétation basse, battage des arbres composant les haies et piégeage des insectes en mouvement sur le sol (pièges Barber).

Activité 4 - livrables attendus :

- Des connaissances sur l'écologie des cochenilles, en particulier sur leurs modes de dispersion, leur dynamique spatio-temporelle, leurs ennemis naturels et leurs interactions avec les fourmis
- Un inventaire d'insectes utiles pour la lutte contre les cochenilles vectrices (en particulier les prédateurs tels que les coccinelles)
- Des recommandations pour utilisation des barrières végétales (plantes à choisir, design de plantation) pour stopper la progression de la maladie du swollen shoot

Activité 5 : Outil d'aide à la décision pour la lutte contre la maladie du swollen shoot basée sur la diversification végétale

Descriptif - Cette activité a pour objectif principal de développer un outil à destination des planteurs de cacao pour la lutte contre la maladie du swollen shoot et de ses cochenilles vectrices. Basés sur la modélisation, cet outil permettra aux planteurs de prendre des décisions adaptées à leur situation pour la diversification végétale de leur plantation. Par exemple, ils aideront le planteur à décider des espèces à planter, des dispositifs de plantation (distribution, densité) et de la gestion de ces espèces sur le long terme (taille). Un accent sera porté sur les plantes barrières, mais l'outil apportera également des recommandations pour la régulation des cochenilles par l'optimisation du microclimat et des populations d'insectes auxiliaires.

Méthodologie - Cette activité est basée principalement sur le développement de modèles, en utilisant des approches de type inférence bayésienne associées à de nouveaux outils tels que les réseaux de neurones artificiels ou la méthode du "data learning" par exemple. Ces modèles devront intégrer l'ensemble des données collectées dans le cadre des activités précédentes : les données sur la biologie du virus et de ses cochenilles vectrices, sur l'impact du paysage sur la distribution géographique de la maladie, sur l'impact des conditions parcellaires sur la dynamique spatiotemporelle des cochenilles et de la maladie et sur les essais de plantes barrières. Mais ces modèles prendront aussi en compte les innovations développées par les planteurs pour faire face à la maladie. Il s'agira donc d'inclure aux modèles le savoir et les pratiques des planteurs pour développer des outils qui répondent réellement à leurs attentes. Ces modèles permettront de tester virtuellement des innovations de lutte et de sélectionner les innovations à tester en conditions réelles. Ainsi, en fin de projet, des parcelles de démonstration

dédiées à la lutte contre la maladie du swollen shoot et ses cochenilles vectrices seront mises en place chez les planteurs.

Activité 5 - livrables attendus :

- Un outil pour la gestion du swollen shoot par la diversification végétale, intégrant les données et modèles du projet
- Une liste d'innovations paysannes à tester en conditions réelles
- Des parcelles paysannes de démonstration pour la gestion du swollen shoot

3.6. Partenariats envisagés

Un tel projet nécessite le développement de collaborations étroites avec différents partenaires dont le rôle devra être bien défini. A ce titre, nous proposons la liste suivante :

- L'université Félix Houphouët Boigny (UFHB), en particulier son Centre d'Excellence sur les Changements Climatiques, la Biodiversité et l'Agriculture Durable (CEA CCBAD) et l'école doctorale WASCAL de l'Université Félix Houphouët Boigny. Outre la collaboration à développer pour le développement d'un laboratoire dédié à l'étude de la biologie des cochenilles vectrices du swollen shoot, ses chercheurs seront également sollicités pour l'encadrement d'étudiants en Master et en doctorat.
- Le Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), en particulier ses spécialistes en virologie et en entomologie qui mènent des activités sur le swollen shoot depuis plus d'une décennie. Ces spécialistes interviendront directement sur le terrain et dans l'encadrement des étudiants.
- L'ICRAF (World Agroforestry Center). Cet institut bien implanté sur le terrain prône le développement de l'agroforesterie dans la filière cacaoyère de Côte d'Ivoire. Ces spécialistes nous faciliteront l'accès au terrain, en particulier à leurs réseaux de parcelles agroforestières dont certains ont été mis en place dans les régions à swollen shoot.
- Le laboratoire de taxonomie du CBGP (Centre de Biologie et de Gestion des Populations), à Montpellier, sera sollicité pour l'identification morphologique et moléculaire des insectes collectés. Un accent sera porté sur l'utilisation du barcoding et du métabarcoding pour les études de diversité et d'écologie des communautés.
- Les partenaires privés, tels que les industriels du chocolat, et les ONGs. Ils sont bien implantés en Côte d'Ivoire où ils possèdent leurs propres plantations et entretiennent des liens étroits avec des dizaines de milliers de planteurs par le biais des coopératives. Ils représentent d'excellents appuis pour la vulgarisation des résultats de la recherche.
- Les coopératives de planteurs de cacao. Une approche participative, impliquant dès le départ les planteurs par le biais des coopératives agricoles, permettra d'optimiser l'appropriation des résultats du projet par les premiers bénéficiaires, les planteurs confrontés à la maladie du swollen shoot.

4. Conclusion générale

Ma passion pour la nature et les insectes en particulier a probablement été mon guide lors de mes premiers pas de chercheur en entomologie. Plutôt que de détruire, j'ai cherché à mieux comprendre la vie des insectes dans leur environnement, à comprendre pourquoi ils peuvent être si néfastes à certaines cultures et à identifier dans leurs traits de vie et dans leur milieu de vie les moyens d'action pour en réduire l'impact. C'est cette approche de la gestion des insectes ravageurs qui s'insèrent parfaitement dans le champ plus large de l'agroécologie que j'ai adoptée pendant ces 20 années passées au CIRAD. C'est également cette approche que j'ai voulu partager avec mes collègues chercheurs du CIRAD et des différentes institutions qui m'ont accueilli en Afrique, et aussi avec les chercheurs du monde entier qui ont bien voulu lire mes publications. C'est enfin cette approche que j'ai souhaité transmettre aux étudiants que j'ai encadrés depuis ma première affectation au Cameroun au début des années 2000.

Mieux connaître et comprendre la dynamique des populations des insectes ravageurs est un point focal de l'ensemble de mes activités de recherche ou presque. La description des variations saisonnières et de la distribution spatiale des ravageurs à différentes échelles spatiales, de la plante au paysage, fournit des données importantes qui permettent d'envisager la lutte de façon plus ciblée. Mais la compréhension des mécanismes démographiques et des facteurs agroécologiques à l'œuvre est aussi importante car elle permet d'identifier les leviers de régulation à manier pour la lutte. Ainsi, nous sommes-nous intéressés à certains facteurs agroécologiques prépondérants dans les agroécosystèmes étudiés, comme l'ombrage ou les fourmis dans les plantations de cacao du Cameroun, ou l'altitude dans les zones de production de café des hautes terres d'Afrique de l'est. Dans certains cas, nous avons pu formuler des recommandations pour la gestion des insectes ravageurs basées sur une meilleure prévision du risque d'infestation ou sur l'utilisation de moyens de régulation inspirés de la nature.

Dans le même temps, des opportunités de contribuer de façon plus directe à la lutte agroécologique contre les insectes ravageurs se sont présentées. La lutte sémiochimique en particulier a occupé une part importante de mes recherches. Basée sur la connaissance de l'écologie chimique des insectes, elle s'appuie elle aussi sur notre compréhension des traits de vie des insectes, en particulier de leurs comportements d'alimentation et de reproduction, et du rôle des odeurs dans l'orientation de l'insecte au cours de ses recherches d'une source d'alimentation ou d'un partenaire sexuel. Le projet de recherche que j'ai décrit dans ce mémoire est également orienté vers une méthode de lutte souvent considérée comme l'un des piliers de l'agroécologie : la diversification végétale. La diversification végétale à différentes échelles spatiales semble particulièrement adaptée à la lutte contre la maladie du swollen shoot transmise au cacaoyer par des cochenilles farineuses. La déforestation et la domination des monocultures de cacaoyer sur de vastes surfaces en Côte d'Ivoire sont en effet souvent pointés du doigt pour expliquer l'émergence et l'expansion rapide de nouveaux foyers de maladie depuis le début des années 2000.

Notre projet de recherche, dont la mise en œuvre a débuté dans le cadre du projet Cocoa4Future, tente de mieux comprendre les processus impliqués dans la régulation naturelle des cochenilles vectrices du swollen shoot par les plantes et cultures associées aux cacaoyers dans les plantations et les paysages environnants. Aux informations que nous obtiendrons des études menées au laboratoire (thermobiologie des cochenilles) et dans les plantations (dynamique des populations, réseaux trophiques), s'ajouteront les savoirs des planteurs qui doivent faire face à la maladie depuis deux décennies. Des modèles de dynamique spatio-temporelle, intégrant

l'ensemble de ces données seront construits, qui serviront à l'élaboration de recommandations et d'outils d'aide à la décision basés sur la diversification végétale afin d'aider les planteurs confronter à la maladie à réaménager leur plantation.

5. Références bibliographiques

- Ackonor J.B. (2002) Current levels of incidence of parasitism and predation in *Planococcus citri* Risso (Homoptera: Pseudococcidae) in Ghanaian cocoa (*Theobroma cacao* L.) farms. *Insect Science and Its Application*, 22, 105-112.
- Aka R.A., Coulibaly K., N'Guessan P.W., Kouakou K., Tahi M.G., N'Guessan F.K., Kebe B.I., Assi E.M., Guiraud B., Koné B., Kouassi N., Koné D., Allou R.K., Muller E. & Zakra N. (2020) Cocoa swollen shoot disease in Côte d'Ivoire: history of expansion from 2008 to 2016. *International Journal of Sciences*, 9, 52-60.
- Altieri M.A. (2002) Agroecology: the science of natural resource management for poor farmers in marginal environments. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 93, 1-24.
- Andow D.A. (1991) Vegetational diversity and arthropod population response. *Annual Review of Entomology*, 36, 561-586.
- Andres C., Gattinger A., Dzahini-Obiatey H.K., Blaser W.J., Offei S.K. & Six J. (2017) Combatting cocoa swollen shoot virus disease: what do we know? *Crop Protection*, 98, 76-84.
- Assiri A.A., Yoro G.R., Deheuvels O., Kébé B.I., Keli Z.J., Adiko A. & Assa A. (2009) Les caractéristiques agronomiques des vergers de cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 2, 55-66.
- Bardin A. (1937) Le cacaoyer en Côte d'Ivoire. *Annales Agricoles de l'Afrique Occidentale Française et Etrangère*, 1, 135-150.
- Bostanian N.J., Goulet H., O'Hara J., Masner L. & Racette G. (2004) Towards insecticide free apple orchards: flowering plants to attract beneficial arthropods. *Biocontrol Science and Technology*, 14, 25-37.
- Box H.E. (1945) Insect transmission of the 'swollen-shoot' virus in West African cacao. *Nature*, 155, 608-609.
- Cornelissen J.H.C., Lavorel S., Garnier E., Díaz S., Buchmann N., Gurvich D.E., Reich P.B., Steege H.T., Morgan H.D., Heijden M.G.A., Pausas J.G. & Poorter H. (2003) A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*, 51, 335-380.
- Cornwell P.B. (1958) Movements of the vectors of virus diseases of cacao in Ghana. I Canopy movement in and between trees. *Bulletin of Entomological Research*, 49, 613-630.
- Cornwell P.B. (1960) Movement of vectors of virus disease of cacao in Ghana. II. Wind movement and aerial dispersal. *Bulletin of Entomological Research*, 51, 175.
- Douet M. & Mieu B. (2016) La Côte d'Ivoire rêve de chocolat. *Jeune Afrique*, 2875, 58-62.

FAO (2019) The state of the world's biodiversity for food and agriculture, J. Bélanger & D. Pilling (eds.). FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments. Rome. 572 pp.

Eldin M. (1971) Le climat. In : Le milieu naturel de la Côte d'Ivoire. Mémoires ORSTOM n°50, pp. 73-108.

Finke D.L. & Denno R.F. (2003) Intra-guild predation relaxes natural enemy impacts on herbivore populations. *Ecological Entomology*, 28, 67-73.

García Morales M., Denno B.D., Miller D.R., Miller G.L., Ben-Dov Y. & Hardy N.B. (2016) ScaleNet: A literature-based model of scale insect biology and systematics. Database. <http://scalenet.info>

Hooks C.R.R. & Fereres A. (2006) Protecting crops from non-persistently aphid-transmitted viruses: A review on the use of barrier plants as a management tool. *Virus Research*, 120, 1-16.

Jacquot E., Hagen L.S., Michler P., Rohfritsch O., Stussi-Garaud C., Keller M., Jacquemond M. & Yot P. (1999) In situ localization of cacao swollen shoot virus in agroinfected *Theobroma cacao*. *Archives of Virology*, 144, 259-271.

Konaté S. & Kampmann D. (eds) (2010) Atlas de la Biodiversité de l'Afrique de l'Ouest, Tome III : Côte d'Ivoire. Abidjan & Franckfurt/Main.

Kouakou K., Kébé B.I., Kouassi N., Anno A.P., Aké S. & Muller E. (2011) Impact de la maladie virale du swollen shoot du cacaoyer sur la production de cacao en milieu paysan à Bazré (Côte d'Ivoire). *Journal of Applied Biosciences*, 43, 2947-2957.

Lauginie F. (2007) Conservation de la nature et aires protégées en Côte d'Ivoire NEI/Hachette et Afrique Nature, Abidjan, xx + 668 pp.

Macfadyen S. & Muller W. (2013) Edges in agricultural landscapes: species interactions and movement of natural Enemies. *PLoS ONE*, 8, e59659.

Muller E., Ravel S., Agret C., Abrokwaah F., Dzahini-Obiatey H., Galyuon I., Kouakou K., Jeyaseelan E.C., Allainguillaume J. & Wetten A. (2018) Next generation sequencing elucidates cacao badnavirus diversity and reveals the existence of more than ten viral species. *Virus Research*, 244, 235-251.

N'Guessan P.W., Watson G.W., Brown J.K. & N'guessan F.K. (2014) First Record of *Pseudococcus Jackbeardsleyi* (Hemiptera: Pseudococcidae) from Africa, Côte d'Ivoire. *Florida Entomologist*, 97, 1690-1693.

N'Guessan P.W., Yapi A., N'Guessan F.K., Kouamé N.N.D., Gouamené C.N., Aka R.A., Coulibaly K., Tahi M.G., Koné B., Kassin E.K., Assi E.M., Guiraud B.H.S.B. & Kotaix A.A.J. (2019) Inventory and abundance of mealybug species in immature and mature cocoa farms in Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Entomology*, 143, 1065-1071.

- Obok E., Wetten A. & Allainguillaume J. (2018) Electropenetrography application and molecular-based virus detection in mealybug (Hemiptera: Pseudococcidae) vectors of Cacao swollen shoot virus on *Theobroma cacao* L. *Annals of Agricultural Science*, 63, 55-65.
- Oro Z.F., Bonnot F., Ngo Bieng M-A., Delaitre E., Dufour B.P., Ametefe K.E., Mississo E., Wegbe K., Muller E. & Cilas C. (2012) Spatiotemporal pattern analysis of Cacao swollen shoot virus in experimental plots in Togo. *Plant Pathology*, 61, 1043-1051.
- Posnette A.F. & Robertson N.F. (1950) Virus diseases of cacao in West Africa. VI. Vector investigations. *Annals of Applied Biology*, 37, 363-377.
- Posnette A.F. & Strickland A.H. (1948) Virus diseases of cacao in West Africa III. Technique of insect transmission. *Annals of Applied Biology*, 35, 53-63.
- Pumariño L., Sileshi G.W., Gripenberg S., Kaartinen R., Barrios E., Muchane M.N., Midega C. & Jonsson M. (2015) Effects of agroforestry on pest, disease and weed control: a meta-analysis. *Basic and Applied Ecology*, 16, 573-582.
- Ratnadass A., Fernandes P., Avelino J. & Habib R. (2012) Plant species diversity for sustainable management of crop pests and diseases in agroecosystems: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32, 273-303.
- Risch S.J., Andow D. & Altieri M.A. (1983) Agroecosystem diversity and pest control: data, tentative conclusions, and new research directions. *Environmental Entomology*, 12, 625-629.
- Rovainen O. (1976) Transmission of cocoa viruses by mealybugs (Homoptera: Pseudococcidae). *Journal of the Scientific Agricultural Society of Finland*, 48, 203-304.
- Shanker C., Chintagunta L., Muthusamy S., Vailla S., Srinivasan A. & Katti G. (2018) Flora surrounding rice fields as a source of alternative prey for coccinellids feeding on the pests of rice. *European journal of entomology*, 115, 364-371.
- Sileshi G., Schroth G., Rao M.R. & Girma H. (2008) 5- Weeds, diseases, insect pests, and tri-trophic interactions in tropical agroforestry. In: Ecological basis of agroforestry (ed. by DR Batish, RK Kohli, S Jose & HP Singh) CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 73-90.
- Strickland A.H. (1950) The dispersal of Pseudococcidae (Hemiptera: Homoptera) by air currents in the Gold Coast. *Proceeding of the Royal Entomological Society of London*, 25, 1.
- Strickland A.H. (1951a) The entomology of swollen shoot of cacao. I. The insect species involved, with notes on their biology. *Bulletin of Entomological Research*, 41, 725-748.
- Strickland A.H. (1951b) The entomology of swollen shoot of cacao. II. The bionomics and ecology of the species involved. *Bulletin of Entomological Research*, 42, 65-103.
- Veres A., Petit S., Conord C. & Lavigne C. (2013) Does landscape composition affect pest abundance and their control by natural enemies? A review. (Special Issue: Landscape

ecology and biodiversity in agricultural landscapes.). *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 166, 110-117.

Wetten A., Campbell C. & Allainguillaume J. (2016) High-resolution melt and morphological analyses of mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) from cacao: tools for the control of Cacao swollen shoot virus spread. *Pest Management Science*, 72, 527-533.

6. Liste des tirés à part joints

Azrag A.G.A., Pirk C.W.W., Yusuf A.A., Pinard F., Niassy S., Mosomtai G. & **Babin R.** (2018) Prediction of insect pest distribution as influenced by elevation: Combining field observations and temperature-dependent development models for the coffee stink bug, *Antestiopsis thunbergii* (Gmelin). *PLOS One*, 13, e0199569.

Bagny Beilhe L., Piou C., Tadu Z. & **Babin R.** (2018) Identifying ant-mirid spatial interactions to improve biological control in cacao-based agroforestry system. *Environmental Entomology*, 47, 551-558.

Gichuhi J.M., Ndegwa P.N., Mugo H.M., Guandaru E.K. & **Babin R.** (2017) Rearing method and developmental biology of the African coffee white stem borer, *Monochamus leuconotus* (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Economic Entomology*, 110, 1120-1126.

Njihia T.N., Torto B., Murungi L.K., Irungu J., Mwenda D.M. & **Babin R.** (2017) Identification of kairomones of second instar nymphs of the variegated coffee bug *Antestiopsis thunbergii* (Heteroptera: Pentatomidae). *Chemoecology*, 27, 239-248.

Babin R., Anikwe J.C., Dibog L. & Lumaret J.P. (2011) Effects of cocoa tree phenology and canopy microclimate on the performance of the mirid bug *Sahlbergella singularis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 141, 25-34.

Babin R., ten Hoopen G.M., Cilas C., Enjalric F., Yede, Gendre P. & Lumaret J.P. (2010) Impact of shade on the spatial distribution of *Sahlbergella singularis* in traditional cocoa agroforests. *Agricultural and Forest Entomology*, 12, 69-79.

RESEARCH ARTICLE

Prediction of insect pest distribution as influenced by elevation: Combining field observations and temperature-dependent development models for the coffee stink bug, *Antestiopsis thunbergii* (Gmelin)



Abdelmutalab G. A. Azrag^{1,2,3*}, Christian W. W. Pirk², Abdullahi A. Yusuf², Fabrice Pinard^{4,5}, Saliou Niassy¹, Gladys Mosomtai¹, Régis Babin^{1,4,5}

1 International Centre of Insect Physiology and Ecology, Nairobi, Kenya, **2** Department of Zoology and Entomology, University of Pretoria, Pretoria, South Africa, **3** Department of Crop Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Gezira, Wad Medani, Sudan, **4** UPR Bioagresseurs, Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement, Nairobi, Kenya, **5** Bioagresseurs, Université de Montpellier, Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement, Montpellier, France

* agesmall@icipe.org, agazrag@yahoo.com

OPEN ACCESS

Citation: Azrag AGA, Pirk CWW, Yusuf AA, Pinard F, Niassy S, Mosomtai G, et al. (2018) Prediction of insect pest distribution as influenced by elevation: Combining field observations and temperature-dependent development models for the coffee stink bug, *Antestiopsis thunbergii* (Gmelin). PLoS ONE 13(6): e0199569. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199569>

Editor: Richard Mankin, US Department of Agriculture, UNITED STATES

Received: February 20, 2018

Accepted: June 9, 2018

Published: June 22, 2018

Copyright: © 2018 Azrag et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are available from CIRAD Dataverse (doi:[10.18167/DVN1/WQFPV](https://doi.org/10.18167/DVN1/WQFPV)).

Funding: Financial support for this research was received from the following organisations, projects and agencies: 1) The Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), Montpellier, France, <https://www.cirad.fr/>, in support of PhD student

Abstract

The antestia bug, *Antestiopsis thunbergii* (Gmelin 1790) is a major pest of Arabica coffee in Africa. The bug prefers coffee at the highest elevations, contrary to other major pests. The objectives of this study were to describe the relationship between *A. thunbergii* populations and elevation, to elucidate this relationship using our knowledge of the pest thermal biology and to predict the pest distribution under climate warming. *Antestiopsis thunbergii* population density was assessed in 24 coffee farms located along a transect delimited across an elevation gradient in the range 1000–1700 m asl, on Mt. Kilimanjaro, Tanzania. Density was assessed for three different climatic seasons, the cool dry season in June 2014 and 2015, the short rainy season in October 2014 and the warm dry season in January 2015. The pest distribution was predicted over the same transect using three risk indices: the establishment risk index (ERI), the generation index (GI) and the activity index (AI). These indices were computed using simulated life table parameters obtained from temperature-dependent development models and temperature data from 1) field records using data loggers deployed over the transect and 2) predictions for year 2055 extracted from AFRICLIM database. The observed population density was the highest during the cool dry season and increased significantly with increasing elevation. For current temperature, the ERI increased with an increase in elevation and was therefore distributed similarly to observed populations, contrary to the other indices. This result suggests that immature stage susceptibility to extreme temperatures was a key factor of population distribution as impacted by elevation. In the future, distribution of the risk indices globally indicated a decrease of the risk at low elevation and an increase of the risk at the highest elevations. Based on these results, we concluded with recommendations to mitigate the risk of *A. thunbergii* infestation.

stipend (AGAA); 2) CHIESA project (Climate Change Impacts on Ecosystem Services and Food Security in Eastern Africa) funded by the Ministry of Foreign Affairs of Finland, <http://chiesa.icipe.org/>, in support of laboratory and field experimentation; 3) The German Academic Exchange Service (DAAD) In-Region Postgraduate Scholarship, in support of student stipends and school fees. International Centre of Insect Physiology and Ecology is core-funded by UK's Department for International Development (DFID), Swedish International Development Cooperation Agency, the Swiss Agency for Development and Cooperation (SDC) and the Kenyan Government.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Introduction

The antestia bug, *Antestiopsis thunbergii* (Gmelin 1790) (Hemiptera: Pentatomidae) is one of the major insect pests of Arabica coffee in eastern and southern Africa [1, 2]. The pest feeds on coffee leaves, buds, flowers and berries leading to direct damage [3]. By feeding on immature berries, the bug causes premature fruit fall and necrosis of the beans [4]. In addition, feeding lesions allow the fungi *Nematospora* spp. to colonise the beans, leading to endosperm rotting and a damage known as “zebra beans” [5]. *Antestiopsis thunbergii* is also supposedly involved in the transmission of a bacteria *Pantoea coffeiphila* (Enterobacteriaceae), causing a flavour defect of coffee beverage known as ‘potato taste’ defect (PTD), which threatens coffee production in the African Great Lakes region [6, 7]. The economic threshold for taking action against this pest is as low as one or two bugs per coffee tree on average, depending on the level of damage found in the country [4, 8, 9]. Contrary to most other coffee pests like the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* Ferrari, *A. thunbergii* thrives in high elevation Arabica coffee. The pest is present in plantations between 1000 and 2100 m asl, but with a strong preference for plantations of the highest elevations [2]. Two closely related antestia bug species, *A. intricata* (Ghesquière and Carayon) and *A. facetoides* Greathead, are more common in coffee plantations at low-medium elevation (1000–1600 m asl) [1, 2, 10]. A recent study by Azrag et al. [11] suggested that *A. thunbergii* preference for higher elevations might be due to the pest’s adaptation to cool habitats in the tropics.

Temperature is the most important environmental factor that affects insect distribution [12, 13], and it is highly correlated with elevation [14]. Variation in temperature affects insect population dynamics through insect physiology and behaviour [15]. Indirect effects also are expected due to the impact of temperature on host plants and natural enemies [12]. A recent study by Azrag et al. [11] provided an insight into *A. thunbergii* thermal requirements using temperature-based development models. These models showed that the pest was able to survive and develop under a temperature range of 14.6–32.9°C. However, based on simulated life table parameters, growth of the rearing population was restricted to a temperature range of 19–25°C [11]. Such thermal requirements suggest an adaptation to temperatures cooler than expected for a tropical insect.

In tropical and temperate regions, change in distribution and abundance are expected for many insect pests as a result of global warming [12, 16, 17]. For example, in east Africa, *H. hampei* is currently an issue for coffee production at elevation of up to 1500 m asl. By the year 2050, rising temperatures may lead to higher populations on Arabica coffee at elevations up to 1800 m asl, leading to reduction in both production and quality of renowned Arabica coffees [16, 18]. In contrast, the abundance of some herbivorous insects is expected to decrease due to their vulnerability to high temperatures [12]; yet, such scenarios have not been well documented.

Considering previous findings by Azrag et al. [11], it becomes feasible and necessary to predict the risk of *A. thunbergii* infestation in coffee of the east African highlands. Therefore, the general objectives of the present study were first to elucidate the relationship between *A. thunbergii* current distribution and elevation, and second to assess the potential impact of temperature change on the future distribution of the pest. To achieve these objectives, we first analysed this relationship using the pest abundance surveyed along an elevation gradient. In a second step, we used simulated life table parameters, incorporating the full life history of the pest, obtained from temperature-dependent development models [11] to generate risk indices based on temperature, using Insect Life Cycle Modelling software (ILCYM) [19]. The indices were calculated and mapped on the same elevation transect using temperature data collected in the field, in order to compare index distribution to this obtained from the field survey.

Finally, to predict the potential impact of temperature increase on the future distribution of *A. thunbergii*, we generated and mapped the risk indices on the transect with simulated temperature data for the year 2055 from the Representative Concentration Pathway warming scenario 4.5 (RCP 4.5).

Materials and methods

Study site

Our study targeted the Arabica coffee growing area of south-eastern slope of Mount Kilimanjaro in Tanzania ($S3.28^{\circ}$ $E37.43^{\circ}$ and $S3.47^{\circ}$ $E37.50^{\circ}$). A transect of approximately 11 km-long and 2 km-wide with a total surface area of around 22.2 km² was delimited over an elevation gradient of 1000–1700 m asl (Fig 1). This agricultural area is characterised by a bimodal rainfall regime, with a long rainy season starting from March to May and a short one from mid-October to December. The mean annual temperature ranges between 18 and 23°C [20] and mean annual rainfall between 1500 and 2000 mm at 1500 m asl [21]. During the coolest period (June to August), the average temperature ranges between 18 and 20°C. In this area, agricultural landscape is dominated by agroforestry systems known as Chagga home gardens, where coffee is grown in small farms with banana and other food crops as well as fruit trees used as shade trees, such as *Persea americana* Mill. and *Mangifera indica* L. [21].

Field surveys

The antestia bug, *A. thunbergii* was identified as one of the two main pests of coffee in the studied area. The second major pest was the African coffee white stem borer, *Monochamus leuconotus* Pascoe (Coleoptera: Cerambycidae) [22]. The antestia bugs observed on the transect were identified as the subspecies *A. thunbergii bechuana* Kirkaldy, using the morphological identification key and distribution maps proposed by Greathead [2]. This subspecies differs from *A. thunbergii ghesquierei* Carayon, which has a slightly different coloration and a more western distribution in east Africa [1]. The two other species of antestia bugs found on coffee in east Africa, *A. intricata* and *A. facetoides* were not found on the transect. Four field surveys were conducted spanning across three different climatic seasons, two during the cool dry season in June 2014 and 2015, one at the beginning of the short rainy season in October 2014 and one during the warm dry season in January 2015. *Antestiopsis thunbergii* populations were assessed in 24 coffee farms, selected in groups of 4 at approximately 1100, 1200, 1300, 1400, 1500 and 1600 m asl (Fig 1). The selected farms were representative of the area; they were usually small, with about 100 coffee trees, and the age of the trees was between 10 and 50 years. The farms were homogeneously planted with the same traditional Arabic coffee variety, originated from breeding of Bourbon-type and Kent-type old varieties. In each farm, 15 trees were randomly selected on both sides of a diagonal across the farm. Individuals of *A. thunbergii* were counted visually on the selected trees, irrespective of the development stage of the pest. Presence of eggs was noted, without counting.

Temperature data

Real-time air temperature was recorded hourly throughout the year 2013 as an activity of the CHIESA project (<http://chiesa.icipe.org/>) using climate data loggers (iButtons Hygrochron, Maxim Integrated, San Jose, USA). This data was then borrowed to the project for analyses presented in the present paper. Nine data loggers were deployed across the transect (Fig 1). Data loggers were hanged on tree branches at approximately 2 m above the ground to record

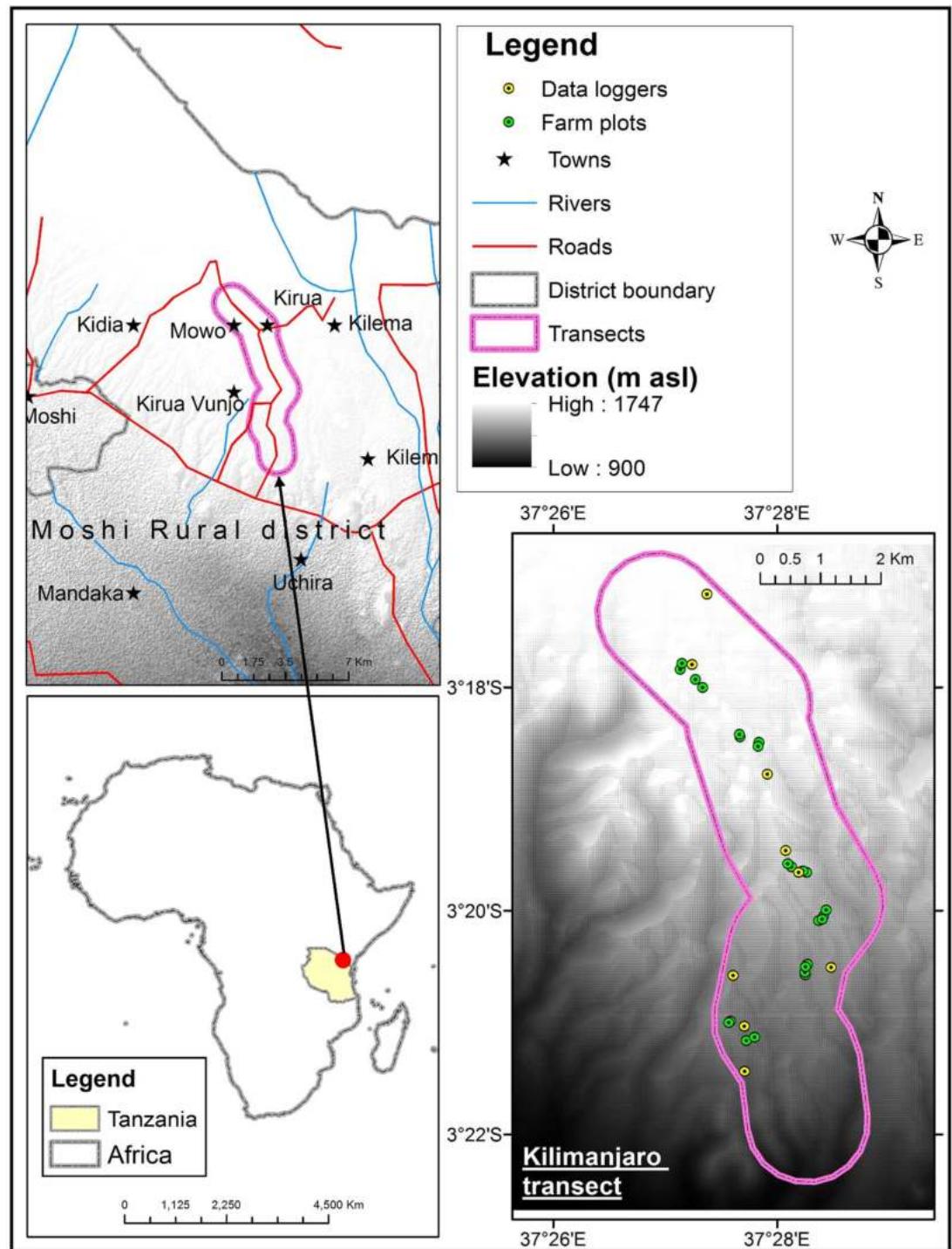


Fig 1. Location of the study transect over an elevation gradient on the south-eastern slope of Mount Kilimanjaro, in Moshi district, Tanzania. The transect delimited in pink is approximately 11 km-long and 2 km-wide with a total surface area of around 22.2 km².

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199569.g001>

air temperature under shade. Data logger geographical position and elevation were recorded using a handheld Global Positioning System (GPS).

For 2055 temperature estimates, we used simulated temperature dataset (AFRICLIM version 3.0) of the Representative Concentration Pathway scenario 4.5 (RCP 4.5) of the fifth assessment report of Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC-AR5). RCP 4.5 emission scenario was selected because it is a moderate scenario, which includes long term global emissions of greenhouse gases, land use and land cover in a global economic framework [23]. The simulated temperature data were downscaled to a resolution of 30" (1 km) using General Circulation Models (GCMs) and Regional Climate Models (RCMs), with WorldClim grids as baseline. Data are well documented by Platts et al. [24] and freely accessible at <http://www.york.ac.uk/environment/research/kite/resources/>. We downloaded the temperature dataset for the year 2055 as raster layers in tiff format. Then, we used point sampling tool in QGIS software (version 2.18.4) to extract temperature data from layers, using the geographical position of data loggers on the transect as coordinates.

Statistical analysis of the survey data

The relationship between *A. thunbergii* populations and elevation was determined through a regression analysis, using a generalised linear model with a Poisson distribution. R programming environment [25] was used for all calculations. The dependent variable was the total number of bugs per farm, i.e. the total number of bugs counted on 15 coffee trees. This variable was regressed against the elevation variable. The same regression analysis was computed for the 4 observation times. Poisson distribution assumes that the mean and variance of the count data are equal, and over-dispersion occurs when the variance is greater than the mean. This case was detected in our data and was corrected using “dispmmod” package in R [26]. With this method, the goodness of fit of Poisson regression model is assessed on the basis of the deviance (log-likelihood ratio statistic), which has a distribution approximating to chi-squared, and is represented as χ^2 . To display the current distribution of the bug on the study transect, we mapped the bug density (mean number of bugs per tree) using the regression model obtained for each observation time, and elevation data computed from the digital elevation model (DEM) of the transect. Calculation and mapping were done using the “raster” package in R programming environment [27]. To analyse the effect of season on *A. thunbergii* populations, generalised linear model with a Poisson distribution was fitted to the total number of bugs per plot as dependent variable and season as independent variable. Once a significant difference was detected, data were submitted to post hoc analysis for mean comparison, using Tukey test at $P = 0.05$.

Prediction of distribution based on temperature-dependent models

Demographic parameters’ simulation and model validation. To predict the distribution of *A. thunbergii* populations as impacted by elevation, we used the temperature-dependent development models reported in the study by Azrag et al. [11]. The laboratory colonies used in this study were initiated with individuals of the same subspecies, *A. thunbergii bechuana*, collected in the same area than this targeted in the present study. Models were developed using life table data collected at 7 constant temperatures (18, 20, 23, 25, 28, 30 and 32°C). Mathematical functions were fitted to immature stage development time and rate, mortality rate, female fecundity and adult senescence, using the software Insect Life Cycle Modelling (ILCYM, version 3.0) [19]. Using these models, *A. thunbergii* life table parameters were simulated for different constant temperatures, *viz.* 1) the gross reproductive rate (GRR), which is defined as the average number of daughters produced by a living female throughout her life time, 2) the net

reproductive rate (R_o), which is the rate of multiplication per generation taking into account the mortality rate of immature stages, 3) the mean generation time (T) which is defined as the mean time (in days) between the birth of parents and the birth of offspring, 4) the doubling time (Dt), which is the time (in days) that is required for the population to double, 5) the intrinsic rate of increase (r_m), which is defined as the innate capacity of a population to grow, and 6) the finite rate of increase (λ), which is the average per capita multiplication factor per one time unit [11, 19, 28].

For the present study, an additional experiment was conducted at fluctuating temperature in order to validate the models developed by Azrag et al. [11] at constant temperatures. The validation experiment was carried out in an open insectary from April to October 2015 at International Centre of Insect Physiology and Ecology (*icipe*), Kenya. A total of 154 individuals of *A. thunbergii* were reared from egg to adult using coffee green berries and leaves as diet (see [13] for a complete description of the rearing method). During the experiment, temperature was recorded every hour using a data logger (iButtons Hygrochron, Maxim Integrated, San Jose, USA). The daily mean temperature ranged between 17.4 and 28.1°C, while the daily minimum temperature ranged between 10.6 and 18.7°C, and the daily maximum temperature between 20.6 and 36.9°C. *Antestiopsis thunbergii* demographic parameters were calculated from the models using fluctuating temperature data. Then, the calculated parameters were compared to the values simulated from data collected at constant temperatures [11]. Consistency between simulated and calculated values of demographic parameters was good enough to validate the models and undertake risk index calculation.

Calculation and mapping of infestation risk indices. *Antestiopsis thunbergii* distribution as impacted by elevation was displayed using the following three indices, i) the establishment risk index (ERI), ii) the generation index (GI) and iii) the activity index (AI). The ERI gives the capacity of an insect to establish in a particular area based on temperature. When mapped, the ERI enables the visualisation of the geographical areas suitable for the insect's establishment and survival. The index is 1 when all immature stages of the pest survive throughout the year in the particular area. Otherwise, the number of days in which a single stage would not survive (100% mortality) are counted and divided by 365 (number of Julian days), and then subtracted from 1. The GI estimates the mean number of generations that an insect may produce within a year, and it is estimated by the number of Julian days (365) divided by the estimated generation time (T). The AI assesses the potential distribution and abundance of the species; the AI is closely related to the finite rate of population increase (λ) (population growth rate), which takes into account the whole life history of the pest. It is calculated by taking the log of the products of estimated finite rates of increase calculated for each Julian day. For example, an AI value of 4 gives a potential population increase factor of 10 000 in one year. These indices were computed and mapped on the same transect using “*index interpolator*” in ILCYM [19] based on i) the temperature-dependent development models and related demographic parameters reported by Azrag et al. [11], ii) the digital elevation model (DEM) for the study area (elevation was used as a co-variable in ASCII format), and iii) the current and future temperature data (daily minimum and maximum temperatures). Indices were initially calculated for each geographical point where temperature data were recorded or simulated, and then interpolated on the surface of the digital elevation model using thin plate algorithm interpolation method [19].

In order to better characterise the changes in the pest's distribution between current and future temperatures, we randomly extracted risk index values from a total of 160 geographical points in groups of 20, located at every 100-m elevation across the transect, using point sampling tool in QGIS. The same geographical points were used to extract indices for current and future temperatures. Then, extracted data were tested for normality and a Wilcoxon test was

applied to the data in R (version 3.3.0) [25] to compare the mean of the indices in current and future temperature conditions at each elevation.

Results

Effect of elevation and season on *A. thunbergii* populations

The impact of elevation on the total number of *A. thunbergii* per farm (total counts on 15 trees) was significant, with an increase in populations together with elevation for the four different evaluation periods (June 2014 (cool dry season): $\chi^2 = 20.159$, $df = 19$, $z = 2.553$; $P < 0.05$; June 2015 (cool dry season): $\chi^2 = 20.848$, $df = 22$, $z = 2.877$; $P < 0.01$; October 2014 (short rainy season): $\chi^2 = 19.065$, $df = 18$, $z = 2.302$, $P < 0.05$; January 2015 (warm dry season): $\chi^2 = 16.868$, $df = 18$, $z = 3.622$, $P < 0.0001$) (Fig 2). Total number of *A. thunbergii* per farm was very variable even for farms located at similar elevation and for the same evaluation period, especially for the highest elevations. For example, in June 2014, populations ranged between 4 and 48 bugs for 15 trees for elevation around 1600 m asl. For the same elevation, in January 2015, population ranged between 5 and 32 bugs for 15 trees (Fig 2). Maps of Fig 3 confirm that population densities were the highest at the top of the transect (1600–1700 m asl), whatever the period. They exceeded 1.5 bug tree⁻¹ at the top in June 2014 and January 2015, but were lower in October 2014 and June 2015, with about 1 bug tree⁻¹. At the bottom of the transect (1000–1100 m asl), densities were around 0.1 bug tree⁻¹ and were slightly higher in June 2014, when compared to the other periods. In the cold season, populations of *A. thunbergii* reached

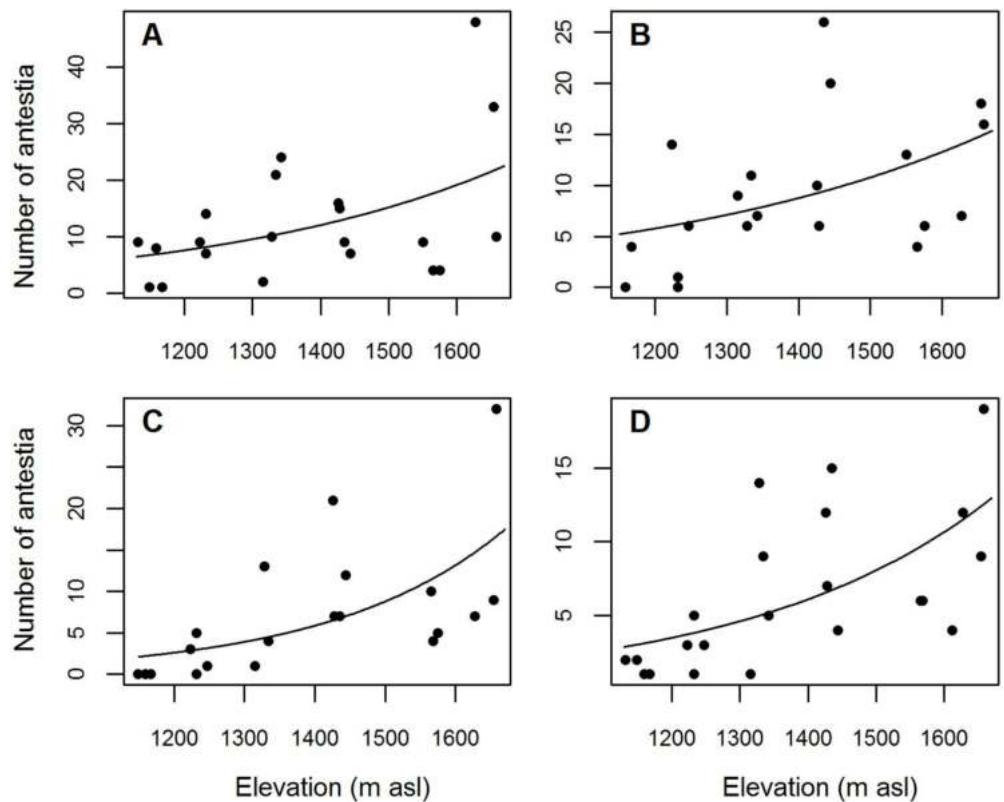


Fig 2. Observed *Antestiopsis thunbergii* populations (total number of bugs on 15 coffee trees) in relation to elevation on Kilimanjaro transect for the different evaluation periods. (A) June 2014, cool dry season, (B) October 2014, short rainy season, (C) January 2015, warm dry season, (D) June 2015, cool dry season.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199569.g002>

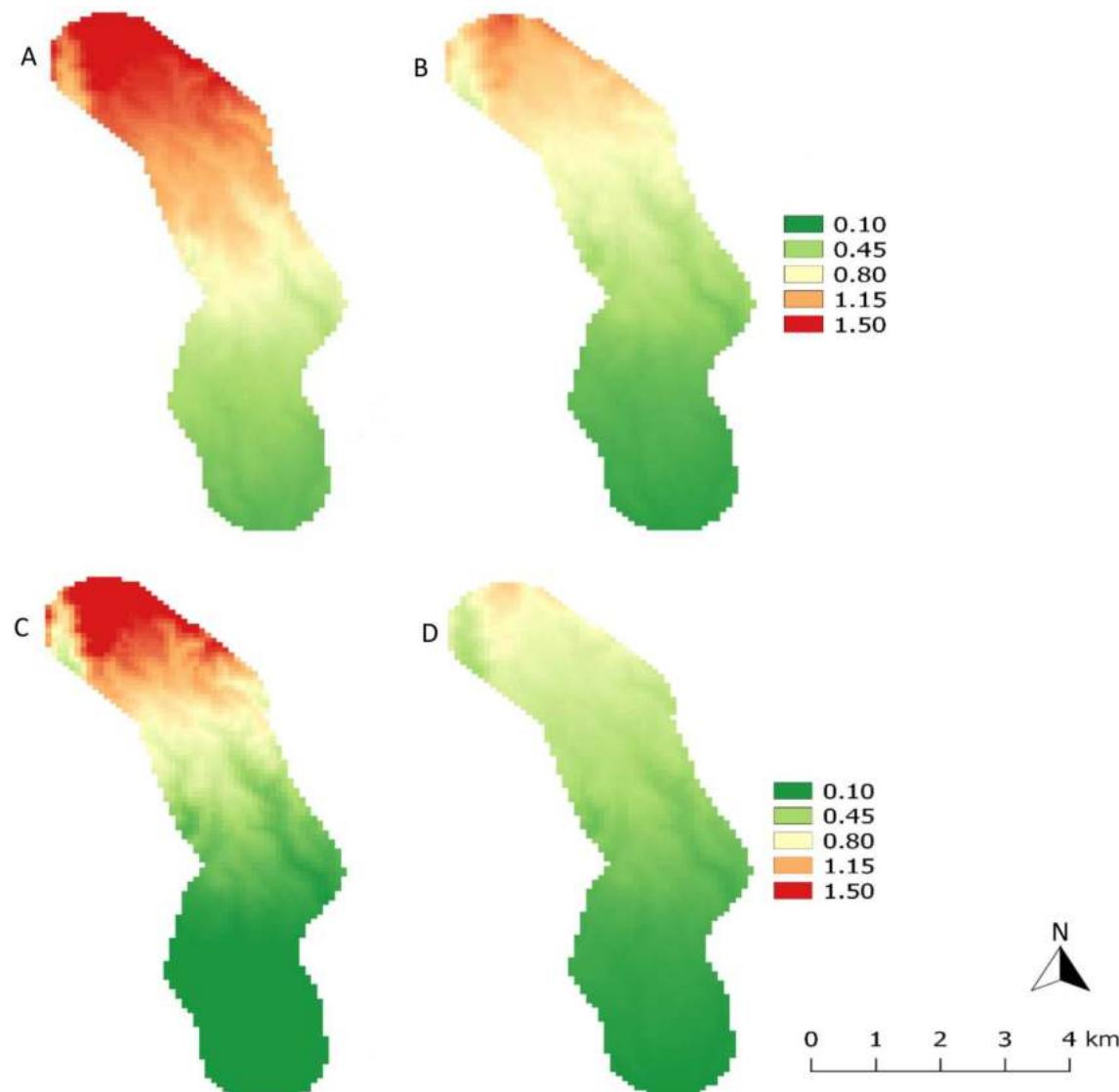


Fig 3. Distribution of *Antestiopsis thunbergii* populations (mean density per tree) over the elevation transect on Kilimanjaro, for the different evaluation periods. (A) June 2014, cool dry season, (B) October 2014, short rainy season, (C) January 2015, warm dry season, (D) June 2015, cool dry season.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199569.g003>

12.5 bugs per farm, which was significantly higher, compared to the warm dry season (6.6 bugs per farm) ($\chi^2 = 63.2$, $df = 68$, $P < 0.05$).

Risk indices under current temperature

Mean current temperature measured with data loggers varied in the range of 18–23 °C from the top to the bottom of the transect. Maps of risk index distribution show that the establishment risk index is clearly linked to elevation with the lowest values (ERI ≈ 0.47) at the bottom of the transect and the highest values (ERI ≈ 0.59) at the highest elevations (Fig 4A). By contrast, the generation index is higher in the lower zone of the transect (GI ≈ 3.17) when

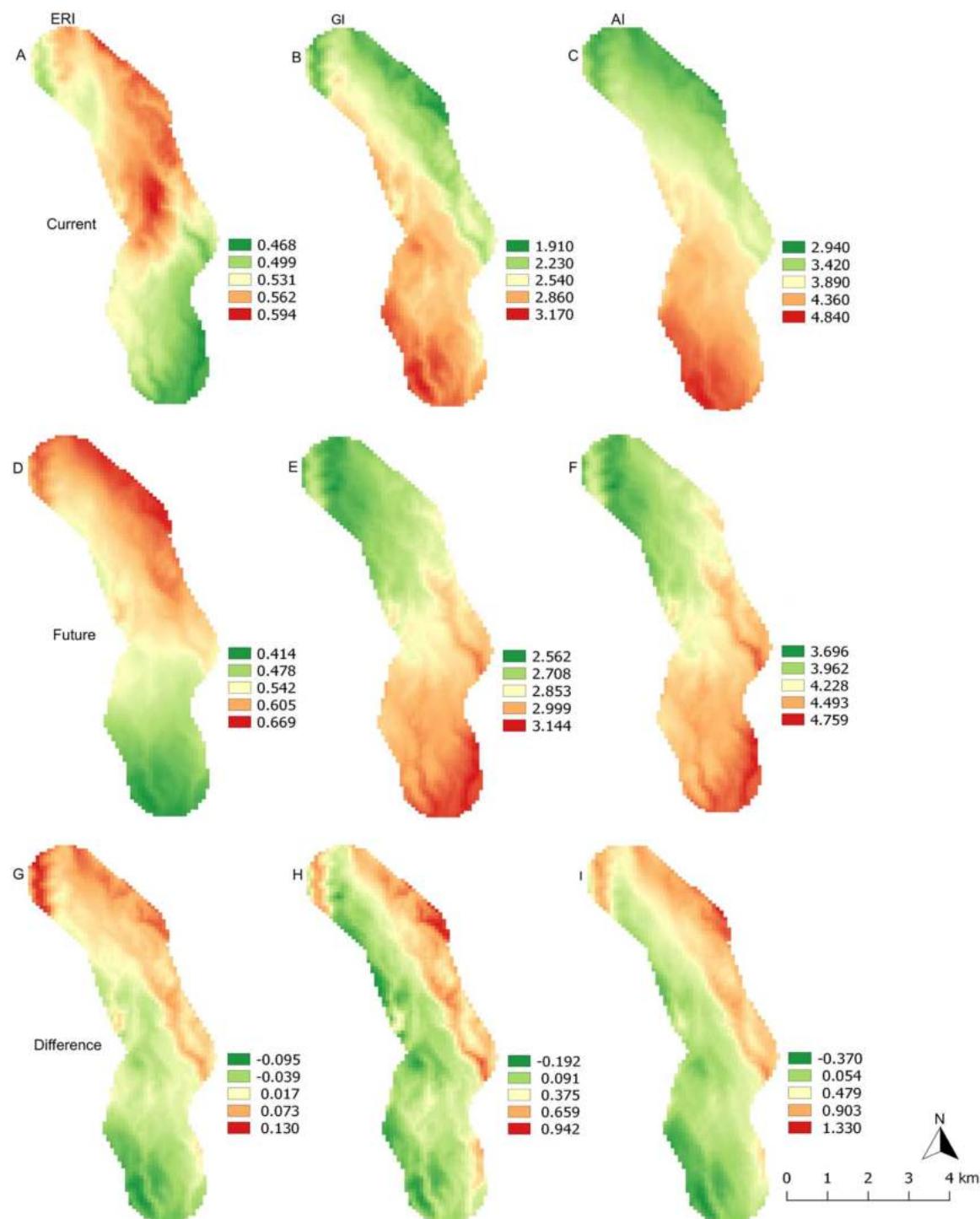


Fig 4. Distribution of establishment risk index (ERI), generation index (GI) and activity index (AI) of *A. thunbergii* on Kilimanjaro elevation transect calculated from the temperature dependent-development models under current (2013) and future (2055) temperature conditions. (A) ERI, (B) GI and (C) AI under current temperature; (D) ERI, (E) GI and (F) AI under future temperature projections; (G) ERI, (H) GI and (I) AI absolute difference between future and current temperature conditions.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199569.g004>

Table 1. Change in minimum and maximum temperatures (mean \pm SD) between current (2013) and future (2055) climatic conditions on selected locations along the Kilimanjaro transect. The current temperatures were recorded using iButtons Hygrochron data loggers in the selected locations and future temperatures obtained from AFRICLIM 3.0 climatic projections of RCP 4.5 scenario.

Elevation (m)	Coordinate ($^{\circ}$)		Minimum temperatures ($^{\circ}$ C)			Maximum temperatures ($^{\circ}$ C)		
	Longitude	Latitude	Current	Future	Difference	Current	Future	Difference
1081	37.461845	-3.357280	17.18 \pm 1.29	17.28 \pm 1.23	0.10 \pm 0.74	28.59 \pm 3.47	30.42 \pm 2.56	1.83 \pm 1.20
1249	37.474743	-3.341794	16.67 \pm 1.31	16.78 \pm 1.18	0.11 \pm 0.28	29.53 \pm 3.72	29.63 \pm 2.39	0.10 \pm 1.43
1419	37.469891	-3.327607	15.31 \pm 1.48	15.58 \pm 1.14	0.27 \pm 0.52	27.41 \pm 2.78	27.98 \pm 2.38	0.57 \pm 0.84
1533	37.465210	-3.312971	14.60 \pm 1.44	14.94 \pm 1.29	0.34 \pm 0.42	26.58 \pm 4.20	27.34 \pm 2.32	0.76 \pm 2.91
1705	37.456239	-3.286082	13.85 \pm 1.44	14.02 \pm 1.34	0.17 \pm 0.56	25.58 \pm 3.29	26.34 \pm 2.14	0.76 \pm 1.50

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199569.t001>

compared to the top ($GI \approx 1.91$) (Fig 4B). The activity index follows a similar trend with $AI \approx 4.84$ at the bottom and $AI \approx 2.94$ at the top of the transect (Fig 4C).

Change in risk indices under future temperature

Minimum temperature predicted for 2055 will be higher than temperature we measured in 2013 across the transect by 0.1–0.3°C, whereas maximum temperature predicted for 2055 will be higher by 0.6–1.8°C (Table 1). Change in temperature varies with elevation but there is no clear pattern in the variations. Under future temperatures, the ERI will change across the transect with difference ranging between –0.09 and 0.13 at the bottom and top of the transect, respectively (Fig 4D and 4G). The ERI will significantly decrease at elevations between 1000 and 1100 m asl (1000 m asl: $W = 210, P < 0.0001$; 1200 m asl: $W = 206, P < 0.0001$), it will remain unchanged between 1200 and 1400 m asl, and will significantly increase between 1500 and 1700 m asl ($W = 210, P < 0.0001$ for 1500, 1600 and 1700 m asl) (Fig 5A). The GI will change with difference between –0.19 and 0.94 from the bottom to the top of the transect (Fig 4E and 4H). It will remain unchanged at elevation around 1000 m asl ($W = 138, P = 0.1089$) and will significantly increase for elevations between 1100 and 1700 m asl (1100 m asl: $W = 202, P = 0.0001$; 1200 m asl: $W = 210, P < 0.0001$; 1300 m asl: $W = 171, P = 0.0068$; 1400 m asl: $W = 203, P = 0.0001$; 1500 m asl: $W = 209, P < 0.0001$; 1600 and 1700 m asl: $W = 210, P < 0.0001$) (Fig 5B). The AI will change in a range of –0.37–1.33 from the bottom to the top of the transect (Fig 4F and 4I). The AI will decrease at elevations of 1000 and 1100 m asl (1000 m asl: $W = 162, P = 0.0166$; 1100 m asl: $W = 160, P = 0.0200$) and will increase significantly for elevations between 1200 and 1700 m asl (1200 m asl: $W = 201, P < 0.0001$; 1300 m asl: $W = 169, P = 0.0084$; 1400 m asl: $W = 203, P = 0.0001$; 1500 m asl: $W = 210, P < 0.0001$; 1600 m asl: $W = 210, P < 0.0001$; 1700 m asl: $W = 210, P < 0.0001$) (Fig 5C).

Discussion

Impact of elevation on population density from field observations

In the last decades, generalized linear models (GLMs) have been widely used in ecological studies because of their ability to deal with different error structures associated with occurrence data [29]. Also, they are more flexible and suit better to analysing ecological relationships such as the relationship between insect distribution and elevation [29]. In our study Poisson regression well predicted the relationship between *A. thunbergii* populations and elevation. Our results showed that *A. thunbergii* was present at all elevations of the study area with the highest population densities at the highest elevations, whatever the climatic seasons. Our

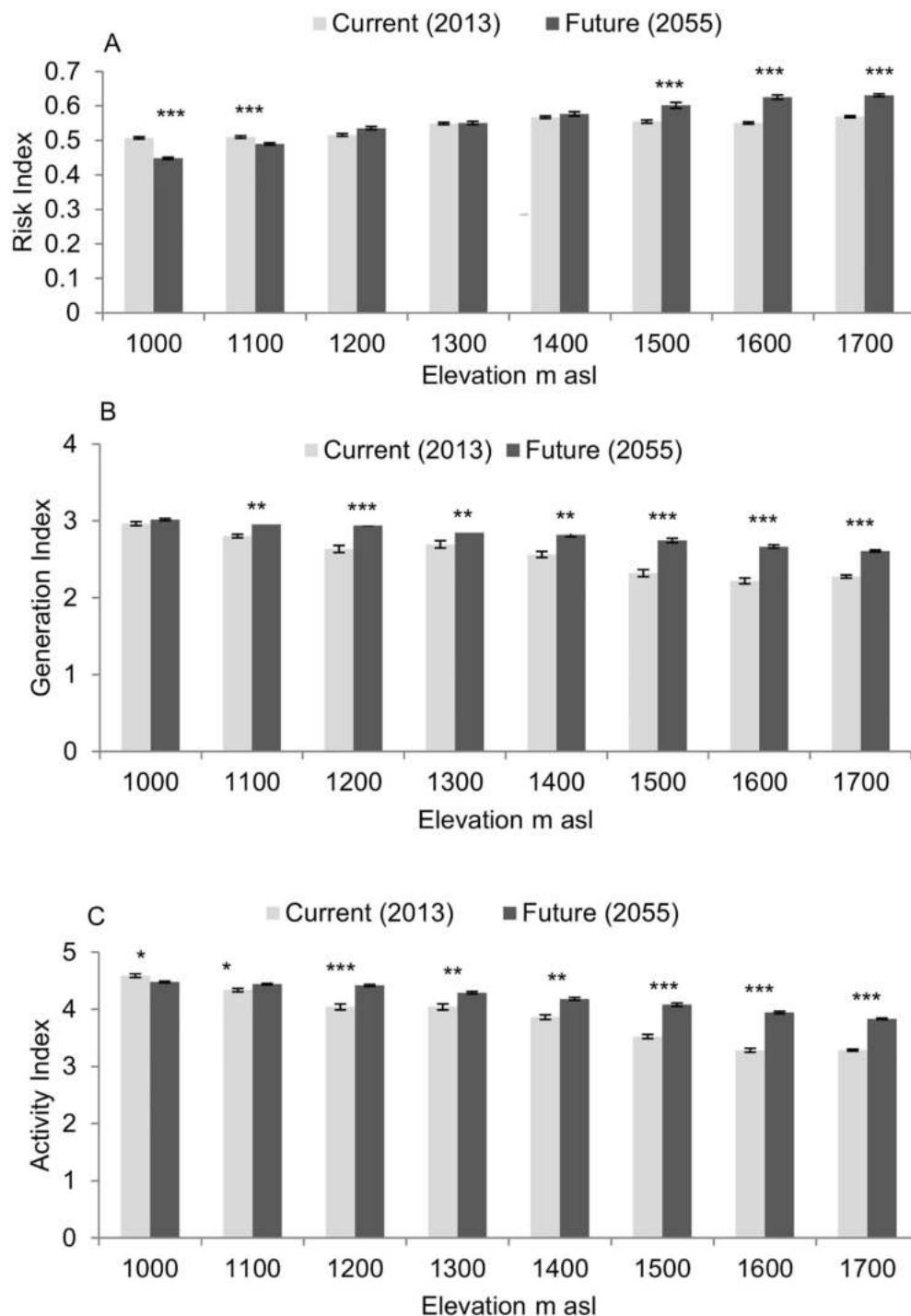


Fig 5. Change in risk indices for *A. thunbergii* populations of Kilimanjaro transect between current (2013) and future (2055) temperature conditions, plotted against elevations. (A) Establishment risk index (ERI), (B) generation index (GI), (C) activity index (AI). * = $P < 0.05$, ** = $P < 0.001$, *** = $P < 0.0001$.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199569.g005>

results confirm those of previous studies reporting that *A. thunbergii* is present in coffee at elevations between 1000 and 2100 m asl, with a preference for the highest elevations, especially for the subspecies *A. thunbergii bechuana* [1, 2]. In our study, a mean density of 1 to 1.5 bug tree⁻¹ was reported for elevation between 1600 and 1700 m asl across the different climatic seasons. In most countries of east Africa, this density is considered as an economic threshold beyond which an intervention for controlling the pest is required [4, 8, 9]. Maximum density we obtained was a bit more than 3 bugs tree⁻¹ at around 1630 m asl. This is rather low when compared to maximal densities of 45 bugs tree⁻¹ obtained for the subspecies *A. thunbergii ghesquierei* in Rwanda by Foucart and Brion [30]. Evaluation method used in that study was the “pyrethrum tests”, a knock-down technique based on pyrethrum spraying. In our study, visual counts on coffee trees may have led to underestimated densities, since the bugs tend to hide between berries or on the underside of the leaves. However, our results also suggest that densities of *A. thunbergii* could have been higher on the transect at elevation above 1700 m asl if coffee had been present.

In our study, high variation in *A. thunbergii* density was observed even between farms located at similar elevations. This indicates that, besides elevation, other crucial factors were involved in the infestation level. Some ecological traits of *A. thunbergii* suggest that the bug prefers cool environments; populations are usually more abundant in bushy coffee trees and in shaded plantations, especially at medium and low elevation [9, 31]. Our study area is characterised by agrosystems known as Chagga home gardens, where vegetation usually develops in four layers: big trees for fruits, wood and shade, banana trees, coffee trees, and maize and/or vegetables at ground level [21]. Such complex systems lead to a wide range of shade and micro-climate conditions, which may explain the variation we obtained in the bug density for similar elevations.

Our results also showed that *A. thunbergii* populations varied between seasons, with the highest populations in June, during the coolest period of the year. During our field surveys, additional observations revealed that all the development stages, from eggs to adults were present on trees during this period, whereas eggs were not observed during the warmer seasons. These results are consistent with report from Van der Meulen and Schoeman [32], who recorded higher populations in the cold season, for the same species in South Africa. Authors suggested that in addition to lower temperatures, coffee fruiting cycle might have been involved in the bug seasonal variations. More specifically, the presence of green berries on trees might have favoured immature stage survival and development. This explanation may be valid in our study since coffee trees bore developing green berries in June, whereas from October to December, berries ripened and were harvested (Azrag AGA, personal communication).

Modelling infestation risk under current temperature

Several bioclimatic models such as BIOCLIM, CLIMEX and MaxEnt [33, 34, 35] have been adapted for predicting the distribution and abundance of insect species, based on field and/or laboratory data [16, 36, 37, 38]. These models use occurrence points of the species to predict, based on bioclimatic variables, its distribution over a broad geographic area (for example, at global, continental or regional scale). However, in our study, we used ILCYM software to predict the distribution of *A. thunbergii* at a local scale, namely over an elevation transect of a few dozen square kilometres. ILCYM software uses a deductive approach of modelling, incorporating the detailed knowledge of the pest life history from laboratory experiment to predict where the species can occur. Also, the software is able to predict the pest distribution at a very small geographical scale, which provides efficient information for risk mitigation strategies that need to be implemented at local scale. Nevertheless, the main limitation of ILCYM is that

the software uses only temperature variable to predict the pest distribution and does not incorporate other climatic variables such as rainfall and relative humidity. Future versions of the software should consider such variables to improve prediction accuracy.

The first index, the ERI, characterises the area suitable for the survival and establishment of an insect. The ERI is computed based on survival of immature stages and has a range of 0–1. In our study, the ERI for current temperature ranged from 0.47 to 0.59. This result suggests that *A. thunbergii* immature stages are able to survive all over the transect for half the year, at least. This result also indicates that the bug distribution may not be limited to elevation range of the transect. In fact, the relationship we observed between the ERI and elevation suggests that areas above 1700 m may be even more favourable for *A. thunbergii* establishment than the areas covered by the transect. Such assertion is supported by previous studies reporting that *A. thunbergii* is more common in Arabica coffee at the highest elevations that can reach 2100 m asl in east Africa [2].

In the study by Azrag et al. [11], the temperature-dependent mortality models showed that the constant temperature range of 22–24°C was optimal for the survival of all *A. thunbergii* immature stages. This range matches the mean annual temperatures for the elevations between 1000 and 1300 m asl, where the ERI was the lowest in our study. This contradictory result is linked to the fact that the ERI calculation uses daily minimum and maximum temperatures. Thus, extreme daily maximum temperatures observed at the lowest elevations of the transect may be lethal for the bug immature stages, leading to low ERI. This is supported by the study by Ahmed et al. [13], who recorded a mortality rate of 89% at 30°C for immature stages of the bug.

The second index, the GI, estimates the mean number of generations year⁻¹. The GI is computed based on the generation time (*T*) and does not take survival into account. In our study, the GI decrease with increasing elevation is linked to the relationship between insect development time and temperature. For temperatures allowing survival of at least some individuals, an increase in temperature invariably shortens insect development, as demonstrated by Azrag et al. [11] at constant temperatures for *A. thunbergii* in a temperature range of 18–32°C. In our study, GI ranged 1.9–3.2 generations year⁻¹ from the top to the bottom of the transect. When maintained at constant temperature, the bug was able to have 2.6–4.4 generations year⁻¹ under temperature in range 19–25°C [11]. The field study by Van der Meulen and Schoeman [31] reported up to 4 overlapping generations year⁻¹ in South Africa. However, our results suggest that in our study area, it is unlikely that *A. thunbergii* populations would be able to reach 4 generations year⁻¹ considering the low risk of establishment at low elevation.

The third index, the AI, indicates the potential population growth and is an indicator of the pest severity and spread risk. The AI is computed based on the finite rate of increase (λ), which is the exponential of the intrinsic rate of increase (r_m). As such, the AI takes the whole life cycle of the pest into account. Our predictions revealed that the AI distribution was very similar to that of the GI with a decrease in values from the top to the bottom of the transect. This can be explained by the results obtained by Azrag et al. [11] for simulated life table parameters. In this study, intrinsic rate of increase and generation time varied in an opposite trend with an increase of temperature in the range 18–23°C. This range matches with temperature range of the transect. It is then consistent that the AI and the GI showed similar distribution on the transect. Also, results from Azrag et al. [11] suggest that the AI reached its highest value in the bottom of the transect and should have decreased for lower elevations, contrary to the GI. In our study, the AI ranged 2.94–4.84 from the top to the bottom of the transect. According to AI formula [28], these values mean that the bug population may potentially grow by a factor of ≈ 870 at the top and ≈ 69,200 at the bottom of the transect, if temperature was the only factor involved in population variation.

Comparison between risk indices and current distribution of the pest

In this study, the ERI and the pest populations had similar distribution and a close relationship to elevation on the transect. By contrast, the GI and the AI indicate an opposite relationship with elevation. The ERI is therefore the best index to predict *A. thunbergii* distribution at a local scale. Similar result has been reported in similar studies conducted on other pests at world scale, like the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (Zeller) [28] or fruit flies *Ceratitis rosa* Karsch and *Ceratitis quilicci* De Meyer [39]. In addition, our results suggest that immature stage survival is a crucial parameter of the pest distribution. Immature stage susceptibility to high temperature that may occur during the hottest hours of the day may be one of the main factors preventing the pest from establishing in plantations at low elevation. This is supported by the fact that *A. thunbergii* adopts behaviours aiming at avoiding highest temperatures: the pest is usually more active in the morning and in the evening, and avoids direct sunlight during the day by hiding in the leaf cover or between berries [1]. Susceptibility to desiccation, which is also linked to sunlight exposure, cannot be ignored, and more studies are needed to understand the impact of moisture on antestia bug development.

In our study, *A. thunbergii* was found all over the transect for the 3 different seasons. Clearly populations were small in the bottom of the transect, but some individuals were recorded around 1200 m asl even during the warm season which is not favourable. This suggests a permanent establishment of the bug throughout the year on the transect. A permanent establishment should match with an ERI close to 1. However, in our study, the ERI ranged 0.47–0.59. This contradictory result has already been reported in other studies for other pests at world scale, where the ERI value for permanent establishment was either > 0.6 [39] or > 0.8 [28]. In our study, it seems that an ERI > 0.5 is enough to illustrate a permanent establishment of *A. thunbergii*. As already mentioned above, highly diversified coffee systems in our study area lead to a large variety of microclimates and it is likely that the bug finds favourable temperature conditions even at the lowest elevations. Another disputable result in our study is the mismatch between the high AI values we obtained, illustrating high potential growth rates for the bug populations and low densities globally observed in coffee. The issue of the counting method has already been mentioned but factors other than temperature were undoubtedly involved in the limitation of the bug population. The most important limiting factor for antestia bugs is probably the pressure of natural enemies, especially egg parasitoids. Most field surveys reported egg parasitism rates in the range 40–95% and rates exceeding 80% were not rare [1]. An interesting study may be to assess the impact of temperature on egg parasitoid development.

Change in risk indices with temperature increase

Our predictions showed that by the year 2055, *A. thunbergii* will still be present in Arabica coffee plantations along the study area. However, the infestation risk will change with rising temperature. Unsurprisingly, at low elevation an increase in temperature will lead to a decrease in the ERI. This decrease is estimated at 4–12% at elevations between 1000 and 1100 m asl. A more surprising result in our study is the ERI increase at the top of the transect, which is estimated at 8–14% for elevation between 1500 and 1700 m asl. One of the reasons may be the reduction of periods of the year with low temperatures lethal for *A. thunbergii* immature stages. Azrag et al. [11] recorded high mortality rates for the bug nymphs, especially between the 2nd and 5th stages, for constant temperatures between 16 and 18°C. However, this result should be considered with caution since current and future temperatures are not measured the same way in our study.

As mentioned above, the GI reflects the impact of temperature on insect development time and does not take mortality into account. It is therefore not surprising that the GI is expected to increase all over the transect with rising temperature. By contrast, the AI is expected to decrease at the bottom of the transect. This result confirms our assumption that, for current temperature, the AI reached its highest value at the lowest elevations. An increase in temperature may therefore lead to a shift of the AI highest values from low to higher elevation.

Globally, our results suggest that an increase in the risk of infestation by *A. thunbergii* is expected for coffee at high elevation. Several studies showed that rising temperatures will highly influence coffee production in eastern Africa. For example, in Tanzania, suitable areas for coffee growing are expected to shift from 1000–2000 m asl to 1300–2300 m asl due to temperature increase of 1.9–2.6°C [21, 40, 41, 42]. Therefore, a reduction in antestia bug infestation at low elevations as demonstrated in our study will have limited consequences for coffee production in the future. By contrast, our results suggest that *A. thunbergii* will be able to follow the shift in coffee production area, and will threaten renowned Arabica coffee at the highest elevations, as it does today.

Conclusions and recommendations

In conclusion, the temperature-based models and related risk indices we used in this study allowed the prediction of *A. thunbergii* distribution as impacted by elevation. Immature stage susceptibility to extreme temperatures has proven to be a crucial factor limiting population growth. Other biophysical factors, such as shade, farmer practices, moisture, coffee phenology or natural enemies are undoubtedly involved in the pest population dynamics. These factors could explain the high variation in *A. thunbergii* populations we obtained from field observations. Therefore, we recommend further field studies to elucidate the relationships between these factors and *A. thunbergii* population dynamics. Such understanding would help refine predicting models for this major pest of coffee.

In the future, infestation by the bug will remain high at high elevation and the bug will be able to follow the shift of coffee areas to higher elevations. Coffee farmers of east Africa highlands have to be ready for that. Our results strengthen one of the current recommendations for the control of antestia bug: a good pruning of the coffee bushes. Good pruning practices enhance producing branches exposure to sun and improve productivity. In addition, these practices are detrimental for antestia bug development because they expose the pest to extreme temperature conditions, which can be lethal, especially for immature stages. Shading coffee is a valid recommendation to mitigate temperature increase and control some pests that prefer warmer conditions, like the coffee berry borer. For antestia bug, shade management recommendations should take elevation into account, since they can have opposite effect on pest infestation depending on the global climate of the target area.

Acknowledgments

We thank Dr. James Odanga for providing the current climatic data and all the coffee pest staff at International Centre of Insect Physiology and Ecology, especially Ephantus Guandaru and Dickson Mwenda for technical support in the laboratory. Also, we are grateful to the coffee farmers of the study area for allowing us to access their farm for surveys. Permission to carry research (surveys and insect field collections) by the “Climate Change Impacts of Ecosystem Services and Food Security in Eastern Africa” (CHIESA) project was granted by the Regional Administrative Secretary Kilimanjaro under reference FA/191/228/01/61.

Author Contributions

Conceptualization: Abdelmutalab G. A. Azrag, Régis Babin.

Data curation: Abdelmutalab G. A. Azrag.

Formal analysis: Abdelmutalab G. A. Azrag, Gladys Mosomtai.

Funding acquisition: Fabrice Pinard, Régis Babin.

Investigation: Abdelmutalab G. A. Azrag, Abdullahi A. Yusuf.

Methodology: Abdelmutalab G. A. Azrag, Christian W. W. Pirk, Gladys Mosomtai, Régis Babin.

Project administration: Fabrice Pinard, Régis Babin.

Resources: Fabrice Pinard, Régis Babin.

Software: Abdelmutalab G. A. Azrag, Gladys Mosomtai.

Supervision: Christian W. W. Pirk, Abdullahi A. Yusuf, Saliou Niassy, Régis Babin.

Validation: Abdelmutalab G. A. Azrag, Christian W. W. Pirk, Saliou Niassy, Régis Babin.

Writing – original draft: Abdelmutalab G. A. Azrag.

Writing – review & editing: Abdelmutalab G. A. Azrag, Christian W. W. Pirk, Abdullahi A. Yusuf, Fabrice Pinard, Saliou Niassy, Régis Babin.

References

1. Babin R, Mbondji Mbondji P, Mendesil E, Mugo HM, Lee J-H, Serracin M, et al. The antestia bug complex in Africa and Asia. In: McPherson JE, editor. Invasive stink bugs and related species (Pentatomidae): Biology, higher systematics, semiochemistry, and management. USA: CRC Press; 2018. pp. 465–493.
2. Greathead DJ. A taxonomic study of the species of *Antestiopsis* (Hemiptera, Pentatomidae) associated with *Coffea arabica* in Africa. Bull Entomol Res. 1966; 56: 515–54.
3. McNutt DN. Control of *Antestiopsis* spp. on coffee in Uganda. Proc Natl Acad Sci U S A. 1979; 25: 5–15.
4. Cilas C, Bouyjou B, Decazy B. Frequency and distribution of *Antestiopsis orbitalis* Westwood (Hem., Pentatomidae) in coffee plantations in Burundi: implications for sampling techniques. J Appl Entomol. 1998; 122: 601–606.
5. Ribeyre F, Avelino J. Impact of field pests and diseases on coffee quality. In: Oberthür T, Läderach P, Pohlan HAJ, Cock JH, editors. Specialty coffee: managing coffee. International Plant Nutrition Institute. Malaysia: IPNI; 2012. pp. 151–176.
6. Matsuura Y, Hosokawa T, Serracin M, Tulgetske GM, Miller TA, Fukatsu T. Bacterial Symbionts of a devastating coffee plant pest, the stink bug *Antestiopsis thunbergii* (Hemiptera: Pentatomidae). Appl Environ Microbiol. 2014; 80: 3769–3775. <https://doi.org/10.1128/AEM.00554-14> PMID: 24727277
7. Gueule D, Fourny G, Ageron E, Le Flèche-Matéos A, Vandenbogaert M, Grimont PAD, et al. *Pantoea coffeiphila* sp. nov. cause of ‘potato taste’ of Arabica coffee from African Great Lakes region. Int J Syst Evol Microbiol. 2015; 65: 23–29. <https://doi.org/10.1099/ijss.0.063545-0> PMID: 25267869
8. Bigirimana J, Njoroge K, Gahakwa D, Phiri NA. Incidence and severity of coffee leaf rust and other coffee pests and diseases in Rwanda. Afr J Agric Res. 2012; 7: 3847–3852.
9. Mugo HM, Kimemia JK, Mwangi JM. Severity of antestia bugs, *Antestiopsis* spp and other key insect pests under shaded coffee in Kenya. Int J Sci Nat. 2013; 4: 324–327.
10. Abebe M. Insect pests of coffee with special emphasis on antestia, *Antestiopsis intricata*, in Ethiopia. Int J Trop Insect Sci. 1987; 8: 977–980.
11. Azrag AGA, Murungi LK, Tonnang H, Mwenda D, Babin R. Temperature-dependent development and survival of an insect pest of African tropical highlands, the coffee bug *Antestiopsis thunbergii* (Hemiptera: Pentatomidae). J Therm Biol. 2017; 70: 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.10.009> PMID: 29108555

12. Bale JS, Masters GJ, Hodgkinson ID, Awmack C, Bezemer TM, Brown VK, et al. Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Glob Chang Biol.* 2002; 8: 1–16.
13. Ahmed AG, Murungi LK, Babin R. Developmental biology and demographic parameters of antestia bug *Antestiopsis thunbergii* (Hemiptera: Pentatomidae), on *Coffea arabica* (Rubiaceae) at different constant temperatures. *Int J Trop Insect Sci.* 2016; 36: 119–127.
14. Zehnder CB, Stodola KW, Joyce BL, Egetter D, Cooper RJ, Hunter MD. Elevational and seasonal variation in the foliar quality and arthropod community of *Acer pensylvanicum*. *Environ Entomol.* 2009; 38: 1161–1167. PMID: [19689895](#)
15. Estay SA, Lima M, Labra FA. Predicting insect pest status under climate change scenarios: combining experimental data and population dynamics modelling. *J Appl Entomol.* 2009; 133: 491–499.
16. Jaramillo J, Muchugu E, Vega FE, Davis A, Borgemeister C, Chabi-Olaye A. Some like it hot: the influence and implications of climate change on coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) and coffee production in east Africa. *PLoS One.* 2011; 6: e24528. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024528> PMID: [21935419](#)
17. Mwalusepo S, Tonnang HEZ, Massawe ES, Okuku GO, Khadioli N, Johansson T, et al. Predicting the impact of temperature change on the future distribution of maize stem borers and their natural enemies along east African mountain gradients using phenology models. *PLoS One.* 2015; 10: e0130427. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130427> PMID: [26075605](#)
18. Cilas C, Goebel F, Babin R, Avelino J. Tropical crop pests and diseases in a climate change setting—a few examples. In: Torquebiau E, editor. *Climate Change and Agriculture Worldwide*. Netherlands: Springer; 2016. pp. 73–82.
19. Tonnang EZH, Juarez H, Carhuapoma P, Gonzales JC, Mendoza D, Sporleder M, et al. ILCYM—Insect life cycle modeling. A software package for developing temperature-based insect phenology models with applications for local, regional and global analysis of insect population and mapping. Peru: International Potato Center; 2013. 193 p.
20. Mwalusepo S, Massawe ES, Johansson T. Spatially continuous dataset at local scale of Taita Hills in Kenya and Mount Kilimanjaro in Tanzania. *Data Brief.* 2016; 8: 1115–1119. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2016.07.041> PMID: [27536713](#)
21. Hemp A. The banana forests of Kilimanjaro: biodiversity and conservation of the Chagga home gardens. *Biodivers Conserv.* 2006; 15: 1193–1217.
22. Gichuhi JM, Ndegwa PN, Mugo HM, Guandaru EK, Babin R. Rearing method and developmental biology of the African coffee white stem borer, *Monochamus leuconotus* (Coleoptera: Cerambycidae). *J Econ Entomol.* 2017; 110: 1120–1126.
23. Thomson AM, Calvin KV, Smith SJ, Kyle GP, Volke A, Patel P, et al. RCP4.5: a pathway for stabilization of radiative forcing by 2100. *Clim Change.* 2011; 109: 77–94.
24. Platts PJ, Omeny PA, Marchant R. AFRICLIM: high-resolution climate projections for ecological applications in Africa. *Afr J Ecol.* 2015; 53: 103–108.
25. R Development Core Team. R: a language and environment for statistical computing. Austria: R foundation for statistical computing; 2016. URL: <https://www.R-project.org/>.
26. Scrucca L. Package 'dispmmod'; 2015. Preprint <http://brieger.esalq.usp.br/CRAN/web/packages/dispmmod/dispmmod.pdf>. Cited 17 February 2018.
27. Hijmans RJ, van Etten J, Cheng J, Mattiuzzi M, Sumner M, Greenberg JA, et al. Package 'raster'; 2017. Preprint. <http://healthstat.snu.ac.kr/CRAN/web/packages/raster/raster.pdf>. Cited 17 February 2018.
28. Kroschel J, Sporleder M, Tonnang HEZ, Juarez H, Carhuapoma P, Gonzales JC, et al. Predicting climate-change-caused changes in global temperature on potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (Zeller) distribution and abundance using phenology modeling and GIS mapping. *Agric For Meteorol.* 2013; 170: 228–241.
29. Guisan A, Edwards TC Jr, Hastie T. Generalized linear and generalized additive models in studies of species distributions: setting the scene. *Ecol Model.* 2002; 157: 89–100.
30. Foucart G, Brion L. Contribution à l'étude de la punaise du caféier arabica au Rwanda-Urundi. Rwanda: Rwanda Agricultural Research Institute (ISAR); 1959.
31. Kirkpatrick TW. Studies on the ecology of coffee plantations in east Africa. II. the autecology of *Antestia* spp. (Pentatomidae) with a particular account of a strepsipterous parasite. *Ecol Entomol.* 1937; 86: 247–343.
32. van der Meulen HJ, Schoeman AS. Aspects of the phenology and ecology of the antestia stink bug, *Antestiopsis orbitalis orbitalis* (Hemiptera: Pentatomidae), a pest of coffee. *Phytophylactica.* 1990; 22: 423–426.

33. Busby JR. BIOCLIM—A bioclimatic analysis and predictive system. In: Margules C, Austin M, editors. *Nature conservation: cost effective biological surveys and data analysis*. Australia: CSIRO; 1991. pp. 64–68.
34. Sutherst RW, Maywald GF, Kriticos D. CLIMEX version 3 user's guide. Australia: CSIRO; 2007. Preprint. <https://www.hearne.software/getattachment/0343c9d5-999f-4880-b9b2-1c3eea908f08/Climex-User-Guide.aspx>. Cited 17 February 2018.
35. Phillips SJ. A brief tutorial on Maxent. AT&T research; 2005. Preprint, https://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/Maxent_tutorial2017.pdf.
36. Beaumont LJ, Hughes L, Poulsen M. Predicting species distributions: use of climatic parameters in BIOCLIM and its impact on predictions of species' current and future distributions. *Ecol Modell*. 2005; 186: 250–269.
37. Booth TH, Nix HA, Busby JR, Hutchinson MF. BIOCLIM: the first species distribution modelling package, its early applications and relevance to most current Maxent studies. *Divers Distrib*. 2014; 20: 1–9.
38. Fand BB, Tonnang HEZ, Kumar M, Bal SK, Singh NP, Rao DVKN, et al. Predicting the impact of climate change on regional and seasonal abundance of the mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae) using temperature-driven phenology model linked to GIS. *Ecol Modell*. 2014; 288: 62–78. Cited 17 February 2018
39. Tanga CM, Khamis FM, Tonnang HEZ, Rwomushana I, Mosomtai G, Mohamed SS, et al. Risk assessment and spread of the potentially invasive *Ceratitis rosa* Karsch and *Ceratitis quilicci* De Meyer, Mwatawala & Virgilio sp. Nov. using life-cycle simulation models: Implications for phytosanitary measures and management. *PLoS One*. 2018; 13: e0189138 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189138> PMID: 29304084
40. Davis AP, Gole TW, Baena S, Moat J. The impact of climate change on indigenous Arabica coffee (*Coffea arabica*): predicting future trends and identifying priorities. *PLoS One*. 2012; 7: e47981. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047981> PMID: 23144840
41. Craparo ACW, Van Asten PJA, Läderach P, Jassogne LTP, Grab SW. *Coffea arabica* yields decline in Tanzania due to climate change: Global implications. *Agric For Meteorol*. 2015; 207: 1–10.
42. Ovalle-Rivera O, Läderach P, Bunn C, Obersteiner M, Schroth G. Projected shifts in *Coffea arabica* suitability among major global producing regions due to climate change. *PLoS One*. 2015; 10: e0124155. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124155> PMID: 25875230

Identifying Ant-Mirid Spatial Interactions to Improve Biological Control in Cacao-Based Agroforestry System

Leila Bagny Beilhe,^{1,2,3,11} Cyril Piou,^{4,5,6,7} Zéphirin Tadu,⁸ and Régis Babin^{2,9,10}

¹CIRAD, UPR Bioagresseurs, 30501 Turrialba, Costa Rica, ²Bioagresseurs, Univ Montpellier, CIRAD, Montpellier, France, ³IRAD, BP 2123 Yaoundé, Cameroon, ⁴CIRAD, UMR CBGP, Agadir, Maroc, ⁵CBGP, Univ Montpellier, CIRAD, INRA, IRD, Montpellier SupAgro, Montpellier, France, ⁶CNLA, BP 125, 86343 Inezgane, Maroc, ⁷Université Ibn Zohr, Agadir, Maroc, ⁸Laboratory of Zoology, Faculty of Science, University of Yaoundé I, P.O. Box 812, Yaoundé, Cameroon, ⁹CIRAD, UPR Bioagresseurs, Nairobi, Kenya, ¹⁰International Centre of Insect Physiology and Ecology, P.O. Box 30772-00100, Nairobi, Kenya, and ¹¹Corresponding author: leila.bagny@cirad.fr

Subject Editor: Richard Redak

Received 23 May 2017; Editorial decision 30 January 2018

Abstract

The use of ants for biological control of insect pests was the first reported case of conservation biological control. Direct and indirect community interactions between ants and pests lead to differential spatial pattern. We investigated spatial interactions between mirids, the major cocoa pest in West Africa and numerically dominant ant species, using bivariate point pattern analysis to identify potential biological control agents. We assume that potential biological control agents should display negative spatial interactions with mirids considering their niche overlap. The mirid/ant data were collected in complex cacao-based agroforestry systems sampled in three agroecological areas over a forest-savannah gradient in Cameroon. Three species, *Crematogaster striatula* Emery (Hymenoptera: Formicidae), *Crematogaster clariventris* Mayr (Hymenoptera: Formicidae), and *Oecophylla longinoda* Latreille (Hymenoptera: Formicidae) with high predator and aggressive behaviors were identified as dominant and showed negative spatial relationships with mirids. The weaver ant, *O. longinoda* was identified as the only potential biological control agent, considering its ubiquity in the plots, the similarity in niche requirements, and the spatial segregation with mirids resulting probably from exclusion mechanisms. Combining bivariate point pattern analysis to good knowledge of insect ecology was an effective method to identify a potentially good biological control agent.

Key words: pest management, conservation biological control, *Oecophylla longinoda*, *Sahlbergella singularis*

Ants have been used for a long time in conservation biological control of insect pests of crops. They are organized as super organisms and they are extremely abundant in most ecosystems. In tropical ecosystems, they represent up to 80% of animal biomass, where they play a crucial role in ecological processes (Peck et al. 1998, Davidson et al. 2003, Philpott and Armbrecht 2006). Ants have several biological traits that make them suitable for biological control programs (Offenberg 2015). Using recruitment systems, they can show fast numerical responses when pest populations escalate. Most ant species are polyphagous, cooperative, and often with polymorphic worker forces, enabling them to exploit a wide range of prey types. Some ants, like weaver ants, are highly territorial and workers aggressively defend their territories against other arthropods making them efficient natural biocontrol agents against agricultural pests (Offenberg 2015). A good biocontrol agent is likely to affect the abundance and distribution of the targeted pest with which it interacts (e.g., consumption, territoriality, interference) (Wootton 1994). These ecological interactions may structure insects' community in a given environment leading to different spatial patterns (Perfecto and

Vandermeer 2008). Predator-prey interactions could result in either spatial association between species given that spatial overlap is needed to favor their encounter or to spatial segregation since preys tend to avoid areas with more predators (Sih 2005). Interference competition generally leads to negative spatial interaction (Miller 1967, Offenberg 2014) due to competitive exclusion via direct interaction when high abundance of a species prevents the establishment of co-occurring species (Parr et al. 2005). In other case, chemical communication through mediators like pheromones can have repelling properties on competitive species (Offenberg 2014) preventing their co-occurrence. Finally, some species display negative spatial interactions because they have different habitat requirements.

In African cacao-based agroforestry systems, ants are particularly numerous and diversified (Tadu et al. 2014b). The numerically dominant species are generally 'territorially-dominant' arboreal ants whose very populous colonies defend their territories (several neighboring trees) that are distributed in a mosaic pattern (Dejean et al. 2007). In Southern Cameroon, cacao is traditionally grown in complex and diverse agroforestry systems, composed of many native

forest trees as well as fruit trees (Sonwa et al. 2007). In these complex systems, ant mosaics include key generalist predators, such as arboreal ants *Oecophylla longinoda* Latreille (Hymenoptera: Formicidae), *Tetramorium aculeatum* Mayr (Hymenoptera: Formicidae), and *Crematogaster* spp. Lund (Hymenoptera: Formicidae) (Tadu et al. 2014b). Because they form large colonies of thousands workers preying in cacao tree canopy where cocoa pests live (Hölldobler and Wilson 1978, Djitéo-Lordon et al. 2001, Richard et al. 2001), these ants species may be considered as good candidates for conservation biological control against the cocoa pests.

In West African cacao plantations, the mirid bug *Sahlbergella singularis* Hagn. (Hemiptera: Miridae) is the major insect pest encountered. Cocoa mirids feed upon cacao pods and shoots, leading to foliage destruction, premature tree aging, and long-term yield decline, which has been assessed at 25–30 % in West Africa (Williams 1953). Field populations are usually small throughout the year with maximal densities ranging between 2,500 and 7,000 mirids/ha, that is between 2 and 6 mirids/tree (Williams 1954, Gibbs 1968). However, relatively low level of mirid populations can cause important damage in the plantation. Since the 1970s, the economic threshold for chemical spraying has been fixed at 0.7 mirid/tree in Cameroon (Decazy and Essono 1979) and 0.6 mirid/tree in Ghana (Padi et al. 1998). These insects are generally aggregated in plantations in the sunniest areas called 'mirid pockets' (Babin et al. 2010, Gidoin et al. 2014). Biological control of African cocoa mirids has been considered for a long time but no realistic strategy has been obtained. Native parasitoids are few and parasitism rates recorded in the past were not high enough to affect mirid populations (Entwistle 1972). Reports on the impact of ants on cocoa mirid damage are quite rare and sometimes controversial (Entwistle 1972, Collingwood 1977). Only two recent studies investigated precisely the role of the predatory weaver ant *O. longinoda* on mirid populations in cacao plantations in Ghana (Ayenor et al. 2007, van Wijngaarden et al. 2007). They showed that an increase of *O. longinoda* nests caused a decrease in percentage of pods damaged by mirids and that high abundance of this ant led to cacao trees with the thickest canopies in plantations (van Wijngaarden et al. 2007). In contrast, in Asia, the use of ants to control cocoa pests is a strategy implemented with success in most producing countries (Way and Khoo 1992). For example, the black ant *Dolichoderus thoracicus* Smith (Hymenoptera: Formicidae) is known as a valuable biological control agent for the mirids *Helopeltis antonii* Signoret (Hemiptera: Miridae) and *Helopeltis theivora* Waterhouse (Hemiptera: Miridae) in Indonesia and *Helopeltis theobromae* Miller (Hemiptera: Miridae) in Malaysia (Saripah and Azhar 2012). Recommendations exist today to favor black ant colonies establishment in plantations in Asia (Way and Khoo 1992).

The present study should be taken as a part of a larger research work which aimed at a better understanding of cocoa mirid ecology in traditional cacao-based agroforestry systems of Southern Cameroon. This work was based on a large field survey with exhaustive sampling of cacao tree entomofauna, as well as agroforestry system characterization for various ecological factors (Babin et al. 2010; Gidoin et al. 2014; Tadu et al. 2014a,b). The main aim of this study was to characterize the spatial interactions between mirids and numerically dominant arboreal ants in order to identify potential candidates for biological control. The most interesting species for biological control should be the one that present negative spatial interactions with mirids assuming their niche overlap. Negative spatial interaction between mirids and associated predators is expected to occur (i) assuming that predation may lead to local suppression of mirid populations or (ii) assuming that mirids are engaged in

predator-avoidance behavior, considering the resource as unlimited (i.e., pods and shoots).

Materials and Methods

Study Sites and Plot Description

Over two consecutive years (2006 and 2007), mirid and ant populations were assessed in four 2,025 m² cacao plots (45 × 45 m) delimited in traditional cacao-based agroforestry systems located in three different agroecological areas of the Centre Region in Southern Cameroon. Two farms were chosen near Bokito (Bok1 and Bok2) in the north-western part of the Centre Region, one farm was chosen near Obala (Oba) quite close to the capital Yaoundé, and one farm was chosen near Ngomedzap (Ngo) in the southern part of the region. The three areas were mainly distinguished by the vegetation surrounding cacao farms with bush-savannah vegetation with patches of gallery forests and human-made agroforests for Bokito, domesticated forests for Obala, and less degraded forest for Ngomedzap (Santoir and Bopda 1995). This surrounding vegetation had a direct impact on trees found in the selected plots and on shade conditions in the plots (Table 1). Shade conditions in the selected plots were variable both within the plot and between the plots. Overall shade variation could be highest within a plot than between plots as shown by the range of percentage of light transmitted to the cacao trees through the shade canopy (Table 1). This was mainly due to heterogeneous distribution of fruit trees leading to a mixture of shaded and sunny areas in plantations (Bok2 and Oba). In contrast, the presence of big forest trees covering large areas of plantations tended to homogenize shade conditions (Bok1 and Ngo). These shade conditions were characterized in detail in Babin et al. (2010). Along the chosen agroecological gradient, ants' communities differed substantially. Cacao farms of Bokito area showed the highest ant abundance with around 100 individuals per sampled cacao tree, but the lowest species richness and diversity when compared with the two other areas (Table 1). Considering usual farmer practices for the areas, cocoa maintenance, especially chemical spraying, was more regular in Bokito and Obala plantations compared with Ngomedzap plantation (Tadu et al. 2014b). In the selected plots, insecticidal sprayings were not conducted for at least 3 yr before the study.

Mirid and Ant Sampling

For each 2025 m² plot, mirids and arboreal ants were sampled two times during mirids populations peak time in August or September (2006 and 2007), from 100 adjacent cacao trees located in the central area of the plot. The sampling method was a chemical knock-down technique, where cacao trees were sprayed with an endosulfan-based insecticide using a motorized mistblower (Solo type 40123; Solo Kleinmotoren, Germany) at 100 ml/ha early in the morning. Seven hours after spraying, dead insects were collected on the 4 × 4 m white plastic sheeting previously spread on the ground around the cacao stems. The insects were kept in 70% alcohol for identification and counts in the laboratory.

In the different plots, only numerically dominant arboreal ant species were considered, that is, species found on at least 30% of the sampled cacao trees and with minimum densities of five individuals per occupied trees. For one sample, however, plot Ngo year 2006, none of the ant species satisfied these conditions, probably because of rain during the sampling. For this sample, dominant ants were those found on at least 20% of cacao trees with minimum density of four individuals per occupied tree. For more details on ant community characterization in the plots see Tadu et al. 2014b.

Table 1. Agro-ecological characteristics of the study areas and plots

Parameters	Areas			
	Bokito	Obala	Ngomedzap	
Annual rainfall (mm) ^a	1,300–1,500	1,400–1,500	1,700–1,800	
Vegetation ^a	Bush savannah and gallery forests	Domesticated forest, shrub crops	Degraded forest, patches of evergreen forest	
Ant community characterization in cacao farms for areas ^b				
Obs. species richness ^b	52	61	53	
Diversity (Shannon index) ^b	1.5	2.4	2.3	
Abundance (ind. tree ⁻¹) ^c	99.4	35.2	21.7	
Plots				
	Bok1	Bok2	Oba	
Latitude	04° 34' 29" N	04° 29' 24" N	04° 06' 19" N	3° 16' 10" N
Longitude	11° 10' 45" E	11° 04' 42" E	11° 28' 40" E	11° 13' 21" E
Shade characterization for plots ^c				
Cacao tree density (tree ha ⁻¹) ^d	1,250	1,000	1,400	1,800
Type of shade trees ^d	Mixture of forest and fruit trees	Fruit trees	Fruit trees	Mixture of forest and fruit trees
Shade tree density (tree ha ⁻¹) ^d	128	64	249	79
Transmitted light reaching the cacao trees (%) ^d	11.4 – 61.4	28.1 – 90.8	9.4 – 80.1	16.1 – 62.8

^aSantoir and Bopda (1995).^bTadu et al. (2014a).^cTadu et al. (2014b).^dBabin et al. (2010).

Spatial Analyses

In this study, bivariate point pattern analysis was used to independently test the degree of association between *S. singularis* densities and each numerically dominant ant species across different spatial scales from each plot. The ultimate goal was to identify underlying negative spatial interactions between *S. singularis* and ant presence. This was accomplished by using a bivariate modified version of Ripley's K function (Ripley 1977, see equation 3). To use this modified bivariate Ripley's K function, we needed to adapt the original approach. The original univariate K-function from Ripley (1977) can be defined as the following:

$$K_{1 \rightarrow 1}(r) = \frac{A}{n^2} \sum_{i=1}^n \omega_i(r) \sum_{j=1, j \neq i}^n \delta_{ij}(r) \quad (1)$$

where r is the radius of a circle in which the density of points is counted; A is the area of the whole study zone; n is the number of points in the study zone; δ_{ij} is equal to 1 if the point j lay at a Euclidean distance $\leq r$ from the point i , and 0 otherwise; ω_i is a function of edge correction, accounting for the unknown density of points which lay at a distance $\leq r$ from a given point but beyond the border of the study zone. This K function was originally designed for two-dimensional study areas in continuous space, outside of which the distribution of points was unknown (Ripley 1977). Since insects were sampled on cacao trees, their position in plots was first determined by the position of cacao trees. Therefore, we adapted this K-function to consider the regular tree position effects on insect positions by discretizing the space in areas centered on the cacao trees (O'Driscoll 1998, Tentelier and Piou 2011) for examples of discrete space K-function. For this, we used first a Dirichlet tessellation of the spatial point pattern of the cacao trees to discretize the space of each plot. Then, the distance used for the K-function computation was not a distance in meters but a distance in degree of neighborhood between cacao trees. In other word, two trees with touching

tiles of the Dirichlet tessellation had a distance of 1, two trees with only one tile of the tessellation between them had a distance of 2 and so on. The modified function for a univariate system reads as following:

$$K_{1 \rightarrow 1}(r) = \frac{1}{n^2} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1, j \neq i}^n \delta_{ij}(r) \quad (2)$$

where n indicates the number of insects in the plot. Here, r , the distance between insects was not measured in meters but in degree of neighborhood between cacao trees. The distance used in δ_{ij} was this discrete tessellation neighboring order. Our plots had a constant size so we did not need to scale the K function to A . To assess whether mirid spatial distribution was constrained by the presence of ants, we used a modified bivariate version of equation (2):

$$K_{1 \rightarrow 2}(r) = \frac{1}{n_1 \times n_2} \sum_{i=1}^{n_1} \sum_{j=1}^{n_2} \delta_{ij}(r) - K_{1 \rightarrow 2}(r)_{\text{theo}} \quad (3)$$

where n_1 and n_2 were the number of mirids and ants in the study zone, respectively. We linearized the K function into a $L_{1 \rightarrow 2}(r)$ with the subtraction of the mean value of 199 replicates of randomization of the positions of ants and mirids among the cacao trees ($L_{1 \rightarrow 2}(r) = K_{1 \rightarrow 2}(r) - \overline{K_{1 \rightarrow 2}(r)_{\text{theo}}}$). To test our hypothesis of spatial interaction and create these randomizations, we used a Poisson null model to simulate the random distribution of all the points of mirid and ant individuals in the plot. Simulation envelopes from the 199 replicates (max and min of $K_{1 \rightarrow 2}(r)_{\text{theo}}$) were also subtracted from the mean $\overline{K_{1 \rightarrow 2}(r)_{\text{theo}}}$ to obtain the corresponding envelopes. The deviation of the realized modified K-function (from real data) from the simulation envelopes allowed the classification of the spatial relationships of insects into (i) association, when $L_{1 \rightarrow 2}(r)_{\text{observed}}$ was larger than $L_{1 \rightarrow 2}(r)_{\text{theo-max}}$, (ii) segregation, when $L_{1 \rightarrow 2}(r)_{\text{observed}}$ was smaller than $L_{1 \rightarrow 2}(r)_{\text{theo-min}}$, or (iii) no spatial relationships, when $L_{1 \rightarrow 2}(r)_{\text{observed}}$ was between $L_{1 \rightarrow 2}(r)_{\text{theo-min}}$ and $L_{1 \rightarrow 2}(r)_{\text{theo-max}}$. The

interest of this methodology was that it gave the type of spatial relationships at different distances and hence could identify if for, for example, an exclusion was happening at very local and/or larger spatial scale.

Results

Mirid Densities

Mirid populations fluctuated greatly between sites and years. The densities varied from 0.01–6.5 mirids tree⁻¹ (Table 2) with a number of individuals ranging between 0 and 33 on one tree. The populations reached a maximum in Bokito area, particularly in the plot Bok1, with 2.1 mirids per cacao tree in 2006 and 6.5 mirids per cacao tree in 2007. Mirids are also more widespread in the Bokito plots as they occupied more than 66% of sampled trees (between 66 and 90%), while their occurrence was <56 % in the other plots (Table 2). Nevertheless, the population level was low in the plot Bok2 in 2007 with only one mirid found on a tree. For the two other sites, Obala and Ngomedzap, mirid densities were comparable varying from 0.6 to 1.3 individuals per tree.

Numerically Dominant Ant Species

In total, nine ant species were considered as numerically dominant in at least one of the samples, according to the criteria specified in

the method (Table 2). Dominance of ant species varied greatly in the plots depending on the years and the areas considered. Three species, *O. longinoda*, *Polyrhachis decemdentata* Andre (Hymenoptera: Formicidae), and *Camponotus guineensis* F. Smith (Hymenoptera: Formicidae) were dominant only in Bokito areas. *Oecophylla longinoda* was by far the most abundant species in this area with mean densities comprised between 15.4 and 106.3 individuals per cacao tree, with up to 1,550 individuals sampled from one cacao tree. This species was found on more than 50 up to 75% of the sampled trees in Bokito. *Oecophylla longinoda* was also present in Obala both years without being numerically dominant and it was absent in Ngomedzap. *Polyrhachis decemdentata* was as common as *O. longinoda* in the Bokito plots (Table 2) but it was less numerous with a maximum of 68 individuals collected on a tree. *Crematogaster gabonensis* Emery (Hymenoptera: Formicidae) were dominant in Bokito and Obala occurring on more than 53% of sampled trees with on average 10 individuals per tree. Two species belonging to genus *Camponotus*, *C. acvapimensis* Mayr (Hymenoptera: Formicidae), and *C. vividus* F. Smith (Hymenoptera: Formicidae) were more ubiquitous. They were numerically dominant in almost all the plots for at least 1 yr of sampling with occurrence varying between 30 and 68%. Their average densities were quite low between 2.1 and 8.7 individuals per cacao trees. In Ngomedzap, the most forested area, three different species, *Crematogaster striatula* Emery (Hymenoptera: Formicidae), *Cr. clariventris* Mayr

Table 2. Densities (mean number per cacao tree \pm SE, and min and max values) and occurrence (% of occupied trees in the plot) of *Sahlbergella singularis* and numerically dominant arboreal ant populations for the four sampled plots and the 2 yr of evaluation

Plot	Year	Species	Density, mean \pm SE (min-max per tree)	Occurrence (%)
Bok1	2006	<i>Sahlbergella singularis</i>	2.13 \pm 0.22 (0–10)	68
		<i>Camponotus vividus</i>	5.82 \pm 0.82 (0–43)	68
		<i>Oecophylla longinoda</i>	42.34 \pm 7.84 (0–470)	65
		<i>Polyrhachis decemdentata</i>	6.59 \pm 1.07 (0–63)	57
		<i>Crematogaster gabonensis</i>	9.63 \pm 1.59 (0–73)	53
	2007	<i>Sahlbergella singularis</i>	6.53 \pm 0.65 (0–33)	90
		<i>Oecophylla longinoda</i>	106.27 \pm 29.3 (0–1550)	63
		<i>Crematogaster gabonensis</i>	10.44 \pm 3.10 (0–240)	61
		<i>Camponotus acvapimensis</i>	8.66 \pm 7.18 (0–703)	30
		<i>Sahlbergella singularis</i>	1.94 \pm 0.24 (0–12)	66
Bok2	2006	<i>Polyrhachis decemdentata</i>	9.17 \pm 1.22 (0–68)	77
		<i>Oecophylla longinoda</i>	15.41 \pm 3.13 (0–173)	55
		<i>Cataulacus guineensis</i>	16.43 \pm 3.64 (0–206)	55
		<i>Tetramorium aculeatum</i>	9.78 \pm 1.99 (0–80)	52
		<i>Sahlbergella singularis</i>	0.01 \pm 0.01 (0–1)	1
	2007	<i>Oecophylla longinoda</i>	32.22 \pm 12.4 (0–1195)	75
		<i>Tetramorium aculeatum</i>	3.14 \pm 0.94 (0–62)	37
		<i>Camponotus acvapimensis</i>	2.06 \pm 1.23 (0–123)	37
		<i>Sahlbergella singularis</i>	1.35 \pm 0.21 (0–9)	56
		<i>Camponotus vividus</i>	5.42 \pm 1.31 (0–115)	68
Oba	2006	<i>Crematogaster striatula</i>	7.02 \pm 1.83 (0–110)	35
		<i>Sahlbergella singularis</i>	0.73 \pm 0.13 (0–9)	40
		<i>Crematogaster gabonensis</i>	11.37 \pm 2.88 (0–260)	66
		<i>Camponotus acvapimensis</i>	2.53 \pm 0.43 (0–23)	43
		<i>Camponotus vividus</i>	3.36 \pm 0.89 (0–69)	38
	2007	<i>Sahlbergella singularis</i>	0.61 \pm 0.15 (0–9)	28
		<i>Crematogaster clariventris</i>	1.36 \pm 0.28 (0–12)	28
		<i>Crematogaster striatula</i>	0.96 \pm 0.33 (0–26)	21
		<i>Sahlbergella singularis</i>	1.33 \pm 0.19 (0–7)	53
		<i>Crematogaster striatula</i>	13.91 \pm 4.61 (0–420)	66
Ngo	2006	<i>Tetramorium aculeatum</i>	4.06 \pm 0.90 (0–68)	62
		<i>Camponotus vividus</i>	4.44 \pm 1.67 (0–160)	43
		<i>Crematogaster clariventris</i>	2.73 \pm 0.74 (0–52)	34

(Hymenoptera: Formicidae), and *T. aculeatum* were overall dominant. *Crematogaster striatula* was also dominant in Obala. This species occupied more than 20% of sampled cacao trees when it was present and could be very numerous reaching until 420 individuals per sampled tree. *Cr. clariventris* was dominant only in Ngomedzap. *Tetramorium aculeatum* was also dominant in plot Bok2, but it was not so common and abundant during the survey.

Dominant Ant Species Predominantly Segregated From Mirids

Oecophylla longinoda, *P. decemdentata*, *Cr. clariventris*, *Cr. Striatula*, and *Camponotus guineensis* tended to have negative spatial relationships with mirids. In Bokito plots, *O. longinoda* and mirids always had segregated spatial distribution for all distances from the cacao tree of origin (Figs. 1a and 2) with the exception of plot Bok1, year 2007 (Fig. 1b) where this negative interaction was only clearly visible up to the second neighboring tree. For *P. decemdentata*, no spatial relationship was observed for the tree of origin, but there was segregation for all the distances in the Bokito plot (Figs. 1a and 2). *Cataulacus guineensis* that was present only in plot Bok2, also showed spatial segregation with mirids for all distances (Fig. 2). For the two *Crematogaster* species, *Cr. Clariventris*, and *Cr. striatula*, the negative spatial relationships with mirids were more contrasted. *Crematogaster striatula* showed spatial segregation with mirids for all distances for plot Ngo, year 2007 (Fig. 4b), but only from the third neighbor for plot Ngo, year 2006 (Fig. 4a). However, there was no relationship for plot Oba, year 2006 (Fig. 3a). *Crematogaster clariventris* had negative spatial relationship with mirids in plot Ngo, year 2006 (Fig. 4a), but it tended

to have association relationship from second neighbor in the same plot, year 2007 (Fig. 4b).

Dominant Ant Species Predominantly Associated With Mirids

The numerical dominant ant *C. gabonensis* showed spatial association with mirids for all distances for the plot Bok1 (2006, 2007) (Fig. 1a and b), that is, from the cacao tree of origin (distance = 0) to its fifth neighbors (distance = 5). For plot Oba (2007), *Cr. gabonensis* showed weak spatial association for short distance and no spatial relationship for longer distance (Fig. 3b). The two *Camponotus* species *C. vividus* and *C. acvapimensis* showed contrasted spatial relationships depending on the sample. In plot Bok1, *Camponotus* species showed spatial association with mirids for all distances (Fig. 1). *Camponotus vividus* also showed spatial association with mirids from the second or third neighbors in Obala (2006) and Ngomedzap (2007) plots (Figs. 3a and 4b). For shorter distance, the spatial relationship was a weak segregation in Obala (2007) and Ngomedzap (2007) (Figs. 3b and 4). *Camponotus acvapimensis* showed no spatial relationship with mirids in plot Oba, year 2007 (Fig. 3b). *Tetramorium aculeatum* and mirids were associated on the tree of origin and also on short distance in plot Bok2 (Fig. 2), but there was no spatial relationship in Ngo plot (2007) (Fig. 4b).

Discussion

This work explores for the first time spatial relationships between some ant dominant species and mirid populations in cacao-based agroforestry systems. Bivariate K point pattern analysis was

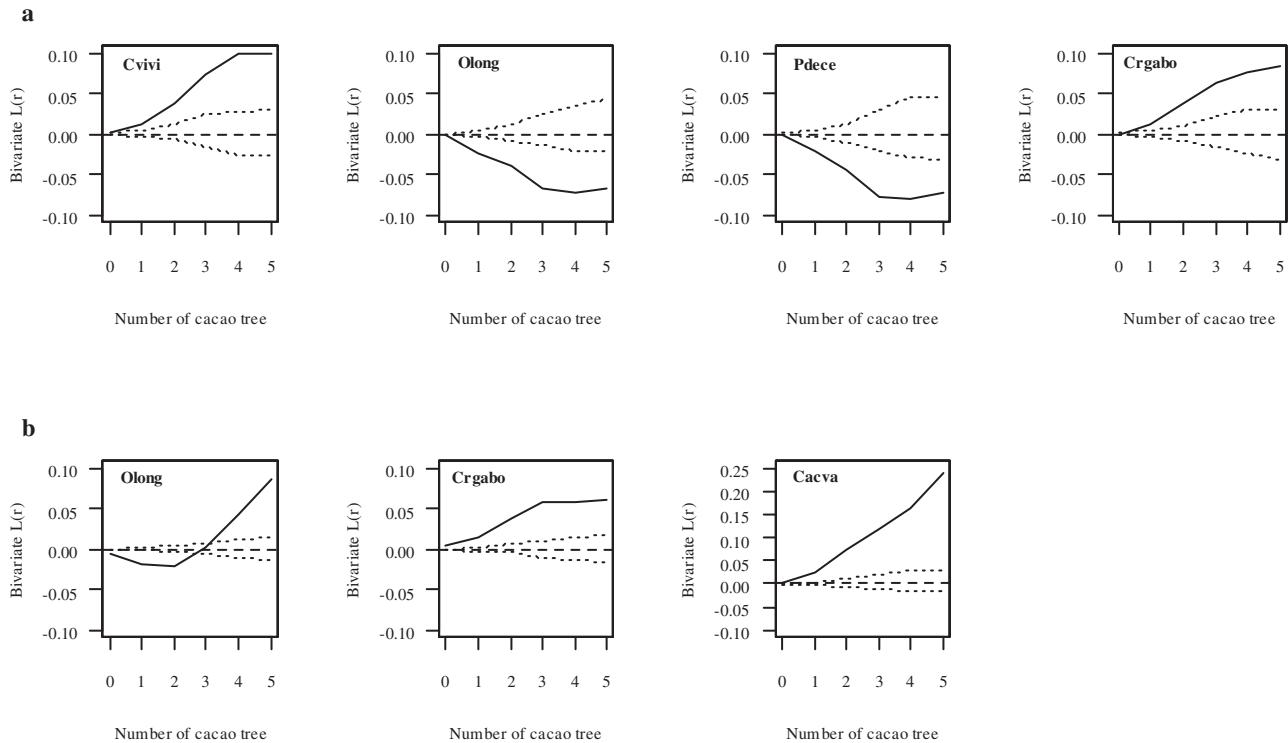


Fig. 1. Bivariate $L(r)$ function curves (continuous lines) showing spatial relationships between numerically dominant arboreal ant species and *Sahlbergella singularis* populations, for plot Bok1, year 2006 (a) and 2007 (b). Dotted lines show the Poisson null model interval, with continuous line above dotted lines = spatial association, continuous line between the dotted lines = no spatial relationship, and continuous line below the dotted lines = spatial segregation. With ant species: Cvivi, *Camponotus vividus*; Olong, *Oecophylla longinoda*; Pdece, *Polyrhachis decemdentata*; Crgabo, *Crematogaster gabonensis*; Cacva, *Camponotus acvapimensis*.

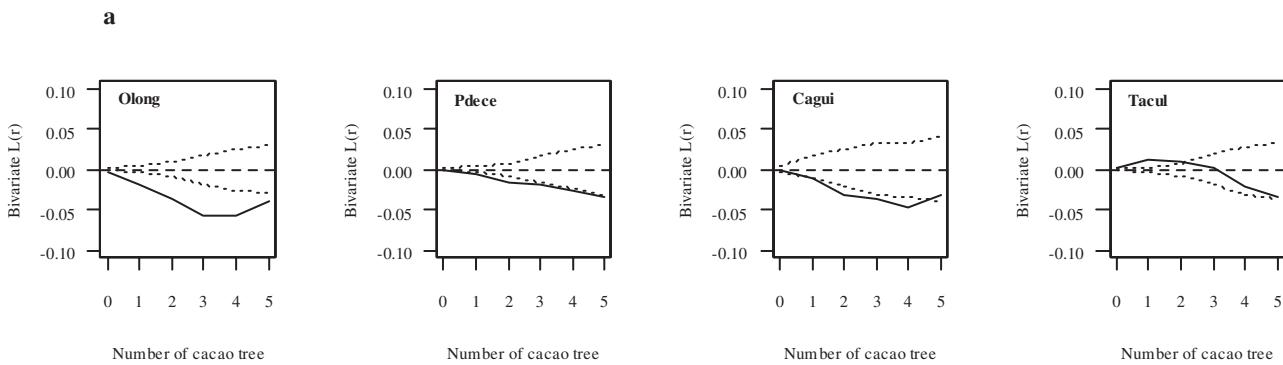


Fig. 2. Bivariate $L(r)$ function curves (continuous lines) showing spatial relationships between numerically dominant arboreal ant species and *Sahlbergella singularis* populations, for plot Bok2, year 2006 (mirid population for 2007 was too small for analysis). Dotted lines show the Poisson null model interval, with continuous line above dotted lines = spatial association; continuous line between the dotted lines = no spatial relationship; and continuous line below the dotted lines = spatial segregation. With ants species: Olong, *Oecophylla longinoda*; Pdece, *Polyrhachis decemdentata*; Cagui, *Cataulacus guineensis*; Tacul, *Tetramorium aculeatum*.

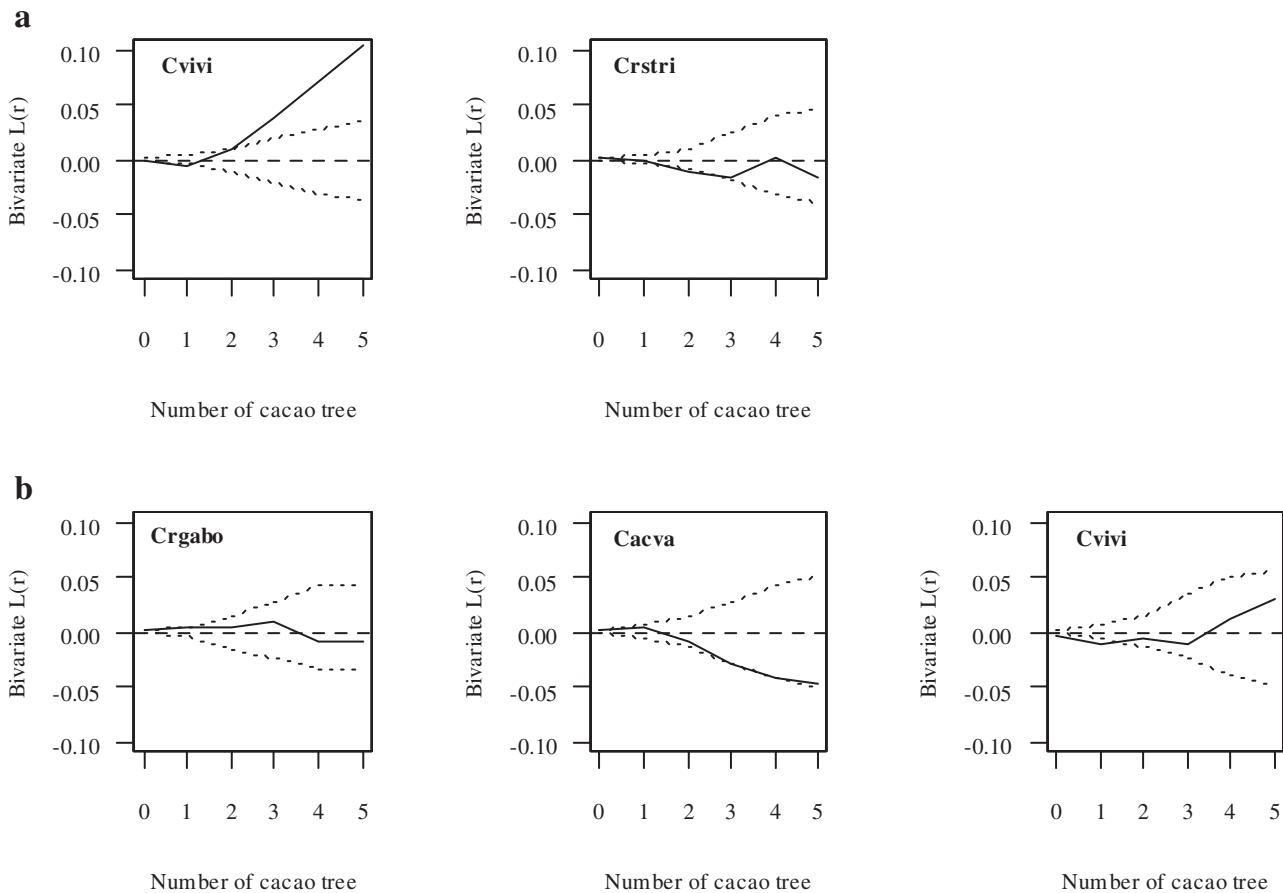


Fig. 3. Bivariate $L(r)$ function curves (continuous lines) showing spatial relationships between numerically dominant arboreal ant species and *Sahlbergella singularis* populations, for plot Oba, year 2006 (a) and 2007 (b). Dotted lines show the Poisson null model interval, with continuous line above dotted lines = spatial association; continuous line between the dotted lines = no spatial relationship; and continuous line below the dotted lines = spatial segregation. With ant species: Cvivi, *Camponotus vividus*; Crstri, *Crematogaster striatula*; Crgabo, *Crematogaster gabonensis*; Cacva, *Camponotus acvapimensis*.

interesting to identify the negative spatial interactions that illustrate the ecological interactions between species. Indeed, general knowledge on the ants' behavior and ecology is also necessary to identify a species as potential biological control agent. Our analysis shows evidences that four species, *O. longinoda*, *Cr. striatula*, *Cr. Clariventris*, and *P. decemdentata* have negative spatial relationships with *S. singularis*. Spatial patterns of individuals in complex

agroforestry systems are most often due to patches of habitats determined by light interception (Babin et al. 2010, Tadu et al. 2014b). Mirid bugs occur preferentially in sunniest areas of the plots. On the contrary, *Crematogaster* spp., known to be an aggressive species with predatory behavior are usually strongly aggregated in the most shaded areas (Tadu et al. 2014b) preventing habitat sharing with mirid bugs. Spatial patterns can also spontaneously arise from

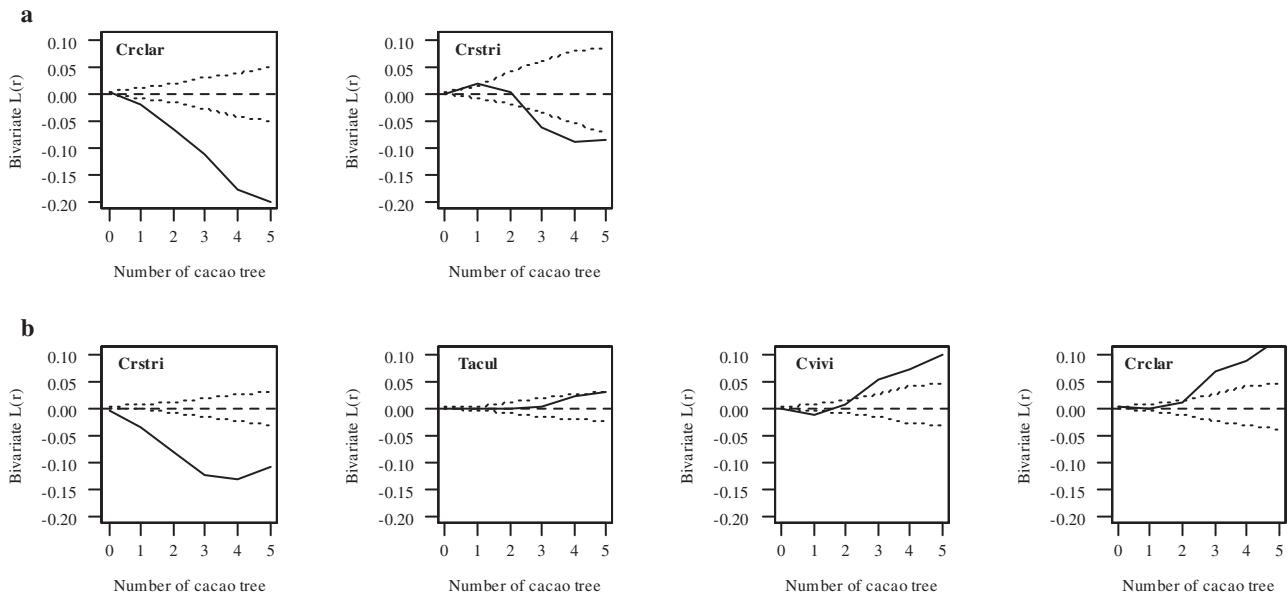


Fig. 4. Bivariate $L(r)$ function curves (continuous lines) showing spatial relationships between numerically dominant arboreal ant species and *Sahlbergella singularis* populations, for plot Ngo, year 2006 (a) and 2007 (b). Dotted lines show the Poisson null model interval, with continuous line above dotted lines = spatial association; continuous line between the dotted lines = no spatial relationship; and continuous line below the dotted lines = spatial segregation. With ant species: Crclar, *Crematogaster clariventris*; Crstri, *Crematogaster striatula*; Tacul, *Tetramorium aculeatum*; Cvivi, *Camponotus vividus*.

interactions among components of the system. Ant community is structured by complex interactions (Wootton 1994) that could interfere with spatial interactions between ants and other species of the system. The observed negative spatial interactions between mirids and *P. decemdentata* could result from these indirect interactions. Eventually, considering the niche overlap (Babin et al. 2010, Tadu et al. 2014b) and negative spatial interactions, the weaver ant *O. longinoda* appears to be the most interesting species as biological control agent in our study.

Firstly, it was abundant and widespread in all the sampled plots at least as a non-dominant species. This species is also an efficient predator that has the ability to significantly reduce pest damage in many tropical tree crops in Africa (Van Mele et al. 2007, Van Mele 2008, Olotu et al. 2013, Offenberg 2015). Its use has been advocated as a component for inclusion within mango fruit fly integrated pest management programs in Africa as fruit damage can be reduced as a function of the ant abundance (Van Mele et al. 2007) and fruit quality can be improved. The Asian congener of *O. longinoda*, *O. smaragdina* Fabr. (Hymenoptera: Formicidae) has already been used for a long time to protect cocoa crop in South-East Asia (Way and Khoo 1992). Farmers use to regularly introduce nests of *O. smaragdina* to control populations of *Helopeltis* spp. in cacao farms. Indeed, they practice weaver ant husbandry and they provide shelter, food, and construct ropes between trees populated with weaver ants in order to protect their colonies from potential competitors (Offenberg 2015). In Africa, the efficiency of *O. longinoda* against mirids has already been demonstrated in Ghana (Ayenor et al. 2007, van Wijngaarden et al. 2007). Biological control with *Oecophylla* spp. is as efficient as insecticide use and even less expensive (Offenberg 2015). Van Wijngaarden et al. (2007) suggest that protection of pods observed in cacao systems results more from exclusion of mirids via interference competition for space when ant population is very high than from direct predation interactions. In our study, it is still not clear if the negative spatial interaction relies on direct predation interactions or on interference competition for space or on a combination of both mechanisms. Further studies are needed to elucidate this interaction.

Mirid individuals were heterogeneously distributed in the plot with an average 50% of the trees sheltering the sampled populations. Population density in this work varied between 0 and 10 per tree that was quite similar to the expectation. The high amount of null value for individuals count has prevented from analysis at the tree level. Thereby, spatial point process analysis was an appropriate method to investigate interaction between mirids and ants and to deal with mirid distribution in the plot. The advantage of this method is to consider high numbers of trees with different densities of mirids and to evaluate the populations on the neighboring trees.

Once a potential biological control agent is identified, it could be challenging to enhance its efficiency. In fact, practices have to be adapted to species biology and requirements to ensure enhancement of their survival, reproduction, and efficiency (Perfecto and Castañeiras 1998). The conservation of ants for biological control also implies dealing with the whole ant community and not with individual species as its composition in a system is structured by strong interactions (Majer 1976, Seguni et al. 2011, Perfecto and Vandermeer 2013). To favor the impact of native ants in the systems, some population manipulations can be considered. On the one hand, enhancing nests of interesting species through regular introduction along with removal of hostile species nests should be recommended. A complementary alternative is the manipulation of habitats (Altieri 1999) creating favorable reproduction and resting sites. In cacao-based agroforestry systems, some recommendations regarding associated trees conservations for ant colonies habitats maintenance and shade management appear relevant to manipulate ants populations.

Finally, investigating direct interactions between ant species and insect pests is challenging in complex agroforestry systems due to the complex interactions existing between insect communities and the abiotic conditions. Given that, our approach based on spatial interactions between species could be a promising option to identify biological control agent. Combining bivariate point pattern analysis to good knowledge of insects' ecology was an effective method to identify *O. longinoda* as a potentially good biological control agent.

Acknowledgments

We thank the farmers of Bokito, Obala, and Ngomedzap for allowing us to carry out the present study in their cacao farms. We also thank all the technical staffs for their invaluable help for the field work. This work has been supported by the French Ministry of Foreign Affairs through the REPARAC project.

References Cited

- Altieri, M. A. 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agric., Ecosyst. Environ.* 74: 19–31.
- Ayenor, G. K., A. V. Huis, O. D. Obeng, B. Padi, and N. G. Roling. 2007. Facilitating the use of alternative capsid control methods towards sustainable production of organic cocoa in Ghana. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 27: 85–94.
- Babin, R., G. M. T. Hoopen, C. Cilas, F. Enjalric, Yede, P. Gendre, and J. P. Lumaret. 2010. Impact of shade on the spatial distribution of *Sahlbergella singularis* in traditional cocoa agroforests. *Agric. For. Entomol.* 12: 69–79.
- Collingwood, C. A. 1977. African Mirids, pp. 71–83. *In* E. M. Lavabre (ed.), *Les Mirides du Cacaoyer*. G-P. Maisonneuve et Larose, Paris.
- Davidson, D. W., S. C. Cook, R. R. Snelling, and T. H. Chua. 2003. Explaining the abundance of ants in lowland tropical rainforest canopies. *Science* 300: 969–972.
- Decazy, B., and B. Essono. 1979. Tests de contrôle d'infestation et traitements anti-mirides. *Café Cacao Thé* 23: 35–41.
- Dejean, A., B. Corbara, J. Orivel, and M. Leponce. 2007. Rainforest canopy ants: the implications of territoriality and predatory behavior. *Funct. Ecosyst. Commun.* 1: 105–120.
- Djitéo-Lordon, C., F. J. Richard, C. Owona, M. Giberneau, J. Orivel, and A. Dejean. 2001. The predatory behavior of the dominant arboreal ant species *Tetramorium aculeatum* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 38: 765–775.
- Entwistle, P. F. 1972. *Pests of cocoa*, Longman Group Limited, London, United Kingdom.
- Gibbs, D. G., A. D. Pickett, and D. Leston. 1968. Seasonal population changes in cocoa capsids (Hemiptera, Miridae) in Ghana. *Bull. Entomol. Res.* 58: 279–293.
- Gidoine, C., R. Babin, L. Bagny Beilhe, C. Cilas, G. M. ten Hoopen, and M. A. Bieng. 2014. Tree spatial structure, host composition and resource availability influence mirid density or black pod prevalence in cacao agroforests in Cameroon. *PLoS One* 9: e109405.
- Hölldobler, B., and E. O. Wilson. 1978. The multiple recruitment systems of the African weaver ant *Oecophylla longinoda* (Latreille) (Hymenoptera: Formicidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 3: 19–60.
- Majer, J. D. 1976. The ant mosaic in Ghana cocoa farms: further structural considerations. *J. Appl. Ecol.* 13: 145–155.
- Miller, R. S. 1967. Pattern and process in competition, pp. 1–74. *In* J. B. Cragg (ed.), *Advance in ecological research*, vol. 4. Academic Press, New York.
- O'Driscoll, R. L. 1998. Description of spatial pattern in seabird distributions along line transects using neighbour K statistics. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 165: 81–94.
- Offenberg, J. 2014. Pest repelling properties of ant pheromones. *IOBC/WPRS Bull.* 99: 173–176.
- Offenberg, J. 2015. Ants as tools in sustainable agriculture. *J. Appl. Ecol.* 52: 1197–1205.
- Olotu, M. I., H. du Plessis, Z. S. Seguni, and N. K. Maniania. 2013. Efficacy of the African weaver ant *Oecophylla longinoda* (Hymenoptera: Formicidae) in the control of *Helopeltis spp.* (Hemiptera: Miridae) and *Pseudotheraptus wayi* (Hemiptera: Coreidae) in cashew crop in Tanzania. *Pest Manage. Sci.* 69: 911–918.
- Padi, B., and G.K. Owusu. 1998. Towards an integrated pest management for sustainable cocoa production in Ghana, pp 7–15. *In* Proceedings of the First Sustainable Cocoa Workshop, Smithsonian Institution, Washington, DC.
- Parr, C. L., B. J. Sinclair, A. N. Andersen, K. J. Gaston, and S. L. Chown. 2005. Constraint and competition in assemblages: a cross-continental and modeling approach for ants. *Am. Nat.* 165: 481–494.
- Peck, S. L., B. McQuaid, and C. L. Campbell. 1998. Using ants species (Hymenoptera: Formicidae) as a biological indicator of agroecosystem condition. *Environ. Entomol.* 27: 1102–1110.
- Perfecto, I., and A. Castañeiras. 1998. Deployment of the predaceous ants and their conservation in agroecosystems, pp. 269–289. *In* P. Barbosa (ed.), *Conservation biological control*, Academic Press, San Diego.
- Perfecto, I., and J. Vandermeer. 2008. Spatial pattern and ecological process in the coffee agroforestry system. *Ecology* 89: 915–920.
- Perfecto, I., and J. Vandermeer. 2013. Ant assemblage on a coffee farm: spatial mosaic versus shifting patchwork. *Environ. Entomol.* 42: 38–48.
- Philpott, S. M., and I. Armbrecht. 2006. Biodiversity in tropical agroforests and the ecological role of ants and ant diversity in predatory function. *Ecol. Entomol.* 31: 369–377.
- Richard, F. J., A. Fabre, and A. Dejean. 2001. Predatory behavior in dominant arboreal ant species: the case of *Crematogaster sp* (Hymenoptera: Formicidae). *J. Insect Behav.* 14: 271–282.
- Ripley, B. D. 1977. Modelling spatial patterns. *J. R. Stat. Soc. Series. B Stat. Methodol.* 39: 172–212.
- Santoir, C., and A. Bopda. 1995. *Atlas régional Sud-Cameroun*, Orstom, France.
- Saripah, B., and I. Azhar. 2012. Five years of cocoa black ants, *Dolichoderus thoracicus* (Smith) at farmer's plot - An epilogue. *Malaysian Cocoa J.* 7: 8–15.
- Seguni, Z. S. K., M. J. Way, and P. Van Mele. 2011. The effect of ground vegetation management on competition between the ants *Oecophylla longinoda* and *Pheidole megacephala* and implications for conservation biological control. *Crop Protect.* 30: 713–717.
- Sih, A. 2005. Predator–prey space use as an emergent outcome of a behavioral response race, pp. 240–255. *In* I. Castellanos and P. Barbosa (eds.), *Ecology of predator–prey interactions*, Oxford University Press, Oxford.
- Sonwa, D. J., B. A. Nkongmeneck, S. Weise, M. Tchatat, A. Adesina, and M. J. J. Janssens. 2007. Diversity of plants in cocoa agroforests in the humid forest zone of Southern Cameroon. *Biodivers. Conserv.* 16: 2385–2400.
- Tadu, Z., C. Djitéo-Lordon, Yede, E. B. Messop Youbi, A. Fomena, and R. Babin. 2014a. Ant diversity in different cocoa agroforest habitats in the Centre region of Cameroon. *Afr. Entomol.* 22: 388–404.
- Tadu, Z., C. Djitéo-Lordon, Yede, E. M. Youbi, C. D. Aléné, A. Fomena, and R. Babin. 2014b. Ant mosaics in cocoa agroforestry systems of Southern Cameroon: influence of shade on the occurrence and spatial distribution of dominant ants. *Agroforest. Syst.* 88: 1067–1079.
- Tentelier, C., and C. Piou. 2011. Obstacles to migration constrain nest distribution of Atlantic salmon. *Ecol. Freshw. Fish.* 20: 400–408.
- Van Mele, P. 2008. A historical review of research on the weaver ant *Oecophylla* in biological control. *Agric. For. Entomol.* 10: 13–22.
- Van Mele, P., J. F. Vayssières, E. Van Tellingen, and J. Vrolijks. 2007. Effects of an African weaver ant, *Oecophylla longinoda*, in controlling mango fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Benin. *J. Econ. Entomol.* 100: 695–701.
- Way, M. J., and K. C. Khoo. 1992. Role of ants in pest management. *Annu. Rev. Entomol.* 37: 479–503.
- van Wijngaarden, P. M., M. van Kessel, and A. van Huis. 2007. *Oecophylla longinoda* (Hymenoptera: Formicidae) as a biological control agent for cocoa capsids (Hemiptera: Miridae), pp. 21–30. *In* Proceedings of the Netherlands Entomological Society Meeting 18.
- Williams, G. 1953. Field observations on the cacao mirids, *Sahlbergella singularis* Hagl. and *Distantiella theobroma* (Dist.), in the Gold Coast, Part I. Mirid Damage. *Bull. Entomol. Res.* 44: 101–119.
- Williams, G. 1954. Field observations on the cocoa mirids, *Sahlbergella singularis* Hagl. and *Distantiella theobroma* (Dist.), in the Gold Coast. Part III. Population fluctuations. *Bull. Entomol. Res.* 45: 723–744.
- Wootton, J. T. 1994. Predicting direct and indirect effects: an integrated approach using experiments and path analysis. *Ecology* 75: 151–165.

Rearing Method and Developmental Biology of the African Coffee White Stem Borer, *Monochamus leuconotus* (Coleoptera: Cerambycidae)

James M. Gichuhi,^{1,2} Paul N. Ndegwa,² Harrison M. Mugo,³ Ephantus K. Guandaru,¹ and Régis Babin^{1,4,5}

¹International Centre of Insect Physiology and Ecology, P.O. Box 30772-00100, Nairobi, Kenya (gichuhimn@yahoo.com; ekimani@icipe.org; regis.babin@cirad.fr), ²School of Biological sciences, University of Nairobi, P.O. Box 29053, Nairobi, Kenya (pndegwa@uonbi.ac.ke),

³Coffee Research Institute, P.O. Box 4-00232, Ruiru, Kenya (mugohmu@yahoo.com), ⁴Cirad, UPR Bioagresseurs, F-34398, Montpellier, France, and ⁵Corresponding author, e-mail: regis.babin@cirad.fr

Subject Editor: Cesar Rodriguez-Saona

Received 13 June 2016; Editorial decision 12 November 2016

Abstract

Although the African coffee white stem borer, *Monochamus leuconotus* (Pascoe) (Coleoptera: Cerambycidae), is a major insect pest of coffee in Africa, there is much to learn about its biology. The present paper describes an original rearing method for *M. leuconotus* and provides unpublished biological data for the pest. The coffee white stem borer colony was started with larvae extracted from infested coffee stems collected in the field. Larvae were reared on artificial diet while the adults were kept in reproduction cages with coffee sticks as feeding and oviposition substrate. Under our rearing conditions, mean adult longevity was 89.5 d for females and 81.8 d for males. Fecundity was 40.7 eggs per female on average, with an oviposition period of 53 d (one female laid 151 eggs for a period of 145 d). Egg viability was low (39%) and the incubation period was 26.6 d. Larval and pupal survival was high (80.9 and 88.5%, respectively). Larval development duration was variable, with a mean of 251.4 d, whereas pupal development was less variable, with a mean of 26.6 d. The rearing method described here is easily replicable and allowed a colony of coffee white stem borer to be continuously maintained in the laboratory for three years. Useful data on coffee white stem borer's life history, including reproductive and feeding behaviors, are reported here and compared with previous reports in order to fill the knowledge gaps of this important but neglected pest of coffee.

Key words: *Coffea arabica*, artificial diet, life cycle, reproduction, Lamiinae

The African coffee white stem borer, *Monochamus leuconotus* (Pascoe) (Coleoptera: Cerambycidae), is one of the most important insect pests of Arabica coffee in Africa. It was first recorded in South Africa in the late 1860s, and later in other Central, Eastern, and Southern Africa countries, where it probably drifted from local hosts to coffee with advent of the crop (Tapley 1960). In Kenya, coffee white stem borer was first reported as an important pest of Arabica coffee up to an elevation of 1,600 m asl in the late 1930s (Knight 1939).

On coffee, early larval instars are the most destructive due to ring barking which destroys phloem, interrupting translocation of metabolites. Along with galleries in the wood of stems, this damage induces wilting, stunted growth, dieback, and reduced yields. In the field, ring barking, yellowing of leaves, presence of exit holes and frass are the major signs of stem borer's infestation in coffee (Rutherford and Phiri 2006). The economic damage caused by coffee white stem borer is great, as infestation eventually leads to total

loss of the crop. In South Africa, over 25% crop losses due to coffee white stem borer were reported over a period of three years (Schoeman et al. 1998). Incidences of coffee white stem borer were reported to be 90% and 70% of smallholder coffee farms in Malawi and Zimbabwe, respectively (Murphy et al. 2008).

Like other borers, coffee white stem borer is difficult to control, as it spends most of its lifetime inside the stem. Cultural control measures such as proper coffee nutrition help reduce infestation and damage, as healthy and strong trees are less susceptible to attack (Knight 1939). Other more traditional practices, such as bark smoothing or stem wrapping with banana leaves to prevent oviposition, or larvae killing by driving a wire into galleries, are still preferred because of their low cost (Rutherford and Phiri 2006). Chemical treatments with insecticides have showed variable efficiency (Rutherford and Phiri 2006, Egonyu et al. 2015) and are only partially adopted by coffee smallholders. However, it is clear that these practices are not efficient enough to keep coffee white stem borer damage at an economically

acceptable level (Egonyu et al. 2015) and new management strategies based on better knowledge of the pest biology and ecology are needed.

The current knowledge on coffee white stem borer's biology comes mainly from field observations or laboratory monitoring of coffee wood collected in the field (Knight 1939, Tapley 1960, Schoeman et al. 1998). Due to variable monitoring methods and conditions, reports on coffee white stem borer's life cycle on coffee show variable development durations. Yet coffee white stem borer's life cycle is summarized as follows. Eggs are inserted under the bark, usually on coffee stems. There are seven larval instars with two distinct feeding phases; early-stage larvae feed on bark soft tissues, after which the larvae enter the wood and create galleries in coffee stems. The fully developed larvae make a pupal chamber and enter a dormant phase prior to pupation referred to as prepupal stage. After a short period of maturation, 3.0–3.5-cm-length adults emerge from stems by chewing circular exit holes, around 1 cm in diameter. Authors agree that the total life cycle in nature is between one and half and two years (Tapley 1960, Schoeman et al. 1998, Rutherford and Phiri 2006).

Promising results for coffee white stem borer's management were obtained in recent studies. Egonyu et al. (2015) identified an Arabica coffee variety, KP423, as being less susceptible to the pest when compared to two other Arabica coffee varieties (KP162 and SL28), in Uganda. In Zimbabwe, a study of coffee white stem borer's chemical ecology allowed the identification of a male-specific volatile, which when tested in field trapping experiments had promising results (Kutywayo 2014). However, this study also revealed that the absence of a rearing method for the pest was a challenge when large numbers of adult beetles were needed.

Since there are no reports of coffee white stem borer rearing protocols in the literature, we developed a method based on methods developed for other *Monochamus* species (Aloo and Katagiri 1994, Petersen-Silva et al. 2014). The objective of the present paper is to describe this rearing method, and to contribute to the knowledge of this important pest by providing life history data from a coffee white stem borer colony maintained in the laboratory using this method.

Materials and Methods

Insect Source

Insects initially used for this study were coffee white stem borer larvae extracted from infested coffee stems collected from smallholder coffee farms located on the Mount Kilimanjaro, near Moshi, Tanzania (sampling area located between 3.3499° S–37.4623° E and 3.2827° S–37.4539° E, with elevation between 1,100 and 1,600 m asl). The agricultural landscape in this area is dominated by agro-forestry systems known as Chagga home gardens, including small coffee plots shaded with broadleaved, evergreen trees such as *Cordia abyssinica* R. Br., *Albizia schimperiana* (Oliv.), and *Grevillea robusta* A.Cunn. ex R.Br., intercropped with bananas and other food crops like maize, beans, vegetables, and fodder crops (Hemp 2004). In the sampled area, coffee white stem borer was the main pest of coffee. Observations on coffee white stem borer cumulative damage conducted in 24 farms with a total sample of 360 coffee trees revealed that 100% of the farms had signs of damage, and 26% of the total sampled trees were damaged (unpublished data). In this location, coffee farmers rarely spray their crops with agro-chemicals.

Stems infested by coffee white stem borer were detected by damage: mainly new ring barking and frass occluding larval gallery entrance on the stem. Infested stems were cut with the farmer's permission and transported with the required permits (see acknowledgements) to the laboratory at the International Center of Insect

Physiology and Ecology (icipe), Nairobi, Kenya, where they were carefully dissected to extract coffee white stem borer larvae.

Artificial Diet Preparation

For convenience, the artificial diet was adapted from that used for the maize stem borer (*Busseola fusca* Fuller), which has been reared at icipe for more than two decades (Onyango and Ochieng'-Odero 1994). Some ingredients were changed such as the Sorghum leaf and bean powders that were replaced by coffee bark and leave powder, to make the diet acceptable to coffee white stem borer and to meet its nutritional requirements. The ingredients were clustered into three fractions with the quantities shown in the Table 1 for one liter of diet.

The first fraction was composed of a coffee powder, mixed with sucrose, brewer's yeast, ascorbic and sorbic acids, methyl-paraben, and vitamin E acetate. To create the coffee powder, a balanced mix of coffee bark and leaves was dried for few weeks in a dark room (to avoid direct sunlight) and powdered using a grinding mill (Retsch GMBH, type SK1, Haan, Germany). These ingredients were thoroughly mixed with a wooden spoon in an aluminium container and added to distilled water which was previously boiled and cooled to 60°C. The second fraction was prepared by mixing agar powder (technical number 3) with cold distilled water. This mixture was then boiled and cooled to 60°C, with frequent stirring to avoid sticking to the bottom of container. The second fraction was added to the first one in the ratio of 1:1, and mixed with a wooden spoon. The third fraction comprised of 40% formaldehyde was added to the mixture, and blended for three minutes. The diet was then poured into plastic containers of different sizes depending of the size of the larvae to be maintained, and left to cool overnight at room temperature before using.

Description of the Rearing Method

Obtaining Adults From Larvae Collected From the Field

The colony was started with a field population of larvae of different ages extracted from coffee stems collected in the field. Stems were dissected and larvae were carefully removed from their gallery with flexible forceps. They were then introduced into plastic containers, 11.5 cm in diameter and 6.5 cm deep, filled with ≈60 g of the diet described above. The containers were covered with a lid outfitted with a window of fine muslin (0.1 µm) for ventilation and maintained in an incubator at 25 ± 1°C, 85 ± 5% relative humidity (RH), and a photoperiod of 12:12 (L:D) h (from 6 a.m. to 6 p.m.). Before using the containers, they were sterilized by soaking them in sodium hypochlorite overnight and rinsing with 95% ethanol. The

Table 1. Fraction composition and quantities of ingredients for preparing one liter of the diet for the African coffee white stem borer

Fraction	Ingredient	Quantity
First fraction	Distilled water	403.3 ml
	Coffee bark and leave powder	113.3 g
	Sucrose (table sugar)	35.3 g
	Brewer's yeast	22.6 g
	Ascorbic acid	2.5 g
	Vitamin E acetate	2.1 g
	Methyl-paraben	2.0 g
	Sorbic acid	1.3 g
Second fraction	Distilled water	403.3 ml
	Agar tech. no. three (3)	12.6 g
Third fraction	Formaldehyde 40%	2.0 g

diet was pricked with a sterilized spatula to ease entry of the larva. Each larva was put singly in a container (they cannibalize each other if two or more are put together) and placed in the incubator. The diet was replaced every three weeks. Individuals that pupated were removed from the diet and put in a plastic container of the same size, lined with a paper towel. After adult emergence, a small piece of moistened cotton wool and a coffee twig were introduced in the container. Adults were kept in the containers in the incubator until they began feeding on the twig.

Oviposition on Coffee Sticks

After the first signs of feeding, adults were removed from containers and sexed based on the length of the antennae (they are slightly longer than the body for females and twice the length of the body for males). One male and one female adults were placed into Plexiglas cages (50 by 40 by 80 cm) with one 60-cm-long freshly cut Arabica coffee stick as food and oviposition substrate. Coffee sticks were collected every week in an unsprayed Arabica coffee plantation in Kiambu, not far from the laboratory. The reproduction cages were kept at room conditions (with $T=27 \pm 1^\circ\text{C}$, $\text{RH}=42 \pm 8\%$, and photoperiod of 12:12 [L:D] h). Coffee sticks were slightly buried in a container with moist soil while the other end was covered with paraffin wax to avoid drying. A petri dish with a moist cotton wool was put at the base of the sticks to provide adults with water and to increase humidity in the cage. The stick was removed from the cage after one week and a fresh one introduced, until the death of the female. The sticks with eggs were maintained in the same room as the reproduction cages and observed daily for egg hatching, which was detected by larval feeding activity as indicated by the frass.

Rearing New Larvae on the Artificial Diet

Immediately after frass detection, neonate larvae were extracted from the sticks by carefully peeling thin pieces of wood close to the frass outlet to expose the gallery using a sharp scalpel. The gallery was continuously opened until the larva was found. Then it was carefully removed from the gallery with a camel hair brush and introduced into a plastic container, 4 cm in diameter and 3 cm deep, filled with ≈ 14 g of the diet, and maintained in an incubator with the same conditions as described for field-collected larvae. The diet was replaced every three weeks, and when the larvae reached around 2 cm, larvae were moved to a larger container (11.5 cm in diameter and 6.5 cm deep). As before, pupae were removed from the diet and put in a plastic container of the same size, lined with a paper towel. A moistened piece of cotton wool and a fresh coffee twig were introduced in the container at adult emergence. Adults were kept in the containers in the incubator until they began feeding on the twig and then they were taken to the reproduction cages and treated the same way as the adults of previous generation.

Biological Study of the Colony

Adult Sex Ratio, Longevity, and Reproductive Behavior, and Female Fecundity

The coffee white stem borer colony was started with a field population of 62 larvae extracted from coffee stems. The larvae were reared as described above and adult sex ratio, longevity, and reproductive behavior were recorded from each adult produced. Fecundity and oviposition period were assessed from 27 fertile females by daily monitoring of egg production on sticks in the reproduction cages (see description of the rearing method). Eggs were detected on coffee sticks by the presence of a round dark and shiny spot with a protrusion.

Egg Survival and Incubation Period

Egg survival on coffee sticks was assessed from 510 eggs laid by adults that emerged from field population larvae reared on the artificial diet. Incubation period was assessed using 22 eggs that hatched from a sample of 86 eggs with known laying date. Eggs were monitored daily using a binocular magnifier by removing coffee sticks from reproductive cages for the assessment of egg survival ($n=510$) and incubation period ($n=86$). In our study, extraction of eggs from the bark proved to cause high egg mortality. Larval emergence was detected by the presence of frass indicating that the larva had started to feed. Egg survival was assessed using the proportion of eggs hatched divided by the total number of observed eggs. In our study, we assumed that neonate larvae started feeding immediately after emergence from eggs. Hence, incubation period was assessed as the number of days between egg laying and first observation of frass.

Larval and Pupal Survival and Development Duration

Larval survival and development duration on artificial diet were assessed for 115 first generation larvae from the laboratory population. They were observed daily from the extraction from the coffee sticks, and the date of pupation was recorded for each. Once pupation, pupal survival and development duration was followed daily for 87 pupae. Pupae were considered as surviving if adult emergence occurred.

Statistical Analysis

Adult longevity (in days) and duration between adult emergence and first feeding (in days) were compared between males and females using t-tests on R, version 3.1.3 (R Core Team, 2015). Data normality was previously checked using the Shapiro-Wilk normality test on R.

Results

Adult Sex Ratio, Longevity, Sexual Maturation, and Mating Behavior

In the initial group of 62 adults obtained from field population larvae, 30 were females and 32 were males, resulting in a sex ratio of F:M 1:1.07. Under our rearing conditions, adult longevity was variable and did not differ significantly between males and females ($t=0.76$, $\text{df}=51.92$, $P=0.45$), with a mean of 89.5 d for females and 81.8 d for males (Table 2). Maximum adult longevity was obtained for a female with 204 d, while the maximum longevity for males was 164 d. Two females and two males died before showing any sign of feeding activity, so the following parameters were calculated based on 28 females and 30 males. After emergence from the pupae, females took an average of 26.1 d to start feeding on the coffee twigs, while males took an average of 22.0 d ($t=1.65$,

Table 2. Adult longevity and female reproductive parameters for coffee white stem borer larvae extracted from coffee stems and reared on artificial diet

		Mean \pm SE	Min-Max	<i>n</i>
Adult longevity (d)	Male	81.8 \pm 5.7	38–164	32
	Female	89.5 \pm 8.3	14–204	30
Preoviposition period (d)		36.5 \pm 1.8	17–58	27
Oviposition period (d)		52.9 \pm 8.1	1–145	27
Postoviposition period (d)		6.9 \pm 0.6	0–14	27
Fecundity (eggs per female)		40.7 \pm 7.0	1–151	27

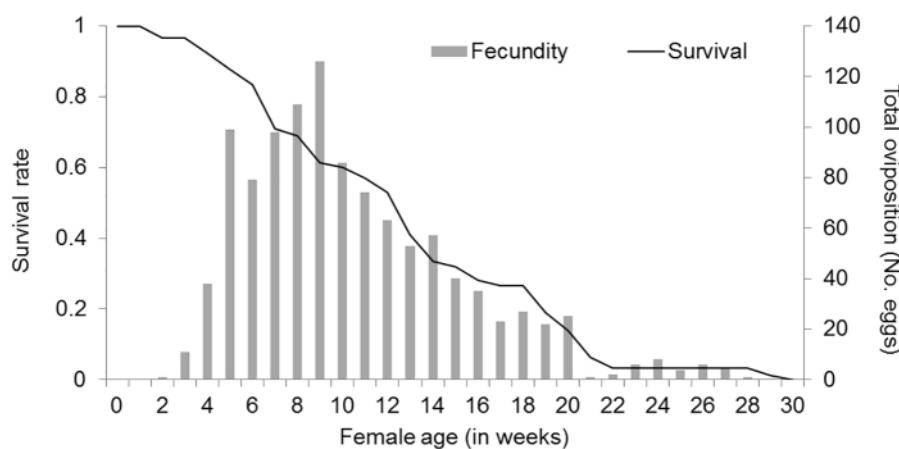


Fig. 1. Female age-specific survival and total fecundity (total oviposition per week) for coffee white stem borer females maintained on coffee sticks ($n=27$).

$df = 53.43$, $P = 0.10$). Once the paired males and females were introduced into a rearing cage, mating started almost instantly: the male immediately advanced toward the reluctant female and once together mating occurred repeatedly, copulation lasting for few minutes. However in some cases, it lasted for few hours.

Female Fertility, Fecundity, and Egg-Laying Behavior

From the 30 females that emerged from field population larvae, 27 laid eggs on coffee sticks (fertility = 90%). In most cases, oviposition occurred at night but on rare occasions at dawn. Before oviposition, female palpated the stick with antennae in order to locate a suitable oviposition site. The oviposition site was usually within 3 cm from soil level. Then female chewed a small cavity in the bark, turned around, inserted her ovipositor, deposited a single egg and then sealed the cavity with a dark brown, gummy, shiny secretion.

Under our rearing conditions, the preoviposition period ranged from 17 d to 2 mo, with a mean of 36.5 d (Table 2). The oviposition period also was variable, with a mean of 52.9 d, while one female laid eggs for 145 d. The postoviposition period, i.e., the time between the last oviposition and the death of female was less variable, with a mean of 6.9 d. Female fecundity was also variable, with a mean of 40.7 eggs per female, and a maximum fecundity of 151 eggs.

Most of the eggs were laid between the 33rd and 84th days (5th and 12th weeks) of female life (Fig. 1). At the end of this period, female survival was 50%. After this, mean daily fecundity decreased along with survival to reach minimum values around the 150th day (21st week) of female life. Data for the following period (from the 150th to the 204th day) is from one female only, which displayed much higher fecundity and longer life span when compared to all other females (Fig. 1).

Immature Stage Development

From a total of 510 eggs observed on coffee sticks, 199 hatched (egg viability = 39.0%; Table 3). Incubation period was variable, with a mean of 26.6 d. Larval survival on the diet was high with 80.9%. Larval development was variable, with a mean of 251.4 d. Pupal survival was high with 88.5% and duration of the pupal stage averaged 26.6 d.

Larvae pupated from 19 to 48 wk after extraction (Fig. 2). During this period, pupation occurrence showed irregular trends, with the highest level of pupation between the 35th and the 43rd

Table 3. Survival and development parameters for coffee white stem borer immature stages reared in the laboratory using artificial diet

Dev. stage	Survival to next stage		Duration of development		
	Value (%)	<i>n</i>	Mean \pm SE (d)	Min–Max (d)	<i>n</i>
Egg	39.0	510	26.6 \pm 1.7	16–45	22
Larva	80.9	115	251.4 \pm 5.0	137–333	93
Pupa	88.5	87	26.6 \pm 0.5	21–36	77

weeks after larva extraction. Larval mortality was low, and homogeneously distributed during the larval development period (Fig. 2).

Discussion

Rearing Larvae on Artificial Diet

The original rearing method for *Monochamus leuconotus* presented here, where artificial diet was used for the first time proved successful. In insect mass rearing, an ideal diet must raise at least 75% of the individuals to the adult stage from viable eggs (Singh 1983). Our diet allowed larval and pupal survival rates of 80.9% and 88.5%, respectively. Rearing coffee white stem borer larvae on our diet presents at least two benefits: reduction of costs, by using ingredients easily obtainable when compared to coffee stems, and the possibility for researchers to observe or even manipulate larvae at any time, which is not possible when they develop in coffee stems.

A common practice in developing a rearing diet is to modify the existing diet of an insect with similar feeding habits (Cohen 2004). In the present study, we adapted a standard recipe used at icipe for 2 decades to rear the maize stem borer (*Busseola fusca*) (Onyango and Ochieng'-Odero 1994). Some ingredients and/or quantities were changed to make the diet acceptable to coffee white stem borer and to meet its nutritional requirements. In other studies with diet development, extracts from host plant have proven to act as phagostimulant in neonate and to raise the diet acceptability (Gardiner 1970, Aloo and Katagiri 1994). Coffee plant extracts (consisting of a powder of dried coffee bark and leaves) we added to the standard ingredients appear to have successfully stimulated feeding.

The addition of brewer's yeast to the diet provided major vitamins and minerals, which are known to help insect metabolism. Sucrose was shown to be necessary for growth and development of Cerambycids (Kitajima 1999), and was the major source of

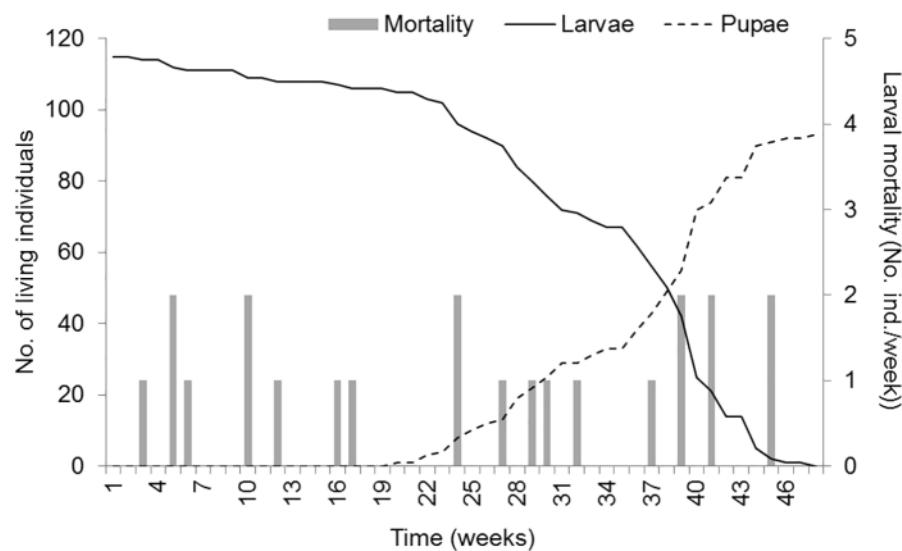


Fig. 2. Survival of coffee white stem borer larvae and pupae (initially $n=115$) maintained on artificial diet. Bars show weekly larval mortality in number of individuals per week.

carbohydrate in our diet. Ascorbic acid provided vitamin C, while vitamin E acetate supplied vitamin E necessary for reproduction. Sorbic acid, methyl-paraben, and formaldehyde were used to preserve the diet from microbial and fungal contamination, which can affect the nutritional status of the diet and even have adverse effects on the insect (Zha and Cohen 2014). In addition to acting as bacteriostatic agent, methyl-paraben helped adjust pH, while agar powder helped solidify and cement ingredients together (Tefera et al. 2010).

The structure of the rearing diet has proven to be important, as it determines the ability of the neonate larvae to penetrate a surface (Gindin et al. 2009). In our study, the right consistency of the diet was achieved through adjustment of the amount of distilled water and coffee bark and leave powder to 806.6 ml and 113.3 g, respectively. In addition, before being used, containers filled with the diet were left open overnight to reduce moisture levels to <60%. Initially, the diet was replaced after one month but it was changed to every three weeks, because of reduced growth rate during week four, perhaps due to accumulation of the body excreta.

Egg Production on Coffee Sticks

Building on the natural reproductive behavior of coffee white stem borer, as well as on existing rearing methods for longhorn beetles (Wang et al. 2002), freshly cut Arabica coffee sticks were used as oviposition substrate. Preliminary observations showed that adults also fed on coffee sticks soon after introduction in reproductive cages. Therefore, no other food was added, except water provided by a piece of moist cotton wool. Also preliminary observations revealed high egg and neonate mortality due to the drying of sticks. This was corrected by slightly burying the sticks in moist soil and covering the exposed end with paraffin. Despite this, eggs survival was low in our study (39%). Moisture levels in plant tissues is an important factor for Cerambycid egg hatchability (Hanks 1999), so stick freshness may have been an issue, despite of the measures taken to prevent sticks from drying out. Another explanation for low egg survival may be linked to adult feeding, which may have damaged some eggs. Behavior records revealed that most eggs were laid within 3 cm of soil level, whereas adult mating and feeding mainly occurred on the top of the sticks. However, damage to eggs by adult

feeding or even females gnawing egg niches cannot be ruled out. Regardless, low egg hatchability in our study is also consistent with what is reported in literature for other cerambycids (Lee and Lo 1996), and may be due to high rate of unfertilized eggs.

Reproductive Behavior and Fecundity

The adult sex ratio obtained from larvae extracted from coffee stems was close to 1:1, which is consistent with Tapley (1960) but in contrast to a male-biased sex ratio of 1:4 reported in an Arabica coffee plantation in South Africa by Schoeman et al. (1998). However in the last study, the authors observed that the sex ratio varied through time and suggested that the male-biased sex ratio might be due to an early emergence of males compared to females. This seems to be confirmed in our study, where adult males were active 22 d after emergence while females remained inactive for 26 d before starting to feed. This long period of adult inactivity is consistent with Tapley (1960), who reported that coffee white stem borer adults can remain in pupal chamber for up to 5 wk before exiting the coffee stems. This period of physiological and sexual maturation has been recorded for many lamiine cerambycid species (Wang et al. 2002). Also, this period is supposed to ensure that adult emergence coincides with favorable conditions for reproduction (Gupta and Tara 2013). Our results and those of others suggest that coffee white stem borer may be classified as a protandrous longhorn beetle species, with males being active and emerging from coffee stems before females in nature (Timmerman et al. 2007). This phenomenon enables males to mate with many females by establishing and defending territories in the best habitat (Timmerman et al. 2007).

Our mating behavior observations suggest that virgin males were mainly focused on copulation while females spent time feeding before mating. This could be because lamiine adults female usually require a maturation feeding period in order to gain the necessary energy for egg production (Hanks 1999). In our rearing program, copulation lasted for some minutes though in some cases it has extended beyond an hour. After mating, the male usually remained mounted on the dorsum of the female for hours. Similar observations of mate guarding were recorded by Kutywayo (2014) for coffee white stem borer in Zimbabwe. This

behavior increases male fertilization success, as females are polyandrous. For the closely related species *Monochamus scutellatus* Say, Morewood et al. (2004) showed that the latest mating was more likely to fertilize the most of eggs.

Before egg laying, females gnaw a small cavity in the bark and, after oviposition, cover the egg with a secretion produced by ovipositor. This behavior is a characteristic of lamiine longhorns, while other cerambycids mainly use bark cracks to insert their eggs (Hanks 1999). Also this oviposition behavior calls into question the efficiency of bark smoothing as a method to prevent oviposition on coffee stems (Egonyu et al. 2015), since coffee white stem borer females do not need bark cracks to lay eggs.

Under our rearing conditions, fecundity was variable, with a mean of 40.7 eggs per female, and a maximum fecundity of 151 eggs laid by a female. In Kenya, Knight (1939) recorded a range of 10–40 eggs per female depending on temperature, whereas Schoeman et al. (1998) reported an average of 80.5 eggs per female in South Africa. The high variability in the fecundity we observed in our study suggests that this parameter was underestimated using our method and further studies are needed.

Development of Immature Stages

Egg viability was low in our study (39%). As suggested earlier, low egg viability may be linked to the egg production method we used. However, hatchability is generally low in cerambycids due to unfertilized eggs (Lee and Lo 1996). The incubation period on the sticks was 26.6 d on average, which is slightly higher than 21 d reported by Schoeman et al. (1998), but within the range of 20–30 d reported by Tapley (1960). The incubation period may have been overestimated using our assessment method because egg hatching was considered achieved when neonate larva feeding activity was first detected by frass on the coffee sticks. Past studies of other *Monochamus* species revealed that neonate larvae usually start feeding soon after emergence. If this is the case for coffee white stem borer, we may have overestimated the mean incubation period by less than 1 or 2 d (Pershing and Linit 1986).

Larval survival was high using our diet (80.9%), and consistent with survival obtained for *M. alternatus* Hope reared on artificial diet by Kosaka and Ogura (1990). In coffee plantations, Tapley (1960) estimated that half of a larval population might not reach the adult stage, due to natural enemies and other mortality factors. Larval development on the artificial diet took 251 d on average (slightly more than 8 mo). This is less than half the duration estimated by Tapley (1960) with a field population of larvae in coffee stems (20 mo). Our results also revealed that larval development duration was highly variable, with values ranging from less than five to eleven months. Because the larval population was reared under the same climatic and feeding conditions this variability was surprising. Our rearing method on artificial diet, made it impossible to observe molting, so the number of larval instars was not determined. Tapley (1960) estimated the number of larval instars at 7 from a field population. The variability we observed may be due to the existence of one or more additional larval instars. This has been observed for cerambycids of different genera, including the *Monochamus* genus (Esperk et al. 2007). Variation in larval development duration may play a part in coffee white stem borer emergence pattern in nature, which exhibits two distinct emerging periods linked to seasonal rainfall pattern (Tapley 1960, Schoeman et al. 1998). This has to be confirmed with further studies. In comparison, the pupal period was relatively constant, with 26.6 d on average and consistent with field reports by Tapley (1960), of 21–30

d. Mortality was low at this stage, which corroborates with findings of Anbutsu and Togashi (1997) and Naves et al. (2008) in other cerambycids.

Larval rearing on the artificial diet drastically reduced the duration of coffee white stem borer life cycle to an average of 11 mo (from 6 to 15 mo) compared to 18 to 24 mo reported under field conditions by Tapley (1960) and Schoeman et al. (1998). In previous studies, artificial rearing has been shown to reduce the duration of cerambycid life cycles (e.g., Naves et al. 2008, Rogers et al. 2010). Reducing development duration allows for a bigger, quicker and more time flexible production of individuals at different development stages. This can be useful for laboratory studies, such as behavioral bioassays to develop semiochemical control. However, developmental data collected using this method should be considered with caution, because it may not reflect coffee white stem borer development in coffee plantations. In conclusion, the rearing method presented here allowed us to maintain a colony of *M. leuconotus* and to describe the life cycle of this important pest of coffee in the laboratory.

Acknowledgments

We gratefully acknowledge the financial support provided by the CHIESA project (Climate Change Impacts on Ecosystem Services and Food Security in Eastern Africa) funded by the Ministry of Foreign Affairs of Finland. We are grateful to Dr. Frederick L. Magina from Tanzanian Coffee Research Institute (TACRI) who was partner of the project and provide authorizations for coffee white stem borer collection in Tanzania and transportation to icipe in Kenya. Also, we thank the coffee farmers of the Moshi area in Tanzania for allowing us to access their farms and collect infested coffee stems. Finally, we are grateful to the team of the coffee pest laboratory at icipe for the support they provided during this research.

References Cited

- Aloo, I., and K. Katagiri. 1994. Assessment of artificial rearing method for the pine sawyer beetle, *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). Bull. Tokyo Univ. For. 92: 153–166.
- Anbutsu, H., and K. Togashi. 1997. Effects of spatio-temporal intervals between newly-hatched larvae on larval survival and development in *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). Res. Popul. Ecol. 39: 181–189.
- Cohen, A. C. 2004. Production of artificial diets for commercial use, p. 79. In M. Hoddle (ed), Proceedings, 4th California Conference on Biological Control, 13–15 July 2004, Berkeley, California.
- Egonyu, J. P., P. Kucel, G. Kagezi, J. Kovach, I. Rwomushana, M. Erbaugh, R. Wekono, D. Salifu, and S. Kyamanywa. 2015. *Coffea arabica* variety KP423 may be resistant to the cerambycid coffee stemborer *Monochamus leuconotus*, but common stem treatments seem ineffective against the pest. Afr. Entomol. 23: 68–74.
- Esperk, T., T. Tammaru, and S. Nylin. 2007. Intraspecific variability in number of larval instars in insects. J. Econ. Entomol. 100: 627–645.
- Gardiner, L. M. 1970. Rearing wood boring beetles (Cerambycidae) on artificial diet. Can. Entomol. 102: 113–117.
- Gindin, G., T. Kuznetsova, A. Protasov, S. Yehuda, and Z. Mendel. 2009. Artificial diet for two flat-headed borers, *Capnodis* spp. (Coleoptera: Buprestidae). Eur. J. Entomol. 106: 573–581.
- Gupta, R., and J. S. Tara. 2013. First record on the biology of *Aeolesthes holosericea* Fabricius, 1787 (Coleoptera: Cerambycidae), an important pest on apple plantations (*Malus domestica* borkh.) in India. Mun. Ent. Zool. 8: 243–251.
- Hanks, L. M. 1999. Influence of the larval host plant on reproductive strategies of cerambycids beetle. Annu. Rev. Entomol. 44: 483–505.
- Hemp, A. 2004. The banana forests of Kilimanjaro: Biodiversity and conservation of the Chagga home gardens. Biodivers. Conserv. 15: 1193–1217.

- Kitajima, H. 1999. Effect of sucrose levels in artificial diet on larval growth of cryptomeria bark borer, *Semanotus japonicus* (Lacordaire) (Coleoptera: Cerambycidae). Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. 43: 203–205.
- Knight, C. D. 1939. Observations on the life-history and control of the white borer of coffee in Kenya. East Afr. Agric. J. 5: 61–67.
- Kosaka, H., and N. Ogura. 1990. Rearing the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae) on artificial diets. Appl. Entomol. Zool. 25: 532–534.
- Kutywayo, D. 2014. Studies of the mechanisms involved in host finding and mating behaviour of the African coffee white stem borer, *Monochamus leuconotus* (Pascoe) (Coleoptera: Cerambycidae). Ph.D. dissertation, University of Greenwich, London, United Kingdom.
- Lee, C. Y., and K. C. Lo. 1996. Reproductive biology of the white spotted longicorn beetle, *Anoplophora macularia* (Thomson) (Coleoptera: Cerambycidae), on sweet oranges. J. Agric. Res. China. 45: 297–304.
- Morewood, D. W., P. R. Neiner, J. C. Sellmer, and K. Hoove. 2004. Behavior of adult *Anoplophora glabripennis* on different tree species under greenhouse conditions. J. Insect Behav. 17: 215–226.
- Murphy, S. T., N. Phiri, K. Sreedharan, D. Kutywayo, and C. Chanika. 2008. Integrated stem borer management in smallholder coffee farms in India, Malawi and Zimbabwe: Final technical report. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- Naves, P. M., E. Sousa, and J. M. Rodrigues. 2008. Biology of *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera, Cerambycidae) in the pine wilt disease affected zone, Southern Portugal. Silva Lusitana 16: 133–148.
- Onyango, F. O., and J.P.R. Ochieng'-Odero. 1994. Continuous rearing of the maize stem borer *Busseola fusca* on an artificial diet. Entomol. Exp. Appl. 73: 139–144.
- Pershing, J. C., and M. J. Linit. 1986. Biology of *Monochamus carolinensis* (Coleoptera: Cerambycidae) on scotch pine in Missouri. J. Kans. Entomol. Soc. 59: 706–711.
- Petersen-Silva, R., P. Naves, E. Sousa, and J. Pujade-Villar. 2014. Rearing the pine sawyer *Monochamus galloprovincialis* (Olivier, 1795) (Coleoptera: Cerambycidae) on artificial diets. J. Entomol. Res. Soc. 16: 61–70.
- R Core Team 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. (<http://www.R-project.org/>)
- Rogers, D. J., S. E. Lewthwaite, and P. R. Dentener. 2010. Rearing huhu beetle larvae, *Prionoplus reticularis* (Coleoptera: Cerambycidae) on artificial diet. N. Z. J. Zool. 29: 303–310.
- Rutherford, A., and N. Phiri. 2006. Pests and diseases of coffee in Eastern Africa: A technical and advisory manual. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- Schoeman, P. S., H. Hamburg, and B. P. Pasques. 1998. The morphology and phenology of the coffee white stem borer, *Monochamus leuconotus* (Pascoe) (Coleoptera: Cerambycidae), a pest of Arabica coffee. Afr. Entomol. 6: 83–89.
- Singh, P. 1983. A general purpose laboratory diet mixture for rearing insects. Insect Sci. Appl. 4: 357–362.
- Tapley, R. G. 1960. The white coffee borer, *Anthores leuconotus* Pasc. and its control. Bull. Entomol. Res. 51: 279–301.
- Tefera, T., S. Mugo, R. Tende, and P. Likhayo. 2010. Mass rearing of stem borers, maize weevil and larger grain borer insect pests of maize. CIMMYT, Nairobi, Kenya.
- Timmerman, S. J., P. V. Switzer, and K. C. Kruse. 2007. Emergence and reproductive patterns in the Japanese beetle, *Popilia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae). J. Kans. Entomol. Soc. 74: 17–27.
- Wang, Q., G. Shi, D. Song, D. J. Rogers, L. K. Davis, and X. Chen. 2002. Development, survival, body weight, longevity, and reproductive potential of *Oemena birta* (Coleoptera: Cerambycidae) under different rearing conditions. J. Econ. Entomol. 95: 563–569.
- Zha, C., and A. C. Cohen. 2014. Effects of anti-fungal compounds on feeding behavior and nutritional ecology of tobacco budworm and painted lady butterfly larvae. Entomol. Ornithol. Herpetol. 3: 120.

Identification of kairomones of second instar nymphs of the variegated coffee bug *Antestiopsis thunbergii* (Heteroptera: Pentatomidae)

Teresiah N. Njihia^{1,2} · Baldwin Torto¹ · Lucy K. Murungi² · Janet Irungu¹ ·
Dickson M. Mwenda¹ · Régis Babin^{1,3,4}

Received: 2 August 2017 / Accepted: 20 October 2017 / Published online: 2 November 2017
© Springer International Publishing AG 2017

Abstract The variegated coffee bug *Antestiopsis thunbergii* Gmelin is a key pest of *Coffea arabica* in East Africa. Although the bug feeds on various parts of the coffee plant, it has a strong preference for mature green berries which are essential for the bug to complete its life cycle, reproduce and enhance its longevity. To locate mature green coffee berries, we hypothesized that second instar nymphs, which are the most mobile and active feeding immature stage of the bug, must rely on key volatile compounds emitted by the host for recognition. We tested this hypothesis using behavioral and electrophysiological assays and chemical analysis. In olfactometer assays, the second instar nymphs were strongly attracted to volatiles emitted from mature green berries but avoided those from ripe coffee berries of *C. arabica*. Coupled gas chromatography-electroantennographic detection (GC/EAD) isolated five antenally active components from mature green berries volatiles, four of which were identified by coupled GC-mass spectrometry as toluene, anisole, methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate and (5S,7S)-conophthorin. In concentration assays, in which second instar

nymphs did not respond to toluene, they were strongly attracted to anisole, methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate and (5S,7S)-conophthorin, and a blend from the three compounds at concentrations lower or equivalent to the natural volatile extract. Our results suggest that the blend from these three compounds allows host recognition in second instar nymphs of the variegated coffee bug and is a candidate kairomone for monitoring the pest in coffee plantations.

Keywords *Antestiopsis orbitalis* · Antestia bugs · Coffee · *Coffea arabica* · Kairomones

Introduction

The variegated coffee bug, *Antestiopsis thunbergii* (Heteroptera: Pentatomidae) is a hemimetabolous insect, whose development from egg to adult stages takes about three months (Ahmed et al. 2016). The bug lays eggs in batches of about twelve mainly on the lower leaf surfaces of *Coffea arabica* (Arabica coffee) but also on its berries and shoots. After hatching, the first instar nymphs remain together on egg chorions displaying little or no movement or feeding activity (Kirkpatrick 1937; Ahmed et al. 2016). By contrast, second instars of this bug are very mobile, actively feed and have the longest lifespan (≈ 25 days) (Ahmed et al. 2016). Hence, they may be considered as the most damaging of all the nymphal instars. Although both nymphs and adults attack various coffee plant parts including flowers, leaves, shoots, unripe and ripe berries, the bugs strongly prefer to feed on mature green (unripe) berries (Le Pelley 1942; Matsuura et al. 2014). Their infestation leads to flower abortion, distorted leaves, multiple branching, necrosis and premature berry fall and

Handling Editor: Michael Heethoff.

✉ Teresiah N. Njihia
tnjihia@ciipe.org; teresahnjihia@gmail.com

¹ International Centre of Insect Physiology and Ecology (icipe), P.O. Box 30772-00100, Nairobi, Kenya

² Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology (JKUAT), PO Box 62000-00200, Nairobi, Kenya

³ Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le développement (CIRAD), UPR Bioagresseurs, P.O. Box 30677-00100, Nairobi, Kenya

⁴ Bioagresseurs, Univ Montpellier, CIRAD, Montpellier, France

transmission of secondary pathogenic microorganisms (Le Pelley 1942; Cilas et al. 1998). Furthermore, *A. thunbergii* is suspected to introduce microorganisms in coffee beans which produce certain pyrazines making the beans unpalatable, a condition referred to as ‘potato taste defect’ (Jackels et al. 2014). The defect affects the coffee bean’s quality, resulting in poor prices and hence lower profit margins (Jackels et al. 2014; Matsuura et al. 2014). Because of their destructive nature, a population density of 1–2 bugs/tree is considered as the economic threshold level for pest control measures in Kenya (Mugo et al. 2013). Currently, the pest is controlled using cultural methods such as pruning, and pesticide application (Nyambo et al. 1996). However, these methods are only partially effective and could harm non-target beneficial organisms; thus, alternative, gentler pest control methods are needed. One approach could be the use of semiochemicals, which can be integrated into existing management tools.

Recent studies have identified semiochemicals for key pests of coffee including the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Jaramillo et al. 2013), and the black twig borer, *Xylosandrus compactus* Eichhoff (Egonyu and Torto 2017). The dominant semiochemicals identified were mainly alcohols (Ortiz et al. 2004; Egonyu and Torto 2017) and spiroacetals (Jaramillo et al. 2013). Subsequently, ethanol or its mixtures with methanol have successfully been explored as an attractive bait for surveillance and mass trapping of both pests (Burbano et al. 2012; Njihia et al. 2014; Egonyu and Torto 2017). In the present study, we investigated the olfactory basis of host recognition in second instar nymphs of *A. thunbergii*. Our results suggest that a three-component blend derived from the volatiles of mature green berries allows host recognition in second instar nymphs of *A. thunbergii* and is a candidate kairomone for monitoring the pest in coffee plantations.

Materials and methods

Coffee berries

Mature green berries and ripe berries of organically grown *Coffea arabica* var. Ruiru 11, a release by the Kenya Agricultural and Livestock Research Organization (KALRO), were obtained from a privately owned commercial coffee estate in Kiambu County, Central Kenya ($1^{\circ}11'27.15''S$; $36^{\circ}49'23.03''E$; altitude = 1722 m. a.s.l.). Both maturity stages were distinguished using the following criteria: mature green berries; fully grown size, vitrified endosperm and green color and ripe berries; harvestable and red color (Giordanengo et al. 1993; Ortiz et al. 2004). The berries were carefully excised without hand

contact from coffee tree branches in the field using a sterile scalpel blade no. 21, and placed into 500-ml sterile cylindrical glass jars covered with quick fit lids (Sigma Scientific, Gainesville, FL, USA). The berries were immediately transported to the laboratory at the International Centre of Insect Physiology and Ecology (*icipe*), Duduville Campus, Nairobi, Kenya, 13 km from the farm, for subsequent experiments.

Insects

Second instar nymphs of the variegated coffee bug, *A. thunbergii* were obtained from a culture maintained at *icipe* using a rearing method described earlier (Ahmed et al. 2016). In brief, the colony was established in 2015 on coffee berries obtained from the same plantation described above. The bugs were reared in $20 \times 20 \times 20$ cm transparent plastic cages that were open, but sealed with white muslin cloth on two opposite sides to provide aeration. They were fed on mature green berries and young shoots, which were replenished every 3–4 days. A cotton ball moistened with distilled water was placed inside the cages to provide humidity and also a water source. Once eggs were laid by newly emerged adults, a cluster of about 70 eggs was removed from the colony and placed in separate cages with similar food substrate described above until the second instar nymphs developed. The insects were kept in an incubator set at 23 ± 1 °C, a relative humidity (RH) of $75 \pm 5\%$ and 12 h photoperiod.

Collection of volatiles

Volatiles were collected from mature green berries using a headspace sampling system similar to that previously described by Jaramillo et al. (2013). Samples of fresh berries (150 g each) were placed in 500-ml cylindrical glass jars (Sigma Scientific, Gainesville, FL, USA) and clean air blown through the sample at a flow rate of 348 ml/min using a battery-operated pump (PAS-500 Personal Air Sampler, Supelco, Bellefonte, PA, USA), which also pulled volatile organic compounds (VOCs) onto pre-cleaned charcoal filter adsorbents (5 mg, Brechbuhler, Schlierensee, Switzerland) for 24 h. Each filter was subsequently eluted with 150 µl dichloromethane for use in behavioral tests and analyses using gas chromatography-electroantennographic detection (GC/EAD). In addition, eluates from three different samples were pooled; the 450 µl sample was reduced to 30 µl under a gentle stream of nitrogen for use in GC-mass spectrometry (GC/MS). Volatile collection was also done from empty chambers under the same conditions to serve as control. Samples were stored at -80 °C until use.

Analysis of volatiles

Coupled gas chromatography–electroantennographic detection (GC/EAD) analysis of volatiles was conducted on a Hewlett-Packard (HP) 5890 Series II gas chromatograph equipped with HP-1 column ($30\text{ m} \times 0.32\text{-mm diameter} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ film thickness (Agilent, Palo Alto, California, USA) using nitrogen as the carrier gas at 1.2 ml min^{-1} flow rate. Volatiles were analyzed in the splitless mode at an injector temperature of $280\text{ }^\circ\text{C}$ and a split valve delay of 3 min. The oven temperature was held at $35\text{ }^\circ\text{C}$ for 3 min, programmed at $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ to $280\text{ }^\circ\text{C}$ and maintained at this temperature for 10 min. The column effluent was split 1:1 for simultaneous recording by a flame ionization detector (FID) and EAD. The antennal preparation was made by filling in two sharpened glass capillaries with ringer saline solution (Kugel 1977). One of the capillaries was used to pierce the abdomen of a second instar and attached to a reference electrode, whereas the other connected the antenna end of the nymph to a recording electrode. The antennal signal was detected through an amplifier (INR-II, Syntech, Hilversum, The Netherlands), which was acquired and processed by a data acquisition controller (IDAC-4, Syntech, Hilversum, The Netherlands) and later analyzed with a GC/EAD software (EAG 2000, Syntech) to generate FID and EAD signals on a computer. Aliquots ($5\text{ }\mu\text{l}$) of headspace sample from the mature green coffee berries and $1\text{--}3\text{ }\mu\text{l}$ of $100\text{ ng }\mu\text{l}^{-1}$ of each corresponding EAD-active synthetic standard formulated in dichloromethane were analyzed. EAD responses were considered when at least three antennal elicitations were recorded for each compound.

Identification of volatile organic compounds from mature green coffee berry volatiles was achieved by GC/MS analysis on an Agilent Technologies 7890A GC linked to a 5795C MS, equipped with MSD ChemStation E.02.00.493 and Wiley 9th/NIST 2008 MS library. The GC/MS column and the temperature program used were similar to those described above for GC/EAD analysis. Confirmation of the identity of compounds in samples was done by comparing their retention time and mass spectral fragmentation of corresponding authentic standards in the library (NIST/EPA/NIH Mass spectral Library 2005a, version V2.od). Quantification of EAD-active coffee odor components was based on peak area comparison with those of the authentic standards.

Bioassays

A glass Y-tube olfactometer was used to study responses of second instar nymphs of *Antestiopsis thunbergii* to different maturity stages of coffee berries, volatiles of mature green coffee berries, and individual synthetic standards and

blends of electrophysiologically active compounds (see below). Y-tube olfactometer comprised of two 10-cm-long arms which converged into a vertical 16-cm-long main arm. It had an 80° inside angle and 2.5 cm overall diameter. The treatments (or respective controls) were placed in each of the two glass odor source chambers, each of an internal volume of 50 ml, which were connected with Teflon tubing to the two arms of the Y-tube. A pump (WOB-L pump 2522C, Monroe, Louisiana, USA) supplied charcoal-filtered and humidified air (80% RH) through each arm of the Y-tube at 100 ml min^{-1} . PVC tubing at the base of the olfactometer was connected to the vacuum source of the pump at 200 ml min^{-1} to avoid odor build up in the system.

For all the assays, second instar nymphs (9 ± 3 days old), starved for 16 h, were individually introduced with a fine camel brush at the entrance of the main arm and allowed up to 15 min to make a choice. However, nymphs that remained at the same spot after introduction into the Y-tube for 8 min or were mobile within the vertical arm of the olfactometer but did not make a choice in the allocated time (15 min) were not included in the statistical analysis. Positive responses were recorded when a nymph walked upstream and spent at least 20 s inside the left or right arm of the olfactometer. Assignment of odor source to each arm of the olfactometer was reversed in between five tests to eliminate positional bias. The total number of insects tested (N) was 40 per test. The bioassays were conducted in a dark room maintained at $24 \pm 1^\circ\text{C}$ and $50 \pm 5\%$ RH in an arena illuminated by a 11-W fluorescent bulb. The tests were conducted during the day between 10:00 and 16:00 h, which is the time when the bugs are active in the field (Foucart and Brion 1959). The glassware and Teflon tubes were exchanged with clean ones in between trials to avoid contamination which could lead to bias. After finishing each day, they were washed with the detergent Teepol® (Teepol® products, Kent, UK) and rinsed with acetone and then with distilled water. The glassware was baked in an oven at 100°C overnight.

The initial behavioral tests compared responses of second instar nymphs to two different maturity stages of coffee berries. The tests conducted were: (1) blank vs. blank (2) mature green berries (2 g) vs. blank, (3) ripe berries (2 g) vs. blank and (4) mature green berries (2 g) vs. ripe berries (2 g). The berries were replaced after testing every five nymphs.

In subsequent bioassays, responses of *A. thunbergii* second instar nymphs to mature green berry odors were tested at three concentrations: 3 g berries/day, 6 g berries/day and 12 g berries/day, respectively. They were tested by applying 3, 6 or 12 μl of the volatile extracts, respectively, onto 2 cm \times 2 cm filter papers with a syringe. Vaporization of the solvent was allowed for 1 min

before placing the impregnated filter papers into the odor source chambers. The controls were equivalent amounts of dichloromethane applied onto filter papers of similar size. Treatments were replaced after every 30 min.

Finally, bioassays that tested responses of the nymphs to four electrophysiologically active compounds, identified from the headspace volatiles of mature green coffee berries were tested at three concentrations. The natural amounts of EAD-active components in mature green berries (i.e., 0.07 ng μl^{-1} toluene, 0.67 ng μl^{-1} anisole, 1.14 ng μl^{-1} methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate and 0.39 ng μl^{-1} 5S, 7S-conophthorin; see Table 1) were prepared and tested against the solvent. In addition, concentration assays were conducted by testing one-tenth and tenfold the natural amounts of each compound. Treatments were dispensed by applying 10 μl of each concentration onto a 2 cm \times 2 cm filter paper with a syringe and allowing the solvent to evaporate for 1 min before testing. The control was 10 μl dichloromethane. A three-component blend comprising optimal attractive doses of anisole (0.067 ng μl^{-1}), methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate (0.0114 ng μl^{-1}) and (5S,7S)-conophthorin (0.39 ng μl^{-1}) was also tested against solvent and 6 μl aliquot (\approx 6 g/day) of headspace sample from mature green berries. This blend was tested by applying 10 μl of the appropriate concentration level of each compound on separate filter papers, which were then

placed in the same odor source chamber for dispensation as a blend.

Chemicals

EAD-active synthetic standards, i.e., toluene and anisole were purchased from Sigma-Aldrich (purity \geq 98%), while methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate (purity 97%) and (5S,7S)-conophthorin (purity 99%) were a gift from Prof. Wittko Francke, University of Hamburg, Germany. Other standards used were dichloromethane, nonanal and (R)-(+) limonene (Sigma-Aldrich); β -cedrene and linalool oxide (Fluka Analytical) and β -ocimene (Chemika) (purity \geq 95).

Data analysis

The number of *A. thunbergii* nymphs responding to treatments, i.e., different maturity stages of coffee berries, headspace volatiles from mature green berries or synthetic EAD-active standards compared to control (blank/solvent) were analyzed using Chi-square (χ^2) goodness-of-fit tests, assuming a distribution ratio of 1:1. Although total insects used in the tests ($N = 40$) were recorded, only respondents (n) were considered in the analysis. The data were analyzed using R version 3.1.2 software (R Core Team 2014).

Table 1 GC-MS analysis of volatile compounds emitted by mature green berries (*Coffea arabica*)

Retention time (min)	Compound	Mean concentration (ng μl^{-1}) (\pm SD error)
4.86	Toluene ^a	0.70 \pm 0.01
9.19	Unidentified monoterpene ^a	0.99 \pm 0.01
9.23	Anisole ^a	0.67 \pm 0.00
11.18	3-Methylanisole ^b	0.70 \pm 0.01
11.3	Limonene	1.05 \pm 0.02
11.36	1,8-Cineole	1.12 \pm 0.04
11.77	Methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate ^a	1.14 \pm 0.03
11.84	(5S,7S)-conophthorin ^a	0.39 \pm 0.02
12.13	(E)-Linalool oxide	1.01 \pm 0.02
12.41	(Z)-Linalool oxide	1.11 \pm 0.04
12.52	(Z)-4,8-Dimethylnona-1,3-7 triene ^b	0.59 \pm 0.01
12.59	β -Ocimene	1.17 \pm 0.04
12.68	Nonanal	0.17 \pm 0.03
12.72	6-Ethyldihydro-2,2,6-trimethyl-2H-pyran-3(4H)-one ^b	0.52 \pm 0.01
13.99	Naphthalene ^b	0.68 \pm 0.01
17.28	α -Cedrene ^b	0.59 \pm 0.00
17.39	β -Cedrene	0.58 \pm 0.00
17.80	Prezizaene ^b	0.58 \pm 0.00
18.06	β -Acoradiene ^b	0.61 \pm 0.03

^a EAD-active compounds

^b Identification by mass spectral match

Results

Analysis of volatiles

In total, nineteen compounds were detected in the headspace volatiles of mature green berries (Table 1). These comprised five monoterpenes (limonene, 1,8-cineole, (*E*)-linalool oxide, (*Z*)-linalool oxide and β -ocimene), five sesquiterpenes ((*Z*)-4,8-dimethylnona-1,3,7-triene, α -cедrene, β -cedrene, prezizaene and β -acoradiene), four benzenoids (toluene, anisole, 3-methylanisole and naphthalene) and one; aldehyde (nonanal), ester (methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate), spiroacetal ((5*S*,7*S*)-conophthorin) and ketone (6-ethenylidihydro-2,2,6-trimethyl-2H-pyran-3(4H)-one). Electrophysiology analysis showed that five compounds from the headspace volatiles of mature green berries consistently stimulated the antennae of second instar nymphs (Fig. 1). These specific compounds were toluene, anisole, methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate and (5*S*,7*S*)-conophthorin. It was not possible to identify an EAD-active monoterpene that eluted adjacent to anisole and with weak fragmentation ions at m/z 77, 79 and 93. Electrophysiological activity of the identified compounds

was confirmed by GC/EADs with their corresponding synthetic standards (Fig. 2).

Bioassays

There were no significant differences when nymphs were tested against two blanks ($\chi^2 = 0.04$, $df = 1$, $P = 0.841$) showing that the olfactometer system was not biased. The response of nymphs was significantly greater to the volatile emissions of mature green berries than the blank (control) ($\chi^2 = 5.12$, $df = 1$, $P = 0.023$). On the contrary, nymphs significantly avoided volatiles from ripe berries when compared to blank ($\chi^2 = 6.82$, $df = 1$, $P = 0.009$). In a no-choice assay among the two maturity stages, about fivefold more nymphs were attracted to mature green berries than ripe berries ($\chi^2 = 15.11$, $df = 1$, $P = 0.001$; Fig. 3).

In subsequent assays, the volatile extract from mature green berries attracted approximately three times more nymphs than the solvent at all the concentration levels tested (3 g/day: $\chi^2 = 7.26$, $df = 1$, $P = 0.007$, 6 g/day: $\chi^2 = 8.53$, $df = 1$, $P = 0.003$ and 12 g/day: $\chi^2 = 6.13$, $df = 1$, $P = 0.013$; Fig. 4).

Of the four identified EAD-active compounds, only toluene did not elicit behavioral responses in nymphs (0.007 ng μl^{-1} : $\chi^2 = 0.12$, $df = 1$, $P = 0.731$; 0.07 ng μl^{-1} and 0.7 ng μl^{-1} : $\chi^2 = 0.47$, $df = 1$, $P = 0.493$; Fig. 5). Anisole strongly attracted nymphs at the lowest concentration (0.067 ng μl^{-1} : $\chi^2 = 4.56$, $P = 0.032$), while the highest concentration elicited an avoidance response (6.7 ng μl^{-1} : $\chi^2 = 4.5$, $df = 1$, $P = 0.033$). There was, however, no significant response to the intermediate (natural) concentration (0.67 ng μl^{-1} : $\chi^2 = 1.06$, $df = 1$, $P = 0.304$). Methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate attracted three times more nymphs at the lowest concentration than the control (0.0114 ng μl^{-1} : $\chi^2 = 10.31$, $df = 1$, $P = 0.001$), whereas there were no significant responses at the intermediate and highest concentrations (0.114 and 1.14 ng μl^{-1} : $\chi^2 = 1.88$, $df = 1$, $P = 0.170$). (5*S*,7*S*)-conophthorin attracted almost three-fold more nymphs at the intermediate concentration compared to control (0.39 ng μl^{-1} : $\chi^2 = 6.82$, $df = 1$, $P = 0.009$), while the lowest and highest concentrations elicited no significant responses from the nymphs (0.039 ng μl^{-1} : $\chi^2 = 0.71$, $df = 1$, $P = 0.398$ & 3.9 ng μl^{-1} : $\chi^2 = 1.06$, $df = 1$, $P = 0.304$; Fig. 5). The proportion of nymphs that selected the three-component blend of anisole, methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate and (5*S*,7*S*)-conophthorin was approximately three times higher compared to the solvent control ($\chi^2 = 7.52$, $df = 1$, $P = 0.006$). However, there were no significant differences between proportion of nymphs that selected the three-component blend and crude headspace volatiles from

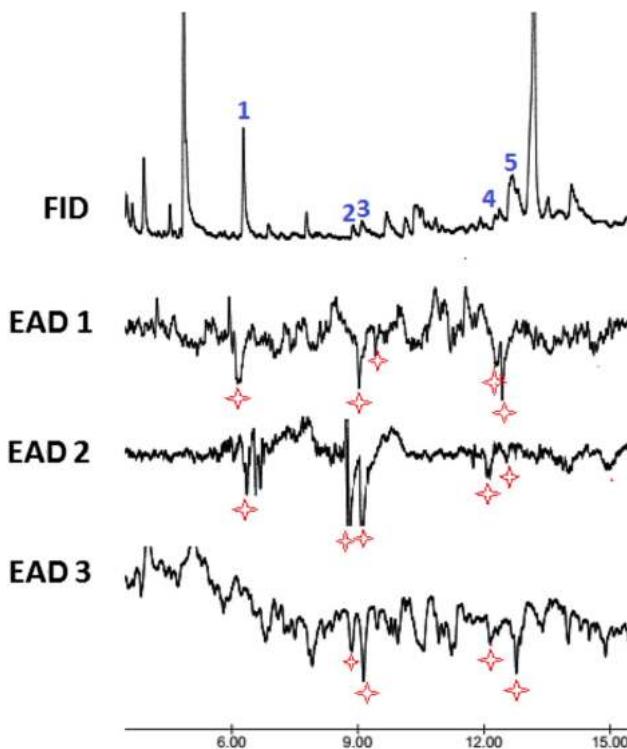
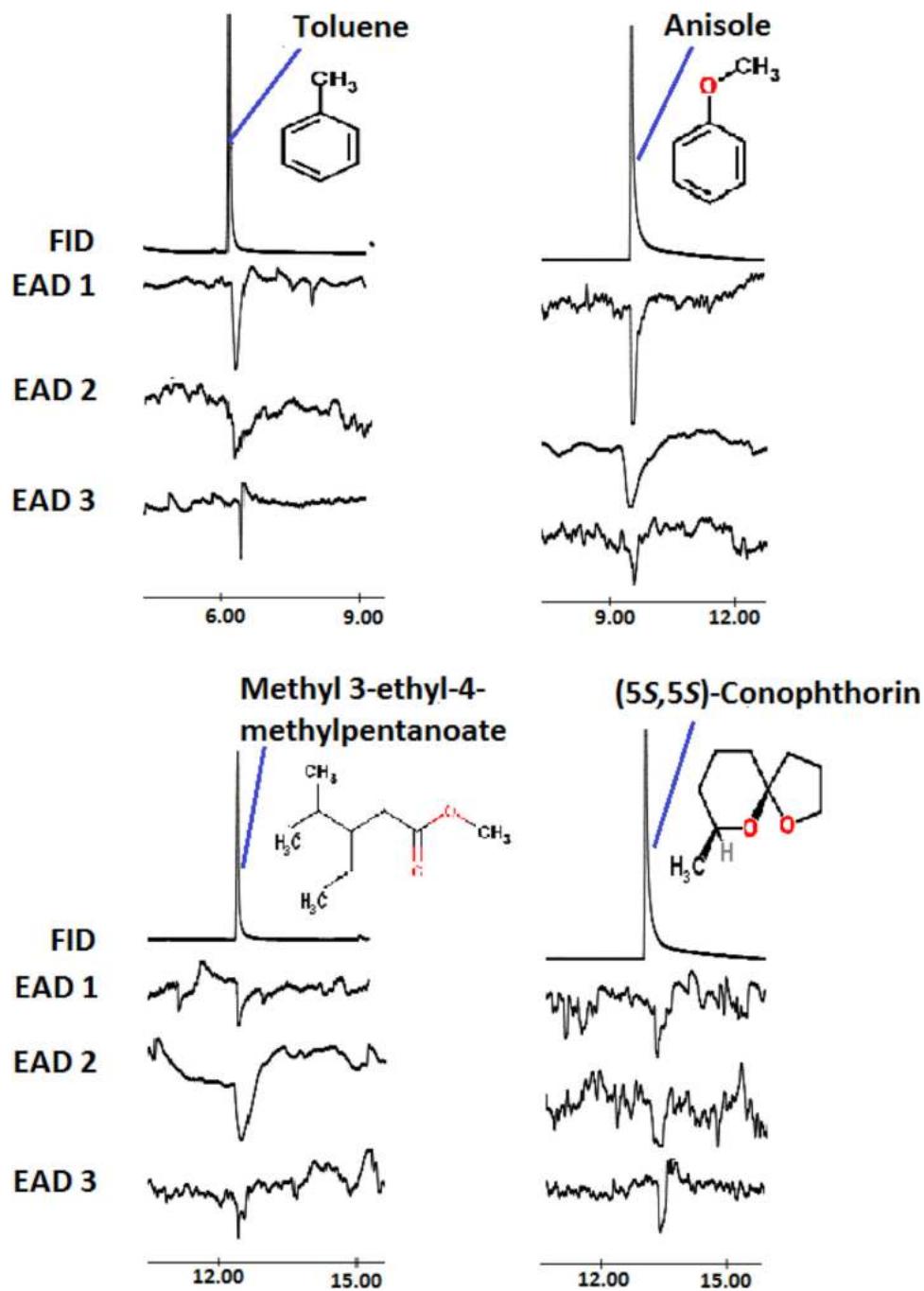


Fig. 1 Electrophysiological responses of second instar nymphs of *Antestiopsis thunbergii* to charcoal-trapped headspace volatiles from green mature coffee berries. The EAD-active compounds include: (1) toluene, (2) unidentified, (3) anisole, (4) methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate (5) (5*S*,7*S*)-conophthorin

Fig. 2 GC/EAD responses of second instar nymphs of *Antestiopsis thunbergii* to synthetic standards identified from the headspace samples of mature green coffee berries



mature green berries ($\chi^2 = 0.47$, $df = 1$, $P = 0.493$; Fig. 6).

Discussion

While the literature reports that the mature green berries are the most preferred for feeding, survival and reproduction of the variegated coffee bug, *A. thunbergii* (Le Pelley 1942; Matsuura et al. 2014), no studies had elucidated the

olfactory cues that mediate host recognition in this pest. Our results show that second instar nymphs of *A. thunbergii* were strongly attracted to headspace emissions of mature green berries and avoided those from ripe berries. Headspace extracts from mature green berries were also significantly attractive to the nymphs suggesting that olfaction plays a key role in host recognition. The antennae of second instar nymphs of *A. thunbergii* detected five of the components present in the volatiles emitted by mature green coffee berries four of which were identified as

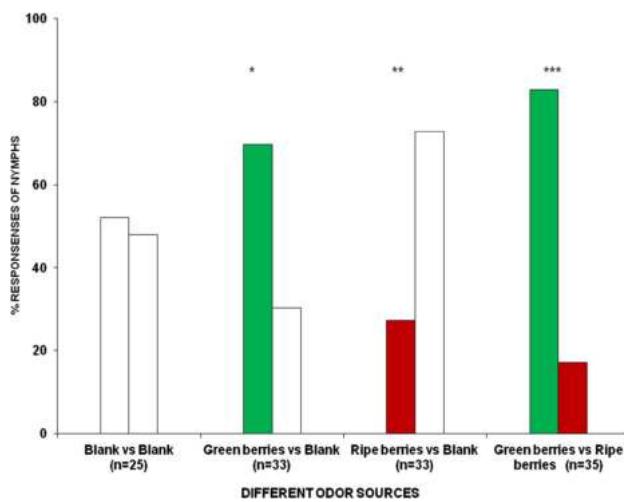


Fig. 3 Behavioral responses of second instar nymphs of *Antestiopsis thunbergii* to different maturity stages of coffee berries. Total number of insects tested was 40. ‘*n*’ represents the number of respondents, and asterisks indicate the significance levels **P* < 0.05, ***P* < 0.01 and ****P* < 0.001

toluene, anisole, methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate and (5*S*, 7*S*)-conophthorin.

Although toluene elicited no detectable attractive response in second instar nymphs, anisole, methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate and (5*S*, 7*S*)-conophthorin were attractive at concentrations lower or equivalent to their natural concentrations in the extract of the coffee berry volatiles. In addition, anisole elicited avoidance behavior in second instar nymphs at a concentration higher than its natural concentration in the volatile extract. Our results

agree with those of previous studies showing that extremely high concentrations of ‘attractant’ compounds above their natural occurrence in hosts may result in inhibitory interactions or repellence (Webster et al. 2010; Bruce and Pickett 2011; Njihia et al. 2014). The blend of the three attractive components mimicked the attractiveness of the natural volatile extract. These results highlight the differential role played by specific compounds at different concentrations and when they are presented in a blend to explain the host recognition process in an insect. Bruce et al. (2005) proposed two hypotheses that explain host recognition and location in herbivores among a background of many VOCs in the ecosystem to involve host-derived unique VOCs and specific ratios of ubiquitous VOCs. The results of the current study support both hypotheses, as specific concentration levels of a few compounds (three) attracted second instars of *A. thunbergii*. Besides variation in host plant volatiles among individual plants of the same genotype (Bruce and Pickett 2011) and seasonal variability (Vallat and Dorn 2005), it would be interesting to investigate how the coffee bug responds to volatiles of the same plant genotype during different seasons and obtained from different geographic locations (Suinyuy et al. 2015). These would reveal potential intraspecific variation in volatile chemistry determined by these environmental factors, and whether the olfactory system of the bug has the plasticity to recognize suitable hosts producing varied odor ratios/amounts.

The four EAD-active compounds reported in the present study play a role in the host recognition in various insects. For example, the benzenoid toluene is a kairomone of the

Fig. 4 Behavioral responses of second instar nymphs of *Antestiopsis thunbergii* to headspace volatiles obtained from mature green coffee berries. Total insects tested for each concentration level were 40; ‘*n*’ is number of respondents, and asterisks indicate the significance levels ***P* < 0.01

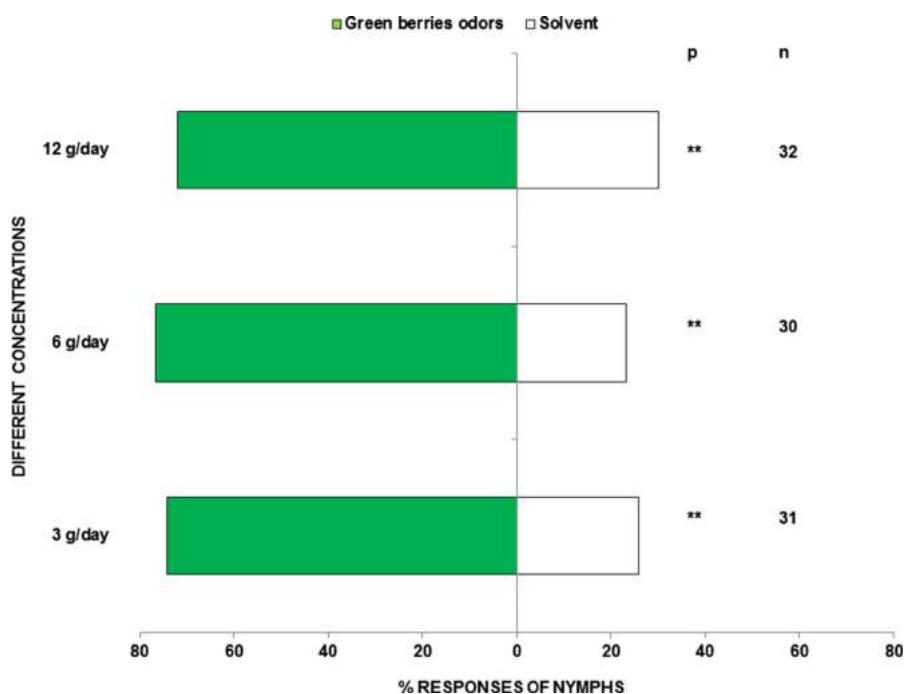
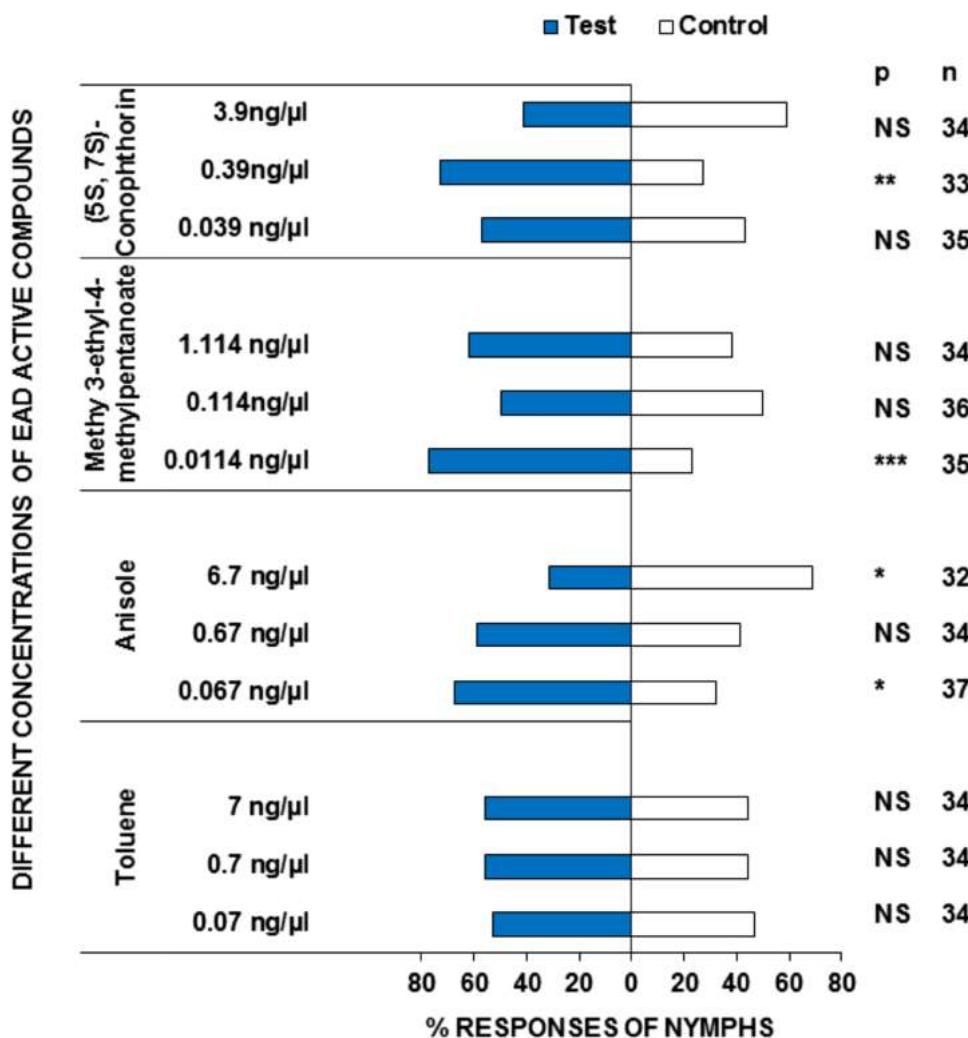


Fig. 5 Behavioural responses of second instar nymphs of *Antestiopsis thunbergii* to different concentrations of electrophysiologically-active compounds identified from headspace volatiles of mature green coffee berries. Total number of insects tested for each treatment level were 40. “n” is number of respondents and asterisks indicate the significance levels * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ & *** $p < 0.001$



olive fruit fly *Dacus oleae* Gmelin (Scarpati et al. 1993). Also, the benzenoid anisole serves as a kairomone for various scolytid species as well as a sex pheromone (Leal et al. 1996; Vrkočová et al. 2000; Ward et al. 2002). It is also a constituent of the volatiles of *C. arabica* coffee berries whose amount increases as the fruit ripens (Ortiz et al. 2004). Since *A. thunbergii* prefers to feed on mature green coffee berries and cannot fully complete its life cycle when fed only on berries at a later stage of maturation (Le Pelley 1942), our findings suggest that coffee bugs use low levels of anisole in the volatiles as an indicator of the presence of mature green berries (suitable food) and to discriminate them from ripe coffee berries (non suitable food). The ester methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate has been reported in the volatiles released by *C. arabica* as well (Jaramillo et al. 2013); here, it elicits both attraction and repellence in the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* at various concentration levels (Jaramillo et al. 2013). The spiroacetal (5S, 7S)-conophthorin is a common semiochemical mediating communication in several

scolytid species, as an aggregation and anti-aggregation pheromone as well as a non-host volatile constituent of some angiosperm trees (Byers et al. 1998; Huber et al. 1999; Morewood et al. 2003; Francke and Kitching 2001). Also, it is a key component in the volatiles of both ripe and unripe *C. arabica* berries, whose amounts are higher in ripe berries (Jaramillo et al. 2013). The presence of spiroacetal (5S, 7S)-conophthorin and the ester methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate in the blend that elicited attraction in *A. thunbergii* is interesting as the two have also been reported to elicit attraction in the coffee berry borer (Jaramillo et al. 2013). Hence, future studies should explore using the two compounds as part of a bait for trapping both pests simultaneously.

In summary, we showed that host location in the variegated coffee bug is triggered by a 3-component blend of volatile organic compounds derived from mature green coffee berries. The 3-component blend is a candidate kairomone for monitoring populations of second instar nymphs of *A. thunbergii*. Since ripe coffee berries elicited

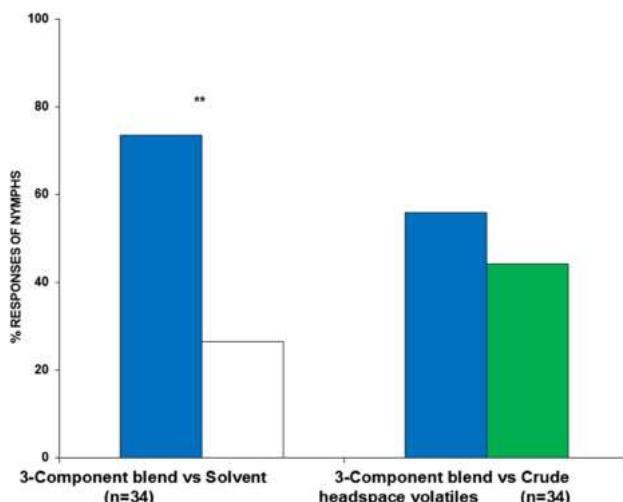


Fig. 6 Behavioral responses of second instar nymphs of *Antestiopsis thunbergii* to a 3-component blend comprising anisole, methyl 3-ethyl-4-methylpentanoate and (5S,7S)-conophthorin against solvent (control) and crude headspace volatiles from mature green berries. The total number of insects tested for every test was 40. 'n' is the number of respondents, and asterisks indicate the significance levels ** $P < 0.01$

avoidance, our future studies will investigate whether the stage produces allomones or specific ratios of certain compounds that repel the coffee bug with a goal of developing a ‘push–pull’ system for the pest management.

Acknowledgements The authors would like to thank Mr. Isaac Gichia (Kiambu Mbuni farm and millers) for allowing us to obtain coffee berries and insects from his coffee plantation. We acknowledge the financial support for this research by the following organizations and agencies: Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), Montpellier, France; CHIESA project (Climate Change Impacts on Ecosystem Services and Food Security in Eastern Africa), *icipe* funded by the Ministry of Foreign Affairs of Finland; UK Aid from the UK Government; Swedish International Development Cooperation Agency (Sida); the Swiss Agency for Development and Cooperation (SDC) and the Kenya Government. The first author was supported by a German Academic Exchange Service (DAAD) In-Region Postgraduate Scholarship. We also thank Dr. Emilie Delétré for her helpful comments on the work and Dr. Chris Beadle for reviewing the manuscript.

References

- Ahmed AG, Murungi LK, Babin R (2016) Developmental biology and demographic parameters of antestia bug *Antestiopsis thunbergii* (Hemiptera:Pentatomidae), on *Coffea arabica* (Rubiaceae) at different constant temperatures. Int J Trop Insect Sci 36:119–127. <https://doi.org/10.1017/S1742758416000072>
- Bruce TJA, Pickett JA (2011) Perception of plant volatile blends by herbivorous insects—finding the right mix. Phytochemistry 72:1605–1611. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.04.011>
- Bruce TJA, Wadhams LJ, Woodcock CM (2005) Insect host location: a volatile situation. Trends Plant Sci 10:269–274. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.04.003>
- Burbano EG, Wright MG, Gillette NE, Mori S, Dudley N, Jones T (2012) Efficacy of traps, lures, and repellents for *Xylosandrus compactus* (Coleoptera:Curculionidae) and other ambrosia beetles on *Coffea arabica* plantations and *Acacia koa* nurseries in Hawaii. Environ Entomol 41:133–140. <https://doi.org/10.1603/EN11112>
- Byers JA, Zhang QH, Schlyter F, Birgersson G (1998) Volatiles from non-host birch trees inhibit pheromone response in spruce bark beetles. Sci Nat 85:557–561. <https://doi.org/10.1007/s001140050551>
- Cilas C, Bouyou B, Decazy B (1998) Frequency and distribution of *Antestiopsis orbitalis* Westwood (Hem., Pentatomidae) in coffee plantations in Burundi: implications for sampling techniques. J Appl Entomol 122:601–606. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1998.tb01552.x>
- Engeby JP, Torto B (2017) Responses of the ambrosia beetle *Xylosandrus Compactus* (Coleoptera: Curculionidae:Scolytinae) to volatile constituents of its symbiotic fungus *Fusarium solani* (Hypocreales:Nectriaceae). Arthropod Plant Interact. <https://doi.org/10.1007/s11829-017-9552-2>
- Francke W, Kitching W (2001) Spiroacetals in insects. Curr Org Chem 5:233–251. <https://doi.org/10.2174/1385272013375652>
- Foucart G, Brion L (1959) Contribution à l'étude de la punaise du caféier Arabica au Rwanda-Burundi. Rwanda Agricultural Research Institute (ISAR), Butare, Rwanda
- Giordanengo P, Brun LO, Frerot B (1993) Evidence for allelochemical attraction of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*, by coffee berries. J Chem Ecol 19:763–769. <https://doi.org/10.1007/BF00985007>
- Huber DP, Gries R, Borden JH, Pierce HD (1999) Two pheromones of coniferophagous bark beetles found in the bark of non-host angiosperms. J Chem Ecol 25:805–816. <https://doi.org/10.1023/A:1020892700653>
- Jackels SC, Marshall EE, Omaiye AG, Giana RL, Lee FT, Jackels CF (2014) GCMS investigation of volatile compounds in green coffee affected by potato taste defect and the antestia bug. J Agric Food Chem 62:10222–10229. <https://doi.org/10.1021/jf5034416>
- Jaramillo J, Torto B, Mwenda D, Troeger A, Borgemeister C, Poehling HM, Francke W (2013) Coffee berry borer joins bark beetles in coffee klatch. PLoS One 8:e74277. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074277>
- Kirkpatrick TW (1937) Studies on the ecology of coffee plantations in East Africa. II. The autecology of *Antestia* spp. (Pentatomidae) with a particular account of a Strepsipterous parasite. Ecol Entomol 86:247–343. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1937.tb0245.x>
- Kugel M (1977) The time course of the electroretinogram of compound eyes in insects and its dependence on special recording conditions. J Exp Biol 71:1–6
- Le Pelley HR (1942) The food and feeding habits of *Antestia* in Kenya. Bull Entomol Res 33:71–89. <https://doi.org/10.1017/S0007485300026377>
- Leal WS, Yadava CPS, Vijayvergia JN (1996) Aggregation of the scarab beetle *Holotrichia consanguinea* in response to female-released pheromone suggests secondary function hypothesis for semiochemical. J Chem Ecol 22:1557–1566. <https://doi.org/10.1007/BF0202773>
- Matsuura Y, Hosokawa T, Serracini M, Tulgetske GM, Miller TA, Fukatsu T (2014) Bacterial symbionts of a devastating coffee plant pest, the stinkbug *Antestiopsis thunbergii* (Hemiptera:Pentatomidae). Appl Environ Microbiol 80:3769–3775. <https://doi.org/10.1128/AEM.00554-14>
- Morewood W, Simmonds K, Gries R, Allison J, Borden J (2003) Disruption by conophthorin of the kairomonal response of sawyer beetles to bark beetle pheromones. J Chem Ecol 29:2115–2129. <https://doi.org/10.1023/A:1025690519818>

- Mugo HM, Kimemia JK, Mwangi JM (2013) Severity of antestia bugs, *Antestiopsis* spp. and other key insect pests under shaded coffee in Kenya. *Int J Sci Nat* 4:324–327
- Njihia TN, Jaramillo J, Murungi LK, Mwenda D, Orindi B, Poehling HM, Torto B (2014) Spiroacetals in the colonization behaviour of the coffee berry borer: a ‘push-pull’ system”. *PLoS One* 9:e111316. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111316>
- Nyambo BT, Masaba DM, Hakiza GJ (1996) Integrated pest management of coffee for small-scale farmers in East Africa: needs and limitations. *Integr Pest Manag Rev* 1:125–132. <https://doi.org/10.1007/BF00130671>
- Ortiz A, Ortiz A, Vega FE, Posada F (2004) Volatile composition of coffee berries at different stages of ripeness and their possible attraction to the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). *J Agric Food Chem* 52:5914–5918. <https://doi.org/10.1021/jf049537c>
- R Development core team (2014) A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <http://www.R-project.org>
- Scarpati ML, Scalzo RL, Vita GJ (1993) *Olea europaea* volatiles attractive and repellent to the olive fruit fly *Dacus oleae* Gmelin. *J Chem Ecol* 19:881–891. <https://doi.org/10.1007/BF00985017>
- Suinyuy TN, Donaldson JS, Johnson SD (2015) Geographical matching of volatile signals and pollinator olfactory responses in a cycad brood-site mutualism. *Proc R Soc Biol* 282:20152053. <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.2053>
- Vallat A, Dorn S (2005) Changes in volatile emissions from apple trees and associated response of adult female codling moths over the fruit-growing season. *J Agric Food Chem* 53:4083–4090. doi:10.1021/jf048499u
- Vrkočová P, Valterová I, Vrkoč J, Kouteck B (2000) Volatiles released from oak, a host tree for the bark beetle *Scolytus intricatus*. *Biochem Syst Ecol* 28:933–947. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(00\)00042-9](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(00)00042-9)
- Ward A, Moore C, Anitha V, Wightman J, Rogers DJ (2002) Identification of the sex pheromone of *Holotrichia reynaudi*. *J Chem Ecol* 28:515–522. <https://doi.org/10.1023/A:1014535910946>
- Webster B, Bruce T, Pickett J, Hardie J (2010) Volatiles functioning as host cues in a blend become nonhost cues when presented alone to the black bean aphid. *Anim Behav* 79:451–457. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2009.11.028>

Effects of cocoa tree phenology and canopy microclimate on the performance of the mirid bug *Sahlbergella singularis*

R. Babin^{1*}, J. C. Anikwe², L. Dibog³ & J.-P. Lumaret⁴

¹CIRAD, UPR Bioagresseurs Analyse et Maîtrise du Risque, F-34398 Montpellier, France, ²Cocoa Research Institute of Nigeria, PMB 5244, Ibadan, Nigeria, ³IRAD, BP 2067, Yaoundé, Cameroon, and ⁴Arthropod Team, UMR 5175 CEFE, University of Montpellier III, Montpellier, France

Accepted: 4 July 2011

Key words: life history traits, demographic parameters, life tables, demographic processes, seasonal variation, survival, fecundity, nymphal development, *Theobroma cacao*, Hemiptera, Miridae, IPM strategy

Abstract

Populations of the cocoa mirid, *Sahlbergella singularis* Haglund (Hemiptera: Miridae), on cocoa, *Theobroma cacao* L. (Malvaceae), display sharp seasonal fluctuations in population size. To better understand factors and mechanisms involved in seasonal variation, we studied the life history traits of 10 successive generations of a caged population under field conditions. Nymphal survival and development were assessed on pods stored under cocoa canopy, whereas female survival and fecundity were evaluated on sleeved pods in cocoa trees. At the same time, cocoa phenology and cocoa canopy microclimate were characterized. A life table analysis was conducted with survival and fecundity temporal data. Reproductive parameters showed far more variation than nymphal development parameters, both within and among generations. We obtained low intrinsic rates of natural increase (about 0.04), the variation of which was mainly linked to the decrease in fecundity. Fecundity as well as life table parameters varied in accordance with natural population fluctuations, suggesting that *S. singularis* seasonal variation might be mainly linked to variation in female fecundity. A multiple regression analysis showed that variation in female fecundity was first correlated with the presence of young fruits on cocoa trees. Fecundity was also weakly affected by daily minimum r.h. and daily mean temperature. The usefulness of our results for modeling of *S. singularis* population dynamics and for the improvement of IPM strategies is discussed.

Introduction

Insect population dynamics reflect the variation in insect performance, which is usually assessed through fecundity, development time, survival, and longevity measurements. Useful synthetic demographic parameters, such as intrinsic rate of increase, are also often computed from temporal data on survival and fecundity through life table analyses (Birch, 1948; Elkinton, 1993). As in temperate regions, performance of herbivorous insects in tropical areas is highly affected by climatic conditions and host-plant availability and quality. For example, the fecundity of *Hypothe-*

nemus hampei (Ferrari) females on coffee berries varies with temperature (Jaramillo et al., 2010). Host-plant phenology is usually influenced by climatic seasonality and these factors often act jointly on pest performance. An example is given by Shintani (2009), who demonstrated the effect of seasonal variation of host-plant quality on development capacity of the rice leaf bug (*Trigonotylus caelestialium* Kirkaldy). A better understanding of interactions between host-plant quality, climatic conditions, and insect population dynamics is crucial for the development of prediction models and strategies for sustainable pest management (Hemerik et al., 2004).

Mirid bugs, *Sahlbergella singularis* Haglund and *Distantiella theobroma* (Distant) (both Hemiptera: Miridae), are the most important pests of cocoa, *Theobroma cacao* L. (Malvaceae), in west Africa. *Sahlbergella singularis* is more

*Correspondence: R. Babin, CIRAD, UPR Bioagresseurs Analyse et Maîtrise du Risque, Avenue Agropolis, TA A106/02, 34398 Montpellier Cedex 5, France. E-mail: regis.babin@cirad.fr

widely distributed, being present throughout the forest zone from Sierra Leone to the Democratic Republic of Congo (Entwistle, 1972). In Cameroon, *S. singularis* is by far, the most common species on cocoa (Babin et al., 2010). Nymphs and adults of this species feed on cocoa fruits and shoots. Short-term crop losses are mainly due to the destruction of the branch tips. In addition, feeding lesions can become infected by parasitic fungi and usually develop into cankers, weakening and eventually even killing cocoa trees, when there is a serious infection (Crowdy, 1947; Williams, 1953a; Collingwood, 1977).

Sahlbergella singularis populations display sharp seasonal fluctuations on cocoa. The patterns of these fluctuations are similar throughout west and central Africa, with one peak between August and December, depending on the location (Lavabre et al., 1962; N'Guessan & Coulibaly, 2000; Anikwe et al., 2010). The largest populations of cocoa mirid usually overlap various climatic seasons and seem to coincide with the cocoa fruiting period (Entwistle, 1972; Bruneau de Miré, 1977). However, due to a lack of in-depth studies, an explanation for the seasonal variation of *S. singularis* populations still eludes us. In addition, basic life history traits, such as survival and fecundity, have not yet been precisely established for *S. singularis*, mainly due to the absence of a rearing method (Entwistle, 1972; Piart, 1977).

Since 2003, we have developed a rearing method which allows us to answer some questions regarding cocoa mirid life history in more detail; this rearing procedure is described in Babin et al. (2008). In that study, rearing performance was assessed with a life table analysis. The low intrinsic rate of population increase recorded in the previous study (about 0.04) suggested that *S. singularis* is a slowly multiplying species. Moreover, fecundity of the reared population showed variation concordant with seasonal variation of natural populations in the region. However, we were unable to decide which factors were involved in *S. singularis* population dynamics.

The present study aims to better understand demographic processes as well as environmental factors involved in fluctuations of natural populations. We assessed *S. singularis* survival, fecundity, and nymphal development of 10 successive generations of a caged population under field conditions. At the same time, cocoa phenology and cocoa canopy microclimate were characterized. A life table analysis was conducted and the impact of these factors on *S. singularis* fecundity was analyzed.

Materials and methods

Plant and insect sources

Plant material was collected from an on-station genotypes plot, with about 30 lines of 15 unshaded 40-year-old cocoa

clones, free of any insecticide application. The plot is located near the Institute of Agricultural Research for Development (IRAD), Nkolbisson, Yaoundé, Cameroon. Ten trees of clone ICS95 (Imperial College Selection, Trinidad) were selected within the plot for rearing and experimentation. These trees were selected because they were highly productive in 2006–2007 and thus provided sufficient pods for experimentation.

Insects used for various experiments were collected from a laboratory population. Rearing was initiated in April 2006 by collecting 50 nymphs from a cocoa farm located near Nkolbisson ($3^{\circ}51.2'N$, $11^{\circ}25.3'E$). Insects were maintained in an insectary (climatic chamber at $24.7 \pm 0.9^{\circ}C$, $84.5 \pm 6.8\%$ r.h., and L12:D12 photoperiod), as described by Babin et al. (2008). We obtained nymphs of the next generation (G1) in May 2006. Nymphs of the last generation used for experimentation, generation 12 (G12), were obtained in November 2007 (Table 1). Adults from generations G1–G5 and G8–G12 as well as nymphs from generations G8–G12 were randomly picked from the rearing population for experimentation. As ICS95 did not bear suitable fruits in February, March, and April 2007, experimentation with individuals from generations 6 and 7 (G6, G7) was not possible. However, during this period, the rearing population was maintained using pods of other cocoa genotypes.

Nymphal survival and development

A total of 20–30 nymphs per generation were reared in four cohorts of 5–8 individuals in 4.5-l transparent-plastic buckets (17 cm diameter, 20 cm deep) containing a full-sized green pod. Plastic buckets were covered with a piece of muslin and the bottom was lined with absorbent paper to prevent water condensation. Buckets were stored in a large metal mesh cage ($60 \times 60 \times 60$ cm) mounted on a 150-cm pedestal and placed below the cocoa canopy in the genotype plot. Pods were changed every 10 days and nymphal survival and development were monitored daily until the final molt.

Female survival and fecundity

For each generation studied, 10–25 recently molted females were collected from the rearing population and kept separately in ventilated plastic boxes ($7 \times 10 \times 2$ cm) for a pre-mating period of 5 days. Each box contained three sections of green cocoa shoots and was stored in the insectary. Cocoa shoots were changed every 2 days. Then, a 1- to 2-day-old adult male was introduced into each box for mating. After 24 h, pairs were transferred onto sleeved pods in the genotype plot. Muslin sleeves (45×30 cm) were used to enclose a pod and part of the branch bearing the pod, to provide females with adequate feeding and

Table 1 Study periods (starting date; day/month/year) and relevant variation of natural populations of *Sahlbergella singularis* and climatic seasons for the region of Yaoundé, Cameroon

Study period				
Nymphal development	Fecundity	Rearing generation	<i>S. singularis</i> seasonal variation ¹	Climatic season
–	16/06/2006	G1	Growth	Rainy
–	09/08/2006	G2	Growth and peak	Moderately dry
–	27/09/2006	G3	Peak and decline	Rainy
–	18/11/2006	G4	Decline and latency	Rainy (end)
–	09/01/2007	G5	Latency	Very dry
01/05/2007	06/06/2007	G8	Growth	Rainy
27/06/2007	24/07/2007	G9	Growth and peak	Moderately dry
21/08/2007	19/09/2007	G10	Peak and decline	Rainy
09/10/2007	07/11/2007	G11	Decline and latency	Rainy
27/11/2007	27/12/2007	G12	Latency	Very dry

¹Adapted from studies conducted in the Yaoundé region by Bruneau de Miré (1977).

oviposition sites (Babin et al., 2008). For this phase of experimentation, we chose 140–170 mm-sized green pods, i.e., young pods ending their growth or full-sized green pods. Ripe pods were not used initially because they are not an adequate food source, as they may rot and dry out quickly. However, at the end of the fruiting period, most of the selected pods ripened within the sleeves after a few days. Sleeved pods were protected from ants by ringing the branch with glue.

As *S. singularis* eggs are embedded in plant tissue, they were difficult to detect. Hence, we assessed female oviposition period and fecundity from the time when the first instars emerged, as is done in similar studies on other mirid species with endophytic oviposition (e.g., Gerber, 1995). Thus, egg mortality was not assessed and fecundity was measured by nymph production. From the 15th day after placing the adults on sleeved pods, i.e., 1 day before the minimum egg development duration assessed under similar rearing conditions (Babin et al., 2008), sleeved pods were checked daily for at least 30 days and adult mortality and emerging nymphs were recorded. Young nymphs were counted, removed from the sleeved pod with a fine camel hair brush, and incorporated into the rearing population. If no nymphs were detected on a sleeved pod on the 45th day after the onset of the experiment, the sleeve was removed from the tree. Otherwise, monitoring was extended for 1 week after the last detected egg hatching.

Demographic parameters

The percentage of females surviving on the 21st day of life (first sleeve check), the mean longevity of females and the mean fecundity (nymphs per female) were assessed for rearing generations G1–G5 and G8–G12. Duration of development and survival rate were assessed for every nymphal stage of generations G8–G12. These data allowed

the construction of life tables for generations G8–G12 following the method of Elkinton (1993). Details of the life table analysis are presented in Babin et al. (2008).

Cocoa tree phenology and canopy microclimate

The cocoa tree fruiting cycle was characterized by monitoring one randomly selected branch from each of the 10 trees used in this study. The numbers of flowers and of young, mature, and ripe pods borne by the branch were recorded weekly. The vegetative growth of selected trees was assessed weekly by scoring the abundance of green shoots in cocoa canopy. Green shoots, also called flushes, were assessed on a notation scale from 0 to 4, where 0 was the score for ‘no flush’ and 4 for ‘many flushes’. Temperature and r.h. were recorded every 30 min in the genotype plot, during the 2 years of the experiment, using a Testo humidity–temperature logger (Testo 175-H2; Testo, Lenzkirch, Germany). The data-logger was placed within the cocoa canopy, about 1.80 m above the ground.

Statistical analysis

Nymphal survival and development data, as well as longevity and fecundity data for adult females, were tested for normality using a univariate analysis and the Shapiro–Wilks W-test for normality. When data were not normally distributed, they were log-transformed (counts) or arcsine-transformed (percentages). Successive generations were then compared for survival, longevity, fecundity, and development using a general linear model with SAS (SAS Institute, 1987). When significant differences were found, means were separated using LSD (Fisher’s least significant difference) multiple comparison tests (with $\alpha = 0.05$). Among successive generations, the proportions of surviving females were compared using a χ^2 test of independence, performed with SAS (SAS Institute, 1987).

Mean number of flowers, young, mature, and ripe pods and the mean flushing score, as well as the average of maximum, minimum, and mean daily values for r.h. and temperature were calculated during the lifetime of each caged female. Trends of monthly means of parameters for cocoa phenology and canopy microclimate were first graphically analyzed. Then, relationships between phenology, climate, and fecundity were assessed by a multiple regression analysis computed with the REG procedure of SAS, with the 'Forward model-selection' option. The 'Forward model-selection' begins with no variables in the model and adds independent variables to the model one by one, according to the P-values for the F-statistics calculated for the variables (here, $P < 0.05$). Independent variables with the largest F-statistics are first included in the model (SAS Institute, 1987). Count data for fecundity and cocoa phenology were log-transformed before analyses.

Results

Nymphal development and survival

Mean duration of nymphal stages increased gradually from 3.8 to 4.0, 4.1, 5.3, and to 7.6 days for stage 1–5, respectively. Mean duration of total nymphal development was 24.9 days. Total nymphal development time was significantly longer for generations G8, G9 (both 25.3 days), and G12 (26.0 days), compared with 23.9 days for G10 and G11 (Table 2). Overall, about 90% of nymphs survived to the adult stage (Table 3). Nymph survival rate was not significantly different among generations ($F_{4,15} = 0.11$, $P = 0.98$).

Female survival and fecundity

Female survival rate at day 21 of life decreased significantly from G1 to G5 and from G9 to G12, starting from 100% for G1 to 0% for G5, and from 82.4% for G9 to 11.1% for G12 (Tables 4 and 5; Figures 1 and 2). Mean female longevity did not differ significantly among generations in

year 1. However, in year 2, significant differences were observed, the mean longevity varying from 48.0 ± 6.8 days for G8 to 28.0 ± 4.0 days for G12 (Table 5). Maximum longevity (67 days) was obtained for a female of G8. Fecundity showed great variation both within and among generations. Mean fecundity per generation decreased significantly from G1 to G5 and from G8 to G12 (Table 5). Fecundity decreased from 49.3 ± 14.6 to 4.6 ± 4.6 nymphs per female in 2006 and from 89.2 ± 31.3 to 16.7 ± 5.0 nymphs per female in 2007. Maximum fecundity (236 nymphs per female) was obtained for a female of G8. First nymphs generally appeared between days, 24 and 26 of adult female life (Figures 1 and 2). Pre-hatching time, the combination of the female pre-oviposition period, including the mating period (at least 6 days), and the incubation period (ca. 17 days), was relatively constant with 23–26 days.

Daily nymph production increased from the beginning of hatching time, peaked between days, 26 and 32 of female life, and decreased gradually afterward (Figures 1 and 2). However, daily nymph production during this peak period decreased in 2006 from four (G1) to one nymph per female per day (G5), and in 2007 from five (G8) to two nymphs per female per day (G12). Hatching time shortened from 43 (G1) to 15 days (G5) in 2006 and from 49 (G8) to 16 days (G12) in 2007.

Life table parameters

In 2007, gross reproductive rate decreased by a factor >5 between G8 and G12, from 53.5 to 10.0 daughter nymphs per female (Table 6). The R_0 was about 4× as high for G8 and G9, compared with G11 and G12. The intrinsic rate of increase (r_m) declined by a factor 1.6 between generations G8–G9 compared with G11–G12. The highest value was obtained for G9 with $r_m = 0.046$ and the lowest for G11 with $r_m = 0.027$. Mean generation time (T_c) was longest for G8 and shortest for G11 with 68.0 and 58.9 days, respectively. Doubling time was about 10 days longer for

Table 2 Mean (\pm SEM) nymphal development time (days) for the five stages and five successive generations reared in the cocoa plot

Generation	Initial no. of nymphs	Duration of nymphal stage					Total nymphal development time
		I	II	III	IV	V	
G8	23	$3.9 \pm 0.1\text{ab}$	$4.2 \pm 0.2\text{a}$	$4.7 \pm 0.3\text{a}$	$4.9 \pm 0.3\text{bc}$	7.5 ± 0.4	$25.3 \pm 0.3\text{a}$
G9	32	$3.5 \pm 0.2\text{c}$	$4.5 \pm 0.3\text{a}$	$3.8 \pm 0.2\text{bc}$	$5.6 \pm 0.1\text{ab}$	8.0 ± 0.3	$25.3 \pm 0.6\text{a}$
G10	32	$3.5 \pm 0.1\text{bc}$	$4.0 \pm 0.2\text{a}$	$3.5 \pm 0.1\text{c}$	$5.3 \pm 0.2\text{b}$	7.6 ± 0.1	$23.9 \pm 0.2\text{b}$
G11	32	$4.2 \pm 0.1\text{a}$	$3.3 \pm 0.1\text{b}$	$4.2 \pm 0.3\text{ab}$	$4.6 \pm 0.2\text{c}$	7.6 ± 0.3	$23.9 \pm 0.3\text{b}$
G12	29	$4.0 \pm 0.1\text{a}$	$4.1 \pm 0.1\text{a}$	$4.3 \pm 0.2\text{ab}$	$6.2 \pm 0.1\text{a}$	7.4 ± 0.2	$26.0 \pm 0.3\text{a}$
$F_{4,15}$		5.03	5.78	4.49	6.62	0.80	7.88
P		0.009	0.005	0.014	0.003	0.54	0.001

Means within a column followed by the same letter are not significantly different (Fisher's LSD multiple comparison test: $P > 0.05$).

Table 3 Within-stage nymphal survival rate (with cumulative mortality) for five successive generations of *Sahlbergella singularis* reared in the cocoa plot

Generation	Initial no. nymphs	% survival				
		I	II	III	IV	V
G8	23	100	95.7	91.3	91.3	87.0
G9	32	100	96.9	90.6	90.6	90.6
G10	32	96.9	93.8	93.8	90.6	90.6
G11	32	93.8	90.6	90.6	90.6	90.6
G12	29	100	96.6	96.6	93.1	89.7

Table 4 Percentage of surviving females at the 21st day of life, and mean (\pm SEM) and maximum longevity and fecundity of the surviving females, for successive generations of year 1

Generation	n	% female survival at day 21	Longevity (days) ¹		Fecundity (no. nymphs per female) ¹	
			Mean	Max	Mean	Max
G1	8	100	40.6 \pm 5.2a	62	49.3 \pm 14.6a	115
G2	12	75	38.2 \pm 3.7a	56	30.2 \pm 8.3ab	80
G3	13	84.6	37.3 \pm 2.6a	51	39.2 \pm 8.3a	90
G4	16	50	33.6 \pm 2.1a	44	16.3 \pm 6.0bc	76
G5	7	0	—	—	4.6 \pm 4.6c	32
Statistics		$\chi^2 = 21.41$	F = 1.67		F = 4.55	
d.f.		4	3,34		4,51	
P		<0.001	0.19		0.003	

n, number of females tested.

¹Mean values within a column followed by the same letter are not significantly different (Fisher's LSD multiple comparison test: P>0.05).

Table 5 Percentage of surviving females at the 21st day of life, and mean (\pm SEM) and maximum longevity and fecundity of the surviving females, for successive generations of year 2

Generation	n	% female survival at day 21	Longevity (days) ¹		Fecundity (no. nymphs per female) ¹	
			Mean	Max	Mean	Max
G8	9	55.6	48.0 \pm 6.8a	67	89.2 \pm 31.3a	236
G9	17	82.4	35.5 \pm 2.1ab	54	60.1 \pm 12.1ab	168
G10	21	52.4	30.6 \pm 2.1b	40	30.2 \pm 7.4bc	108
G11	20	15	31.0 \pm 2.0b	33	17.4 \pm 6.6c	120
G12	18	11.1	28.0 \pm 4.0b	32	16.7 \pm 5.0c	89
Statistics		$\chi^2 = 26.13$	F = 3.90		F = 4.45	
d.f.		4	4,28		4,80	
P		<0.0001	0.012		0.003	

n, number of females tested.

¹Mean values within a column followed by the same letter are not significantly different (Fisher's LSD multiple comparison test: P>0.05).

generations G11–G12 (ca. 25 days) than for generations G8–G9 (ca. 15 days).

Impact of cocoa tree phenology and canopy microclimate on fecundity

Trees flowered from February to August, with a peak in March (Figure 3). First pods, also called cherelles, appeared around the end of February and continued

appearing until the end of August. Pod growth was from February to October, with a peak between May and July. Pods reached maturity from July to January. Mature pods peaked in August or September and ripe pods were present from July to January. Vegetative growth phenology was not as well defined as fruiting, especially in 2007. However, flushes were more abundant between October 2006 and April 2007, with two peaks in October and December

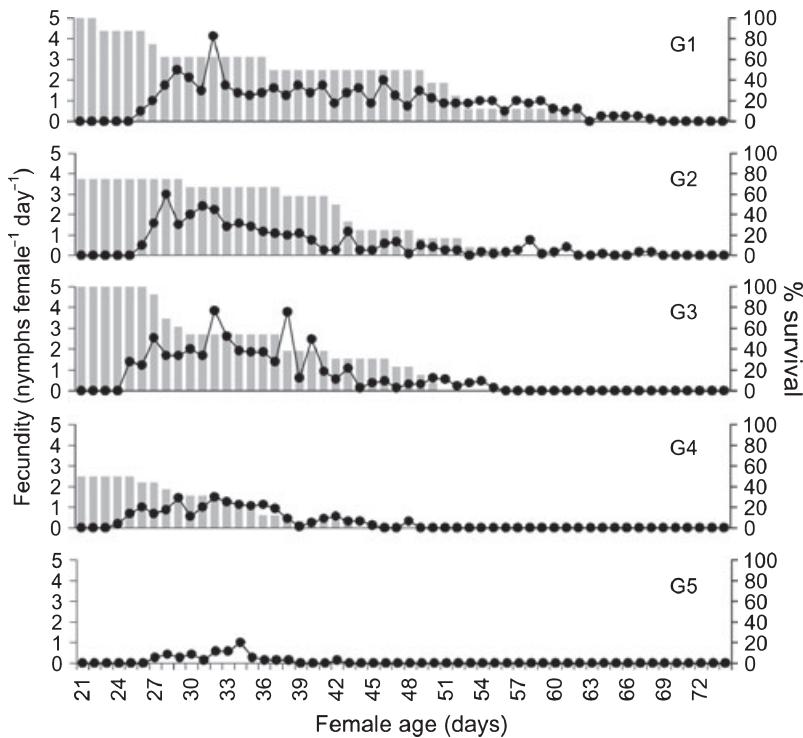


Figure 1 Age-specific mean daily nymph production (black dots; nymphs per female per day) and survival (gray bars; % surviving females from the 21st day of life onwards) for five successive generations (G1–G5) in 2006.

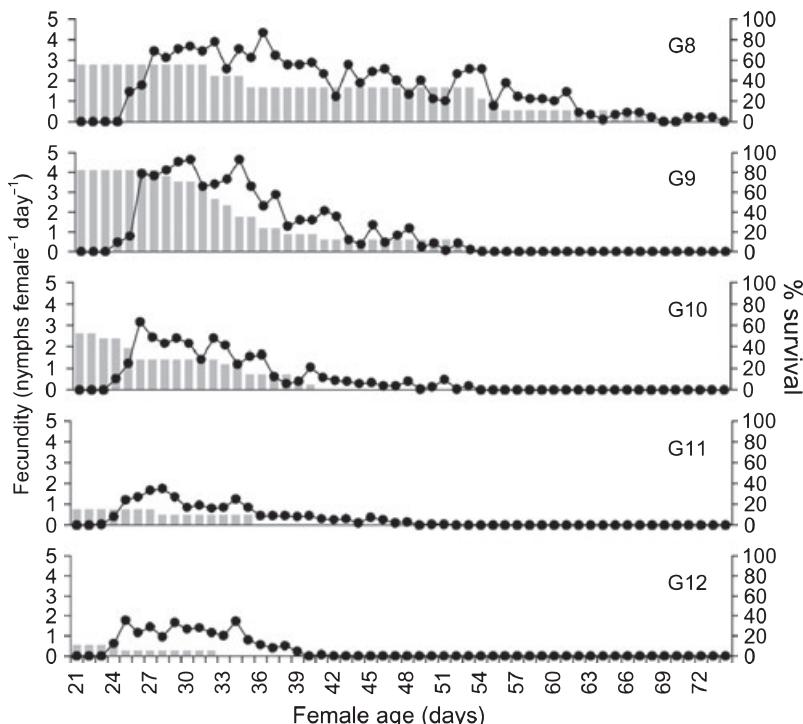


Figure 2 Age-specific mean daily nymph production (black dots; nymphs per female per day) and survival (gray bars; % surviving females from the 21st day of life onwards) for five successive generations (G8–G12) in 2007.

2006. In 2007, there was a slight increase in flush abundance from October and the maximum value was obtained in February 2008.

Daily maximum temperature varied between 26 and 32 °C and was highest in February and March (Figure 4). Daily minimum temperature varied between 18 and

Table 6 Life table parameters for five successive generations of *Sahlbergella singularis* in 2007

Generation	Gross reproductive rate (GRR)	Net reproductive rate (R_0)	Intrinsic rate of increase (r_m)	Mean generation time (T_c) (days)	Doubling time (T_d) (days)
G8	53.53	19.21	0.045	68.0	15.4
G9	36.04	18.81	0.046	64.0	15.1
G10	18.14	8.41	0.035	60.9	19.8
G11	10.44	4.81	0.027	58.9	25.7
G12	10.03	5.19	0.028	59.8	24.8

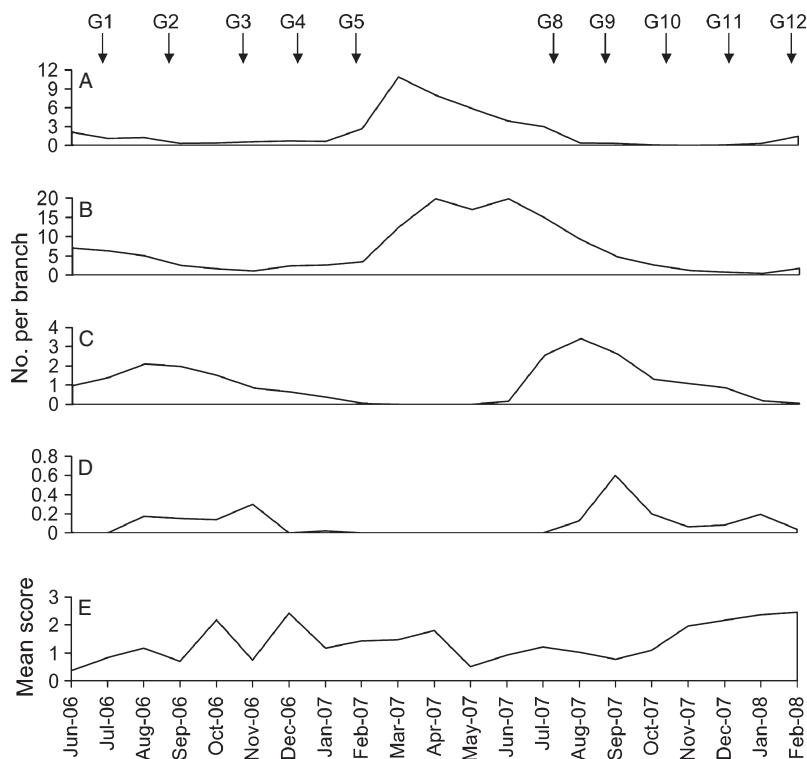


Figure 3 Cocoa phenology with, for each month, (A) the mean number of flowers per branch, (B) the mean number per branch of young, (C) mature, and (D) ripe pods, and (E) the mean score of flushing abundance. Arrows indicate the starting dates of the generations.

21 °C. In December 2007 and February 2008, daily minimum temperature was lowest. Daily mean temperature fluctuated between 23 and 25 °C and was highest in February and March. Daily maximum r.h. was constant with 100%. In 2007, daily minimum r.h. was higher than that in 2006. It was relatively constant between May and November, with 65–70% in 2006 and 80–85% in 2007, and decreased to about 40% in February, both in 2006 and in 2007. The daily mean r.h. varied between 80 and almost 100%, in a pattern similar to that of minimum r.h.

Multiple regression analysis gave a model with four dependent variables explaining female fecundity (for the model: $R^2 = 0.26$; $F_{4,98} = 8.49$, $P < 0.0001$) (Table 7). *Sahlbergella singularis* female fecundity was first correlated with the mean number of young pods per branch ($R^2 = 0.15$;

$F_{1,101} = 17.67$, $P < 0.0001$) and weakly correlated with the mean number of mature pods per branch ($R^2 = 0.04$; $F_{1,101} = 5.04$, $P = 0.027$), daily mean temperature ($R^2 = 0.03$; $F_{1,101} = 4.67$, $P = 0.033$), and daily minimum r.h. ($R^2 = 0.03$; $F_{1,101} = 4.08$, $P = 0.046$).

Discussion

Our results showed that *S. singularis* female longevity can exceed 60 days and fecundity can reach 236 nymphs per female. To the best of our knowledge, maximum adult longevity has previously been assessed at 30 days and fecundity at 30–60 eggs per female, with a maximum value of 179 (Williams, 1953b; Entwistle, 1972; Youdeowei, 1973; Kumar & Ansari, 1974). Consequently, our results suggest

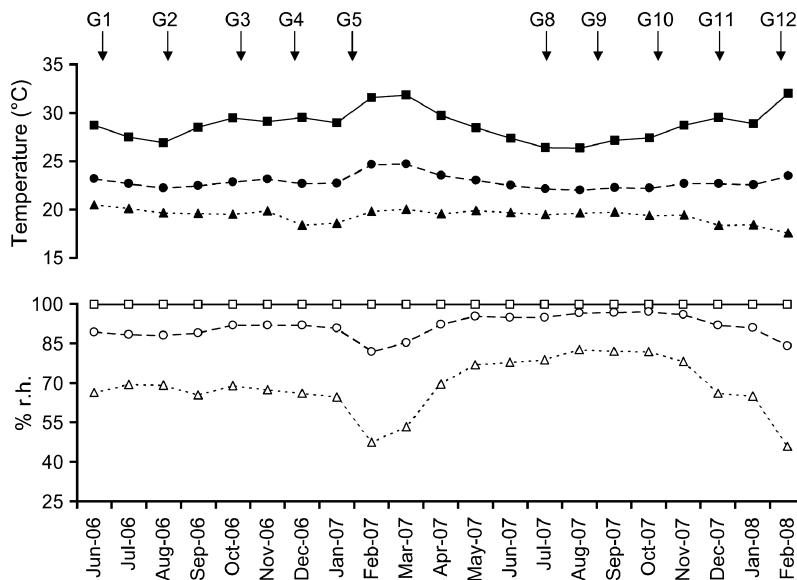


Figure 4 Microclimate conditions of cocoa canopy with, for each month, the mean of daily maximum (squares), mean (circles), and minimum (triangles) temperature (black symbols; °C), and r.h. (white symbols; %). Arrows indicate the starting dates of the various generations.

Table 7 Results of the multiple regression analysis (with the forward-selection option) between fecundity and cocoa phenology and microclimate variables

Step	Variable	F	P	Partial R ²	Model R ²
1	Young pods	17.67	<0.0001	0.15	0.15
2	Minimum r.h. (%)	4.08	0.046	0.03	0.18
3	Mature pods	5.04	0.027	0.04	0.22
4	Mean temperature (°C)	4.67	0.033	0.03	0.26

that *S. singularis* reproductive ability has been underestimated in the past, possibly because of inappropriate rearing techniques (Youdeowei, 1973).

Our results also showed that the nymph emergence period is as long as the female lifespan. This suggests that oviposition occurs more or less during the entire lifespan of the adult female, i.e., for 30–50 days. This trait may be linked to the iteroparous mode of reproduction that characterizes the Miridae (Wheeler, 2001). Moreover, *S. singularis* oviposition time seems to be continuous, as no periodic interruption was recorded in our study. However, our results suggested that oviposition rate is not constant throughout the female life. Indeed, the oviposition rate increased quickly to reach a maximum 3–4 days after the female reached sexual maturity and then decreased gradually with increasing female age.

In spite of a high nymphal survival rate (90%), we obtained low intrinsic rates of natural increase (ca. 0.04), in comparison to other mirid species (Fleischer & Gaylor, 1988; Sundararaju & Babu, 1998). In farms, cocoa mirids

are generally present at low densities, yet they cause considerable damage to the cocoa canopy (Williams, 1953a; Collingwood, 1977). Extensive damage implies increasing competition for food, especially for herbivorous mirids that use high-quality resources on woody hosts (Wheeler, 2001). Thus, a low rate of population growth might have been selected by *S. singularis* to avoid food competition.

Decline of the intrinsic rate of natural increase between G8 and G12 and the associated lengthening of population doubling time were mainly due to a decrease in reproductive parameters, which showed far more variation than nymphal development parameters. *Sahlbergella singularis* performance varied between generations in accordance with observed fluctuations of populations in their natural habitat. The months, when generations G8 and G9 were followed (between May and July), had the highest development capacity and corresponded to the proliferation period of natural populations in Cameroon. Generations with low development capacity, G11 and G12, were observed during October and November, corresponding to the decline of natural populations. These results suggested that reproduction might be a key parameter of the dynamics of *S. singularis* populations in nature. In this study, the relative stability of nymphal development parameters may have been due to relatively constant and favorable rearing conditions. Indeed, mortality of nymphs, which were fed with selected fresh pods and shielded from desiccation and natural enemies, was obviously underestimated in comparison with natural populations. Like most mirids, *S. singularis* oviposit endophytically, thus maximizing survival of eggs, protecting them from desiccation and natural enemies (Wheeler, 2001). Therefore, during the study period,

variation of fecundity might be mainly due to variation in the number of eggs laid by females.

Female longevity and fecundity decreased between generations in a similar pattern, suggesting that fecundity may have been linked to female survival. In the Miridae, as in many insects, ovarioles produce eggs both during nymphal development and during the greater part of adult reproductive life (Wheeler, 2001). Thus, fecundity may be affected by adult living conditions (Awmack & Leather, 2002), i.e., in our study, by conditions on sleeved pods.

The obtained regression model explained only 25% of the variation of *S. singularis* fecundity. This might be due to the high variability of fecundity among females of the same generation. However, our results suggested that the fruiting period of the cocoa tree may be more favorable for mirid reproduction than the flushing period. The highest correlation was obtained for young pods ($R^2 = 0.15$), suggesting that the period of pod growth may be more favorable for mirid reproduction than the period of pod maturation. The impact of host-plant quality, especially nitrogen content, on fecundity is well known for numerous herbivorous insects. Nutritional components can directly affect fecundity through egg initiation and maturation, or indirectly by modifying female oviposition behavior (Awmack & Leather, 2002). Muhamad & Way (1995) studied the impact of pod maturation on fecundity of *Helopeltis theivora* Waterhouse, a mirid damaging cocoa in Asia. The authors suggested that eggs laid during the first 10 days of the female's adult phase are already mature at the final molt, whereas the maturation of further eggs depends on the nutritional components of pods, which are more favorable in growing pods. In our study, variation in fecundity might be similarly linked to variation in the nutritional status of pods. However, further research is needed to assess the real impact of nutrient supply on *S. singularis* survival and fecundity.

The regression model also showed that fecundity was weakly impacted by daily minimum r.h. and daily mean temperature. The influence of climatic conditions on insect fecundity is well documented. Measured at constant temperature, fecundity is usually limited by above-optimum temperatures for species of temperate regions (Nadgada & Pitre, 1986; Morgan et al., 2001) as well as tropical species (Premachandra et al., 2004). To our knowledge, effects of temperature on fecundity of *S. singularis* have not been demonstrated. However, the optimal temperature for fifth stage nymphs was found to range from 18.5 to 23.5 °C (with maximum r.h.) (Entwistle, 1972). In our study, fecundity was adversely affected by the rise of temperatures between August 2007 and February 2008, when temperatures exceeded 30 °C. Furthermore, as cocoa mirids are sensitive to desiccation, the decrease of

the minimum daily r.h. in February might affect survival of *S. singularis*. Optimum r.h. was estimated to lie between 90 and 95% for nymphs of *S. singularis* (Entwistle, 1972). Moreover, Cross & King (1971) demonstrated that a r.h. rate lower than 50% led to the death of young nymphs of *D. theobroma* in 3 h.

This work contributes to a better understanding of seasonal variation of *S. singularis*. The high reproductive potential of females, mainly due to optimal food supply, may largely explain the growth of natural populations. At the end of the fruiting period, the maturation of pods, as well as the decrease of r.h. and the rise of temperatures, may negatively affect fecundity and female survival and thus contribute to population decline. After pod harvesting, *S. singularis* feed on green shoots, causing considerable damage to the cocoa canopy. Further research is needed to assess the impact of this feeding habit on species performance. Nevertheless, the results we obtained will be useful for the modeling of *S. singularis* population dynamics and for the improvement of IPM strategies, especially spraying recommendations.

Acknowledgements

We thank the personnel of the IRAD research station at Nkolbisson for the use of their land and facilities and for their assistance in maintaining the cocoa plot. Special recognition is extended to Victor Ondo, Benoît Owona, Junior Zomo, and Maurice Douandji, the technical workforce of the Laboratory of Entomology. We are especially grateful to Martijn ten Hoopen and Livy Williams for reviewing earlier versions of this manuscript and for their assistance in writing of the English text. This research was funded by CIRAD.

References

- Anikwe JC, Okelana FA & Omoloye AA (2010) The population dynamics of the brown cocoa mirid, *Sahlbergella singularis* Haglund in Ibadan, Nigeria. African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development 10: 2272–2783.
- Awmack CS & Leather SR (2002) Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. Annual Review of Entomology 47: 817–844.
- Babin R, Bisseleua H, Dibog L & Lumaret JC (2008) Rearing method and life-table data for the cocoa mirid bug *Sahlbergella singularis* Haglund (Hemiptera: Miridae). Journal of Applied Entomology 132: 366–374.
- Babin R, ten Hoopen GM, Cilas C, Enjalric F, Yede et al. (2010) Impact of shade on the spatial distribution of *Sahlbergella singularis* in traditional cocoa agroforests. Agricultural and Forest Entomology 12: 69–79.

- Birch LC (1948) The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *Journal of Animal Ecology* 17: 15–26.
- Bruneau de Miré P (1977) La dynamique des populations de Mirides et ses implications. *Les Mirides du Cacaoyer* (ed. by EM Lavabre), pp. 171–186. G-P. Maisonneuve et Larose, Paris, France.
- Collingwood CA (1977) African Mirids. *Les Mirides du Cacaoyer* (ed. by EM Lavabre), pp. 71–83. G-P. Maisonneuve et Larose, Paris, France.
- Cross DJ & King ABS (1971) Capsid rearing. *Cocoa Capsids in West Africa*, pp. 55–61. Report of the International Capsid Research Team (1965–1971), Cocoa Research Institute, Tafo, Ghana.
- Crowdy SH (1947) Observations on the pathogenicity of *Calonecchia rigidiuscula* (Berk. & Br.) Sacc. on *Theobroma cacao* L. *Annals of Applied Biology* 34: 45–59.
- Elkinton JS (1993) Insect Population Ecology: An African Perspective. ICIPE Science Press, Nairobi, Kenya.
- Entwistle PF (1972) Pests of Cocoa. Longman Group, London, UK.
- Fleischer SJ & Gaylor MJ (1988) *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae) population dynamics: nymphal development, life tables, and Leslie matrices on selected weeds and cotton. *Environmental Entomology* 17: 246–253.
- Gerber GH (1995) Fecundity of *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae). *Canadian Entomologist* 127: 263–264.
- Hemerik L, Busstra C & Mols P (2004) Predicting the temperature-dependent natural population expansion of the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 111: 59–69.
- Jaramillo J, Chabi-Olaje A & Borgemeister C (2010) Temperature-dependent development and emergence pattern of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) from coffee berries. *Journal of Economic Entomology* 103: 1159–1165.
- Kumar R & Ansari AK (1974) Biology, immature stages and rearing of cocoa-capsids (Miridae: Heteroptera). *Zoological Journal of the Linnean Society* 54: 1–29.
- Lavabre EM, Decelle J & Debord P (1962) Recherches sur les variations des populations de mirides en Côte d'Ivoire. *Café Cacao Thé* 6: 287–295.
- Morgan D, Walters KFA & Aegegerter JN (2001) Effect of temperature and cultivar on pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae) life history. *Bulletin of Entomological Research* 91: 47–52.
- Muhamad R & Way MJ (1995) Relationships between feeding habits and fecundity of *Helopeltis theivora* (Hemiptera: Miridae) on cocoa. *Bulletin of Entomological Research* 85: 519–523.
- Nadgauda D & Pitre HN (1986) Effects of temperature on feeding, development, fecundity, and longevity of *Nabis roseipennis* (Hemiptera: Nabidae) fed tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and tarnished plant bug (Hemiptera: Miridae) nymphs. *Environmental Entomology* 15: 536–539.
- N'Guessan FK & Coulibaly N (2000) Dynamique des populations de mirides et de quelques autres déprédateurs du cacaoyer dans la région ouest de la Côte d'Ivoire. 13th International Cocoa Research Conference (ed. by COPAL), pp. 425–435. ICRC, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia.
- Piart J (1977) Elevage au laboratoire des Mirides du cacaoyer. *Les Mirides du Cacaoyer* (ed. by EM Lavabre), pp. 203–211. G-P. Maisonneuve et Larose, Paris, France.
- Premachandra WTSD, Borgemeister C, Chabi-Olaje A & Poehling H-M (2004) Influence of temperature on the development, reproduction and longevity of *Ceratothripoides claratris* (Thysanoptera: Thripidae) on tomatoes. *Bulletin of Entomological Research* 94: 377–384.
- SAS Institute (1987) SAS User's Guide: Statistics, Version 9.1.3. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Shintani Y (2009) Effect of seasonal variation in host-plant quality on the rice leaf bug, *Trigonotylus caelestialium*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 133: 128–135.
- Sundararaju D & Babu P (1998) Life table studies of *Helopeltis antonii* Sign. (Heteroptera: Miridae) on neem, guava and cashew. *Journal of Entomological Research* 22: 241–244.
- Wheeler AG (2001) Biology of the Plant Bugs (Hemiptera: Miridae). Cornell University Press, New York, NY, USA.
- Williams G (1953a) Field Observations on the cacao mirids, *Sahlbergella singularis* Hagl. and *Distantiella theobroma* (Dist.), in the Gold Coast, Part I. Mirid damage. *Bulletin of Entomological Research* 44: 101–119.
- Williams G (1953b) Field observations on the cacao mirids, *Sahlbergella singularis* Hagl. and *Distantiella theobroma* (Dist.), in the Gold Coast. Part II. Geographical and habitat distribution. *Bulletin of Entomological Research* 44: 427–437.
- Youdeowei A (1973) The life cycles of the cocoa mirids *Sahlbergella singularis* Hagl. and *Distantiella theobroma* Dist. in Nigeria. *Journal of Natural History* 7: 217–223.



Impact of shade on the spatial distribution of *Sahlbergella singularis* in traditional cocoa agroforests

Régis Babin*, Gerben M. ten Hoopen, Christian Cilas†, Frank Enjalric‡, Yede§, Pierre Gendre¶ and Jean-Pierre Lumaret*

CIRAD Regional Management, BP 2572, Yaoundé, Cameroon, *Arthropod Team, UMR 5175 CEFE, University of Montpellier III, Montpellier,

†CIRAD, Avenue Agropolis, TA A-31/02, 34398 Montpellier Cedex 5, France, ‡CIRAD Regional Management, Ampandrianomby, BP 853, 101 Antananarivo, Madagascar, §IRAD, BP 2067, Yaoundé, Cameroon and ¶ISTOM, 32 Boulevard du Port, 95 094 Cergy Pontoise Cedex, France

- Abstract**
- 1 Shade management is commonly considered to be an effective pest management strategy for cocoa mirids, yet shade management recommendations are not based on extensive knowledge of the mirid ecology in traditional cocoa agroforests.
 - 2 The main objectives of the present study were an assessment of the impact of shade on the spatial distribution of mirid populations and thus the evaluation of shade management strategies.
 - 3 Mirid densities were measured and shade was characterized for three plots located in three different agroecological zones in the Centre region of Cameroon. Mirid densities generally followed a negative binomial law. Geostatistical procedures were used to characterize spatial distribution of mirid density. Light conditions were assessed using hemispherical photography.
 - 4 Populations of *Sahlbergella singularis* were highly aggregated in the plots. Semivariance analysis and kriging visualized the spatial dependence of mirid densities. Clearly distinguishable mirid pockets of 20–30 adjacent infested cocoa trees were identified in two of the three plots.
 - 5 The high diversity of shade tree species and the large variability in density and size of shade trees resulted in a considerable heterogeneity of plot light conditions. Percentage transmitted light varied in the range 9.4–80.1% in the most heterogeneous plot.
 - 6 For two of the three plots, mirid pockets were aggregated in those areas where light transmission was highest. In the third plot, relatively high mirid densities and the presence of an alternative host resulted in a more homogeneous distribution. The importance of these findings for improved mirid control is discussed.

Keywords Cocoa mirids, *Distantiella theobroma*, geostatistics, Hemiptera, hemispherical photography, Miridae, *Sahlbergella singularis* Hagl, shade, spatial distribution, *Theobroma cacao*.

Introduction

In Cameroon, cocoa (*Theobroma cacao* L.) is usually grown in multi-strata, dense and highly diversified agroforestry systems (Dounias & Hladick, 1996; Laird *et al.*, 2007; Sonwa *et al.*, 2007). In such systems, qualified as agroforests (Torquebiau, 2007), cocoa tree canopies are usually joined up and form a thick layer of foliage, which is shaded by the canopy of

associated trees. Until recently, these systems have received relatively little attention contrary to cocoa growing systems in which shade is more simplified (Boyer, 1970; Wessel, 1985; Wood, 1985). However, over the last few years, there has been a growing interest in agroforests worldwide because such cropping systems offer numerous advantages, such as food security and income source diversity for smallholders, biodiversity conservation and soil preservation (Philpott & Armbrecht, 2006; Franzen & Borgerhoff Mulder, 2007; Laird *et al.*, 2007; Schroth & Harvey, 2007; Torquebiau, 2007). Cocoa production in these Cameroonian cocoa agroforests is,

Correspondence: Régis Babin. Tel: +237 22 21 25 41; fax: +237 22 20 29 69; e-mail: regis.babin@cirad.fr

however, severely impacted as a result of the presence of pests and diseases.

The mirids *Sahlbergella singularis* Hagn. and *Distantiella theobroma* Distant (Hemiptera: Miridae) are the most harmful insects to cocoa trees in Africa (N'Guessan & Coulibaly, 2000; Padi *et al.*, 2000; Sounigo *et al.*, 2003; Babin *et al.*, 2008). These two insects have very similar life histories and regularly live together in cocoa agroforests. Mirids feed by sucking sap from pods and young shoots, causing varying degrees of damage to the cocoa tree (Williams, 1953; Entwistle, 1972; Collingwood, 1977). Feeding wounds eventually develop into cankers, subsequent to infection by parasitic fungi (Crowdy, 1947). A combination of mirid attacks and fungal infections leads to premature ageing of plantations and can kill the trees, thus resulting in significant production losses. In shaded plantations, mirid damage is usually confined to groups of up to 50 cocoa trees (Williams, 1953). Such groups of severely damaged and unproductive cocoa trees are known as mirid pockets. Mirid pockets often occur in sunny areas of plantations, where there are gaps in the shade tree canopy (Williams, 1953; Entwistle, 1972; Youdeowei, 1977), although few studies have focused on the actual effect of shade on the spatial distribution of mirid populations. Mirid populations in plantations are normally strongly aggregated (Williams, 1953; Youdeowei, 1965; Lotodé, 1969; Nwana & Youdeowei, 1978). To our knowledge, only Youdeowei (1971) has established a link between light intensity and the degree of cocoa tree infestation by *S. singularis*.

Environmental conditions in these multi-strata cocoa agroforests are highly diversified, particularly when shade conditions are highly heterogeneous. One of the mirid control recommendations, widely disseminated in African cocoa producing countries, is to maintain a uniform shade level in cocoa plantations (Idowu *et al.*, 2001; Mpé, 2001; Padi *et al.*, 2001). Unfortunately, to date, this recommendation has not been rigorously verified and, because it is primarily derived from damage observations and not based on in-depth knowledge of mirid ecology, lacks sufficient scientific support. Therefore, the overall objective of the present study was to contribute to the improvement of mirid control strategies, through a better

knowledge of the ecology of these pests in traditional agroforests. To that end, we studied three agroforestry plots with a view to: (i) describing the spatial distribution of mirid populations; (ii) characterizing the shade of the study plots; and (iii) determining the type of relationship between shade and the spatial distribution of mirid populations.

Materials and methods

Study sites and experimental design

In Cameroon, cocoa is grown in the humid forest zone in the South of the country, mainly in three regions: Mungo, Centre-South and East (Losch *et al.*, 1991). The present study was located on three plantations in the Centre region of Cameroon. The choice of plantations was guided by: (i) crop management in compliance with traditional agroforests; (ii) the geographical location of the plantations with a view to covering contrasting agroecological conditions; (iii) the existence of recent mirid damage; and (iv) the absence of any insecticide treatment for at least 3 years. Table 1 lists the main geographical and agroecological characteristics of the chosen plantations. The Ngomedzap site is characterized by higher rainfall and a less marked dry season than the other sites. The vegetation is mainly comprised of degraded forest and the cocoa trees are old and low-yielding. The selected plot (Ngo) was planted exclusively with cocoa trees of the West African Amelonado type. The Obala site is characterized by a greater human pressure because of the proximity of the city of Yaoundé. The vegetation at the site is highly influenced by human activity. The cocoa trees are younger and better maintained and consequently more productive compared with the Ngomedzap site. The chosen plantation (Oba) had a mixture of West African Amelonado type cocoa trees and selected Trinitario type hybrids, disseminated in the 1960 s and 1970 s. The Bokito site has a bush-savanna type vegetation. Cocoa is normally grown there inside gallery forests or in man-made forests usually planted at the same time as the cocoa trees to shade the plantations. The chosen plantation (Bok) was installed in an artificial forest and had a mixture of Amelonado type trees and Trinitario hybrids. The plantation was very low-yielding

Table 1 Main geographical and agroecological characteristics of the selected plots

	Plots		
	Ngo	Oba	Bok
Site (Fig. 1)	Ngomedzap	Obala	Bokito
Latitude	03°16'09"N	04°06'19"N	04°34'29"N
Longitude	11°13'21"E	11°28'40"E	11°10'45"E
Annual rainfall (mm) ^a	1700–1800	1400–1500	1300–1500
Vegetation ^a	Mixed degraded forests and patches of evergreen forest	Domesticated forest landscapes, shrub crops	Bush savannah and gallery forests
Age of cocoa trees	Over 60 years	30–60 years	30–60 years
Type of cocoa trees	Amelonado	Amelonado and Trinitario hybrids	Amelonado and Trinitario hybrids
Planting density (trees per hectare)	1800	1500	1200
Average yields 2003 and 2004 (kg/ha) ^a	800	1250	350

^aAccording to Santoir & Bopda (1995).

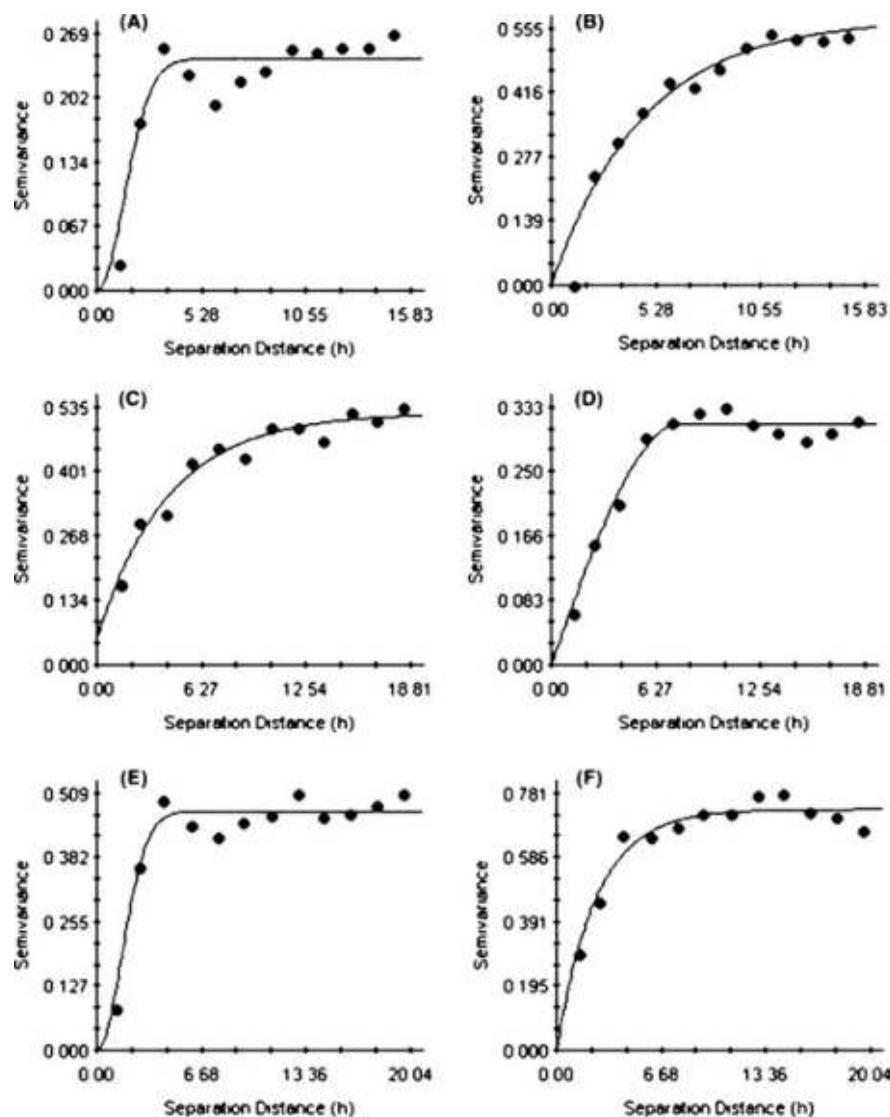


Figure 1 Observed semivariance (dots) and fitted models (curves) for the number of mirids per cocoa tree [after $\log_e(x + 1)$ transformation] for: (A) Ngo 2006, (B) Ngo 2007, (C) Oba 2006, (D) Oba 2007, (E) Bok 2006 and (F) Bok 2007. The separation distance (h) is expressed in metres.

for the zone, which generally displays yields that are three- to five-fold higher.

A total of 100 cocoa trees were selected in each plantation in an area with heterogeneous shade levels. Plots, measuring 2025 m² (45 × 45 m), were established centred around the selected cocoa trees and included all shade trees surrounding and influencing shade levels experienced by the observed cocoa trees. Plots were divided into smaller areas 3 × 3 m² and the position of the cocoa and shade trees was plotted on a map.

Evaluation of mirid populations

In Cameroon, mirid populations are usually at their highest from July to September (Lavabre, 1960). To obtain adequate data for spatial analyses, population densities were evaluated during their peak time on two occasions, in September 2006 and

August 2007. The number of mirids per tree was recorded for each of the marked trees, using a knockdown method of sampling (Lavabre *et al.*, 1963). Plastic sheets measuring 4 × 4 m were spread at the foot of the cocoa trees. They were subsequently sprayed with an endosulfan-based insecticide using a motorized mistblower (Solo type 40123; Solo Kleinmotoren, Germany) at 100 mL/ha. Endosulfan was chosen because it has a broad action-spectrum and a sufficient 'shock' effect, which kills most of the insects within a few hours. Treatment was carried out at daybreak, when mirids are not very active (Youdeowei, 1977). The risk of winged adults escaping was thus limited. Seven hours after the treatment, insect bodies were collected from the plastic sheets and preserved in glass haemolysis tubes containing 70% alcohol. The insects were sorted in the laboratory and the number of *S. singularis* and/or *D. theobroma* individuals per tree and per development stage was determined. Because the knockdown method of sampling

could perturb the population dynamics, we sampled the mirid population once a year to prevent this risk.

Characterization of plot shade

Woody species present in each plot were identified to species. The basal area of each tree was assessed by measuring the circumference of the trees 1.30 m from the ground or 30 cm above the buttress on trees with a buttress. Horizontal crown area was estimated for each tree by measuring the ground-level crown projection (Bellow & Nair, 2003). Stand density (in trees per hectare), total basal area per hectare (in m²/ha) and crown cover per hectare (sum of the crown areas, in m²/ha) were calculated for each plot.

Plot shade was assessed by calculating the percentage transmitted light reaching the cocoa canopy through the foliage of associated trees (Isaac *et al.*, 2006). To that end, hemispherical photographs of the canopy overhanging the cocoa trees were taken with a digital camera (Nikon Coolpix 5400; Nikon, Japan) fitted with a fisheye lens (Nikon FC-E9-Fisheye 0.2 ×; Nikon). Thirty to 50 photographs were taken for each plot between 05.30 h and 07.30 h in the morning to avoid direct sunlight. Canopy openness and percentage transmitted light through the canopy were estimated by analysing the hemispherical photographs using the GAP LIGHT ANALYZER software, version 2.0 (Frazer *et al.*, 1999).

Statistical analysis

Mirid populations. Mirid densities (log_e-transformed) in the three selected plots were compared for 2 years with the appropriate generalized linear model (GLM) using SAS, version 9.1 (SAS Institute, Cary, North Carolina).

Mirid distribution. Insect populations are often aggregated in their environment, with their distribution generally obeying a negative binomial law (Anscombe, 1949; Elkinton, 1993).

To check the fit of the mirid density distribution to the negative binomial distribution, the expected values for the different count categories were calculated using the formulas described below, then compared with the observed values using a chi-square test in XLSTAT, version 2007.6 (Addinsoft SARL, France):

$$P(X = n) = \left(\frac{k+n-1}{n} \right) \left(\frac{\mu}{\mu+k} \right)^n \times P(X = n-1) \quad (1)$$

Where $P(X = n)$ is the probability of the sampled cocoa tree having n individuals, μ is the mean and the parameter k , an indicator of the degree of clumping in the data, given by the formula:

$$k = \frac{\mu^2}{\sigma^2 - \mu} \quad (2)$$

The parameter k is widely used as an index of dispersion for populations (Anscombe, 1949).

Spatial analysis. Each sampling point (marked cocoa tree) was assigned x and y coordinates by projecting the plot maps onto an orthonormal grid. Subsequently, the spatial relations between the sampling points were analysed by fitting semivariograms using GS⁺, version 9 (Robertson, 2008). Semivariance is given by the equation:

$$\gamma(h) = \frac{1}{2N(h)} \sum_{N(h)} [z(s_i) - z(s_i + h)]^2 \quad (3)$$

where, in the present study, $z(s_i)$ was the log_e-transformed number of mirids plus one, per cocoa tree at point s_i , $z(s_i + h)$ was the log_e-transformed number of mirids plus one per cocoa tree at distance h from s_i and $N(h)$ was the total number of pairs of cocoa trees sampled for the distance interval h , expressed in metres. The software provides descriptive parameters for the semivariogram: (i) the range for which spatial dependence is apparent (marked A and expressed in metres in the present study); (ii) the nugget variance (i.e. the value y_0 at which the curve of the model cuts the y -axis) (indicated C_0); (iii) the sill of the model corresponding to the asymptote of the model [indicated $(C + C_0)$]. The quality of semivariogram fit to the common models was indicated by the residual sum of squares (RSS), the coefficient of determination R^2 and the ratio $C/(C_0 + C)$. The ratio of $C/(C_0 + C)$ is equal to 1 if the semivariogram does not display a nugget effect and is equal to 0 if the semivariogram is linear. A linear semivariogram reflects a 'pure nugget' effect and, consequently, an absence of spatial dependence for distribution (random distribution).

Kriging is an interpolation method that uses the structural properties of the semivariogram and the actual data of the studied parameter(s) (Robertson, 2008). Kriging maps were produced using GS⁺ by ordinary block kriging with a block size of 1 × 1 m across the plot and a 2 × 2 discretization grid within each block. Kriged log_e-transformed mirid counts were back-transformed to original units before mapping.

Effect of shade on the spatial distribution of mirids. The position, basal area and crown cover of shade trees were represented on maps produced with MAPINFO, version 7.0 (MapInfo Corporation, North Greenbush, New York). Using the data from the GAP LIGHT ANALYZER-analysed hemispherical photographs, transmitted light percentages were estimated for nonsampled points using Inverse Distance Weighting (IDW). The IDW technique estimates a value for unmeasured points based on the distance to neighbouring values. The weight accorded to those neighbouring values depends on the distance between neighbouring points (Robertson, 2008). The estimated values were calculated in a 1 × 1 m grid such that the grids for the transmitted light percentages and for the mirid densities corresponded. The IDW interpolation maps were produced with GS⁺.

Shade and mirid distribution maps were used to visualize the relationship between these variables. This relationship was then

validated statistically. Accordingly, the interpolation data for the percentage transmitted light were separated into two categories: the first category corresponded to the quartile containing the highest values for the variable and the second grouped the other three quartiles. The mirid density interpolation data of these two classes were compared with the appropriate GLM using SAS.

Results

Mirid populations

Of the 1257 mirids collected, 1250 individuals (99.4%) belonged to *S. singularis* and 7 (0.6%) to *D. theobroma*. Consequently, our analyses were limited to *S. singularis*. Mean mirid density for all plots was 2.10 mirids/cocoa tree. However, densities were highly variable, varying on the range 0.61–6.53 mirids/cocoa tree (Table 2). Densities of the Bok plot were significantly higher than densities of the two other plots in 2006 ($F_{2,294} = 23.06$, $P < 0.0001$) and in 2007 ($F_{2,294} = 94.10$, $P < 0.0001$). Moreover, for the Ngo and Bok plots, densities were significantly higher in the second year of sampling compared with the first year (Ngo plot, $F_{1,198} = 13.43$, $P < 0.0001$; Bok plot, $F_{1,194} = 45.56$, $P < 0.0001$). At the Oba plot, the reverse was true ($F_{1,196} = 6.83$, $P < 0.01$). Larvae were two- to ten-fold more numerous than adults, with a maximum of 0.57 adults/cocoa tree as opposed to 5.96 larvae/cocoa tree (Bok plot, 2007; Table 2). For each plot, the variance was higher than the mean. The results of tests to fit the distribution to a negative binomial law gave probability values over 5% for 14 out of 18 tests. Those results confirm that mirid populations were aggregated in the plots. The index of dispersion k was generally low, with a mean of 0.87 ± 0.52 for the set of tests. The k values varied substantially between plots and between years, with a minimum value of 0.25 and a maximum value of 1.71. In addition, the k values obtained for adults were generally higher than those obtained for larvae (Table 2).

Spatial distribution of mirids

Analysis of the semivariograms revealed a spatial dependence of mirid densities for all three plots and both sampling years. The semivariograms were either Gaussian (Ngo and Bok in 2006), exponential (Ngo in 2007, Oba in 2006 and Bok in 2007) or spherical (Oba in 2007) (Fig. 1). The theoretical models fitted well to the observed semivariograms ($RSS \rightarrow 0$ and $R^2 \rightarrow 1$) (Table 3). The ‘nugget’ effect was limited [$C/(C_0 + C) \rightarrow 1$]. The mean range of spatial dependence (A) was 8.26 ± 4.44 m, with a minimum value of 3.36 m (Ngo in 2006) and a maximum value of 14.04 m (Ngo in 2007). The type of semivariogram and the range of spatial dependence differed between 2006 and 2007 for each plot. Larvae displayed two models of semivariograms similar to those for the total populations (Table 3), although with different models for adults in half the cases. In 2006, the mean range of spatial dependence was slightly greater in adults (6.96 ± 5.64 m) as opposed to larvae (5.07 ± 3.20 m). On the other hand, in 2007, the

mean range of spatial dependence was clearly greater for larvae (9.13 ± 2.56 m) as opposed to adults (4.68 ± 0.92).

Kriging maps confirmed the aggregated spatial distribution of mirid populations. Indeed, each plot contained one or more groups of severely infested trees and zones that were totally free of mirids (Figs 2C,D, 3C,D, 4C,D). The groups of infested trees varied in number and size. In 2006, the Ngo plot had five to six groups of two to three severely infested cocoa trees scattered throughout the plot. On the other hand, in 2007, this plot had only two groups of infested cocoa trees, which were relatively close to each other and of which one contained approximately 30 cocoa trees. The Oba plot had a group of 20–30 infested cocoa trees in the central zone of the plot for both years. On the other hand, the Bok plot had several small groups of infested cocoa trees scattered throughout the plot. In 2007, the plot was almost totally infested.

Impact of shade on mirid distribution

The Ngo plot had a balanced mixture of forest trees and fruit trees (Fig. 2A). The density of the associated trees was relatively low, at 80 trees per hectare. Total basal area and crown cover were around 43 and 17 000 m²/ha, respectively, as a result of the existence of large trees such as *Terminalia superba* (Combretaceae), *Ficus mucoso* and *Ficus exasperata* (Moraceae). The percentage transmitted light varied in the range 16.1–62.8% (Fig. 2B). The Oba plot was mostly planted with fruit trees, notably *Persea americana* (Lauraceae) and *Citrus* spp. (Rutaceae) (Fig. 3A). The planting density of the associated trees was very high, with approximately 250 trees per hectare. The shade trees were not highly developed, with a total basal area of approximately 30 m²/ha and a crown cover of approximately 17 000 m²/ha. The distribution of the shade trees in the plot was very heterogeneous. The percentage transmitted light varied in the range 9.4–80.1% (Fig. 3B). The Bok plot had a mixture of fruit trees and forest trees, planted at a density of approximately 130 trees per hectare (Fig. 4A). The fruit trees mainly consisted of the species *Cola nitida* (Malvaceae), which generally had a low basal area and crown area. The forest trees were more numerous and more diversified than in the other plots. The total basal area and the crown cover in the plot displayed relatively high values of approximately 34 and 20 000 m²/ha, respectively. The percentage transmitted light varied in the range 11.4–61.4% (Fig. 4B). A large proportion of the associated trees belonged to the family Malvaceae (*Triplochiton scleroxylon*, *Eribroma oblonga* and *C. nitida*).

A comparison of the mirid population distribution maps and the percentage transmitted light maps showed that, for the Ngo (Fig. 2) and Oba (Fig. 3) plots, the groups of cocoa trees infested by mirids were located in zones where the percentage transmitted light was greatest. These results were confirmed by the analysis of variance. Mirid density was significantly higher in areas with high light transmission compared with medium to low light transmission for the Ngo plot in 2006 (0.60 ± 1.09 versus 0.41 ± 0.57 mirids/tree, respectively; $F_{1,990} = 5.29$, $P < 0.05$) and 2007 (2.06 ± 1.70 versus 0.68 ± 0.73 mirids/tree, respectively; $F_{1,990} = 260.82$, $P < 0.0001$). The same was true for the Oba plot in 2006

Table 2 Main statistical parameters of mirid densities per cocoa tree per site and development stage for 2006 and 2007 and results of fitting the density distribution to a negative binomial distribution

Plot:	Ngo			Oba			Bok									
	2006		2007	2006		2007	2006		2007	2006		2007	2006		2007	
Year:	Larvae	Adults	Total	Larvae	Adults	Total	Larvae	Adults	Total	Larvae	Adults	Total	Larvae	Adults	Total	
Stage																
Minimum	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Maximum	8	2	9	6	3	7	8	3	9	7	3	8	2	10	33	
Mean	0.46	0.14	0.61	1.09	0.24	1.33	1.05	0.29	1.34	0.49	0.24	0.73	0.25	2.13	6.53	
Variance	1.71	0.18	2.12	2.89	0.27	3.50	2.92	0.43	4.19	1.04	0.27	4.12	0.29	4.80	39.90	
κ	0.17	0.46	0.25	0.66	2.30	0.82	0.60	0.61	0.64	0.44	2.38	0.56	1.60	1.33	1.71	
Observed χ^2	10.40	1.43	10.10	18.52	2.39	12.57	10.32	1.63	22.81	7.56	2.42	13.04	9.62	1.76	12.36	
d.f.	7	1	8	5	2	6	7	2	8	6	2	8	7	1	9	
Probability (%)	16.7	0.01 ^a	25.8	0.24 ^a	30.3	5.0	17.1	44.2	0.4 ^a	27.2	29.8	11.1	21.1	0.01 ^a	19.4	38.2
															12.0	

^aDoes not follow a negative binomial distribution at the 5% level.
d.f., degrees of freedom.

Table 3 Descriptive parameters of the semivariograms and statistics for model fit obtained for the number of adult, larvae and total mirids per cocoa tree for the three plots and two study years

Plot/year	Stage	Model	Range (A) (m)	Sill ($C_0 + C$)	$C/(C_0 + C)$	RSS	R^2
Ngo (2006)	Adult	Gaussian	3.83	0.065	0.998	0.001	0.907
	Larvae	Gaussian	2.53	0.191	0.999	0.005	0.694
	Total	Gaussian	3.36	0.242	1.000	0.006	0.883
Ngo (2007)	Adult	Gaussian	3.62	0.096	0.999	0.001	0.874
	Larvae	Exponential	12.03	0.523	0.998	0.022	0.924
	Total	Exponential	14.04	0.574	0.998	0.018	0.948
Oba (2006)	Adult	Exponential	13.47	0.172	0.980	0.001	0.929
	Larvae	Exponential	8.67	0.439	0.815	0.009	0.856
	Total	Exponential	12.90	0.522	0.895	0.006	0.956
Oba (2007)	Adult	Gaussian	5.14	0.104	0.999	0.001	0.880
	Larvae	Spherical	7.17	0.221	0.962	0.004	0.870
	Total	Spherical	7.74	0.311	1.000	0.002	0.973
Bok (2006)	Adult	Gaussian	3.57	0.099	0.999	0.003	0.777
	Larvae	Gaussian	4.02	0.465	0.998	0.009	0.940
	Total	Gaussian	3.91	0.473	0.998	0.009	0.945
Bok (2007)	Adult	Gaussian	5.28	0.190	0.999	0.003	0.924
	Larvae	Exponential	8.19	0.796	0.999	0.017	0.942
	Total	Exponential	7.62	0.732	0.999	0.015	0.933

The density data underwent $\log_e(x + 1)$ transformation prior to analysis.

(2.03 ± 1.45 versus 0.86 ± 0.85 mirids/tree, respectively; $F_{1,978} = 250.55$, $P < 0.0001$) and 2007 (1.42 ± 1.12 versus 0.43 ± 0.56 mirids/tree, respectively; $F_{1,978} = 323.58$, $P < 0.0001$). However, for the Bok plot, mirid density was significantly higher for high light transmission compared with medium to low light transmission only in 2006 (2.17 ± 1.45 versus 1.92 ± 1.57 mirids/tree, respectively; $F_{1,1293} = 10.65$, $P < 0.01$). In 2007 the effect was reversed (3.85 ± 2.58 versus 4.91 ± 3.14 mirids/tree, respectively; $F_{1,1293} = 35.79$, $P < 0.0001$).

Discussion

With a mean of 2.1 mirids/tree, population densities observed in the present study were relatively high for *S. singularis*. As a result of extensive damage caused by cacao mirids, the economic threshold for phytosanitary intervention has been fixed at only 0.7 mirids/tree in Cameroon (Decazy & Essono, 1979) and 0.6 mirids/tree in Ghana (Padi & Owusu, 1998). The results obtained in the present study also show that the highest densities were reached in the Bok plot for both years. This result is consistent with previous work, which showed that cocoa plantations in the savannah area of Cameroon are generally more infested than plantations in the forest area (Lavabre, 1960, 1977). The presence of numerous trees of the Malvaceae family, which is known to contain alternative host plants of *S. singularis* such as *C. nitida*, could also explain the high mirid densities in the Bok plot. Two plots had higher mirid densities in 2007 compared with 2006. These results appear to indicate that the colonization conditions were more suitable in 2007 for these plots.

The results of the present study show that mirids were highly aggregated in the plots, which is consistent with previous research (Youdeowei, 1965; Lotodé, 1969; Nwana & Youdeowei, 1978). However, in previous studies, an index of aggregation was calculated according to Taylor's law (1961). This index can only be estimated by collecting data from different populations that differ in density. Therefore, this index cannot be used to assess differences in dispersion between populations (Elkinton, 1993). Conversely, the index of dispersion k enabled comparison of the different plots for mirid aggregation. Thus, the k value displayed considerable variability in the present study. A similar result was found for the coffee tree bug *Antestiopsis orbitalis* (Pentatomidae), with a k value varying in the range 1.16–5.36 (Cilas *et al.*, 1998). Elkinton (1993) suggested that the increase in the density of an insect is usually accompanied by changes in its pattern of spatial distribution and consequent degree of aggregation. This theory could be illustrated by the Bok plot, where densities were very high and aggregation not as marked as in the other two plots.

An analysis of the semivariograms and kriging maps also clearly revealed that *S. singularis* was not randomly distributed in the study plots. Gaussian type semivariograms were characteristic of plots containing small infested zones involving fewer than ten cocoa trees. On the other hand, exponential type variograms were characteristic of plots with adjacent groups of 20–30 infested cocoa trees. These groups had fuzzier contours, revealing infestation gradients reaching more than 10 m, in keeping with the high ranges of spatial dependence. Williams (1953) defined a mirid pocket as 'a small area of severely damaged trees which stands out in sharp contrast to the surrounding healthy cocoa'. Youdeowei (1971) used the term mirid pockets for groups of around twenty infested adjacent cocoa trees. On

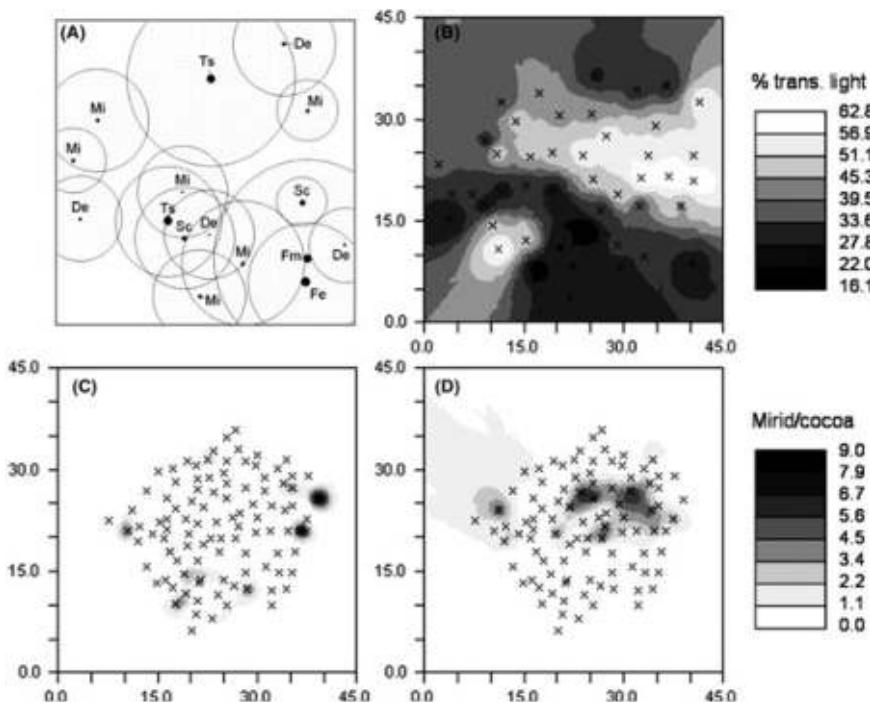


Figure 2 Maps of the Ngo plot showing: (A) the position, basal area and crown cover of the associated trees; (B) % light transmitted to the cocoa trees through the canopy; and kriging maps for spatial distribution of mirid populations for (C) 2006 and (D) 2007. Crosses indicate the sampling points; hemispherical photos for (B) and sampled cocoa trees for (C, D). De, *Dacryodes edulis*; Fe, *Ficus exasperata*; Fm, *Ficus mucoso*; Mi, *Mangifera indica*; Sc, *Spathodea campanulata*; Ts, *Terminalia superba*.

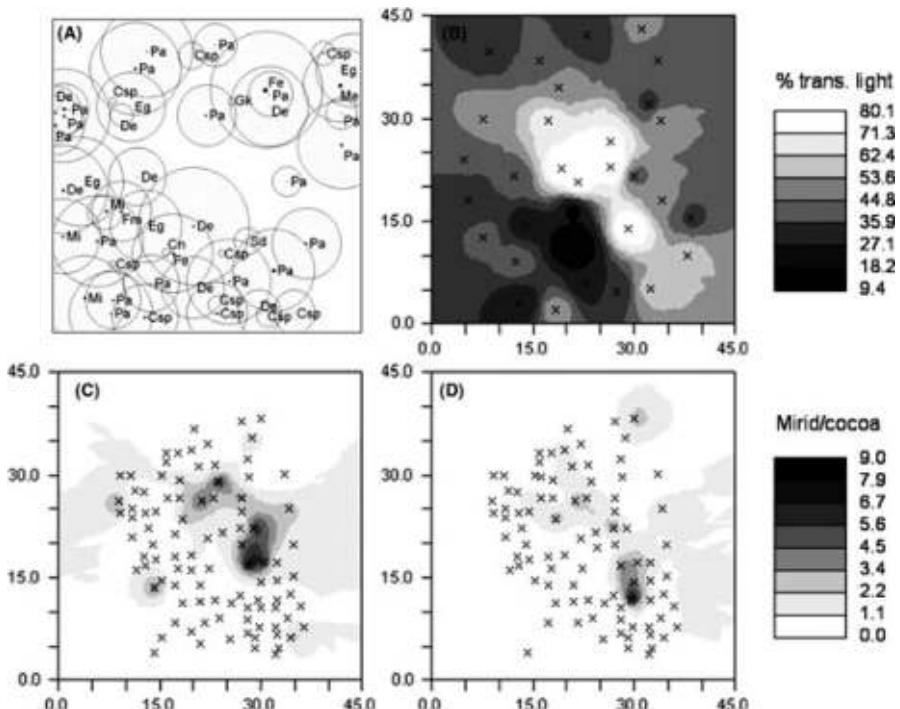


Figure 3 Maps of the Oba plot showing: (A) the position, basal area and crown cover of the shade trees; (B) % light transmitted to the cocoa trees through the canopy; and kriging maps for spatial distribution of mirid populations for (C) 2006 and (D) 2007. Crosses indicate the sampling points; hemispherical photos for (B) and marked cocoa trees for (C, D). Cn, *Cola nitida*; Csp, *Citrus* sp.; De, *Dacryodes edulis*; Eg, *Elaeis guineensis*; Fe, *Ficus exasperata*; Fm, *Ficus mucoso*; Gk, *Garcinia kola*; Mi, *Mangifera indica*; Me, *Milicia excelsa*; Pa, *Persea americana*; Sd, *Spondias dulcis*.

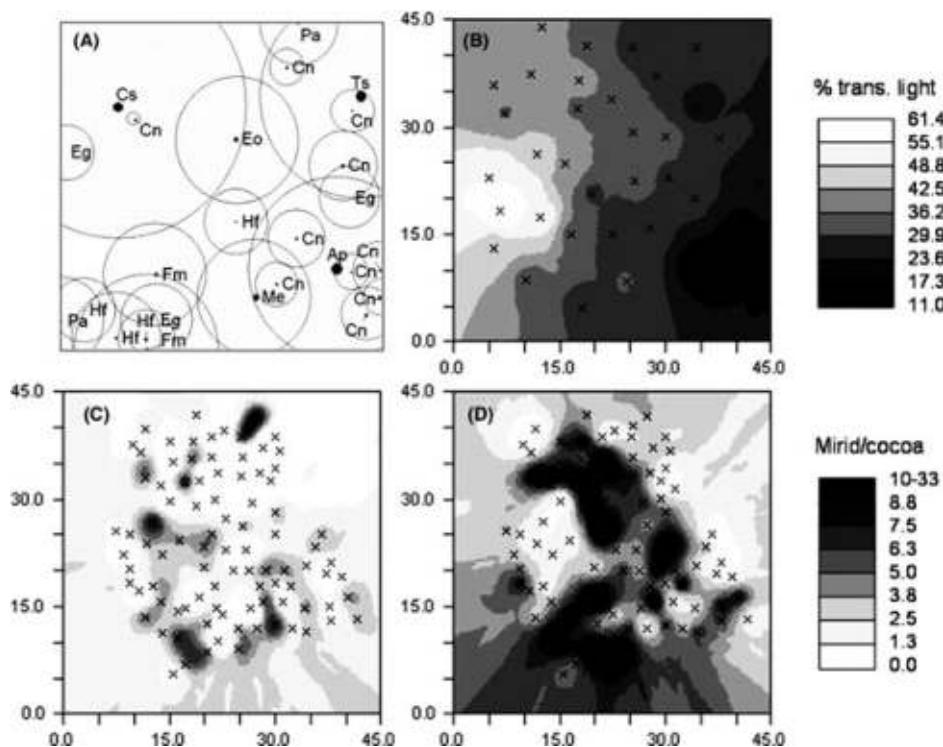


Figure 4 Maps of the Bok plot showing: (A) the position, basal area and crown cover of the shade trees; (B) % light transmitted to the cocoa trees through the canopy; and kriging maps for spatial distribution of mirid populations for (C) 2006 and (D) 2007. Crosses indicate the sampling points; hemispherical photos for (B) and marked cocoa trees for (C, D). Ap, *Amphimas pterocarpoides*; Cs, *Canarium schweinfurthii*; Cn, *Cola nitida*; Eg, *Elaeis guineensis*; Eo, *Eribroma oblonga*; Fm, *Ficus mucoso*; Hf, *Holarrhena floribunda*; Me, *Milicia excelsa*; Pa, *Persea americana*; Ts, *Triplochiton scleroxylon*.

the kriging maps of the Ngo and Oba plots, such mirid pockets were clearly delimited. Because the Bok plot was almost totally infested, mirid pockets were not so easy defined.

The results we obtained show that mirid pockets generally appeared in zones where the percentage transmitted light reaching the cocoa trees was at its highest. However, cocoa trees deprived of shade display light and microclimatic conditions unsuitable for nymphal development. Indeed, cocoa mirids display negative phototropism during nymphal development (Madge, 1968; Youdeowei, 1971). Furthermore, direct sunlight and wind lead to considerable variations in temperature and relative humidity, which can kill larvae through desiccation (Gibbs *et al.*, 1968; Nwana & Youdeowei, 1976). However, flush intensity is greater on cocoa trees exposed to sunlight than on trees in a shaded zone (Boyer, 1970) and it is hypothesized that the distribution of *S. singularis* may also be linked to food availability. Research is currently underway to assess the impact of cocoa tree phenology and cocoa canopy microclimatic conditions on nymphal development, survival and fecundity of *S. singularis*.

Characterization of plot shade shows that cocoa was grown in combination with a large number of fruit and forest tree species. The planting densities and cover of the associated trees were highly variable. This resulted in very heterogeneous shade conditions for cocoa trees, which were conducive to the formation of mirid pockets. The results obtained in the present study suggest that shade is more homogenous in areas with

large forest trees than in areas with fruit trees. The presence of large forest trees is therefore desirable provided they do not compete with cocoa trees for water and nutrients, and that they are not host plants for cocoa pests and diseases (Wood, 1985). The very high mirid densities obtained in the Bok plot and the related mirid spatial distribution are probably the result of the presence of numerous trees belonging to the family of the Malvaceae, which is known to contain host plants of mirids (Entwistle, 1972). For example, kola trees (*Cola* sp.) are often grown in traditional agroforests because they provide farmers with an additional income (Sonwa *et al.*, 2007). However, they are host plants for mirids and could comprise infestation foci. Yet, little is known about the biology of mirids on kola trees. If present in cocoa plantations, they probably require regular insecticide treatments.

Fruit trees such as *Mangifera indica* (Anacardiaceae), *Dacryodes edulis* (Burseraceae), *P. americana* and *Citrus* sp. provide dense although less extensive shade compared with remnant forest trees. Such trees could be planted uniformly in the plantation but at a low density to avoid excessive shading. Excessive shade can increase the severity of diseases, such as black pod rot, caused by *Phytophthora megakarya*, which is responsible for considerable production losses in Cameroon (Nyassé *et al.*, 1999; Ndoumbé-Nkeng & Sache, 2003). Pruning of the lower branches of trees is therefore advisable to ensure good ventilation in the plantation, which reduces the impact of black pod (Lass, 1985). Thus, to be effective, shade management

strategies have to find a balance between shade conditions unfavourable for both mirids and black pod. Determining this balance requires a better understanding of the effect of shade on mirids and disease epidemiology.

To our knowledge, this is the first time that a quantifiable link between light intensity at cocoa canopy level and mirid presence has been established. It is not the absolute light intensity but the relative light intensity that determines the spatial distribution of populations. Thus, the recommendation for homogenous shade to reduce the impact of mirid damage has been validated by the present study. However, when population pressures are high, other factors come into play that interact with the spatial distribution of mirids. Moreover, because shade also affects production as well as cocoa diseases, further studies should focus on the interactions between shade, diseases, pests and cocoa trees to ensure sustainable cocoa production in the highly diverse agroforests of Cameroon.

Acknowledgements

This work has been supported by the French Ministry of Foreign Affairs through their REPARAC project and by the ATP Caresys of the Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD). We are particularly grateful to the staff at the Institut de Recherche Agricole pour le Développement (IRAD), notably Dr Salomon Nyassé and Dr Luc Dibog, for their support and hospitality. We would like to thank MM. Sébastien Junior Zomo, Victor Ondo, Benoît Owona and Maurice Douandji, along with Miss Marie-Madeleine Soppi Koum for their help with field work. We are grateful to the staff of the Cameroon National Herbarium for their assistance with the identification of the shade tree species, and to Peter Biggins for the English translation.

References

- Anscombe, F.J. (1949) The statistical analysis of insect counts based on the negative binomial distribution. *Biometrics*, **5**, 165–173.
- Babin, R., Bisseyeu, B.H.D., Dibog, L. & Lumaret, J.P. (2008) Rearing method and life table data for the cocoa mirid bug *Sahlbergella singularis* Haglund (Hemiptera: Miridae). *Journal of Applied Entomology*, **132**, 366–374.
- Bellow, J.G. & Nair, P.K.R. (2003) Comparing common methods for assessing understory light availability in shaded-perennial agroforestry systems. *Agricultural and Forest Meteorology*, **114**, 197–211.
- Boyer, J. (1970) Influence des régimes hydrique, radiatif et thermique du climat sur l'activité végétative et la floraison de cacaoyers au Cameroun. *Café Cacao Thé*, **14**, 189–199.
- Cilas, C., Bouyjou, B. & Decazy, B. (1998) Frequency and distribution of *Antestiopsis orbitalis* Westwood (Hem., Pentatomidae) in coffee plantations in Burundi : implications for sampling techniques. *Journal of Applied Entomology*, **122**, 601–606.
- Collingwood, C.A. (1977) African mirids. *Les Mirides du Cacaoyer* (ed. by E. M. Lavabre), pp. 71–83. G-P. Maisonneuve et Larose, Frances.
- Crowdy, S.H. (1947) Observations on the pathogenicity of *Calonectria rigidiuscula* (Berk. & Br.) Sacc. on *Theobroma cacao* L. *The Annals of Applied Biology*, **34**, 45–59.
- Decazy, B. & Essono, B. (1979) Tests de contrôle d'infestation et traitements anti-mirides. *Café Cacao Thé*, **23**, 35–41.
- Dounias, E. & Hladik, C.M. (1996) Les agroforêts Mvae et Yassa du Cameroun littoral: fonctions socioculturelles, structure, composition floristique. *L'alimentation en forêt Tropicale: Interactions Bioculturelles et Perspectives de Développement* (ed. by C. M. Hladik, A. Hladik, H. Pagezy, O. F. Linares, G. J. A. Koppert and A. Froment), pp. 1103–1126. UNESCO, France.
- Elkinton, J.S. (1993) *Insect Population Ecology, An African Perspective*. ICIPE Science Press, Kenya.
- Entwistle, P.F. (1972) *Pests of Cocoa*. Longman Group Ltd, U.K.
- Franzen, M. & Borgerhoff Mulder, M. (2007) Ecological, economic and social perspectives on cocoa production worldwide. *Biodiversity Conservation*, **16**, 3835–3849.
- Frazer, G.W., Canham, C.D. & Lertzman, K.P. (1999) *Gap Light Analyzer (GLA), Version 2.0: Imaging Software to Extract Canopy Structure and Gap Light Transmission Indices from True-Colour Fisheye Photographs, Users Manual and Program Documentation*. Simon Fraser University, Burnaby, British Columbia, and The Institute of Ecosystem Studies, Millbrook, New York, New York.
- Gibbs, D.G., Pickett, A.D. & Leston, L. (1968) Seasonal population changes in cocoa capsids (Hemiptera: Miridae) in Ghana. *Bulletin of Entomological Research*, **58**, 279–293.
- Idowu, O.L., Olejade, K.T.M. & Adebola, P.O. (2001) Cocoa IPM research and implementation in Nigeria. *Proceedings of the West Africa Regional Cocoa IPM Workshop* (ed. by J. Vos and P. Neuenschwander), pp. 67–70. CPL Press, Benin.
- Isaac, M.E., Timmer, V.R. & Quashie-Sam, S.J. (2006) Shade tree effects in an 8-year-old cocoa agroforestry system: biomass and nutrient diagnosis of *Theobroma cacao* by vector analysis. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, **78**, 155–165.
- Laird, S.A., Leke Awung, G. & Lysinge, R.J. (2007) Cocoa farms in the Mount Cameroon region: biological and cultural diversity in local livelihoods. *Biodiversity Conservation*, **16**, 2401–2427.
- Lass, R.A. (1985) Diseases. *Cocoa* (ed. by G. A. R. Wood and R. A. Lass), pp. 265–365. Longman Scientific and Technical, U.K.
- Lavabre, E.M. (1960) Recherches sur une méthode économique de contrôle des mirides du cacaoyer. *Café Cacao Thé*, **4**, 16–25.
- Lavabre, E.M. (1977) Variations saisonnières des populations. *Les Mirides du Cacaoyer* (ed. by E. M. Lavabre), pp. 155–170. G-P. Maisonneuve et Larose, France.
- Lavabre, E.M., Decelle, J. & Debord, P. (1963) Etude de l'évolution régionale et saisonnière des populations de Mirides (Capsides) en Côte d'Ivoire. *Café Cacao Thé*, **7**, 267–287.
- Losch, B., Fusillier, J.L. & Dupraz, P. (1991) *Stratégies des producteurs en zone caféière et cacaoyère du Cameroun. Quelles adaptations à la crise?* Collection DSA n°12. DSA-CIRAD, France.
- Lotodé, R. (1969) Etude statistique de l'évolution d'une population de Mirides. *Café Cacao Thé*, **13**, 216–220.
- Madge, D.S. (1968) The behaviour of the cocoa mirid (*Sahlbergella singularis* Hagl.) to some environmental factors. *Bulletin of the Entomological Society of Nigeria*, **1**, 63–70.
- Mpé, J.M. (2001) Integrated management of cocoa mirids in Cameroon. *Proceedings of the West Africa Regional Cocoa IPM Workshop* (ed. by J. Vos and P. Neuenschwander), pp. 39. CPL Press, Benin.
- Ndoumbé-Nkeng, M. & Sache, I. (2003) Lutte contre la pourriture brune des cabosses du cacaoyer au Cameroun. *Phytoma, La défense des végétaux*, **562**, 26–32.
- N'Guessan, F.K. & Coulibaly, N. (2000) Dynamique des populations de mirides et de quelques autres déprédateurs du cacaoyer dans la région ouest de la Côte d'Ivoire. *Proceedings of the 13th International Cocoa Research Conference*, pp. 425–435. Cocoa Producer's Alliance, Malaysia.

- Nwana, I.E. & Youdeowei, A. (1976) The effect of relative humidity on the development and survival of the pre-imaginal stages of *Bathycoelia thalassina* (H-S) (Pentatomidae) and *Sahlbergella singularis* Hagl. (Miridae) in Nigeria. *Journal of Natural History*, **11**, 445–449.
- Nwana, I.E. & Youdeowei, A. (1978) The spatial distribution of three species of Heteroptera on a cocoa farm in Ibadan, Nigeria. *Nigerian Journal of Entomology*, **3**, 27–33.
- Nyassé, S., Grivet, L., Risterucci, A.M., Blaha, G., Berry, D., Lanaud, C. & Despréaux, D. (1999) Diversity of *Phytophthora megakarya* in Central and west Africa revealed by isozyme and RAPD markers. *Mycological Research*, **103**, 1225–1234.
- Padi, B. & Owusu, G.K. (1998) Towards an integrated pest management for sustainable cocoa production in Ghana. *Proceedings of the First Sustainable Cocoa Workshop*, pp 7–15. Smithsonian Institution, Washington, D.C.
- Padi, B., Downham, M., Farman, D. & Sarfo, J.E. (2000) Evidence of sex attractants in the cocoa mirids *Distantiella theobroma* (Dist.) and *Sahlbergella singularis* Hagl. (Heteroptera: Miridae) in field-trapping experiments. *Proceedings of the 13th International Cocoa Research Conference*, pp. 395–400. Cocoa Producer's Alliance, Malaysia.
- Padi, B., Ackonor, J.B. & Opoku, I.Y. (2001) Cocoa IPM research and implementation in Ghana. *Proceedings of the West Africa Regional Cocoa IPM Workshop* (ed. by J. Vos and P. Neuenschwander), pp. 54–62. CPL Press, Benin.
- Philpott, S.M. & Armbrecht, I. (2006) Biodiversity in tropical agro-forests and the ecological role of ants and ant diversity in predatory function. *Ecological Entomology*, **31**, 369–377.
- Robertson, G.P. (2008) *GS⁺ : Geostatistics for the Environmental Sciences*. Gamma Design Software, Plainwell, Michigan.
- Santoir, C. & Bopda, A. (1995) *Atlas régional Sud-Cameroun*. Orstom, France.
- Schroth, G. & Harvey, C.A. (2007) Biodiversity conservation in cocoa production landscapes: an overview. *Biodiversity Conservation*, **16**, 2237–2244.
- Sonwa, D.J., Nkongmeneck, B.A., Weise, S.F., Tchatat, M., Adesina, A.A. & Janssens, M.J.J. (2007) Diversity of plants in cocoa agro-forests in the humid forest zone of Southern Cameroon. *Biodiversity Conservation*, **16**, 2385–2400.
- Sounigo, O., Coulibaly, N., Brun, L., N'Goran, J., Cilas, C. & Eskes, A.B. (2003) Evaluation of resistance of *Theobroma cacao* L. to mirids in Côte d'Ivoire: results of comparative progeny trials. *Crop Protection*, **22**, 615–621.
- Taylor, L.R. (1961) Aggregation variance and the mean. *Nature*, **189**, 732–735.
- Torquebiau, E. (2007) *L'agroforesterie. Des arbres et des champs*. L'Harmattan, France.
- Wessel, M. (1985) Shade and nutrition. *Cocoa* (ed. by G. A. R. Wood and R. A. Lass), pp. 166–194. Longman, U.K.
- Williams, G. (1953) Field Observations on the Cacao Mirids, *Sahlbergella singularis* Hagl. and *Distantiella theobroma* (Dist.), in the Gold Coast, I. Mirid Damage. *Bulletin of Entomological Research*, **44**, 101–119.
- Wood, G.A.R. (1985) Establishment. *Cocoa* (ed. by G. A. R. Wood and R. A. Lass), pp. 119–165. Longman, U.K.
- Youdeowei, A. (1965) A note on the spatial distribution of the cocoa mirid *Sahlbergella singularis* Hagl. in a cocoa farm in Western Nigeria. *Nigerian Agricultural Journal*, **2**, 66–67.
- Youdeowei, A. (1971) Studies on the pattern of distribution of the cacao capsid, *Sahlbergella singularis* Hagl., in relation to light intensity in an isolated plot of cacao, *Theobroma cacao* L. *Journal of the West African Science Association*, **16**, 5–12.
- Youdeowei, A. (1977) Behaviour and Activity. *Les Mirides du Cacaoyer* (ed. by E. M. Lavabre), pp. 223–236. G-P. Maisonneuve et Larose, France.

Accepted 25 June 2009

First published online 3 November 2009